



电子、语音版

·综述·

帕金森病动物模型的研究进展

蒋戴忆^{1,2}, 姚舜禹^{1,2}, 林兰馨^{1,2}, 康徐惠^{1,2}, 彭永^{1,2}

1. 湖南中医药大学, 湖南长沙 410208

2. 湖南中医药高等专科学校附属第一医院神经内科, 湖南株洲 412000

摘要: 帕金森病(PD)主要影响中枢神经系统的运动功能。PD的发病机制复杂,且缺乏有效的治疗方法,一直是神经科学的研究热点。近年来,PD的动物模型研究取得了显著进展。神经毒素模型可诱导多巴胺神经元损伤,常用于神经保护药物筛选,但未能完全重现PD的病理特征。转基因模型有助于发现潜在的治疗靶点,但缺乏多巴胺神经元的明显退化这一特征。组合模型可以产生更多样的运动和非运动症状,更全面地模拟PD病理过程。 α 突触核蛋白诱导模型能出现明显的病理蛋白聚集,更接近PD的典型病理表现。新兴模型可在体外重现PD病理特征,助力于个性化治疗的发展。越来越多的研究表明,PD更可能是一种综合征,非运动症状的研究逐渐受到重视。对PD非运动症状动物模型的研究有望在疾病早期发现生物标志物,并为严重非运动症状提供治疗方法。该文综述了各种PD动物模型的优势和局限性,为研究人员提供参考,帮助他们根据实验目的选择合适的模型。同时,该文旨在为深入理解PD发病机制和开发新的治疗方法提供理论支持。

关键词: 帕金森病;动物模型;研究进展

中图分类号:R742.5

DOI:10.16636/j.cnki.jinn.1673-2642.2025.04.013

Research advances in animal models of Parkinson disease

JIANG Daiyi^{1,2}, YAO Shunyu^{1,2}, LIN Lanxin^{1,2}, KANG Xuhui^{1,2}, PENG Yong^{1,2}

1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China

2. Department of Neurology, Affiliated First Hospital of Hunan Traditional Chinese Medical College, Zhuzhou, Hunan 412000, China

Corresponding author: PENG Yong, Email: 1779342446@qq.com

Abstract: Parkinson disease (PD) mainly affects the motor functions of the central nervous system, and due to its complex pathogenesis and a lack of effective therapies, it has always been a research hotspot in neuroscience. In recent years, significant progress has been made in the development of animal models for PD. Neurotoxin-induced models can cause dopaminergic neuronal injury and are often used for the screening of neuroprotective drugs, but they fail to fully represent the pathological features of PD. Transgenic models help to identify potential therapeutic targets, but with a lack of significant degeneration of dopaminergic neurons. Composite models can generate a wider range of motor and non-motor symptoms and comprehensively simulate the pathological process of PD. Models induced by α -synuclein can exhibit significant pathological protein aggregation, which closely resembles the typical pathological manifestations of PD. Emerging models can display the pathological features of PD *in vitro* and facilitate the development of individualized treatment. An increasing number of studies have shown that PD is more likely to be a syndrome, and the research on non-motor symptoms has gained more and more attention. Studies on animal models of non-motor symptoms have the potential to

基金项目: 湖南省卫生健康委员会重点指导课题(C202303076574);湖南省中医药管理局重点课题(A2023039);株洲市科技局课题(2021-009);湖南中医药高等专科学校附属第一医院优秀科研创新团队(B2021-003);2022年湖南中医药大学校院联合基金项目(2022-44)。

收稿日期: 2024-07-22; **修回日期:** 2025-04-21

作者简介: 蒋戴忆(2001—),女,在读硕士,从事神经系统疾病研究。Email:1457368891@qq.com。

通信作者: 彭永(1970—),男,硕士研究生导师,副主任医师,从事神经系统疾病研究。Email:1779342446@qq.com。

identify biomarkers in the early stage and provide therapies for severe non-motor symptoms. This article reviews the advantages and limitations of various animal models of PD, so as to provide a reference for researchers and help them select appropriate models based on experimental objectives. In addition, this article provides theoretical support for a deeper understanding of the pathogenesis of PD and the development of new therapies.

Keywords: Parkinson disease; animal model; research advance

帕金森病(Parkinson disease, PD)目前的病因及确切发病机制尚不清楚,涉及多种因素的相互作用,包括 α 突触核蛋白(α -synuclein, α -Syn)的异常聚集、黑质多巴胺神经元的退化、遗传(如SNCA、LRRK2等基因)与环境因素(重金属、农药等)、线粒体功能障碍以及神经炎症等^[1]。PD的主要临床症状包括运动症状(运动迟缓、静止性震颤、肌强直和姿势步态异常等)和非运动症状(自主神经功能障碍、嗅觉障碍、便秘和快速眼动期睡眠行为障碍等)。

PD的病理特点以黑质纹状体变性和路易小体形成为主^[1]。尽管多巴胺能系统是PD发病的关键,但非多巴胺、非儿茶酚胺和非运动系统也参与其中。此外,早在黑质致密部(substantia nigra pars compacta, SNc)之前,神经变性已经影响到几个核团的神经元,如蓝斑、中缝核和迷走神经背侧运动核(dorsal nucleus of vagus nerve, DMV),这在一定程度上解释了早期发生的非运动性症状^[2]。

迄今为止,PD相关的任何一种动物模型,均尚未能完全复制出PD在人脑内的病理状态以及发病后的运动特征。为了更深入地了解PD的发病机制,针对不同实验目的选择实验模型,并进一步加强对PD的防治诊断及病理特征的研究,本综述总结了近些年来动物模型的制备方法及其优缺点。以期能在疾病早期对PD做出诊断,并加以控制^[3]。

1 神经毒素和化合物模型

基于神经毒素的模型可诱导黑质纹状体多巴胺神经元的快速变性,模拟散发性PD。引入1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶(1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine, MPTP)、6-羟基多巴胺(6-hydroxydopamine, 6-OHDA)、鱼藤酮(rotenone, RT)、百草枯(paraquat, PQ)、代森锰(maneb, MB)等^[4],可以建立基于神经毒素的模型。此外,脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的免疫模型也被用于研究PD的神经炎症机制。随着神经毒素的加入,会产生氧化应激,进一步导致多巴胺神经元群体的细胞死亡。然而,神经毒素模型的主要缺点是缺乏PD的主要病理标志:路易小体的形成。尽管存在局限性,神经毒素模型对了解PD的疾病过程和治疗靶点做出了重大贡献^[5]。

1.1 MPTP

MPTP是目前使用最多的神经毒素之一,该化合物本身没有毒性,是一种亲脂分子,能穿过血脑屏障。系统给

药后,转化为1-甲基-4-苯基吡啶(MPP⁺),在突触体囊泡中积累,直至超过阈值,可导致SNc和纹状体中黑质纹状体多巴胺神经元发生细胞死亡^[6]。非人类灵长类动物模型一般仅用于临床前评估。小鼠MPTP模型是更实用和更容易获得的选择。对MPTP中毒最敏感的小鼠品系是C57 BL/6。此外,为了获得最佳且可重复的PD结果,必须从相同来源获得 ≥ 8 周龄、平均体重22 g和相同小鼠品系的同性别小鼠^[7]。关于给药部位,许多研究认为腹膜内途径是理想的非运动症状模型之一,因为通过该途径给药后,会出现显著的运动功能损害,并可诱导出多巴胺神经元损伤。啮齿类动物鼻内给药MPTP可导致其短暂性嗅觉障碍,且暴露于MPTP可减少肠道多巴胺神经元的数量,并引起胃肠道功能障碍^[8]。关于腹膜内注射MPTP时是否出现路易小体样胞质包涵体,存在相互矛盾的报道,低剂量MPTP可能不足以促进路易小体的形成^[9]。

1.2 6-OHDA

6-OHDA是另一种广泛应用于实验动物模型中诱导PD的神经毒素,不能穿透血脑屏障。6-OHDA是一种高度可氧化的多巴胺类似物,可被多巴胺转运蛋白捕获,进而导致SNc中多巴胺神经元的选择性损伤。6-OHDA注射至靶点后经历快速的非酶自动氧化,并产生活性氧来诱导产生氧化应激,但6-OHDA的细胞毒性机制尚未完全了解,且该模型不伴有 α -Syn聚集或路易小体样包涵体的形成。6-OHDA注射到纹状体中会破坏纹状体中的轴突终末,随后SNc中的多巴胺神经元会发生可逆性变性,症状相对较轻,进展缓慢。然而,6-OHDA注射到内侧前脑束和SNc中,却能导致快速和大量的多巴胺神经元变性,从而发生严重的症状。因此,应在明确的依据下选择实验所用的靶点^[5]。

