

DOI: 10.13376/j.cblls/2014081

文章编号: 1004-0374(2014)06-0560-11



王晓民, 医学博士, 首都医科大学生理学与病理学系教授, 博士生导师; 现任首都医科大学副校长, 神经生物学系主任、教育部神经变性病重点实验室主任、北京市脑重大疾病重点实验室-省部共建国家重点实验室主任、北京脑重大疾病研究院院长; 兼任中国生理学会理事长, 《转化医学研究》主编、《中华神经医学杂志》、《基础医学与临床》副主编等职。先后任科技部 973 计划“神经变性病的机制和防治的基础研究”与“帕金森病发病机制及防治策略的研究”两个 973 项目的首席科学家。目前主要研究方向为药物(中药和海洋药物)、电针、基因和干细胞对神经变性病的防治及发病机制研究。

帕金森病研究进展

张丽娟, 邵海涛, 王跃秀, 王晓民*

(首都医科大学北京脑重大疾病研究院, 北京 100069)

摘要: 帕金森病 (Parkinson's disease, PD) 是一种多发于中老年期的, 以黑质多巴胺能神经元选择性变性为主要病理改变的神经系统退行性疾病。目前, 对该病的病因和发病机制还不清楚, 尚未建立特异的、灵敏的预警和早期诊断体系以及确切有效的神经保护和治疗的方法。PD 的发病与人口老龄化密切相关, 随着我国老龄化社会的到来, PD 发病率不断增加, 给社会和经济都带来严重的危害, 因此, 越来越受到国家和政府的关注。本世纪以来, 科技部先后设立“神经变性病的机制和防治的基础研究”以及“帕金森病发病机制及防治策略的研究”两个 973 计划项目, 以求系统、深入研究 PD 的病因, 神经元选择性、进行性变性死亡的关键机制以及寻找能延缓或阻断疾病的药物等防治新策略, 期望推动我国的 PD 研究, 为建立 PD 防治的新理论、新策略和新技术等奠定扎实的基础。对这两个 973 项目 PD 研究团队的主要原创性工作进行综述。

关键词: 帕金森病; 发病机制; 非运动症状; 诊断; 治疗策略

中图分类号: Q75; R742 **文献标志码:** A

Progress in Parkinson's disease

ZHANG Li-Juan, SHAO Hai-Tao, WANG Yue-Xiu, WANG Xiao-Min*

(Beijing Institute for Brain Disorders, Capital Medical University, Beijing 100069, China)

Abstract: Parkinson's disease (PD) is a progressive neurodegenerative disorder, characterized by degeneration of dopamine-containing neurons located in substantia nigra. Up to now, the specific etiology and pathogenesis of PD are unknown. There has not yet a specific, sensitive predictive and early diagnostic system, and treatment is basically symptomatic. The incidence of PD is rising with the increase of aging population, and bringing great challenge to society and economy. So our country and government pay more and more attention to PD research. The Ministry of Science and Technology of China has approved two 973 projects, *the Research of Pathogenesis and*

收稿日期: 2014-05-25

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(“973”项目)(2011CB504100)

*通信作者: E-mail: xmwang@ccmu.edu.cn

Treatment Strategy on Neurodegenerative Disease and the Research of Pathogenesis and Treatment Strategies on PD. The review mainly focuses on the etiology, pathogenesis, early diagnostic system and treatment strategies of PD. All the results will contribute to the progress of our country's PD research.

Key words: Parkinson's disease; pathogenesis; non-motor symptoms; diagnosis; treatment strategies

帕金森病 (Parkinson's disease, PD) 由英国医生 James Parkinson 于 1817 年首次报道, 是一种多发于中老年人、以运动障碍为主要表现的神经系统退变性疾病。PD 的主要病理改变是黑质致密部多巴胺 (dopamine, DA) 能神经元变性、死亡, 残存神经元胞浆内嗜酸性包涵体即路易小体形成。该病典型临床症状为静止性震颤、肌僵直、运动迟缓和姿势平衡障碍。

根据 2010 年国家民政部统计, 从 2009 年开始, 我国人口老龄化进入了快速发展阶段, 到 2050 年左右即进入重度老龄化社会, 老年人口将占总人口 30% 以上, 而 80 岁以上老人将占 10%。而 PD 的发生与人口老龄化有着密切的关系, 随着老龄人口的增加, PD 患者的数量也将迅速增加。据估计, 到 2050 年我国 PD 患者的人数将由现在的 200 多万增加至将近 800 万。由于这类疾病病程长、致残率高、缺乏有效治愈手段, 患者、家庭和社会的经济负担极其沉重, 因此, 无论是从社会学角度还是从市场经济角度, PD 已经成为影响我国人口健康水平和生活质量、阻碍经济持续发展的重大社会问题。解决 PD 的问题已经到了刻不容缓的地步。

为此, 我国政府对 PD 的研究给予了极大的关注和支持。在 2006 年和 2011 年, 科技部连续设立《神经变性病的机制和防治的基础研究》以及《帕金森病发病机制及防治策略的研究》两个 973 项目, 由首都医科大学王晓民教授作为首席科学家, 联合了国内十多家优势单位的二十多位中青年科学家组成研究团队。该团队由全职在国内工作的中青年研究人员组成, 是我国在 PD 研究领域中的中坚力量。两个 973 项目在研究内容上具有延续性, 随着研究的不断深入, 研究内容也不断调整和凝练, 使其更贴近国际上 PD 的研究热点以及在 PD 诊疗中遇到的实际问题。经过 8 年多的研究, PD 研究团队组建了世界上最大的 PD 患者临床样本库及社区老年队列, 提出了多项新的理论和假说, 填补了国内分子影像探针合成技术上的空白, 在国内外期刊上发表大量的原创性工作, 使我国在 PD 研究领域的工作总体上接近, 并在某些领域达到了世界先进水平。

本文将两个 973 项目为主线, 对 PD 研究团

队在 PD 病因学、发病机制、诊疗学方面的主要原创性工作综述, 旨在为我国学者进一步开展高水平的 PD 研究提供良好的基础和进一步合作的契机。

1 老化、环境及遗传因素在 PD 发病中的作用研究

PD 的病因至今不清, 目前认为与老化、环境和遗传因素相关。首先, 人口老龄化是导致 PD 发病率增加的重要因素。流行病学调查显示, 55 岁以上人口 PD 患病率为 1.4%, 而在 75 岁以上人口中达 3.4%^[1]。目前研究表明在老年个体中, DA 能神经元的数量随年龄增长而呈减少趋势, 脑内多巴胺转运体 (dopamine transporter, DAT) 和 DA 受体表达下降, 纹状体 DA 水平明显降低^[2]。同时, 老化还可引起神经营养因子与细胞炎性因子失衡^[3], 对诱导机体产生细胞炎性因子的物质更具易感性^[4]。其次, 流行病学研究资料表明, 很多环境因素可以增加 PD 的发病风险。常见的环境因素包括农药、杀虫剂、工业化学物品和一些微量金属等污染。对吸毒人群中 PD 患者的研究发现, 1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶 (1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine, MPTP) 可能是与 PD 发生关系最密切的神经毒素。此外, 百草枯和鱼藤酮也可引起 DA 能神经元选择性缺失^[5]。

