

朱旭超, 窦长松, 张钰, 等. 黑质 LAMP2A 过表达改善帕金森病恒河猴模型的运动功能 [J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32(4): 7-13.

Zhu XC, Dou CS, Zhang Y, et al. Overexpression of LAMP2A in substantia nigra improves motor function in rhesus monkey models of Parkinson's disease [J]. Chin J Comp Med, 2022, 32(4): 7-13.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2022.04.002

黑质 LAMP2A 过表达改善帕金森病恒河猴模型的运动功能

朱旭超, 窦长松, 张钰, 秦川, 张玲*

(中国医学科学院医学实验动物研究所, 北京协和医学院比较医学中心, 国家卫生健康委员会人类疾病比较医学重点实验室, 国家中医药管理局人类动物模型三级实验室, 北京 100021)

【摘要】 目的 在帕金森病(Parkinson's disease, PD)恒河猴模型上观察黑质过表达溶酶体相关膜蛋白 2A (lysosome associated membrane protein 2A, LAMP2A) 上调分子伴侣介导的自噬(chaperone-mediated autophagy, CMA) 对实验猴运动行为的影响。方法 应用立体定位注射仪向 7 只恒河猴的右脑纹状体区注射 PD 患者死亡后脑组织(自愿捐献)的路易小体(Lewy bodies, LBs) 提取物, 同时在左脑纹状体区注射非 PD 病人死亡患者的脑组织(自愿捐献)提取物来构建 PD 恒河猴模型。模型动物随机分为两组, LAMP2A 过表达组(4 只)在其黑质区双侧注射过表达 LAMP2A 的腺相关病毒载体; 对照组(3 只)在黑质区双侧注射对照病毒载体。通过阶梯实验、平板取食实验评价 PD 恒河猴模型运动能力和 LAMP2A 对该 PD 模型运动功能的影响。利用 ELISA 法对实验猴脑脊液、血清的总 α -突触核蛋白(α -synuclein, α -syn) 及磷酸化 α -syn 水平进行测定。结果 阶梯实验和平板取食实验中对对照组恒河猴的左侧上肢的精细动作水平相较于其右侧出现下降; LAMP2A 过表达组恒河猴的左右两侧上肢的精细运动水平没有出现明显差异; ELISA 测定对照组术后 12 月脑脊液、血清的总 α -syn 水平及磷酸化 α -syn 水平显著增高; LAMP2A 过表达组脑脊液磷酸化 α -syn 水平和血清磷酸化 α -syn 水平在 8 月之后均低于同期的对照组。结论 过表达 LAMP2A 可能通过增加 α -syn 的 CMA 清除改善 PD 恒河猴模型精细运动能力。

【关键词】 LAMP2A; 帕金森病; 行为学; 恒河猴

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2022) 04-0007-07

Overexpression of LAMP2A in substantia nigra improves motor function in rhesus monkey models of Parkinson's disease

ZHU Xuchao, DOU Changsong, ZHANG Yu, QIN Chuan, ZHANG Ling*

(Institute of Laboratory Animal Science, Chinese Academy of Medical Sciences; Center of Comparative Medicine, Peking Union Medical College; NHC Key Laboratory of Human Disease Comparative Medicine; Key Laboratory of Human Disease Animal Models, State Administration of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100021, China)

【Abstract】 Objective To observe the effect of overexpression of lysosome associated membrane protein 2A (LAMP2A) up-regulating chaperone-mediated autophagy (CMA) in the substantia nigra on the locomotor behavior of a

【基金项目】 国家自然科学基金专项项目(81941012); 国家自然科学基金国际(地区)合作与交流项目(82161138027); 中国医学科学院医学与健康科技创新工程(2021-I2M-1-034)。