因为双侧损毁会造成严重的运动障碍甚至死亡,所以6-OHDA大鼠单侧损毁模型使用较多,该模型主要用于药物筛选,如神经保护剂等的快速研究^[10]。在6-OHDA处理的大鼠模型中,睡眠期间肌肉张力增加,这提示该模型存在快速眼动睡眠期行为障碍(rapid-eye-movement sleep behavior disorder, RBD)样表型。在该模型中,RBD相关区域没有明显的病理改变,相比之下,SNc中酪氨酸羟化酶阳性神经元数量减少了95%以上^[8]。此外,在采用双侧颈总动脉结扎模拟典型神经毒素6-OHDA诱导的PD大鼠模型中发现,慢性脑低灌注导致神经鞘磷脂在前额叶皮质中的积聚,通过干扰鞘磷脂代谢加重了6

-OHDA 损伤大鼠的 PD 痴呆样症状和病理^[11]。

1.3 农药

农药暴露与 PD 的发展高度相关,并对 PD 发病有显著影响。流行病学研究发现,在农田工作和接触农药与 PD 发病风险增加呈正相关。RT、PQ、MB 常被用作神经毒素,用于制备 PD 动物模型^[9]。

1.3.1 RT

RT 全身给药(皮下、腹腔内、口服或脑内)后,亲脂性使 RT 能够穿过血脑屏障,并扩散穿过神经元细胞膜,抑制线粒体复合物 I 和蛋白酶体活性,进一步诱导氧化应激和 α -Syn 积累。到目前为止,通过新型递送载体引入的低剂量 RT 连续给药约 30 d 已被证明是一种良好的 RT 研究模型,具有降低动物病死率和稳定的运动障碍表现。此外,在 SNc 中给予 RT 也可观察到嗅觉障碍,长期给大鼠低剂量 RT 后, α -Syn 主要聚集在小肠肌肠神经节,给药 6 个月后小肠神经元数量减少,胃肠道运动减弱。在皮下注射 RT 的大鼠模型中,可观察到胃排空时间变长,粪便频率一过性减少,但未见病理性 α -Syn 积累^[8]。

1.3.2 PQ 和 MB

PQ 是一种季铵盐类除草剂,通过改变谷胱甘肽和硫氧还蛋白的氧化还原循环,从而损害细胞保护自身免受氧化应激的能力。研究证实,PQ 在小鼠/大鼠模型中,具有破坏黑质多巴胺神经元的能力。此外,PQ 毒性的一个重要特征是对 SNc 多巴胺神经元表现出高选择性,多次注射后可导致多巴胺神经元几乎 50% 的损失。该研究还证明了老年小鼠/大鼠对该农药表现出更强的耐受性。长期服用 PQ 会导致慢性神经变性和多巴胺消耗,这可以用于研究 PD 临床前阶段。PQ 模型的一个特殊特征是可以与 MB 联合使用,成年小鼠同时暴露于这两种化学物质会导致明显的多巴胺纤维丢失、多巴胺转化改变和运动能力降低^[9]。

1.4 LPS

在 PD 患者的大脑中,可发现密集的反应性小胶质细胞和星形胶质细胞,并伴有促炎细胞因子的增加,提示神经炎症可能在发病机制中起关键作用。LPS 是一种强大的促炎原,是革兰氏阴性菌外膜的主要成分。LPS 能够激活肠道和中枢神经系统中的 Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4) 信号通路,从而引发炎症反应^[12]。在肠道中,LPS 首先被血清中的 LPS 结合蛋白识别,并传递给 CD14,随后被转导给 TLR4/MD-2 复合物^[13]。这一过程激活了两条主要的信号通路:一是髓样分化因子 88 依赖通路,通过激活核因子 κ B,促进炎症因子的产生;二是 TIR 结构域含有蛋白接头因子依赖通路,通过激活干扰素调节因子 3 促进 I 型干扰素的表达^[13]。类似地,在中枢神经系统中,LPS 能够穿过受损的血脑屏障或通过某些转运机制进入脑组织,并被小胶质细胞或星形胶质细胞表面

TLR4/MD-2 复合物识别。LPS 激活这些细胞中的 TLR4 后,同样会启动髓样分化因子 88 依赖通路和 TIR 结构域含有蛋白接头因子依赖通路,引发炎症反应^[14]。此外,LPS 诱导的髓样分化因子 88 依赖通路还会调节细胞代谢,促进糖酵解和脂肪酸合成,为炎症因子的产生提供能量和物质基础,从而进一步加剧炎症反应^[12]。在大鼠纹状体内和神经内注射 LPS,可导致 SNc 中多巴胺在 1 个月内发生严重的神经退行性病变,纹状体多巴胺神经元减少,发生运动障碍,且使用老年大鼠可增加表型的严重程度。通过腹腔注射给小鼠全身注射 LPS 可导致多巴胺神经元丢失、运动缺陷和 α -Syn 积累。通过鼻腔途径给药 LPS 在小鼠中,在 SNc 中可见约 50% 的多巴胺神经元丢失,并伴随着纹状体多巴胺数量减少。此外,还可以通过双侧给药来增加该表型的严重程度。因此,有必要利用 LPS、凝血酶原、神经黑色素等形成的 PD 相关免疫模型,了解这些物质对黑质纹状体系统变性的潜在作用,以帮助开发新的 PD 治疗方法^[15-16]。

神经毒素及化合物动物模型相关情况汇总见表 1^[17-18]。

2 转基因遗传模型

许多基因已被确定为 PD 发病的危险因素,以及一些特发性 PD 的特征相关因素。在动物中,这些基因中的大多数都可以模拟特发性 PD 的一些特征,如路易小体形成,以及溶酶体和线粒体功能障碍。其中最密切相关的基因是 SNCA 基因,编码 α -Syn,与遗传性和散发性 PD 均有关^[5]。与 α -Syn 编码异常或 α -Syn 清除功能受损相关的基因均可导致 PD,后者包括与自噬-溶酶系统缺陷、泛素酶系统缺陷和线粒体功能障碍相关的基因。这些都有助于建立和理解遗传性 PD 的分子机制。虽然在 PD 中可观察到的遗传和突变相当少,仅占诊断病例的 10%,但具有突变基因的动物模型非常重要,因为这些基因代表了潜在的治疗靶点^[7]。然而,遗传模型的主要缺陷之一是未能产生足够的多巴胺神经元损失。

基因编辑包括外源突变基因的转基因、同源基因敲除、效应基因敲除、敲低或基因沉默,通过过表达、消除或修饰基因产物来改变基因功能,以产生所需的性状。根据这些 PD 相关基因构建的遗传缺陷动物模型,可以复制 PD 的致病分子途径,准确反映 PD 的发病机制,再现 PD 的病理特征,对 PD 的研究具有重要意义^[19]。

2.1 SNCA 缺陷模型

2.1.1 SNCA 小鼠缺陷模型

最常用的是 SNCA A53T 和 SNCA A30P 转基因小鼠。与 SNCA A30P 转基因小鼠相比,SNCA A53T 转基因小鼠 α -Syn 的病理表现更突出,神经退行性病变更严重,运动障碍更明显。在非运动症状方面,SNCA A53T 转基因小鼠可表现为异常睡眠和嗅觉功能障碍。在朊病毒启动子

表1 神经毒素及化合物动物模型汇总

| 神经毒素 | 模型机制 | 适用情况 | 优点 | 缺点 |
|--------|--------------------------------------|---|---|---------------------------------------|
| MPTP | 线粒体复合物 I 抑制剂 | 适用于左旋多巴治疗(主要是灵长类动物)测试潜在的对症治疗和干细胞治疗后的运动障碍 | 易于操作,几乎反映人类PD中所见的帕金森症状及部分非运动症状 | 在大多数研究中很少诱导路易小体形成,且在该模型中难以证明人类PD的行为特征 |
| 6-OHDA | 经单胺氧化酶产生生活性氧直接抑制线粒体复合物 I | 评估氧化应激(局部神经炎症和多巴胺/儿茶酚胺能神经元死亡)所激活的细胞毒性和细胞过程的分子基础。症状治疗试验研究左旋多巴诱发的运动障碍和多巴胺能药物的其他不良反应,以及运动和非运动症状的研究 | 价格合理,发病机制明确,能够诱导黑质中多巴胺神经元大量破坏,能够诱发PD中出现的主要行为缺陷,成为研究药物治疗的动物基础 | 未见病理特征路易小体的形成 |
| RT | 线粒体复合物 I 抑制剂 | 诱导双侧多巴胺能细胞丢失,适用于对多巴胺能系统无选择性,以及对症治疗的试验 | 再现了PD的大部分运动障碍和组织病理学特征,与环境相关散发性PD发病密切相关 | 不良反应较大,重复性较低,病死率高 |
| PQ和MB | PQ改变谷胱甘肽和硫氧还蛋白的氧化还原循环MB破坏泛素-蛋白酶体系统功能 | 研究环境因素诱发PD | PQ对SNc多巴胺神经元表现出高选择性,诱导年龄依赖性多巴胺神经元损失,并诱导路易小体形成,而MB可与其他毒素联合使用协同降低纹状体多巴胺 | 在某些模型中缺乏纹状体多巴胺损失,作用机制尚不完全明确 |
| LPS | 强促炎性物质,触发星形胶质细胞和小胶质细胞的激活,神经毒性因子释放 | 对一般神经炎症过程的研究,诱导双侧多巴胺能细胞丢失 | 研究免疫机制对PD的影响,以及后续治疗的开发 | 运动表型较少 |