在老化因素、环境暴露与遗传缺陷诱发因素中, 遗传易感性是 PD 发生的基础。PD 的遗传方式分为家族性和散发性两种。其中家族性 PD 只占到发病总人数的 10%~15%, 都具有明确的致病基因。而对于绝大多数散发 PD 而言, 是由遗传、环境和老化因素共同作用导致的, 虽然没有明显的遗传倾向, 但表现为某种遗传易感性, 某些基因的多态性改变将导致发病风险的提高。PD 遗传学研究对于深入了解 PD 的发生、发展具有非常重要的作用。此外, 由于遗传背景和环境不同, 不同种族和地区之间的致病基因及多态性位点存在一定的差异, 国外的研究结果并不一定适用于我国。因此, 利用我国丰富的病例资源, 开展基因筛查, 了解国人特有的遗传背景是很有必要的。目前, PD 研究团队已经在大

样本基础上系统分析了中国人 PD 相关基因 (如 *PARKIN*、*DJ-1*、*PINK-1*、*LRRK2* 等) 突变特点和分布规律, 发现了新的基因突变遗传模式以及多基因相互作用方式等, 这些结果将有助于了解疾病的遗传背景, 提高对 PD 易感人群的预测能力, 寻找可用于早期诊断的生物标记物, 以达到早期诊断、早期干预, 降低发病率的的目的。

1.1 PD 致病基因突变特点及遗传模式的研究

唐北沙课题组对 30 个常染色体隐性遗传早发性 PD 家系进行了 *PARKIN*、*PINK1*、*DJ-1*、*ATP13A2* 等致病基因的突变检测, 对 109 个散发早发性 PD 患者进行了 *PARKIN*、*PINK1*、*DJ-1* 等致病基因的突变检测, 发现了 11 种新的致病突变 (*PARKIN* 基因的 G859T、1069-1074delGTGTCC、IVS1-39 G→T 和 IVS9+18 C→T 和 T1422C, *PINK1* 基因的 C938T、C1474T、C1013G 和 C1196T, *DJ-1* 基因的 G115T 和 T29C), 得出了 *PARKIN*、*PINK1*、*DJ-1*、*ATP13A2* 等基因在中国常染色体隐性遗传早发性 PD 家系中的突变率分别为 46.7%、10%、6.7%、0%, 而 *PARKIN*、*PINK1*、*DJ-1* 等基因在中国散发早发性 PD 患者中的突变率分别为 5.5%、0.9%、0%^[6]。对 15 个常染色体显性和隐性遗传 PD 家系和 495 名散发性 PD 患者及 275 名正常对照进行 *LRRK2* 基因分析, 发现 19 号外显子的 Pro755Leu 突变是中国人特有突变, 该突变在散发的典型性 PD 患者中发生率约 1.3%^[7]。据报道, 该突变在欧洲和北美人群中的家族性 PD 中频率达 5%~10%, 说明欧美 PD 患者常见的 *LRRK2* 基因 Gly2019Ser 突变在中国汉族人群中罕见。而对 539 例遗传性晚发性 PD 患者 *PINK1* 基因的研究表明, A340T 多态性可能是晚发性 PD 的危险因素^[8]。此外, 唐北沙课题组首次在一个常染色体隐性遗传早发 PD 家系中发现了 *DJ-1* (A39S) 和 *PINK1* (P399L) 双基因杂合突变的致病模式, 并且通过细胞学功能研究进一步证明, 野生型 *DJ-1* 通过与 *PINK1* 蛋白 N 端 253~334 氨基酸残基相互作用, 增加 *PINK1* 的稳定性, 而突变型 *DJ-1* 和 *PINK1* 将丧失对 MPP⁺ 诱导的氧化应激的保护作用, 从而增加 MPP⁺ 诱导的 DA 能神经元的凋亡, 为 PD 的发病机制提供新的研究模式^[9]。

1.2 PD 易感基因筛查及多基因作用模式研究

流行病学调查结果显示约 5%~10% 的 PD 患者有家族史, 虽然所占的比例很少, 但已有证据表明这些家族性 PD 致病基因可能在散发性 PD 中也占有重要的地位, 这些基因所编码的蛋白质的功能

涉及细胞生理过程的多个方面, 如突触囊泡、线粒体、溶酶体、蛋白质降解、氧化应激、转录调控等, 提示它们也可能通过同样的机制在散发性 PD 的发病中起着重要作用。为此, 陈彪课题组对 2013 例 PD 患者和 1971 例健康人群的 *PINK1*、*HTRA2*、 α -*SYN*、*UCH-L1*、*LRRK2*、*pitx3*、*GBA* 和 *MAPT* 等 PD 相关基因的多态性进行了患病风险分析, 发现 *LRRK2*-G2385R、*SNCA*-rs356165、*GBA*-L444P 等突变/多态性可单独增加 PD 风险, 并且中国人风险位点与欧美人不同。此外, 对相关基因各个多态性位点进行联合分析, 结果发现 *GBA*-L444P 为低频高风险位点, 其在正常人中分布频率约在 0.2%, PD 风险 OR 值可高达 12.90, 而 *LRRK2*、*SNCA* 和 *MAPT* 的多态性位点均为高频低风险位点, 在正常人中分布频率较高, 但对于 PD 发病风险, 其 OR 值均不超过 2.1。进一步研究表明当只携带 *LRRK2* 突变时, PD 发病风险 OR 值为 1.96, 而在同时携带 *LRRK2* 突变与其他 PD 风险基因突变时, PD 发病风险受到不同程度的影响: 在三种基因组合中, *LRRK2*+*SNCA*+*MAPT* 与 *LRRK2*+*BST1*+*PARK16* 的携带者 PD 风险最高, OR 值分别达到了 4.94 和 6.20。而在所有基因组合中, 四基因组合 (*LRRK2*+*SNCA*+*MAPT*+*PARK16*, OR=6.43) 和五基因组合 (*LRRK2*+*SNCA*+*MAPT*+*BST1*+*PARK16*, OR=6.12) 风险最高。由此可见, 相较于单个易感基因位点, 多个易感基因位点的组合将更好地预测 PD 发病的风险, 也可增加遗传因素在 PD 早期预测中的作用^[10]。

为了进一步探讨基因型是否可以影响 PD 患者的临床表型, 陈彪课题组对 1 638 例 PD 患者进行了 *LRRK2* 和 *GBA* 突变的检测, 将 PD 患者分成携带 *LRRK2* 基因突变 (*LRRK2*-PD)、携带 *GBA* 基因突变 (*GBA*-PD) 和不携带上述两种基因突变的 PD 患者 (IPD), 结果表明 *LRRK2*-PD 患者与 IPD 患者临床症状类似, 而 *GBA*-PD 患者与另外两种相比, 发病年龄更轻且 UPDRS 评分更高 (表现在运动并发症、认知功能下降以及便秘等方面发生率显著升高, 在社会功能和角色情绪方面评分更差), 首次证实 PD 患者由于携带不同致病基因而表现出不同的临床表型^[11]。

1.3 社区老年人群易感和高危人群筛查及随访研究

老化、环境和遗传因素是导致 PD 发病的主要原因, 三者的交互作用以及其在 PD 发病风险预测中的作用尤为重要, 但是由于需要坚实的实验室基础、大量的人群样本、流行病学数据以及多年的随

访工作, 因此本项工作的开展具有非常大的难度。经过两届 973 项目的资助, 老化、环境及遗传因素的交互作用研究也取得了长足的进步。陈彪课题组利用北京社区老年人前瞻性队列 10 039 例 55 岁以上老人筛查出 *LRRK2* 和 *GBA* 阳性个体, 并针对环境危险因素暴露情况及运动前期症状 (包括睡眠、疲劳、抑郁、认知、便秘、心率变异、视觉、嗅觉) 进行了标准化信息采集和筛查。探索不同的基因型、环境因素和非运动症状的组合与 PD 发病风险之间的相关性, 确定潜在相关易感和高危人群, 并在此基础上开展前瞻性随访, 验证相关指标临床应用的敏感性和特异性。