【作者简介】 朱旭超(1996—), 男, 硕士研究生, 研究方向: 神经退行性疾病非人灵长类动物模型的行为表型。

E-mail: zhuxuchao1996@126.com

【通信作者】 张玲(1986—), 女, 博士, 助理研究员, 研究方向: 神经系统疾病的比较医学研究。E-mail: zhangling@cnilas.org

Parkinson's disease (PD) rhesus monkey model. **Methods** We established a rhesus monkey model of PD. A stereotactic injection device was used to inject Lewy bodies (LBs) extracts from the brain tissues donated by PD patients into the right striatum of seven rhesus monkeys. At the same time, extracts of brain tissue donated by control (non-PD) patients were injected into the striatum of the left brain. The animals were randomly divided into two groups. The LAMP2A overexpression group ($n=4$) was bilaterally injected with an adeno-associated virus vector overexpressing LAMP2A; the control group ($n=3$) was injected with a control virus vector in both sides of the substantia nigra. The motor function of monkeys was evaluated by the hill and valley staircase experiment and the pick-up test. The levels of total α -synuclein (α -syn) and phosphorylated α -syn in the cerebrospinal fluid and serum of experimental monkeys were determined by ELISA. **Results** In the valley staircase task and the outside board pick up test, the fine motor level of the left upper limb of the control group of rhesus monkeys was lower than that of the right side. There was no significant difference in the fine motor level of the upper limbs on the left and right sides of the rhesus monkeys in the LAMP2A overexpression group. Cerebrospinal fluid and serum total α -syn levels and phosphorylated α -syn levels of the control group increased significantly at 12 months after operation. The levels of phosphorylated α -syn in cerebrospinal fluid and serum phosphorylated α -syn in the LAMP2A overexpression group were lower than those in the control group at the same time after 8 months. **Conclusions** Overexpression of LAMP2A improved the fine motor ability of experimental monkeys in the rhesus monkey model of PD through up-regulating CMA-mediated α -syn elimination.

【Keywords】 LAMP2A; Parkinson's disease; behavior; rhesus monkey

帕金森病(Parkinson's disease, PD)是以静止性震颤、运动迟缓、肌强直等运动功能障碍为主要临床表现的神经退行性疾病,主要病理机制是中脑黑质致密部多巴胺能神经元变性丢失、纹状体多巴胺水平显著降低,以残存神经元胞体中出现的 LBs 为特征性标志物,目前无有效治疗手段。如何清除形成 LBs 的错误折叠 α -syn 是 PD 的重要研究方向^[1]。分子伴侣介导的细胞自噬(chaperone-mediated autophagy, CMA)是降解 α -syn 的重要途径^[2]。LAMP2A 是 CMA 的限速步骤,在 PD 病人黑质致密部和杏仁核中的表达水平降低导致 CMA 水平下降^[3-4]。 α -syn 因清除能力不足而出现异常聚积和错误折叠,形成具有神经毒性作用的 α -syn 寡聚体^[5],导致多巴胺能神经元变性坏死。PD 大鼠模型中已经证实过表达 LAMP2A 可以改善 α -syn 病理和运动能力^[6]。为进一步探究 LAMP2A 上调对 PD 是否有潜在的治疗价值,本研究利用恒河猴构建 PD 模型^[7],给予腺相关病毒载体过表达 LAMP2A^[8-9]。通过行为学方法对接受 LAMP2A 过表达干预的 PD 恒河猴模型进行精细运动能力检测,为进一步研究 PD 的发病机制和治疗提供了参考。

1 材料和方法

1.1 实验动物

普通级 4~5 岁雄性恒河猴 7 只,体重(5.28 ± 0.6)kg,均购自于中国医学科学院医学实验动物研究所北方中心[SCXK(京)2021-0004],并饲养于中

国医学科学院医学实验动物研究所北方中心[SYXK(京)2017-0027]。普通环境条件为 12 h/12 h 昼夜周期,温度(23 ± 2) $^{\circ}\text{C}$,湿度 45%~60%。每天饲喂特制猴饲料 3 次,中间 1 次给予适量水果。在本研究中所涉及的动物实验均经过中国医学科学院医学实验动物研究所动物实验伦理委员会审核批准(IACUC-QC19025),并遵循 3R 原则。

1.2 主要试剂与仪器

人 α 突触核蛋白 ELISA 试剂盒(生工, D71156-0096); Human p- α -SYN ELISA Kit (茁彩, ZC-54871)。主要的手术装置有大动物脑立体定位注射仪(瑞沃德,中国);高周波 X 射线机(Mikasa,日本);山和谷阶梯实验装置、平板取食实验装置自制。

1.3 实验方法

1.3.1 帕金森病恒河猴模型的制备与分组

利用大动物立体定位注射仪并参考 Yu 等^[10]的方法。以前连合为三维坐标系原点,纹状体坐标为:前后值(antero-posterior, AP) = -4 mm,距中缝值(media-lateral, ML) = ± 14 mm,平面值(dorso-ventral, DV) = -3 mm;黑质区坐标为 AP = -7 mm, ML = ± 3 mm, DV = -4 mm^[7,11]。向所有 7 只恒河猴的右脑纹状体区注射帕金森病患者死后脑组织的 LBs 提取物(100 μL , 3 $\mu\text{L}/\text{min}$),而在左脑纹状体注射非帕金森病人死后的脑组织提取物(100 μL , 3 $\mu\text{L}/\text{min}$),以此作为自身对照来构建帕金森病模型(图 1A)。LAMP2A 过表达组在其黑质区双侧注射