注: MPTP=1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶; 6-OHDA=6-羟基多巴胺; RT=鱼藤酮; PQ=百草枯; MB=代森锰; LPS=脂多糖; SNc=黑质致密部; PD=帕金森病。

下,胃肠道运动在3个月时减弱,6个月时表现出气味辨别和气味检测的缺陷,这表明可能是运动症状前胃肠道功能障碍的可行模型^[20]。在Thy1启动子下,3~5月龄时可出现嗅球中 α -Syn含量低的现象,4月龄时可出现焦虑,9~10月龄时可出现睡眠障碍,12月龄时可出现结肠功能障碍。该模型适用于测试将疾病进展从前驱期减缓到运动期的治疗方法,以及测试对前驱症状的干预对运动症状发展的影响^[21]。内源性 α -Syn缺失背景下的野生型人类SNCA BAC转基因雄性小鼠可表现出便秘样表型。SNCA A53T α -Syn BAC转基因小鼠表现出RBD样表型和嗅觉障碍,在无运动症状的情况下,SNc中酪氨酸羟化酶阳性神经元的数量减少了18%。这种表型表明,这是一个前驱PD小鼠模型^[22]。然而,除了上述SNCA A53T α -Syn BAC转基因小鼠外,尚无基于 α -Syn的遗传动物模型被报道表现出RBD。在大鼠模型中,野生型 α -Syn BAC转基因大鼠在3个月时出现嗅觉功能障碍,6个月时纹状体多巴胺含量下降30%,16个月时运动表型下降。该模型也表现出类似焦虑的行为^[8]。SNCA A30P转基因小鼠可表现为视网膜和嗅球异常以及焦虑等。SNCA转基因小鼠在反映 α -Syn聚集和 α -Syn异常折叠的毒性方面具有显著优势。通过调节基因载体滴度,SNCA转基因小鼠也可用于评价多巴胺神经元疾病的进展,以及研究神经损伤的内源性代偿机制^[19]。以SNCA为靶点的基因治疗是PD的治疗途径之一。反义寡核苷酸是一种潜在的靶向SNCA的基因疗法,其治疗效果已在SNCA缺陷模型中

得到验证^[19]。

2.1.2 果蝇模型

在果蝇模型中,SNCA E46K、SNCA H50Q、SNCA G51D和SNCA A53T转基因的果蝇可表现出运动障碍,SNCA E46K转基因果蝇可表现出明显的神经毒性,是异常 α -Syn编码的良好模型。果蝇中不同的SNCA突变体在性状上存在差异,这些突变体是否具有不同的致病性还有待进一步研究。

2.2 α -Syn清除受损:自噬-溶酶体途径缺陷

自噬-溶酶体途径是清除细胞内受损和功能失调的细胞器以及错误折叠蛋白质的主要机制。在PD中,这一途径的功能障碍导致 α -Syn及其他有害物质的积累,从而推动神经退行性病变的发生^[23]。此外,溶酶体的酸化对于其水解酶的活性至关重要,而在PD中溶酶体pH值升高会降低这些酶的活性,进而导致蛋白质降解功能受损^[24]。再者,溶酶体功能障碍还会影响细胞内钙离子的稳态,从而对细胞信号传导以及导致细胞死亡的相关通路产生影响^[23]。由于神经元具有终末分化的特性以及高度极化的形态,特别容易受到自噬-溶酶体功能缺陷所造成的干扰,尤其是在大脑衰老的过程中^[23]。总之,自噬功能障碍是PD发病的主要因素。

2.2.1 LRRK2

LRRK2编码富亮氨酸重复激酶2。LRRK2 G2019S转基因小鼠可表现出显著增强的神经毒性和PD表型年龄依赖性。LRRK2 G2019S/SNCA A53T双转基因小鼠 α -Syn

积累加速,提示 *LRRK2* 突变降低了酶活性,影响了 α -Syn 的清除效率^[25]。在非运动症状方面, *LRRK2* R1441C 敲入小鼠在 8~10 月龄时出现焦虑样行为,在 18~20 月龄时出现运动和嗅觉功能障碍。在 *LRRK2* R1441G BAC 转基因小鼠中,胃肠道功能障碍在 6 个月时开始出现,随后在 16 个月时出现轻度运动障碍,但未观察到其他非运动表型。

LRRK2 R1441C 和 *LRRK2* G2019S 转基因大鼠出现进行性运动和认知缺陷,只有 *LRRK2* R1411C 模型出现步态异常,两种模型均未出现 SNc 多巴胺神经元丢失或神经病理^[26]。

哺乳动物多巴胺神经元代偿机制复杂, *LRRK2*-PD 的临床症状和神经病理与散发性 PD 相似。正如临床 *LRRK2*-PD 病例具有高度异质性一样,一些 *LRRK2* 缺陷模型也缺乏明显的 PD 症状。与其他遗传性 PD 相比, *LRRK2*-PD 发病较晚,因其复杂的代偿机制,早期仅表现为突触损伤。果蝇和秀丽隐杆线虫的简单多巴胺系统可能具有更稳定的性状表达。 *LRRK2* G2019S 和 *LRRK2* R1441C 秀丽隐杆线虫,可出现多巴胺神经元变性、多巴胺水平降低和运动功能障碍,且 *LRRK2* 突变介导的神经变性依赖于 GTP 酶或激酶活性^[27]。此外, *LRRK2* G2019S 转基因果蝇表现出丰富的 PD 表型,并且对 RT 敏感,这可能为神经毒素联合建模提供思路。

2.2.2 VPS35

VPS35 编码液泡蛋白分离-35,是逆转录酶复合体的重要组成部分,在质膜和内溶酶体水平上控制跨膜蛋白的稳态。 *VPS35* D620N 导致溶酶体损伤,自噬导致 PD, *VPS35* 缺陷大鼠和小鼠表现为多巴胺神经元病变。 *VPS35* D620N 同源基因敲除小鼠线粒体异常导致运动缺陷。 *VPS35* D620N 转基因小鼠显示溶酶体形态改变,却未出现运动症状,但两者对 PD 相关细胞应激的敏感性均增加^[28]。但 *VPS35* 突变体在 PD 中的作用有待进一步研究。

2.2.3 ATP13a2

ATP13a2 编码跨膜溶酶体 p5 型 ATP 酶,参与溶酶体膜上二价金属阳离子和多胺的转运,维持重金属离子、蛋白质和多胺的稳态,并促进过量 α -Syn 和多胺的消除。 *ATP13a2* 缺陷动物表现运动和认知功能障碍、情绪异常、脑内路易小体和 α -Syn 积聚,但未观察到多巴胺神经元损伤。无论是 *ATP13a2* 效应基因敲除 / h-*SNCA* 转基因小鼠,还是 *ATP13a2* 效应基因敲除小鼠,在嗅球中注射 α -Syn 均未表现出更严重的病理改变。 *ATP13a2* 效应基因敲除 / *SNCA*A30P 转基因小鼠的运动缺陷与 *ATP13a2* 缺乏小鼠相比,与 α -Syn 过表达小鼠更相似,提示 *ATP13a2* 缺乏导致的异常 α -Syn 清除是主要的病理机制^[29]。

2.2.4 GBA

GBA 编码葡萄糖脑苷脂酶。 *GBA* 突变导致葡萄糖脑苷脂酶活性降低,从而削弱溶酶体的效率,进一步阻碍病理性 α -Syn 的降解。 *GBA* 的纯合突变和杂合突变均可导致戈谢病,这是一种与 PD 密切相关的糖脂代谢家族性疾病^[30]。 *GBA* N370S 和 *GBA* L444P 转基因果蝇均表现出年龄依赖性运动障碍和多巴胺神经元丢失,并伴有葡萄糖脑苷脂酶 4 活性降低和内质网应激增强^[31]。虽然 *GBA* N370S 转基因小鼠未出现异常,但 MPTP 处理的 *GBA* L444P 转基因小鼠和 *GBA* 基因沉默 / h-*SNCA* 转基因小鼠均出现神经变性和 SNc 中 α -Syn 聚集。 MPTP 处理的 *GBA* L444P 转基因小鼠也表现出严重的线粒体缺陷、蛋白酶体活性降低和自噬抑制,这表明 *GBA* 缺乏症增加了多巴胺神经元的易损性,并加速 PD 的进展^[32]。