2 黑质DA能神经元选择性、进行性变性的分子机制研究

越来越多的证据显示, 氧化应激、线粒体功能障碍、神经营养因子下调、钙超载、兴奋性氨基酸毒性作用、免疫炎症等病理机制相互作用, 共同参与了 PD 的发生和/或发展。而在众多发病机制中, 由于 DA 本身具有高氧耗代谢的特点, 可通过自身氧化或单胺氧化酶 (monoamine oxidase B, MAO-B) 产生大量的自由基; 另一方面, 大量尸检结果证明 PD 患者黑质中线粒体复合体 I 活性选择性降低, 且已知的常染色体显性或隐性遗传 PD 突变基因中与调节线粒体功能密切相关的致病基因就有 6 个, 提示氧化应激以及线粒体功能障碍在 PD 发病以及 DA 能神经元选择性死亡中发挥关键作用, 因而格外受到学者的关注。

2.1 α -核突触蛋白、线粒体功能障碍与DA能神经元变性的关系研究

目前在众多致病因子与相关机制中, 由于 α -核突触蛋白 (α -synuclein, α -SYN) 是路易小体的主要成分而成为近年来关注的热点。对 PD 患者和 PD 动物的研究表明, 氧化应激增加、线粒体功能破坏等危险因素可导致 α -SYN 的错误折叠和异常聚集; 同时, 该蛋白的异常聚集又可加重氧化应激和线粒体功能的破坏。上述因素之间的相互作用形成了一种恶性循环, 使损伤效应不断放大, 最终导致 DA 能神经元的进行性变性、死亡^[12]。 α -SYN 介导的神经毒性机制仍在广泛研究中。目前, 较为认同的假说是天然无折叠构象的 α -SYN 单体与脂质膜 (包括突触膜) 相互作用。当受到氧化应激等损伤时, α -SYN 先形成可溶性寡聚物, 再形成不溶性纤维, 后者是路易小体的主要成分。目前已发现的基因突

变均可促进寡聚体的形成, 提示有毒性的是寡聚体而非不溶性的纤维^[13]。无论是哪种形式的 α -SYN 聚集导致了 DA 能神经元的死亡, α -SYN 的错误折叠和异常聚集是 PD 发病的一个关键环节。研究发现黑质、纹状体等脑区的线粒体上富集着大量的 α -SYN, 并抑制线粒体复合物 I 活性^[14]; 同时, 多种线粒体定位的 PD 相关蛋白质, 如 PINK1、OMI、PARKIN、DJ-1 等均与 α -SYN 存在相互作用。杨慧课题组首先发现过表达 α -SYN 可致钙调蛋白 -Src 复合物形成增多, 并通过增加 Src 酪氨酸 416 位点磷酸化水平使 Src 激酶激活, 后者可导致 PP2A 失活而使蛋白质过度磷酸化。 α -SYN 导致 PP2A 活力下降引起细胞死亡与阿尔茨海默病研究文献中报道的 PP2A 活力下降导致 Tau 蛋白过度磷酸化并引起细胞死亡的结果相一致, 因此, 这有可能是神经退行病的共同通路^[15]。进一步研究发现, PINK1 有可能促进钙调蛋白 -Src 复合物解离而抑制 Src 活性, 最终通过提高 PP2A 活性而缓解过表达 α -SYN 导致的神经细胞损伤 (待发表)。王光辉课题组发现野生型 DJ-1 通过稳定线粒体保护蛋白 Bcl-xl^[16] 以及降低由 TRAIL 引起的 caspase-8 激活使细胞存活, 而 PD 致病突变体 *DJ-1-L166P* 却丧失了这样的保护功能^[17], 因此, DJ-1 在对线粒体的保护和抗凋亡中发挥着重要的作用。此外, 王光辉课题组还发现与 PD 发病密切相关的野生型 Omi 蛋白 (*park13* 基因表达产物) 可酶切糖原合成激酶 -3 β (glycogen synthase kinase-3 β , GSK-3 β) 防止 PGC-1 α 的过度磷酸化而保持 PGC-1 α 含量。PGC-1 α 是一个调控线粒体结构蛋白合成和线粒体生成的重要蛋白质, PGC-1 α 的降解引起线粒体蛋白成分 ATP 合酶 β 亚单位、氧化酶 IV 和 II 亚单位以及细胞色素 C 表达下调, 线粒体 DNA 的减少。因此, PGC-1 α 在维持线粒体生成稳态平衡中具有重要作用。酶活性丧失突变体 Omi 将引起线粒体生成障碍以及神经退变的发生 (待发表)。以上这些研究在 PD 的线粒体功能失调机制方面提供了新的线索, 为 PD 的病理研究提供了新的治疗靶点。

2.2 黑质DA能神经元选择性变性的分子机制研究

尽管在 20 世纪 60 年代人们已经发现, PD 的主要病理特征是黑质 DA 能神经元死亡, 但直到近 20 年, 人们才认识到 PD 患者中脑 DA 能神经元的不同亚群受损伤的严重程度不同: 中脑边缘系统的 DA 能神经元死亡的严重程度明显低于中脑黑质, DA 能神经元的丧失在黑质致密部最为严重, 达

76%,而邻近的腹侧被盖区 DA 能神经元则相对“安全”^[18]。有文献报道,黑质区 DA 能神经元高氧耗代谢、金属离子的选择性聚集以及小胶质细胞数量高于其他区域等特点为黑质区 DA 能神经元的选择性变性提供了一些线索,但如何认识 PD 病程中神经元变性死亡具有区域和神经元种类特异性仍然是当前 PD 研究的关键问题和难点。

2.2.1 黑质/腹侧背盖区差异表达的蛋白质与PD选择性变性的研究

目前公认的黑质致密部特异性高表达的 *Girk2*、腹侧被盖区特异性高表达的 *Calbindin* 和 *Pitx3* 参与黑质 DA 能神经元的选择性变性死亡,而 *Greene* 等^[19] 进一步研究发现了 144 个黑质和腹侧背盖区 DA 能神经元差异表达基因,其中与能量代谢相关的基因在黑质的表达高于腹侧背盖区。周嘉伟课题组通过对 PD 患者黑质组织和脑脊液的蛋白质组学研究证实了以上基因学研究结果^[20],并发现热休克蛋白 (hot shock protein 22, HSP22) 在中脑 DA 能神经元中的表达显著高于腹侧背盖区。进一步体外细胞实验表明,过表达 HSP22 对细胞有损伤作用,而敲减 HSP22 的表达则有保护作用,推测 HSP22 可能与 PD 患者中黑质 DA 能神经元的选择性损伤有关。目前该工作正在进一步进行中。