了过表达 LAMP2A 的腺相关病毒载体(10 μ L 每侧, 1 μ L/min);对照组在其双侧黑质区注射对照病毒载体(10 μ L 每侧,3 μ L/min)(图 1B)。人脑组织样本来自荷兰脑库,脑组织提取物和病毒载体均来自法国波尔多大学 Erwan Bezard 教授实验室^[7]。

1.3.2 阶梯实验

术后第 14 月,在实验人员能够通过食物引诱与实验猴进行互动时,对动物进行行为学测试,将 1 cm^3 苹果块作为食物奖励,每次正式实验开始前对实验猴禁食 1 餐。

分为山阶梯实验和谷阶梯实验,根据先前的研究^[12-13]设计制作而来(图 2A、2D)。在动物适应阶段(正式实验前 1 周,每天 1 次)训练动物穿过挡板从阶梯模具上获得食物奖励,随后开始正式实验。实验前在每层的阶梯模具上放置食物,摄像机记录动物伸手穿越孔洞、取到食物后缩回孔洞的时间,连续测试 10 d。对动物每侧肢体每次抓取食物的时间进行统计分析,用错误上肢取食的时间将不被记录。装置中透明挡板的孔道直径为 8 cm;阶梯模具每个阶梯长 8 cm,宽 3 cm,高 4 cm;山阶梯中两模具距离 2 cm,谷阶梯中两模具距离 12.5 cm,模具距挡板前方 10 cm。

1.3.3 平板取食实验

分为两端平板取食和中央平板取食实验,依据文献^[14]由亚克力板制作改进而来(图 3A、3D)。学习适应阶段和正式实验阶段类似于阶梯实验。使用两个 2 \times 4 排列的圆形孔槽亚克力板供实验猴取食,实验时长和统计指标同阶梯实验。每个平板模

具长 20 cm,宽 10 cm,厚 2 cm,上有 8 个直径 3 cm,深 0.5 cm 的孔槽,相邻两孔槽之间的距离为 2 cm;中央平板取食实验中两模具并齐,两端平板取食实验中两模具距离 15 cm,模具距挡板前方 10 cm。

1.3.4 酶联免疫吸附测定

在手术前和手术后的第 4、8、12 月,分别采集动物血清和脑脊液。以 10 mg/kg 剂量的盐酸氯胺酮肌肉注射麻醉动物后^[15],局部去毛暴露下肢皮下静脉,酒精棉球消毒,使用 5 mL 含肝素钠采血管取血。血液在采血管内室温静置 30 min 后随即以 3000 r/min 的转速 4 $^{\circ}$ C 离心 15 min,取上清。恒河猴麻醉后取立位坐姿,利用腰穿穿刺针在 L5 与 L6 椎间隙穿刺。有落空感时停止,旋转针头,引出脑脊液,从第 2 滴开始收集,每只动物每次取 1~1.5 mL^[16]。按照试剂盒内提供的操作手册分别对猴血清和猴脑脊液进行总 α -syn 水平和磷酸化 α -syn 水平的测定并进行数据分析。