2.3 α -Syn 清除受损:泛素-蛋白酶体系统异常

泛素-蛋白酶体系统 (ubiquitin-proteasome system, UPS) 是一种依赖 ATP 的蛋白质降解机制,具有高度的底物特异性,主要负责细胞内老化、受损和错误折叠蛋白质的降解,从而维持细胞内蛋白质稳态^[33]。 UPS 功能障碍与 PD 的发病机制密切相关。主要表现为:首先,当 UPS 功能受损时, α -Syn 无法被有效降解,导致其异常积累,并形成路易小体。其次, UPS 功能障碍会影响线粒体的质量控制,导致线粒体损伤和功能障碍^[34]。再次,线粒体功能障碍会进一步加剧细胞内的氧化应激,促进 α -Syn 的聚集。此外, UPS 功能障碍还会引发神经炎症,激活小胶质细胞并导致促炎细胞因子的释放,从而进一步损伤神经元^[34]。总之, UPS 功能障碍被认为是 PD 发病机制中的关键环节之一,这为疾病的治疗提供了潜在的靶点。

2.3.1 Parkin

Parkin 编码一种称为 Parkin 的泛素-e3 连接酶,通过催化泛素向蛋白质底物的转移,来调节线粒体自噬。异常的 *Parkin* 表达可破坏 UPS 稳态,增强细胞底物蛋白泛素化,产生细胞毒性,损害多巴胺神经元的正常功能。 *Parkin* 基因的缺失和突变都与 PD 的发病机制有关。然而, *Parkin* 效应基因敲除啮齿动物并未表现出明显的 PD 表型^[7]。只有 *Parkin* 外显子 3 效应基因敲除小鼠,表现出多巴胺转运蛋白和囊泡单胺转运蛋白降低,这可能与啮齿动物的保护机制有关^[35]。果蝇的神经系统简单且对线粒体缺陷敏感, *Parkin* 缺陷导致果蝇线粒体老化、线粒体网络破裂、线粒体自噬减少。 *Parkin* 效应基因敲除果蝇寿命缩短、严重运动缺陷和雄性不育明显超出 PD 的范畴。低等脊椎动物斑马鱼被认为是最好的 *Parkin* 效应基因敲除模型。 *Parkin* 外显子 9 效应基因敲除斑马鱼表现出明显的多巴胺神经元损伤,对 MPP⁺ 的敏感性增加,线粒体呼吸链复合物 I 活性下降,与临床 PD 患者相似,但仍未表现出运动症状。与 *Parkin* 效应基因敲除模型相

比, *Parkin* R275W、*Parkin* G311X、*Parkin* T240R 转基因果蝇和 *Parkin* G311X 转基因小鼠等 *Parkin* 转基因模型是更好的选择,因为这些模型都可表现出类似 PD 的退化缺陷^[19]。

2.3.2 泛素羧基末端水解酶 L1

泛素羧基末端水解酶 L1 (ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase L1, *UCHL1*) 基因编码 UCHL1 蛋白,该蛋白在大脑中高度表达,主要功能是调节神经元内游离泛素的水平^[36]。与 PD 相关的常见变异包括 *UCHL1* I93M、*UCHL1* S18Y 和 *UCHL1* E7A。携带 *UCHL1* I93M 突变的小鼠可导致 UPS 异常,进而导致泛素显著积累,这可能会进一步引发神经元损伤和退化^[37]。*UCHL1* 同源基因敲除小鼠可表现为早发性、选择性和进行性皮质脊髓运动神经元退化^[38]。然而,有些 *UCHL1* 转基因模型并未表现出多巴胺损伤,反而能有效抑制 MPTP 诱导的多巴胺神经毒性,显示出神经保护能力^[39]。Buneeva 等^[40]提出了关于 *UCHL1* 在 PD 中作用的新观点,认为 *UCHL1* 的作用取决于其催化活性与众多与活性无关的蛋白质-蛋白质相互作用的平衡。此外,*UCHL1* 的 S-亚硝基化修饰会破坏其结构稳定性,并加重 PD 小鼠模型中 α -Syn 的积累。目前,*UCHL1* 与 PD 之间的关系仍然存在争议,这在一定程度上限制了 *UCHL1* 缺失模型的应用^[41]。

2.3.3 F-盒蛋白 7

F-盒蛋白 7 (F-box protein 7, *FBXO7*) 基因编码 F-盒蛋白家族成员 FBXO7,是 SCF 泛素连接酶复合体的组成部分,参与多种底物的泛素化,并调节线粒体自噬、细胞生长和蛋白酶体功能。*FBXO7* 功能障碍可能会增加线粒体烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化还原指数,降低电子传递链中的复合体 I 活性^[42]。这会导致线粒体膜电位和 ATP 含量降低,同时增加细胞质中活性氧的产生。

FBXO7 第四外显子效应基因敲除小鼠表现出纹状体多巴胺释放异常、运动障碍、蛋白酶体活性降低以及核糖体感应通路抑制减少。这些变化可能会阻碍线粒体自噬,并增加细胞应激^[43]。然而,*FBXO7* 缺陷会导致小鼠发育障碍和早亡。此外,尽管黑质细胞的丢失是不可逆的,但由于代偿机制,纹状体多巴胺纤维的再生几乎完全恢复^[44]。这些情况,加上 *FBXO7* 缺陷比较罕见,因此,很少用到 *FBXO7* 敲除模型。

2.4 线粒体相关基因缺陷模型

线粒体在神经细胞的功能活动中起着核心作用。线粒体合成、线粒体自噬、活性氧释放、钙离子运输、神经炎症等分子事件均与线粒体脱落直接或间接相关。许多 PD 致病基因,如 *SNCA*、*LRRK2*、*VPS35* 和 *GBA*,均与线粒体功能障碍有关。在本节中,只讨论由编码产物表达,并作用于线粒体的基因构建的基因缺陷模型,如 *PINK1*、*DJ-1*、*CHCHD2* 和 *HTRA2*。

2.4.1 *PINK1*

PINK1 编码 PTEN 诱导的激酶 1,是一种主要存在于细胞线粒体和溶质的神经保护激酶。*PINK1* 缺陷小鼠的表型与 *Parkin* 效应基因敲除模型相似,未出现明显的多巴胺神经元损伤。*PINK1* 外显子 4~7 效应基因敲除小鼠在同一模型中表现出多巴胺释放减少和早发性运动和感觉障碍,如肢体缺陷、发声、发音和吞咽受损。*PINK1* 效应基因敲除大鼠表现出明显的运动症状,尤其是口腔和咽喉肌肉的异常运动^[45]。这些运动症状与线粒体损伤的积累有关。*PINK1* 效应基因敲除对线粒体变化特别敏感,表现为雄性不育、凋亡性肌肉变性、线粒体形态异常、昼夜节律改变以及对各种应激(包括氧化应激)的敏感性增加。*PINK1* 缺陷模型的运动症状与线粒体神经元损伤导致的能量供应不足有关。*PINK1* 效应基因敲除果蝇表现出明显的电生理异常。然而,*PINK1* 和 *Parkin* 效应基因敲除不影响果蝇和小鼠的线粒体自噬^[46]。在灵长类动物模型中,单独丢失 *PINK1* 不会改变大脑中线粒体蛋白和形态,但会导致神经元变性。*PINK1* 基因编辑猴模型仅导致黑质中约 40% 的多巴胺神经元丢失,不足以表现出 PD 症状。然而,*PINK1/DJ-1* co-基因编辑猴模型,则可失去超过 64% 的多巴胺神经元,并表现出典型的 PD 症状^[47]。

2.4.2 *DJ-1*

DJ-1 编码 DJ-1 蛋白,属于肽酶 C56 家族,作为氧化应激传感器和抗氧化剂广泛表达于细胞质、细胞核和线粒体中。*DJ-1* 通常被认为是一种神经保护因子,可以增加线粒体解偶联蛋白 UCP4 和 UCP5 的表达,降低线粒体膜电位,抑制活性氧的产生,优化线粒体功能。*DJ-1* 的错义突变,包括 *DJ-1* M26I、*DJ-1* L166P 和 *DJ-1* D149A,可引起多巴胺神经病变^[48]。*DJ-1* 缺陷大鼠模型最早和最显著的症状是运动功能障碍,主要是口腔和肢体运动功能障碍,随后发生进行性多巴胺神经元丢失。*DJ-1* 效应基因敲除果蝇和斑马鱼的多巴胺神经元均未表现出明显损伤,但表现出异常的运动性和对促氧化剂的高敏感性。*DJ-1* 效应基因敲除斑马鱼的蛋白质组学分析显示,*DJ-1* 缺乏会影响线粒体代谢、自噬、应激反应和炎症蛋白^[49]。果蝇 *DJ-1* 缺乏导致氨基酸代谢、碳水化合物代谢、糖酵解、三羧酸循环和尿素循环活性的变化^[50]。