2.2.2 黑质内铁聚积与DA能神经元选择性变性的研究

对于黑质与腹侧背盖区 DA 能神经元差异表达基因的筛选提示,黑质 DA 能神经元的能量代谢更为丰富,与此相一致的是氧化应激和线粒体损伤已被证实是 PD 发病的重要因素。金属离子的氧化还原特性使其在 PD 研究中受到关注,尤其是铁离子在线粒体氧化呼吸链中发挥重要作用。*Gerlach* 等^[21] 发现在 PD 患者黑质区,铁(主要是三价铁, Fe^{3+}) 聚集并选择性增加。甚至在 PD 早期即可观察到铁含量在黑质区增高,因此铁离子聚集作为反映 PD 病程进展的一种影像指标^[22]。谢俊霞课题组对铁离子在黑质区的特异性聚集及相关机制展开了系列研究,发现黑质铁选择性聚集的原因可能与铁转入蛋白二价金属离子转运蛋白 1 (*DMT1*) 的表达增加和铁转出蛋白 *Ferroportin1* (*FP1*)、*Hephaestin* (*HP*) 的表达降低有关^[23-24],其机制可能是氧化应激激活胞浆中的铁调节蛋白 1 (*iron regulatory proteins 1, IRP1*) 与铁反应元件 *IRE* (*iron-responsive element*) 相互作用增加 *DMT1* 的表达,导致细胞摄铁功能的增强以及细胞内铁的聚积;同时, *IRPs* 的激活使 *FP1* 和

HP 的表达降低,细胞的铁转出功能下降,细胞内出现铁聚积^[25-27],细胞内铁的聚积进一步加重了氧化应激,导致 DA 能神经元的死亡。以上研究为 PD 的神经元损伤机制提供了可靠的实验基础和有价值的理论依据,并为 PD 的预防和治疗提供了新的药物作用的靶点。

2.3 胶质细胞-神经网络失衡在DA能神经元选择性、进行性变性中的作用研究

在脑组织的构成中,神经元占 10%,而神经胶质细胞占 90%。正常情况下,胶质细胞在维持脑内微环境和神经元功能的动态平衡中发挥着重要的作用,神经元-胶质细胞网络稳态失衡是 PD 中黑质 DA 能神经元选择性、进行性死亡的重要因素。这一认识的深化被认为是“神经科学研究近一个多世纪以来最瞩目的成就之一”^[28-31]。神经胶质细胞包括星形胶质细胞、小胶质细胞和少突胶质细胞。正常情况下,星形胶质细胞赋予神经元正常的生理功能^[31],包括维持神经元结构、代谢和营养等。轻度活化的星形胶质细胞能分泌多种神经营养因子,提高脑内微环境的抗氧化系统活性,从而对 DA 能神经元起到修复和保护作用。而小胶质细胞作为脑内重要的免疫细胞,激活时可分泌大量的致炎因子、趋化因子、活性氧自由基等神经毒性物质,通过炎症反应、氧化应激、诱导细胞凋亡等途径发挥免疫功能。在病理状态下,受损的神经元以及过度激活的胶质细胞将改变神经元和胶质细胞之间相互作用的平衡关系,导致神经元所处的微环境进一步恶化,加重神经元的损伤,并最终呈现出神经元损伤进行性加重的态势。因此,系统地研究神经元-胶质细胞之间的相互作用,阐明胶质细胞在维持神经元正常功能以及在病理状态下导致神经元死亡中的作用,有助于揭示在疾病状态下黑质 DA 能神经元选择性、进行性死亡的机制以及发现潜在的新的治疗靶点。

2.3.1 DA受体在维持胶质细胞-神经网络平衡及在PD发生、发展中的作用研究

DA 受体属于一类 G 蛋白耦联受体,在包括情感、成瘾、自主运动等众多高级的神经活动功能中发挥关键的作用,但目前人们对大脑星形胶质细胞所表达的 DA 受体的作用和意义了解很少。周嘉伟课题组研究发现,激活星形胶质细胞上的 DA 受体可以显著地促进星形胶质细胞产生和分泌成纤维细胞因子 -2 (*fibroblast growth factor, FGF-2*)^[32]。这一过程是通过增加细胞内蛋白激酶 *PKA* 和 *PKC* 的磷

酸化水平, 进而通过激活 cAMP、MAPK 介导的信号转导通路促进 FGF-2 的转录^[33-34]。此外, 周嘉伟课题组还发现, 敲除 DA 受体可导致胶质细胞激活和脑内炎症反应加剧, 黑质 DA 能神经元对 MPTP 毒性的易感性增加, 星形胶质细胞中的 DA 受体可能通过调节 B-crystallin-Cryab 的表达从而在抑制炎症的过程中发挥重要的作用。该工作被发表在 *Nature* 杂志上, 体现了我国学者在 PD 研究领域的巨大进步和先进水平^[35]。以上工作首次揭示了 DA 通过星形胶质细胞上的 DA 受体, 调节星形胶质细胞神经营养因子的释放以及炎症反应的发生。在 PD 发生过程中, 由于 DA 释放减少, 不仅使靶神经元接受的刺激减少, 也使周围星形胶质细胞受到的刺激减少, 进而导致星形胶质细胞的神经营养功能下降, 引发炎症反应, 使 DA 能神经元变性加剧。

2.3.2 神经营养因子在维持胶质细胞-神经网络平衡及PD发生、发展中的作用研究

对星形胶质细胞的研究表明, PD 患者脑中 DA 能神经元受损程度与所在区域内的星形胶质细胞的数量呈负相关, 即黑质的星形胶质细胞密度低而 DA 能神经元变性明显^[36]。星形胶质细胞释放成熟的神经营养因子, 如神经生长因子 (nerve growth factor, NGF)、胶质细胞源性神经营养因子 (glial cell line derived neurotrophic factor, GDNF) 以及脑源性神经营养因子 (brain derived neurotrophic factor, BDNF) 等, 它们通过与 Trk 受体结合帮助神经元对抗神经毒素损伤, 发挥神经保护作用。但是神经营养因子前体对神经元的功能以及在 PD 中的作用还有待进一步研究。陈良伟课题组发现在黑质 DA 能神经元内, NGF 前体分子 (proNGF) 及其受体 p75NTR、神经死亡因子 sortilin 表达丰富; 进一步研究发现在老龄动物以及 MPTP、6-羟基多巴胺 (6-hydroxydopamine, 6-OHDA) 和乳胞素 (lactacystin) 制作的 PD 模型中, 黑质 p75NTR、sortilin mRNA 进一步上调, proNGF 阳性神经元呈现高度的死亡易感性, 并出现大量星形胶质细胞和小胶质细胞活化, 提示 proNGF-p75-sortilin 信号可能启动黑质 DA 能神经元的选择性死亡, 在 PD 的发生发展过程中发挥作用^[37-38]; 并且, 陈伟课题组在 *Current Protein & Peptide Science* 上发表特邀综述, 提出了“神经营养因子前体分子向成熟神经营养素转化的分子开关”假说^[39]。此外, 关于星形胶质细胞分泌的 proGDNF 在胶质细胞-神经元相互作用以及 PD 发生机制中作用的研究正在进行中。