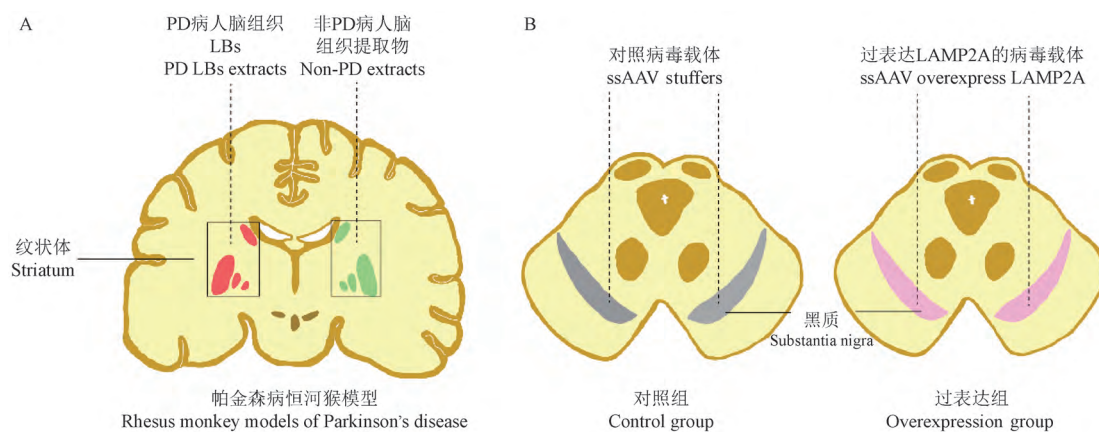
1.4 统计学方法

实验数据采用 Graphpad Prism 8.0 软件进行统计分析和绘图,以平均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多组间比较采用双因素方差分析,两两比较应用 *t* 检验。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 LAMP2A 过表达改善 PD 恒河猴模型垂直方向精细运动能力

本实验中帕金森病恒河猴模型采取右侧纹状体区 LBs 注射的方式,因此研究中重点检测术后第



注:A:构建帕金森病恒河猴模型;B:对照组、LAMP2A 过表达组的靶点脑区和注射物。

图 1 本研究中实验猴造模及分组示意图

Note. A, Construction of rhesus monkey models of Parkinson's disease. B, Target brain area and injection in control group and LAMP2A overexpression group.

Figure 1 Experimental monkey modeling and grouping schematic diagram in this study

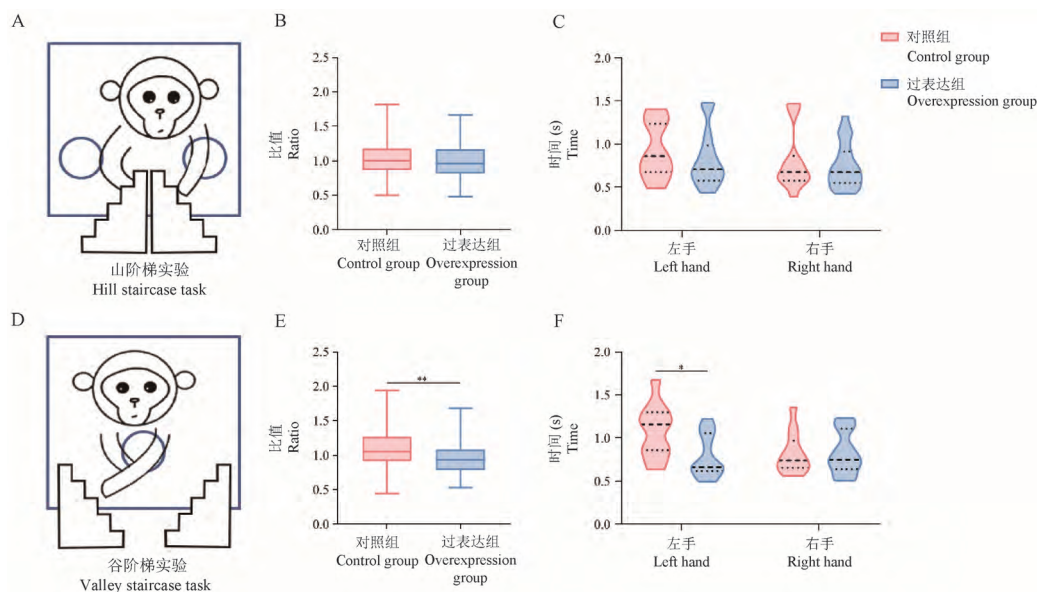
12 月实验猴注射脑区对侧^[17],即左侧上肢抓取食物的精细运动能力。将对照组和 LAMP2A 过表达组的左右上肢取食时间分别统计分析,为了消除个体差异,研究中采用该动物左手取食时间和其右手取食时间的比值作为衡量指标。由于山阶梯实验(图 2A)中一侧上肢抓取同侧目标的运动路径较短,因此山阶梯测试中没有显示出两组比值上的差异(图 2B)。为进一步探究 LAMP2A 对过表达组动物抓取运动的影响,研究发现在山阶梯中 LAMP2A 过表达组动物的两侧肢体运动没有明显的变化(图 2C);但谷阶梯(图 2D)中对照组恒河猴的差异表明对照组动物自身左手取食时间高于右手, $P < 0.01$ (图 2E),同时说明对照组左手精细运动的差异是由注射物 LBs 引起而非注射本身的机械损伤。在相对困难的谷阶梯实验中也明显提高了 LAMP2A 过表达组实验猴左手抓取的成绩,抓取时间缩短 $P < 0.05$ (图 2F),左手的取食效率提升。阶梯实验提示术后第 12 月的 PD 恒河猴模型,肉眼没有观察到明显的肢体运动障碍,但精细运动能力下降;同时黑质区 LAMP2A 的过表达可以改善其精细运动表现。