2.4.3 *HTRA2*

HTRA2 编码丝氨酸蛋白酶,存在于线粒体膜间隙中,并监测蛋白质折叠。当受到外界信号刺激时,*HTRA2* 被释放到线粒体基质中,并与凋亡和自噬信号通路相互作用,调节细胞死亡。*HTRA2* 缺陷模型(包括 *HTRA2* 效应基因敲除小鼠和 *HTRA2* S276C 转基因小鼠)最显著的特征是错误折叠蛋白质的聚集,这也证明了 *HTRA2* 在清除异常蛋白质中的重要作用^[51]。由于脑内线粒体中错误折叠

蛋白质的积累, *HTRA2* 效应基因敲除小鼠出现线粒体功能障碍, 活性氧水平升高, C/EBP 同源蛋白表达增强, 对线粒体应激的敏感性增加, 出现多巴胺神经元丢失和运动障碍^[19]。

2.4.4 *CHCHD2*

CHCHD2 编码 coiled-helix-coiled-helix 结构域 2, 主要

位于线粒体膜间隙, 其功能与线粒体嵴的形成密切相关。*CHCHD2* 缺乏会影响线粒体嵴结构, 导致细胞凋亡和氧化磷酸化。*CHCHD2* 效应基因敲除果蝇和小鼠表现出线粒体结构异常和氧呼吸受损, 导致慢性氧化应激、运动功能障碍、多巴胺神经元凋亡等 PD 表现^[52]。

转基因动物模型相关情况汇总见表 2。

表 2 转基因动物模型总结

| 基因类型 | 优点 | 缺点 | 参考文献 |
|----------------|---|----------------------------|---------|
| <i>SNCA</i> | 检测到 α -Syn 聚集和路易小体; 有助于研究 α -Syn 相关疗法 | 没有多巴胺神经元显著丢失; 运动症状出现较晚 | [53-54] |
| <i>LRRK2</i> | 用于富亮氨酸重复激酶 2 靶向抑制剂的药物测试; 为 PD 的潜在治疗靶点提供病理基础。出现多巴胺神经元损伤和运动症状; 增强了对神经毒素的敏感性 | PD 症状的表现不稳定, 未观察到明显的病理特征 | [55] |
| <i>VPS35</i> | 出现多巴胺神经元损伤 | 突变导致的病理机制尚不清楚, PD 症状不明显 | [56-57] |
| <i>ATP13a2</i> | 异常的跨膜溶酶体 p5 型 ATP 酶功能 | 未观察到明显的病理特征或运动症状 | [58-59] |
| <i>GBA</i> | 为增强葡萄糖脑苷脂酶活性的药物提供临床前证据。可观察到神经元损伤和运动症状; 对神经毒素的敏感性增加; 出现溶酶体损伤 | 病理特征不突出; 运动症状不明显 | [60-61] |
| <i>Parkin</i> | 有助于研究 Parkin 的功能; 出现线粒体功能障碍 | 大鼠和小鼠的症状不典型, 而果蝇的症状过于严重 | [62] |
| <i>UCHL1</i> | 出现多巴胺神经元损伤; 泛素-蛋白酶体系统异常 | 病理机制存在争议; 只有在高表达时才会出现明显的特征 | [63-64] |
| <i>FBX07</i> | 出现多巴胺神经元损伤和运动症状; 蛋白酶体功能障碍 | 生长缺陷; 代偿机制掩盖了功能障碍 | [42] |
| <i>PINK1</i> | 有助于研究 PD 中 PINK1/Parkin 通路的关联; 出现明显的运动症状 | 缺乏明显的神经元损伤 | [65-66] |
| <i>DJ-1</i> | 有助于与神经毒素模型结合, 研究与 PINK1/Parkin 通路相关的改变; 出现线粒体功能障碍 | 缺乏黑质神经元退化和路易体 | [67-68] |
| <i>CHCHD2</i> | 出现多巴胺神经元损伤和运动症状; 与线粒体功能密切相关 | 应用较少 | [52,69] |
| <i>HTRA2</i> | 出现多巴胺神经元损伤和运动症状; 与线粒体功能密切相关 | 症状表现多样, 限制了其实际应用 | [70] |

注: α -Syn= α 突触核蛋白; PD=帕金森病。

3 α -Syn 模型

α -Syn 是突触小泡循环的重要蛋白, 其异常聚集可能与 PD 的发生有关。 α -Syn 模型的基础是靶向大鼠、小鼠或非人灵长类动物的黑质或纹状体, 并促进 α -Syn 的过度表达和聚集, 形成路易小体和路易轴突包涵体。 α -Syn 的表达和扩散水平决定了疾病的严重程度, 并引发了可靠的运动障碍和非运动症状。 α -Syn 聚集的倾向基于许多因素, 如翻译后修饰、基因复制和三倍体驱动的过度表达、单点突变和环境变化。有几种方法可以促进 α -Syn 聚集: ①基因修饰; ②蛋白酶体和溶酶体抑制; ③ α -Syn 预形成的纤维(preformed fibrils, PFF); ④AAV 腺病毒载体。

3.1 PFF 诱导模型

PFF 首先由单体重组 α -Syn 生成, PFF 经超声破碎后, 可磷酸化为内源性 α -Syn 而进入病理状态。PFF 是错误折叠的蛋白质的聚集体, 被认为是 PD 发展的主要因素。PFF 诱导的 α -Syn 动物模型是一种用于研究 α -Syn 的 PFF 样聚集体对脑的影响的动物模型, 多用于研究 PD 的病因、发病机制和进展^[71]。此外, 该模型还用于评估 PD 的潜在治疗策略^[7]。然而, PFF 的注射部位在 α -Syn 的接种

和扩散方面具有重要意义。用 PFF 接种啮齿动物肠道会导致中脑多巴胺神经元丢失、 α -Syn 组织病理学和运动功能障碍^[5]。

3.2 RAAV 腺病毒载体

重组腺相关病毒 (recombination adeno-associated virus, RAAV) 载体可作为携带特定基因的载体, 大多数情况下, 不会整合到宿主 DNA 中, 因此不会因随机/非靶标插入而导致基因缺陷。与仅传播几毫米的慢病毒相比, RAAV 颗粒比慢病毒小, 并且在立体定向递送后可以传播到更大的区域。因较小的体积, 还可以在注射体积中产生更高的病毒浓度或滴度。RAAV 可用于过表达野生型或突变型(如 A53T 或 A30P) α -Syn。黑质内局部注射 RAAV 可感染黑质多巴胺神经元, 此种模型促进了 α -Syn 的病理, 可以帮助对 α -Syn 毒性的治疗。此外, 病毒介导的过表达也已被用于研究身体优先型 PD 的反序列传播模式。靶向病毒载体介导的人类突变体 A53T- α -syn 在蓝斑神经元中过度表达, 在 9 周内可引发进行性去甲肾上腺素能神经元变性, 同时导致轴突内广泛表达异构蛋白。该模型有望成为研究 α -Syn 介导的去甲肾上腺素能

变性的动物模型中具有代表性的“异构蛋白”相关模型^[71]。

3.3 乳胞素

天然化合物如放线杆菌产生的乳胞素不可逆转地阻止蛋白酶体的蛋白分解活性,广泛用于蛋白酶体抑制剂模型^[18]。该模型基于使用蛋白酶体抑制剂来扰乱蛋白质稳态,引起并触发黑质多巴胺能神经退行性病变^[72]。啮齿动物因具有高度复杂的神经系统以及便于评估的行为特征,适合作为模式生物来研究蛋白酶体抑制剂的多巴胺能神经毒性。此外,使用转基因小鼠揭示体内蛋白酶体抑制诱导神经变性的新机制。非人类灵长类动物是代表人类中枢神经系统的近似物,对于研究致病机制和在进入临床试验之前验证有希望的治疗药物都是必不可少的^[72]。

4 非运动症状模型

PD以黑质多巴胺神经元的丧失和随后的运动症状为特征,但各种非运动症状往往先于运动症状。Braak的肠道优先假说认为 α -Syn病变可能起源于肠道神经系统,并通过副交感和交感神经连接传播到DMV^[73]。这一假说是基于散发性PD的脑病理分期,其最初的病理是在DMV和嗅核中观察到的。非运动症状作为识别PD前驱期患者的线索受到了广泛关注,这是实施疾病治疗的绝佳切入点。这些前驱的非运动症状主要包括嗅觉丧失、便秘和睡眠障碍。