2.3.3 钾离子通道在维持胶质细胞-神经网络平衡及PD发生、发展中的作用研究

ATP 敏感性钾通道 (ATP-sensitive potassium channel, K-ATP 通道) 是机体内耦联细胞能量代谢和电活动的独特生物感受器^[40]。K-ATP 通道包括 Kir 6.1 和 Kir 6.2 两种异构体, 广泛表达于中枢神经系统, 其中中脑 DA 能神经元表达 Kir 6.2 型亚基, 而胶质细胞和神经干细胞则主要表达 Kir 6.1 型亚基。Liss 等^[41]应用 Kir 6.2 敲除小鼠的研究证实, K-ATP 通道的功能状态选择性地决定黑质 DA 能神经元的存活和死亡。而几乎同时, 胡刚课题组也发现星形胶质细胞中的 Kir 6.1/K-ATP 通道可增强星形胶质细胞对兴奋性氨基酸的再摄取能力, 从而减轻 DA 能神经元兴奋性毒性损伤^[42-43], 提出 K-ATP 通道也可能是 PD 发生发展的重要调控分子。此后, 胡刚课题组发现, 激活胶质细胞的 Kir6.1/K-ATP 通道可显著抑制胶质细胞的活化和致炎因子、活性自由基的释放, 对抗多种神经毒素对 DA 能神经元的损伤, 而 Kir6.1/K-ATP 通道功能缺失可导致黑质致密区 DA 能神经元出现显著的变性损伤^[44-47]。而敲除 Kir6.2/K-ATP 通道可逆转 MPTP 诱导的中脑 DA 能神经元丢失, 显著增加 DA 能前体细胞向成熟 DA 能神经元的分化比例 (约 10%), 减少神经元凋亡 (待发表)。基于以上工作, 胡刚课题组为 *Clinical Experimental Pharmacology Physiology* 撰写特邀综述, 提出 K-ATP 通道是调节神经-胶质-血管单元功能的重要生物学靶点, 即星形胶质细胞、小胶质细胞、血管内皮细胞表达的 Kir6.1/KATP 通道与神经元表达的 Kir6.2/KATP 通道一道共同调节神经-胶质网络和神经-血管单元的功能, 是针对 PD 等神经退行性疾病的神经保护治疗和药物研发的重要靶标^[48]。

3 PD预警及早期诊断指标的研究

目前国内外都在致力于 PD 早期预测指标的探索与研发。PD 研究团队的工作建立在前期很好的队列资源上, 以易感基因为起点, 通过叠加不同的基因位点、环境因素以及临床表型, 判断不同情况下 PD 的发病风险以及基因相关的特定表型, 对于 PD 的早期预测及症状发展的预测都有重要的意义。此外, PD 研究团队在国内首次大规模地开展非运动症状 (non-motor symptoms, NMS) 的工作, 虽然起步晚于欧美国家, 但是近三年的研究也为今后的工作奠定了坚实的基础。对于影像学指标的研究目

前已基本完成临床前的研制过程,即将或已经进入临床使用阶段。以上工作为建立基于遗传学、临床症状学、生化学以及神经影像学的综合指标体系奠定了良好的基础。

3.1 PD非运动症状作为PD早期诊断指标的研究

长期以来,PD被认为是以运动障碍为特征的神经变性病。2003年,Braak等^[49]按照路易小体出现的先后顺序对PD进行病理分期,发现PD还表现为NMS。他们将PD病理分为6期:I期累及嗅球、嗅核前部、迷走神经背侧运动核,表现为嗅觉障碍及便秘;II期累及下位脑干,包括蓝斑、脊核等核团,表现为抑郁、快速眼动相睡眠行为障碍、自主神经功能失调及疲劳;III、IV期累及中脑黑质、其他深部核团和端脑,表现为运动症状;V、VI期累及边缘系统、新皮质,表现为认知障碍及精神症状等。可见,黑质以外相关神经元受损是NMS的病理基础,NMS与运动症状共同构成PD的临床表现。由于部分神经元受损早于黑质DA能神经元,使部分NMS先于运动症状出现。一项研究表明,72%的PD患者在运动症状出现前10年之内即出现抑郁,平均患抑郁的时间为7.9年^[50]。NMS因其具有隐匿性而容易被运动症状掩盖,也因此未引起足够重视。NMS症状复杂,而且,目前治疗PD的金标准——DA替代治疗对NMS无效,使其对患者生活质量的影响甚至超过了运动症状。一项长达15年的队列研究表明,NMS是PD患者最终的致残因素^[51]。NMS成为影响PD发生、进展及预后的关键因素。因此,揭示NMS在PD患者中的发生率与临床病程等的关系,深化PD是一种全身性疾病的认识,并且有可能使运动症状期前NMS成为PD早期预警和早期诊断的指标。近10年来,国际上及我国学者越来越关注PD患者NMS的识别与处理。陈生弟与张巍课题组利用已建立的PD临床数据库及社区中老年人流行病学调查基础,通过回顾性研究详细调查了PD患者NMS的分布特点及其相关影响因素;利用社区前瞻性研究,考察了社区健康中老年人及PD患者50岁以上一级亲属中NMS的分布频率,为下一步探讨NMS在PD早期诊断中的作用奠定了基础^[52-53]。

3.2 PD早期诊断的功能影像学指标研究

正电子发射计算机断层扫描(positron emission computed tomography, PET)和发射型单光子计算机断层扫描(single photon emission computed tomography, SPECT)显像技术灵敏度高,可以无创、动态、定

量地研究人体内的化学过程和生理生化过程,在活体水平上显示生物分子代谢、受体及神经介质活动,是常用的早期诊断PD影像技术。PET、SPECT诊断依赖于高特异性和选择性的分子探针,因而以PD早期发生改变的关键蛋白为靶点,设计开发具有自主知识产权的新型分子探针,是目前功能影像学早期诊断PD的关键和热点。

在临床运动症状出现前,PD病变部位的一些关键蛋白,如多巴胺转运体(dopamine transporter, DAT)、II型囊泡单胺转移体(vesicular monoamine transporter 2, VMAT2)已发生异常。以这些关键蛋白为靶点,设计分子探针,通过功能影像学方法检测这些靶分子变化可达到早期诊断PD的目的。DAT是突触前DA能神经末梢的重要标志,PD患者在临床症状出现之前,DAT即已减少50%以上,因此,以DAT为靶向的显像剂在PD早期诊断、病程监测、疗效评价等方面被广泛应用^[54-55]。针对DAT,朱霖课题组与美国宾夕法尼亚大学合作设计合成了一系列有较高靶向性、与DAT特异性结合的新化合物,并获得国家发明专利,临床前研究结果表明其具有良好的PD诊断显像应用前景^[56];同时,采用新方法合成了DAT靶向配体——可卡因衍生物及Trodat-1^[57];改进了Trodat-1的^{99mTc}标记方法^[58],已按照放射性药物新的注册申报要求对^[99mTc]Trodat-1进行了药效学、动物显像等临床前研究,有望开发成具有自主知识产权的PD早期诊断分子探针。

此外,由于VMAT2的减少发生在DAT改变之前,且VMAT2的量很少受到其他治疗药物以及突触间隙DA水平影响,因此被认为是检测DA能神经末梢完整性的更可靠指标,是一种优质的PD分子显像剂。朱霖课题组已完成了^[18F]AV-133 PET显像探针的各项临床前研究,包括药学研究部分(如标记前体的合成、标记方法的确立、质量控制方法的建立、药代动力学和代谢产物的分析等)和药效学研究部分(如放射自显影、动物分布数据、动物的PET显像以及假载体对显像的影响)。目前已经通过医院临床伦理委员会批准,按照国家药监局规定,中国药品食品检定研究院现场取样,完成医院现场核查以备案资料,正在等待批准,有望于2014年进行大规模临床研究^[59-60]。

4 PD的药物治疗及干细胞治疗研究

目前PD的治疗手段包括药物治疗、手术治疗

以及仍处于实验阶段的细胞治疗和基因治疗。其中药物治疗大都是对症治疗, 虽然可以暂时有效缓解症状, 但是并不能阻止或延缓疾病的进程, 所以针对神经元进行性变性坏死的关键环节(如抗自由基、改善能量代谢、补充神经营养因子等), 设计研发具有神经保护作用的药物是目前国际上 PD 治疗的研究热点。为此, PD 研究团队将分子机制、信号转导通路、氧化应激、膜通道的调节作用与防治药物的研发有机结合起来, 探讨神经变性病新型药物的作用靶点, 探索新型药物的治疗作用及作用机制, 为 PD 的防治提供新的思路和治疗策略。

4.1 PD潜在的治疗靶点研究

对于黑质 DA 能神经元死亡机制研究已有大量报道, 针对不同参与因素为潜在治疗靶点的研究, 是 PD 候选药物研究的热点。例如, JNK 信号通路, 尤其是神经元特异性表达的 JNK3 介导的信号通路在 PD 发病机制中起着重要作用。陈生弟课题组发现, 抗氧化剂 N-乙酰半胱氨酸(N-acetyl-L-cysteine, NAC)、NMDA 受体拮抗剂氯胺酮(ketamine)能显著抑制 MPTP 小鼠模型中 JNK3 的激活, 从而保护神经元^[61]。胡刚课题组发现, ATP 敏感性钾通道开放剂能够显著抑制 MPTP/MPP⁺ 导致的星形胶质细胞和小胶质细胞的活化增殖, 抑制神经炎症导致的 DA 能神经元损伤^[47]。谢俊霞课题组发现, 杨酶黄酮能螯合细胞内的铁, 降低氧化应激, 从而有效拮抗 6-OHDA 对多 DA 能神经元的毒性作用, 增加纹状体 DA 及其代谢产物的含量^[62]。姜黄素可逆转 6-OHDA 及细胞内高铁水平造成的活性氧族(reactive oxygen species, ROS)产生增加, 从而减轻氧化应激和高铁水平对细胞造成的损伤^[63]。人参皂苷 Rg1 可通过铁螯合作用保护 MPTP/MPP⁺ 诱导的 DA 能神经元损伤, 通过 ROS-核因子(nuclear factor- κ B, NF- κ B)途径来调节 MPP⁺ 诱导的 DMT1-IRE 的表达上调, 降低细胞内铁聚积从而减轻铁聚积对细胞的损伤^[64-65]。王晓民课题组发现, 远志皂苷能改善 MPTP 小鼠和脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)所致 PD 模型的异常行为, 有效对抗神经毒素所致的纹状体和中脑黑质酪氨酸羟化酶表达减少, 增加纹状体 DA 含量及黑质 DA 能神经元数量, 抑制凋亡相关蛋白的活化^[66-67]。

4.2 具有自主知识产权的神经保护先导化合物/中药单体研究

神经保护性药物和手段的研发是目前国际上 PD 治疗的研究热点。其中, 针对细胞功能紊乱环

节(如抗自由基、改善能量代谢、补充神经营养因子等)开发具有神经保护作用的药物的研究十分活跃。王晓民课题组利用我国传统中医的资源, 开发出具有自主知识产权的神经保护中药单体——雷公藤内酯醇 T10^[68]和从海带中分离制备出的低相对分子质量褐藻多糖硫酸酯^[69], 它们在 PD 细胞和动物模型中具有明显的防治功效, 其机制与抗氧化、抗免疫炎症、抗凋亡和促进神经生长因子释放等有关^[70-71]。通过对药物作用机理的深入探讨, 发现药物作用的信号转导通路可能涉及 MAPKs 家族中不同分子的磷酸化水平发生变化、吞噬细胞氧化酶(PHOX)和金属蛋白基质酶(MMPs)靶分子的参与, 从而为进一步寻找药物作用靶点奠定基础。杨慧课题组发现, 葶苈总生物碱提取物对体外和在体的实验性 PD 损伤模型均具有保护作用, 这种保护作用主要是通过其抗氧化和线粒体保护作用来实现的^[72]。在此基础上, 深入研究这些药物的作用靶点及其神经保护机制, 观察其对前期发现的信号通路及潜在靶点的作用, 不仅为其推向临床研究奠定基础, 而且为 PD 的临床治疗及药物筛选提供理论依据。

4.3 细胞替代治疗PD的研究

细胞替代治疗是 PD 治疗的另一重要策略, 也是 PD 治疗的研究热点。采用胎儿中脑 DA 能神经元移植的方法, 在早期的研究中观察到初步的效果, 但伦理问题、细胞来源问题等限制了其进一步发展。诱导性多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPS)的出现为干细胞的研究带来了突破的可能性。iPS 不但来源丰富、具有很好的自我复制能力和多向分化潜能, 而且由于是自体来源, 解决了自身免疫排斥问题和伦理问题^[73]。因此, iPS 将成为干细胞移植治疗 PD 的重要研究方向。iPS 另一个重要用途就是作为 PD 的疾病模型, 用于 PD 发病机制研究和药物筛选。患者来源的 iPS 细胞不但具有体外分化成正常或病理状态的人类组织器官的潜能, 而且能体现出患者的基因特性, 因此是体外用于研究人类疾病的机制、环境因素的作用、药物治疗等的良好模型^[74-75]。冯简课题组成功构建了正常与 PARKIN 基因突变的 iPS 细胞系, 并将其诱导成中脑 DA 能神经元, 为 PD 的防治以及新药物的开发提供了有意义的平台^[76]; 冯简课题组还对 PARKIN 基因的功能进行了深入研究, 发现其能够结合、泛素化和降解三种雌激素相关受体(ER α , ER β 和 ER γ), 以降低 MAO-A 和 MAO-B 的表达^[77]。此外, 值得一提的是, 冯简课题组发现 1998 年发表在

Nature 杂志上的 *PARKIN* 基因序列有重要的错误,并在 *Movement Disorder* 杂志上发表论文,更正了该错误^[78]。对这一领域的深入探索,将有助于对前述发现的通路、靶点及已发现的中药单体/化合物进行验证,进一步获得其在人类 PD 发病中作用的证据,并以此为基础,运用蛋白质组学等方法,寻找到更多的药物靶点,为 PD 的治疗提供又一新策略。

5 结语

尽管 PD 自 1817 年发现至今,在基础研究和临床治疗方面都取得不少突破性进展,但仍有很多亟待解决的科学问题和临床问题,特别是确立适合我国的 PD 早期诊断指标体系和治疗方案的可行性策略。现阶段,在对 PD 的病因学深入研究的同时,以转化医学为出发点和落脚点,利用已取得的研究成果,实现对 PD 的早期诊断和有效干预,这是最终战胜 PD 的关键问题。