4.1 肠道优先接种模型

肠道优先接种模型旨在重现沿着迷走神经和交感神经的病理学从肠道到大脑的传播。将PFF或富含路易小体的PD脑匀浆接种到胃肠道(如幽门和近端十二指肠),不仅会诱导迷走神经将注射物质转运到大脑中,而且还会植入内源性反同步蛋白。然而,长期随访的研究发现,异构蛋白积累的缺少,这可能与单次注入致病性反同步蛋白后被分解有关。且使用老年野生型啮齿动物似乎可以更好地概括体优先型PD,并且可能在临床上优化老年患者的诊断和治疗^[73]。

4.2 其他接种途径模型

除了肠道外,还有其他外周途径(肌内、静脉内、鼻内和舌内)。大多数研究采用M83转基因小鼠模型,该模型表达具有A53T突变的人类异构蛋白,纯合M83小鼠从8个月大开始出现运动缺陷^[74]。一些研究还使用表达由小鼠朊病毒蛋白启动子驱动的野生型人类反义蛋白的M20转基因小鼠,这些小鼠从6月龄起也会出现运动障碍。肌内注射较静脉注射以及口服诱导PD病理的效率更高^[75]。这些模型能够在明显疾病阶段(而不是前驱疾病阶段)对新型PD疗法进行更快速、更具成本效益的临床前测试。最近的研究重点是对运动前身体优先型PD进行建模,其特点是存在非运动障碍,且缺乏运动症状。

5 组合模型

PD的病理机制复杂,单一的动物模型往往难以全面模拟人类疾病的特征。近年来,组合模型的开发为研究PD提供了更接近人类病理的平台。将神经毒素应用于基因操纵的动物的组合模型已经开始使用,这些模型是基于一些遗传模型更容易受到神经毒素的影响而建立的。如MPTP在*DJ-1*基因敲除小鼠中比在野生型小鼠中诱导更多的神经元丢失。这样的实验可能有助于捕捉PD的多方面性质,并可能揭示与PD相关的基因突变^[4]。此外,通过将 α -Syn PFF注射到小鼠脑内,并结合低剂量的MPTP处理,可以显著增强 α -Syn的传播,增加蛋白酶K抵抗性纤维的形成,并导致黑质多巴胺神经元的死亡。这种组合模型不仅能够模拟PD的病理特征,还能在较短时间内用于测试抑制 α -Syn传播的潜在治疗分子^[7]。

6 非人类灵长类动物模型

非人类灵长类动物在基因组成和生理功能方面与人类有着相似之处,能更好地帮助理解和洞察潜在的疾病机制,是进行临床前治疗评估的优越模型。但该模型的使用受到伦理问题、费用以及管理所需的精力和劳动力的限制。常用的非人类灵长类动物包括猕猴、狨猴、松鼠猴、狒狒和非洲绿猴。与其他动物模型类似,PD可以通过神经毒素(MPTP、6-OHDA等)或转基因干预在非人类灵长类动物中诱导。转基因干预包括注射编码 α -Syn和*LRK2*(常染色体显性基因)过表达的病毒载体,以及敲除或敲低*PINK1*、*Parkin*和*DJ-1*(常染色体隐性基因)的模型。非人类灵长类动物模型可表现出与人类相似的疾病症状(如舞蹈病或肌张力障碍)。除此之外,非人类灵长类动物还有与人类相似的睡眠模式和周期^[7]。在这些方面,与啮齿类动物相比,非人类灵长类动物是更好的动物模型。神经成像研究和分析表明,非人类灵长类动物模型是高度可信的,且与其他模型相比,只能在非人类灵长类动物中可观察到路易小体。

7 新兴模型

人类诱导多能干细胞(human induced pluripotent stem cell, hiPSC)技术为PD的研究和治疗提供了重要的平台。hiPSC技术能够从PD患者的体细胞中生成具有患者特异性的多能干细胞,进而分化为多巴胺神经元,且hiPSC衍生的多巴胺神经元能够表现出PD的典型病理特征。hiPSC诱导的模型不仅有助于研究PD的病理机制,还是大规模药物筛选的理想选择,可以帮助缩小潜在的药物靶点,以便在动物模型中进一步验证^[74]。研究表明,hiPSC衍生的多巴胺神经元在动物模型中能够存活并形成功能性连接,显著改善动物的运动功能,这为PD的细胞替代疗法提供了可能^[74]。此外,自体hiPSC衍生的细胞移植能够避免免疫排斥反应,为PD的个性化治疗提供了新的方向。然而,hiPSC的局限性是存在个体间的明显

差异,且培育时间较长,更易发生突变。体细胞的直接神经转化技术可以解决上述问题。与hiPSC生成相比,直接神经元转换技术要快得多,大约3周的时间可从起始细胞产生诱导性神经细胞。但其也具有转化效率低、产生的细胞异质性、转化的细胞可能仍然保留起始体细胞的一些表观遗传记忆等局限性^[76]。

类器官模型是一种三维细胞培养系统,利用hiPSC进一步开发了中脑类器官,这些类器官能够模拟中脑的发育和功能,特别是多巴胺的生成,也为PD的病理研究提供了更接近人类生理的模型^[77]。中脑类器官可用于构建PD的遗传模型和毒素模型。如引入*PINK1*^[78]和*GBA*^[79]等基因突变,能够在中脑类器官中模拟PD的病理特征,并探索PD对神经元功能的影响。此外,中脑类器官还可用于药物筛选。Kim等^[80]的研究表明,通过使用一种富亮氨酸重复激酶2活性抑制剂(GSK2578215A)进行治疗,或者通过敲低硫氧还蛋白相互作用蛋白的表达,均可减少*LRKK2 G2019S*突变的中脑类器官中 α -Syn的积累。Jarazo等^[81]也发现,使用羟丙基- β -环糊精化合物进行治疗可改善*PINK1*和*PRKN*基因突变的中脑类器官中多巴胺神经元的分化。

Kim等^[80]开发了一种光遗传学辅助的 α -Syn聚集诱导系统,通过将光敏蛋白引入神经元,实现了对神经元活动的精确控制。该系统还被用于研究PD中神经调控的潜力,能够进一步探索其对运动功能障碍的影响,为开发新型神经调控疗法提供了理论基础。此外,该系统可在PD的hiPSC-中脑多巴胺神经元和中脑类器官中快速诱导 α -Syn聚集和毒性,以筛选出能够增强自噬清除病理 α -Syn聚集的化合物^[81]。

8 小结与展望

目前,PD的发病机制仍不明确,不可逆性神经退行性病变更无法有效缓解。现在还没有动物模型可以概括这一复杂疾病的所有方面。神经毒素诱导的动物模型仍然是研究的重要工具,能够模拟多巴胺神经元的退化和运动障碍。转基因模型通过模拟PD相关基因突变,为研究疾病机制提供了重要工具,也为发现潜在治疗靶点提供了分子基础。 α -Syn模型可见明显的 α -Syn聚集,对研究 α -Syn传播机制及潜在治疗方法有独特优势。组合模型通过结合多种诱导因素,更全面地模拟PD的病理及运动特征。非运动症状模型有望在疾病前期发现有效的生物标志物及治疗方法,阻止疾病的进一步恶化。新兴模型如hiPSC、中脑类器官提供了更接近人类生理的病理模型,为个性化治疗提供了新的方向。未来的动物模型可以利用hiPSC和基因编辑技术,开发针对个体患者的PD模型,以更好地模拟患者的病理特征和药物反应。此外,还可以将神经毒素模型、转基因模型、类器官模型和光遗传学技术等相结合,更全面地模拟PD的复杂病理机制。

参 考 文 献

[1] MORRIS HR, SPILLANTINI MG, SUE CM, et al. The

pathogenesis of Parkinson's disease[J]. *Lancet*, 2024, 403 (10423): 293-304.