【参 考 文 献】

- [1] de Rijk MC, Launer LJ, Berger K, et al. Prevalence of Parkinson's disease in Europe: a collaborative study of population-based cohorts. *Neurologic Diseases in the Elderly Research Group. Neurology*, 2000, 54(11): S21-3
- [2] Kanaan NM, Kordower JH, Collier TJ. Age-related changes in dopamine transporters and accumulation of 3-nitrotyrosine in rhesus monkey midbrain dopamine neurons: relevance in selective neuronal vulnerability to degeneration. *Eur J Neurosci*, 2008, 27(12): 3205-15
- [3] Siegel GJ, Chauhan NB. Neurotrophic factors in Alzheimer's and Parkinson's disease brain. *Brain Res Brain Res Rev*, 2000, 33(2-3): 199-227
- [4] Baune BT, Ponath G, Rothermundt M, et al. Association between cytokines and cerebral MRI changes in the aging brain. *J Geriatr Psychiatry Neurol*, 2009, 22(1): 23-34
- [5] Ethell DW, Fei Q. Parkinson-linked genes and toxins that affect neuronal cell death through the Bcl-2 family. *Antioxid Redox Signal*, 2009, 11(3): 529-40
- [6] Guo JF, Xiao B, Liao B, et al. Mutation analysis of *Parkin*, *PINK1*, *DJ-1* and *ATP13A2* genes in Chinese patients with autosomal recessive early-onset Parkinsonism. *Mov Disord*, 2008, 23(14): 2074-9
- [7] Wang L, Guo JF, Nie LL, et al. A novel *LRRK2* mutation in a mainland Chinese patient with familial Parkinson's disease. *Neurosci Lett*, 2010, 468(3): 198-201
- [8] Wang F, Feng X, Ma J, et al. A common A340T variant in *PINK1* gene associated with late-onset Parkinson's disease in Chinese. *Neurosci Lett*, 2006, 410(2): 121-5
- [9] Tang B, Xiong H, Sun P, et al. Association of *PINK1* and *DJ-1* confers digenic inheritance of early-onset Parkinson's disease. *Hum Mol Genet*, 2006, 15(11): 1816-25
- [10] Wang C, Cai Y, Zheng Z, et al. Penetrance of *LRRK2* G2385R and R1628P is modified by common PD-associated genetic variants. *Parkinsonism Relat Disord*, 2012, 18(8): 958-63
- [11] Wang C, Cai Y, Gu Z, et al. Clinical profiles of Parkinson's disease associated with common leucine-rich repeat kinase 2 and glucocerebrosidase genetic variants in Chinese individuals. *Neurobiol Aging*, 2014, 35(3): 725 e721-6
- [12] Parihar MS, Parihar A, Fujita M, et al. Mitochondrial association of alpha-synuclein causes oxidative stress. *Cell Mol Life Sci*, 2008, 65(7-8): 1272-84
- [13] Kazantsev AG, Kolchinsky AM. Central role of alpha-synuclein oligomers in neurodegeneration in Parkinson disease. *Arch Neurol*, 2008, 65(12): 1577-81
- [14] Zhang L, Zhang C, Zhu Y, et al. Semi-quantitative analysis of alpha-synuclein in subcellular pools of rat brain neurons: an immunogold electron microscopic study using a C-terminal specific monoclonal antibody. *Brain Res*, 2008, 1244: 40-52
- [15] Yang W, Wang X, Duan C, et al. alpha-synuclein overexpression increases phospho-protein phosphatase 2A levels via formation of calmodulin/Src complex. *Neurochem Int*, 2013, 63(3): 180-94
- [16] Ren H, Fu K, Wang D, et al. Oxidized DJ-1 interacts with the mitochondrial protein BCL-XL. *J Biol Chem*, 2011, 286(40): 35308-17
- [17] Fu K, Ren H, Wang Y, et al. DJ-1 inhibits TRAIL-induced apoptosis by blocking pro-caspase-8 recruitment to FADD. *Oncogene*, 2012, 31(10): 1311-22
- [18] Hirsch E, Graybiel AM, Agid YA. Melanized dopaminergic neurons are differentially susceptible to degeneration in Parkinson's disease. *Nature*, 1988, 334(6180): 345-8
- [19] Greene JG, Dingledine R, Greenamyre JT. Gene expression profiling of rat midbrain dopamine neurons: implications for selective vulnerability in parkinsonism. *Neurobiol Dis*, 2005, 18: 19-31
- [20] Guo J, Sun Z, Xiao S, et al. Proteomic analysis of the cerebrospinal fluid of Parkinson's disease patients. *Cell Res*, 2009, 19(12): 1401-3
- [21] Gerlach M, Riederer P, Double KL. Neuromelanin-bound ferric iron as an experimental model of dopaminergic neurodegeneration in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*, 2008, 14 Suppl 2: S185-8
- [22] Brar S, Henderson D, Schenck J, et al. Iron accumulation in the substantia nigra of patients with Alzheimer disease and parkinsonism. *Arch Neurol*, 2009, 66(3): 371-4
- [23] Jiang H, Song N, Wang J, et al. Peripheral iron dextran induced degeneration of dopaminergic neurons in rat substantia nigra. *Neurochem Int*, 2007, 51(1): 32-6
- [24] Xu HM, Jiang H, Wang J, et al. Over-expressed human divalent metal transporter 1 is involved in iron accumulation in MES23.5 cells. *Neurochem Int*, 2008, 52(6): 1044-51
- [25] Wang J, Song N, Jiang H, et al. Pro-inflammatory cytokines modulate iron regulatory protein 1 expression and iron transportation through reactive oxygen/nitrogen species production in ventral mesencephalic neurons.