- [2] ORTEGA MORENO L, BAGUES A, MARTÍNEZ V, et al. New pieces for an old puzzle: approaching Parkinson's disease from translatable animal models, gut microbiota modulation, and lipidomics[J]. *Nutrients*, 2023, 15(12): 2775.
- [3] BANERJEE R, RAI A, IYER SM, et al. Animal models in the study of Alzheimer's disease and Parkinson's disease: a historical perspective[J]. *Animal Model Exp Med*, 2022, 5(1): 27-37.
- [4] KIN K, YASUHARA T, KAMEDA M, et al. Animal models for Parkinson's disease research: trends in the 2000s[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(21): 5402.
- [5] DOVONOU A, BOLDUC C, SOTO LINAN V, et al. Animal models of Parkinson's disease: bridging the gap between disease hallmarks and research questions[J]. *Transl Neurodegener*, 2023, 12(1): 36.
- [6] MUSTAPHA M, TAIB CNMAT. MPTP-induced mouse model of Parkinson's disease: a promising direction of therapeutic strategies[J]. *Bosn J Basic Med Sci*, 2021, 21(4): 422-433.
- [7] KHAN E, HASAN I, HAQUE ME. Parkinson's disease: exploring different animal model systems[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(10): 9088.
- [8] TAGUCHI T, IKUNO M, YAMAKADO H, et al. Animal model for prodromal Parkinson's disease[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(6): 1961.
- [9] CASANOVA Y, NEGRO S, BARCIA E. Application of neurotoxin- and pesticide-induced animal models of Parkinson's disease in the evaluation of new drug delivery systems[J]. *Acta Pharm*, 2022, 72(1): 35-58.
- [10] GRANDI LC, DI GIOVANNI G, GALATI S. Animal models of early-stage Parkinson's disease and acute dopamine deficiency to study compensatory neurodegenerative mechanisms[J]. *J Neurosci Methods*, 2018, 308: 205-218.
- [11] FAN YH, LI MZ, WU CX, et al. Chronic cerebral hypoperfusion aggravates Parkinson's disease dementia-like symptoms and pathology in 6-OHDA-lesioned rat through interfering with sphingolipid metabolism[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022: 5392966.
- [12] CIESIELSKA A, MATYJEK M, KWIATKOWSKA K. TLR4 and CD14 trafficking and its influence on LPS-induced pro-inflammatory signaling[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2021, 78(4): 1233-1261.
- [13] RYU JK, KIM SJ, RAH SH, et al. Reconstruction of LPS transfer cascade reveals structural determinants within LBP, CD14, and TLR4-MD2 for efficient LPS recognition and transfer[J]. *Immunity*, 2017, 46(1): 38-50.
- [14] TSUKAMOTO H, TAKEUCHI S, KUBOTA K, et al. Lipopolysaccharide (LPS)-binding protein stimulates CD14-dependent toll-like receptor 4 internalization and LPS-induced TBK1-IKK ϵ -IRF3 axis activation[J]. *J Biol Chem*, 2018, 293 (26): 10186-10201.
- [15] GARCÍA-REVILLA J, HERRERA AJ, DE PABLOS RM, et al. Inflammatory animal models of Parkinson's disease[J]. *J*

- Parkinsons Dis, 2022, 12(S1): S165-S182.
- [16] JOERS V, TANSEY MG, MULAS G, et al. Microglial phenotypes in Parkinson's disease and animal models of the disease[J]. Prog Neurobiol, 2017, 155: 57-75.
- [17] CHIA SJ, TAN EK, CHAO YX. Historical perspective: models of Parkinson's disease[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(7): 2464.
- [18] REAL CC, BINDA KH, THOMSEN MB, et al. Selecting the best animal model of Parkinson's disease for your research purpose: insight from *in vivo* PET imaging studies[J]. Curr Neuropharmacol, 2023, 21(5): 1241-1272.
- [19] ZHANG CT, CHEN SY, LI XY, et al. Progress in Parkinson's disease animal models of genetic defects: characteristics and application[J]. Biomed Pharmacother, 2022, 155: 113768.
- [20] ZHANG SF, XIAO Q, LE WD. Olfactory dysfunction and neurotransmitter disturbance in olfactory bulb of transgenic mice expressing human A53T mutant α -synuclein[J]. PLoS One, 2015, 10(3): e0119928.
- [21] CHESSELET MF, RICHTER F, ZHU CN, et al. A progressive mouse model of Parkinson's disease: the Thy1-aSyn ("Line 61") mice[J]. Neurotherapeutics, 2012, 9(2): 297-314.
- [22] JANEZIC S, THRELFELL S, DODSON PD, et al. Deficits in dopaminergic transmission precede neuron loss and dysfunction in a new Parkinson model[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2013, 110(42): E4016-E4025.
- [23] NIXON RA, RUBINSZTEIN DC. Mechanisms of autophagy - lysosome dysfunction in neurodegenerative diseases[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2024, 25(11): 926-946.
- [24] BOURDENX M, DEHAY B. What lysosomes actually tell us about Parkinson's disease?[J]. Ageing Res Rev, 2016, 32: 140-149.
- [25] LIN X, PARISIADOU L, GU XL, et al. Leucine - rich repeat kinase 2 regulates the progression of neuropathology induced by Parkinson's disease related mutant alpha-synuclein[J]. Neuron, 2009, 64(6): 807-827.
- [26] DAWSON TM, KO HS, DAWSON VL. Genetic animal models of Parkinson's disease[J]. Neuron, 2010, 66(5): 646-661.
- [27] YAO C, KHOURY REL, WANG W, et al. LRRK2 - mediated neurodegeneration and dysfunction of dopaminergic neurons in a *Caenorhabditis elegans* model of Parkinson's disease[J]. Neurobiol Dis, 2010, 40(1): 73-81.
- [28] NIU MY, ZHAO FP, BONDELID K, et al. VPS35 D620N knockin mice recapitulate cardinal features of Parkinson's disease[J]. Aging Cell, 2021, 20(5): e13347.
- [29] JOHNSON ME, BERGKVIST L, STETZIK L, et al. Heterozygous GBA D409V and ATP13a2 mutations do not exacerbate pathological α -synuclein spread in the prodromal preformed fibrils model in young mice[J]. Neurobiol Dis, 2021, 159: 105513.
- [30] ROH J, SUBRAMANIAN S, WEINREB NJ, et al. Gaucher disease: more than just a rare lipid storage disease[J]. J Mol Med, 2022, 100(4): 499-518.
- [31] SANCHEZ - MARTINEZ A, BEAVAN M, GEGG ME, et al. Parkinson disease - linked GBA mutation effects reversed by molecular chaperones in human cell and fly models[J]. Sci Rep, 2016, 6: 31380.
- [32] YUN SP, KIM D, KIM S, et al. α -Synuclein accumulation and GBA deficiency due to L444P GBA mutation contributes to MPTP - induced parkinsonism[J]. Mol Neurodegener, 2018, 13(1): 1.
- [33] OLGUÍN HC. The gentle side of the UPS: ubiquitin-proteasome system and the regulation of the myogenic program[J]. Front Cell Dev Biol, 2022, 9: 821839.
- [34] LIANG Y, ZHONG GS, REN MX, et al. The role of ubiquitin-proteasome system and mitophagy in the pathogenesis of Parkinson's disease[J]. Neuromolecular Med, 2023, 25(4): 471-488.
- [35] DAVE KD, DE SILVA S, SHETH NP, et al. Phenotypic characterization of recessive gene knockout rat models of Parkinson's disease[J]. Neurobiol Dis, 2014, 70: 190-203.
- [36] PUKAß K, RICHTER - LANDSBERG C. Inhibition of UCH - L1 in oligodendroglial cells results in microtubule stabilization and prevents α - synuclein aggregate formation by activating the autophagic pathway: implications for multiple system atrophy[J]. Front Cell Neurosci, 2015, 9: 163.
- [37] TRAN HH, DANG SNA, NGUYEN TT, et al. *Drosophila* ubiquitin C-terminal hydrolase knockdown model of Parkinson's disease[J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 4468.
- [38] JARA JH, GENÇ B, COX GA, et al. Corticospinal motor neurons are susceptible to increased ER stress and display profound degeneration in the absence of UCHL1 function[J]. Cereb Cortex, 2015, 25(11): 4259-4272.
- [39] XILOURI M, KYRATZI E, PITYCHOUTIS PM, et al. Selective neuroprotective effects of the S18Y polymorphic variant of UCH - L1 in the dopaminergic system[J]. Hum Mol Genet, 2012, 21(4): 874-889.
- [40] BUNEEVA O, MEDVEDEV A. Ubiquitin carboxyl - terminal hydrolase L1 and its role in Parkinson's disease[J]. Int J Mol Sci, 2024, 25(2): 1303.
- [41] LIU Y, CHEN YY, LIU H, et al. Association between ubiquitin carboxy - terminal hydrolase - L1 S18Y variant and risk of Parkinson's disease: the impact of ethnicity and onset age[J]. Neurol Sci, 2015, 36(2): 179-188.
- [42] SPAGNOL V, OLIVEIRA CAB, RANDLE SJ, et al. The E3 ubiquitin ligase SCF(Fbxo7) mediates proteasomal degradation of UXT isoform 2 (UXT - V2) to inhibit the NF - κ B signaling pathway[J]. Biochim Biophys Acta Gen Subj, 2021, 1865(1): 129754.
- [43] STOTT SR, RANDLE SJ, RAWI SAL, et al. Loss of FBXO7 results in a Parkinson's - like dopaminergic degeneration via an RPL23 - MDM2 - TP53 pathway[J]. J Pathol, 2019, 249(2): 241-254.
- [44] VINGILL S, BROCKELT D, LANCELIN C, et al. Loss of

- FBX07 (PARK15) results in reduced proteasome activity and models a parkinsonism-like phenotype in mice[J]. *EMBO J*, 2016, 35(18): 2008-2025.
- [45] GRANT LM, KELM-NELSON CA, HILBY BL, et al. Evidence for early and progressive ultrasonic vocalization and oromotor deficits in a *Pink1* gene knockout rat model of Parkinson's disease[J]. *J Neurosci Res*, 2015, 93(11): 1713-1727.
- [46] MCWILLIAMS TG, PRESCOTT AR, MONTAVA-GARRIGA L, et al. Basal mitophagy occurs independently of PINK1 in mouse tissues of high metabolic demand[J]. *Cell Metab*, 2018, 27(2): 439-449.e5.
- [47] YANG WL, GUO XY, TU ZC, et al. PINK1 kinase dysfunction triggers neurodegeneration in the primate brain without impacting mitochondrial homeostasis[J]. *Protein Cell*, 2022, 13(1): 26-46.
- [48] NEVES M, GRÃOS M, ANJO SI, et al. Modulation of signaling pathways by DJ-1: an updated overview[J]. *Redox Biol*, 2022, 51: 102283.
- [49] SOLANA-MANRIQUE C, SANZ FJ, TORREGROSA I, et al. Metabolic alterations in a *Drosophila* model of Parkinson's disease based on *DJ-1* deficiency[J]. *Cells*, 2022, 11(3): 331.
- [50] CHUNG HJ, JAMAL MAHM, HONG ST. The function of bacterial HtrA is evolutionally conserved in mammalian HtrA2/Omi[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 5284.
- [51] SATO S, NODA S, TORII S, et al. Homeostatic p62 levels and inclusion body formation in CHCHD2 knockout mice[J]. *Hum Mol Genet*, 2021, 30(6): 443-453.
- [52] HONG JS, LI Y, CHEN L, et al. A53T α -synuclein mutation increases susceptibility to postoperative delayed neurocognitive recovery via hippocampal Ang-(1-7)/MasR axis[J]. *Biochem Pharmacol*, 2024, 224: 116261.
- [53] KRZISCH M, YUAN BB, CHEN WY, et al. The A53T mutation in α -synuclein enhances proinflammatory activation in human microglia upon inflammatory stimulus[J]. *Biol Psychiatry*, 2025, 97(7): 730-742.
- [54] RIVERO-RÍOS P, ROMO-LOZANO M, MADERO-PÉREZ J, et al. The G2019S variant of leucine-rich repeat kinase 2 (LRRK2) alters endolysosomal trafficking by impairing the function of the GTPase RAB8A[J]. *J Biol Chem*, 2019, 294(13): 4738-4758.
- [55] DAI LJ, LIU M, KE W, et al. Lysosomal dysfunction in α -synuclein pathology: molecular mechanisms and therapeutic strategies[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2024, 81(1): 382.
- [56] BHARDWAJ K, JHA A, ROY A, et al. The crucial role of VPS35 and SHH in Parkinson's disease: understanding the mechanisms behind the neurodegenerative disorder[J]. *Brain Res*, 2024, 1845: 149204.
- [57] JIANG M, TU HT, ZHANG K, et al. Impaired neurogenesis in the hippocampus of an adult VPS35 mutant mouse model of Parkinson's disease through interaction with app[J]. *Neurobiol Dis*, 2021, 153: 105313.
- [58] DEMIRSOY S, MARTIN S, MOTAMEDI S, et al. ATP13A2/PARK9 regulates endo-/lysosomal cargo sorting and proteostasis through a novel PI(3, 5)P2-mediated scaffolding function[J]. *Hum Mol Genet*, 2017, 26(9): 1656-1669.
- [59] AVENALI M, BLANDINI F, CERRI S. Glucocerebrosidase defects as a major risk factor for Parkinson's disease[J]. *Front Aging Neurosci*, 2020, 12: 97.
- [60] SMITH L, SCHAPIRA AHV. GBA variants and Parkinson disease: mechanisms and treatments[J]. *Cells*, 2022, 11(8): 1261.
- [61] SHOLA-DARE O, BAILESS S, FLORES CC, et al. Glitazone treatment rescues phenotypic deficits in a fly model of Gaucher/Parkinson's disease[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(23): 12740.
- [62] ANOAR S, WOODLING NS, NICCOLI T. Mitochondria dysfunction in frontotemporal dementia/amyotrophic lateral sclerosis: lessons from *Drosophila* models[J]. *Front Neurosci*, 2021, 15: 786076.
- [63] KUMAR R, JANGIR DK, VERMA G, et al. S-nitrosylation of UCHL1 induces its structural instability and promotes α -synuclein aggregation[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 44558.
- [64] ULLAH I, UDDIN S, ZHAO LH, et al. Autophagy and UPS pathway contribute to nicotine-induced protection effect in Parkinson's disease[J]. *Exp Brain Res*, 2024, 242(4): 971-986.
- [65] ARENA G, VALENTE EM. PINK1 in the limelight: multiple functions of an eclectic protein in human health and disease[J]. *J Pathol*, 2017, 241(2): 251-263.
- [66] BONILHA VL, BELL BA, RAYBORN ME, et al. Loss of DJ-1 elicits retinal abnormalities, visual dysfunction, and increased oxidative stress in mice[J]. *Exp Eye Res*, 2015, 139: 22-36.
- [67] SANCHEZ CA, BROUGHER J, KRISHNAN DG, et al. Longitudinal assessment of skilled forelimb motor impairments in DJ-1 knockout rats[J]. *Behav Brain Res*, 2022, 424: 113774.
- [68] WANG F, LIU XZ, CHEN MY, et al. Neuroprotective role of CHCHD2 in Parkinson's disease: insights into the GPX4-related ferroptosis pathway[J]. *Free Radic Biol Med*, 2025, 226: 348-363.
- [69] SU XJ, HUANG LY, QU Y, et al. Progress in research on the role of Omi/HtrA2 in neurological diseases[J]. *Rev Neurosci*, 2019, 30(3): 279-287.
- [70] POLINSKI NK, LAVOLPICELLI-DALEY, SORTWELL CE, et al. Best practices for generating and using alpha-synuclein pre-formed fibrils to model Parkinson's disease in rodents[J]. *J Parkinsons Dis*, 2018, 8(2): 303-322.
- [71] BENTEA E, VERBRUGGEN L, MASSIE A. The proteasome inhibition model of Parkinson's disease[J]. *J Parkinsons Dis*, 2017, 7(1): 31-63.
- [72] VAN DEN BERGE N, ULUSOY A. Animal models of brain-first and body-first Parkinson's disease[J]. *Neurobiol Dis*, 2022, 163: 105599.
- [73] CHA Y, PARK TY, LEBLANC P, et al. Current status and future perspectives on stem cell-based therapies for Parkinson's disease[J]. *J Mov Disord*, 2023, 16(1): 22-41.
- [74] Straumann N, Combes BF, Dean Ben XL, et al. Visualizing

- alpha-synuclein and iron deposition in M83 mouse model of Parkinson's disease *in vivo*[J]. *Brain Pathol*, 2024, 34(6): e13288.
- [75] Jerčić KG, Blažeković A, Borovečki S, et al. Non-motor symptoms of Parkinson's disease: insights from genetics[J]. *J Neural Transm (Vienna)*, 2024, 131(11): 1277-1284.
- [76] GHATAK S, TRUDLER D, DOLATABADI N, et al. Parkinson's disease: what the model systems have taught us so far[J]. *J Genet*, 2018, 97(3): 729-751.
- [77] CUI X, LI XW, ZHENG HM, et al. Human midbrain organoids: a powerful tool for advanced Parkinson's disease modeling and therapy exploration[J]. *NPJ Parkinsons Dis*, 2024, 10(1): 189.
- [78] ELDEEB MA, BAYNE AN, FALLAHI A, et al. Tom20 gates PINK1 activity and mediates its tethering of the TOM and TIM23 translocases upon mitochondrial stress[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2024, 121(10): e2313540121.
- [79] ROSETY I, ZAGARE A, SARAIVA C, et al. Impaired neuron differentiation in GBA-associated Parkinson's disease is linked to cell cycle defects in organoids[J]. *NPJ Parkinsons Dis*, 2023, 9(1): 166.
- [80] KIM H, PARK HJ, CHOI H, et al. Modeling G2019S-LRRK2 sporadic Parkinson's disease in 3D midbrain organoids[J]. *Stem Cell Reports*, 2019, 12(3): 518-531.
- [81] JARAZO J, BARMBA K, MODAMIO J, et al. Parkinson's disease phenotypes in patient neuronal cultures and brain organoids improved by 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin treatment[J]. *Mov Disord*, 2022, 37(1): 80-94.

责任编辑: 龚学民