- Biochim Biophys Acta, 2013, 1832(5): 618-25.
- [26] Song N, Wang J, Jiang H, et al. Ferroportin 1 but not hephaestin contributes to iron accumulation in a cell model of Parkinson's disease. *Free Radic Biol Med*, 2010, 48(2): 332-41
- [27] Wang J, Jiang H, Xie JX. Ferroportin1 and hephaestin are involved in the nigral iron accumulation of 6-OHDA-lesioned rats. *Eur J Neurosci*, 2007, 25(9): 2766-72
- [28] Miller G. Neuroscience. The dark side of glia. *Science*, 2005, 308(5723): 778-81
- [29] Giaume C, Kirchhoff F, Matute C, et al. Glia: the fulcrum of brain diseases. *Cell Death Differ*, 2007, 14(7): 1324-35
- [30] Barres BA. The mystery and magic of glia: a perspective on their roles in health and disease. *Neuron*, 2008, 60(3): 430-40
- [31] Allen NJ, Barres BA. Neuroscience: glia-more than just brain glue. *Nature*, 2009, 457(7230): 675-7
- [32] Li A, Guo H, Luo X, et al. Apomorphine-induced activation of dopamine receptors modulates FGF-2 expression in astrocytic cultures and promotes survival of dopaminergic neurons. *FASEB J*, 2006, 20(8): 1263-5
- [33] Luo X, Zhang X, Shao W, et al. Crucial roles of MZF-1 in the transcriptional regulation of apomorphine-induced modulation of FGF-2 expression in astrocytic cultures. *J Neurochem*, 2009, 108(4): 952-61
- [34] Zhang X, Zhou Z, Wang D, et al. Activation of phosphatidylinositol-linked D1-like receptor modulates FGF-2 expression in astrocytes via IP3-dependent Ca^{2+} signaling. *J Neurosci*, 2009, 29(24): 7766-75
- [35] Shao W, Zhang SZ, Tang M, et al. Suppression of neuroinflammation by astrocytic dopamine D2 receptors via α B-crystallin. *Nature*, 2013, 494(7435): 90-4
- [36] Mena MA, Garcia de Yebenes J. Glial cells as players in parkinsonism: the "good," the "bad," and the "mysterious" glia. *Neuroscientist*, 2008, 14(6): 544-60
- [37] Chen LW, Yung KK, Chan YS, et al. The proNGF-p75NTR-sortilin signalling complex as new target for the therapeutic treatment of Parkinson's disease. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 2008, 7(6): 512-23
- [38] Sun XL, Chen BY, Duan L, et al. The proform of glia cell line-derived neurotrophic factor: a potentially biologically active protein. *Mol Neurobiol*, 2014, 49(1): 234-50
- [39] Sun XL, Chen BY, Xia Y, et al. Functional switch from pro-neurotrophins to mature neurotrophins. *Curr Protein Pept Sci*, 2013, 14(7): 617-25
- [40] Nichols CG. KATP channels as molecular sensors of cellular metabolism. *Nature*, 2006, 440(7083): 470-6
- [41] Liss B, Haeckel O, Wildmann J, et al. K-ATP channels promote the differential degeneration of dopaminergic midbrain neurons. *Nat Neurosci*, 2005, 8(12): 1742-51
- [42] Hu LF, Wang S, Shi XR, et al. ATP-sensitive potassium channel opener iptakalim protected against the cytotoxicity of MPP⁺ on SH-SY5Y cells by decreasing extracellular glutamate level. *J Neurochem*, 2005, 94(6): 1570-9
- [43] Wang S, Hu LF, Yang Y, et al. Studies of ATP-sensitive potassium channels on 6-hydroxydopamine and haloperidol rat models of Parkinson's disease: implications for treating Parkinson's disease? *Neuropharmacology*, 2005, 48(7): 984-92
- [44] Zhou F, Yao HH, Wu JY, et al. Opening of microglial K(ATP) channels inhibits rotenone-induced neuroinflammation. *J Cell Mol Med*, 2008, 12(5A): 1559-70
- [45] Zhang S, Ding JH, Zhou F, et al. Iptakalim ameliorates MPP⁺-induced astrocyte mitochondrial dysfunction by increasing mitochondrial complex activity besides opening mitoK(ATP) channels. *J Neurosci Res*, 2009, 87(5): 1230-9
- [46] Yang YJ, Zhang S, Ding JH, et al. Iptakalim protects against MPP⁺-induced degeneration of dopaminergic neurons in association with astrocyte activation. *Int J Neuropsychopharmacol*, 2009, 12(3): 317-27
- [47] Xie J, Duan L, Qian X, et al. K(ATP) channel openers protect mesencephalic neurons against MPP⁺-induced cytotoxicity via inhibition of ROS production. *J Neurosci Res*, 2010, 88(2): 428-37
- [48] Sun XL, Hu G. ATP-sensitive potassium channels: a promising target for protecting neurovascular unit function in stroke. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2010, 37(2): 243-52
- [49] Braak H, Del Tredici K, Rub U, et al. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol Aging*, 2003, 24(2): 197-211
- [50] Chaudhuri KR, Healy DG, Schapira AH. Non-motor symptoms of Parkinson's disease: diagnosis and management. *Lancet Neurol*, 2006, 5(3): 235-45
- [51] Hely MA, Reid WG, Adena MA, et al. The Sydney multicenter study of Parkinson's disease: the inevitability of dementia at 20 years. *Mov Disord*, 2008, 23(6): 837-44
- [52] Wang G, Wan Y, Wang Y, et al. Visual hallucinations and associated factors in Chinese patients with Parkinson's disease: roles of RBD and visual pathway deficit. *Parkinsonism Relat Disord*, 2010, 16(10): 695-6
- [53] Chen W, Chen S, Kang WY, et al. Application of odor identification test in Parkinson's disease in China: a matched case-control study. *J Neurol Sci*, 2012, 316(1-2): 47-50
- [54] Scherfler C, Nocker M. Dopamine transporter SPECT: how to remove subjectivity? *Mov Disord*, 2009, 24 Suppl 2: S721-4
- [55] Kagi G, Bhatia KP, Tolosa E. The role of DAT-SPECT in movement disorders. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2010, 81(1): 5-12
- [56] 北京师范大学. **Tc标记的多巴胺转运蛋白显像剂: 中国, 2003101033945 [P]. 2003-10-31
- [57] 北京师范大学. 多巴胺转运体显像药物及其制备方法: 中国, 2009102417066 [P]. 2009-12-08
- [58] 北京师范大学. 99mTc标记冻干品药盒及其制备方法: 中国, 2008101144211 [P]. 2008-06-02
- [59] Zhu L, Liu Y, Plossl K, et al. An improved radiosynthesis of [¹⁸F]AV-133: a PET imaging agent for vesicular monoamine transporter 2. *Nucl Med Biol*, 2010, 37(2): 133-41
- [60] Qiao H, Zhu L, Lieberman BP, et al. Synthesis and evaluation of novel tropane derivatives as potential PET imaging agents for the dopamine transporter. *Bioorg Med*

- Chem Lett, 2012, 22(13): 4303-6
- [61] Pan J, Xiao Q, Sheng CY, et al. Blockade of the translocation and activation of c-Jun N-terminal kinase 3 (JNK3) attenuates dopaminergic neuronal damage in mouse model of Parkinson's disease. *Neurochem Int*, 2009, 54(7): 418-25
- [62] Ma ZG, Wang J, Jiang H, et al. Myricetin reduces 6-hydroxydopamine-induced dopamine neuron degeneration in rats. *Neuroreport*, 2007, 18(11): 1181-5
- [63] Wang J, Du XX, Jiang H, et al. Curcumin attenuates 6-hydroxydopamine-induced cytotoxicity by anti-oxidation and nuclear factor- κ B modulation in MES23.5 cells. *Biochem Pharmacol*, 2009, 78(2): 178-83
- [64] Wang J, Xu HM, Yang HD, et al. Rg1 reduces nigral iron levels of MPTP-treated C57BL6 mice by regulating certain iron transport proteins. *Neurochem Int*, 2009, 54(1): 43-8
- [65] Xu H, Jiang H, Wang J, et al. Rg1 protects the MPP⁺-treated MES23.5 cells via attenuating DMT1 up-regulation and cellular iron uptake. *Neuropharmacology*, 2010, 58(2): 488-94
- [66] Yuan HL, Li B, Xu J, et al. Tenuigenin protects dopaminergic neurons from inflammation-mediated damage induced by the lipopolysaccharide. *CNS Neurosci Ther*, 2012, 18(7): 584-90
- [67] Liang Z, Shi F, Wang Y, et al. Neuroprotective effects of tenuigenin in a SH-SY5Y cell model with 6-OHDA-induced injury. *Neurosci Lett*, 2011, 497(2): 104-9
- [68] 北京大学.雷公藤属植物提取物在制备预防和治疗神经系统疾病药上的应用: 中国, 001077791[P]. 2000-05-26
- [69] 首都医科大学. 中国科学院海洋研究所.褐藻多糖硫酸酯在预防和治疗帕金森病中的用途: 中国, 20071-00990088[P]. 2007-05-08
- [70] Lu L, Li FQ, Wang XM. Novel anti-inflammatory and neuroprotective agents for Parkinson's disease. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 2010, 9(2): 232-40
- [71] Zheng Y, Zhang WJ, Wang XM. Triptolide with potential medicinal value for diseases of the central nervous system. *CNS Neurosci Ther*, 2013, 19(2): 76-82
- [72] 首都医科大学. 来自芫苳的提取物及其制备方法与应用: 中国, 2010101444711[P]. 2010-04-08
- [73] Wernig M, Zhao JP, Pruszek J, et al. Neurons derived from reprogrammed fibroblasts functionally integrate into the fetal brain and improve symptoms of rats with Parkinson's disease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(15): 5856-61
- [74] Dimos JT, Rodolfa KT, Niakan KK, et al. Induced pluripotent stem cells generated from patients with ALS can be differentiated into motor neurons. *Science*, 2008, 321(5893): 1218-21
- [75] Park IH, Arora N, Huo H, et al. Disease-specific induced pluripotent stem cells. *Cell*, 2008, 134(5): 877-86
- [76] Jiang H, Ren Y, Yuen EY, et al. Parkin controls dopamine utilization in human midbrain dopaminergic neurons derived from induced pluripotent stem cells. *Nat Commun*, 2012, 3: 668
- [77] Ren Y, Jiang H, Ma D, et al. Parkin degrades estrogen-related receptors to limit the expression of monoamine oxidases. *Hum Mol Genet*, 2011, 20(6): 1074-83
- [78] Ren Y, Liu X, Lesage S, et al. The normal parkin sequence. *Mov Disord*, 2012, 27(3): 463-4