2.2 LAMP2A 过表达改善 PD 恒河猴模型水平方向精细运动能力

和阶梯实验类似,平板取食实验旨在测试实验猴水平方向上的精细运动能力。中央平板取食实验(图 3A)因其运动路径短,相对简单,两组动物上肢抓取时间的比值没有出现明显变化(图 3B),LAMP2A 过表达组上肢抓取时间的缩短也并不明显(图 3C);在相对困难的两端平板取食实验(图 3D)中,对照组动物上肢抓取时间的比值出现差异, $P < 0.05$ (图 3E),LAMP2A 过表达组动物左手抓取的效率明显提高,抓取时间下降, $P < 0.05$ (图 3F)。

2.3 LAMP2A 过表达组 PD 恒河猴模型磷酸化 α -syn 水平降低

为了探究 LAMP2A 改善实验猴精细运动能力的机制,我们对对照组和过表达组的猴血清、脑脊液的总 α -syn 以及磷酸化 α -syn 水平进行检测。结果表明,对照组恒河猴脑脊液的总 α -syn 水平在术后第 12 月显著增高($P < 0.001$)(图 4A);LAMP2A 过表达组恒河猴脑脊液总 α -syn 水平在各时间点相对平稳,但术后第 4 月的血清总 α -syn 浓度与术前相比出现上升($P < 0.05$),而后随时间趋于平稳,在术后第 12 月低于同期对照组(图 4B);LAMP2A 过

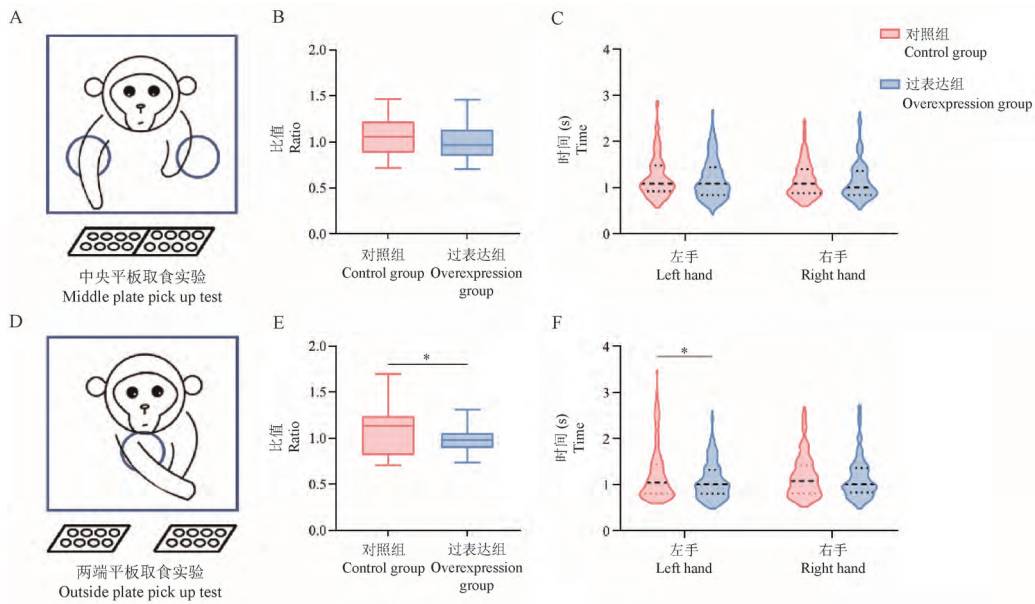


注:A:山阶梯实验装置;B:山阶梯实验中左右手取食时间的比值;C:山阶梯实验中左、右手分别取食的时间;D:谷阶梯实验装置;E:谷阶梯实验中左右手取食时间的比值;F:谷阶梯实验中左右手分别取食的时间。与对照组相比,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

图2 阶梯实验装置及结果($\bar{x} \pm s$)

Note. A, Hill staircase task equipment. B, Ratio of time spent on the left hand to the right hand in hill staircase task. C, Time to get food from left and right hands in hill staircase task. D, Valley staircase task equipment. E, Ratio of time spent on the left hand to the right hand in valley staircase task. F, Time to get food from left and right hands in valley staircase task. Compared to the control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

Figure 2 Staircase task equipment and results

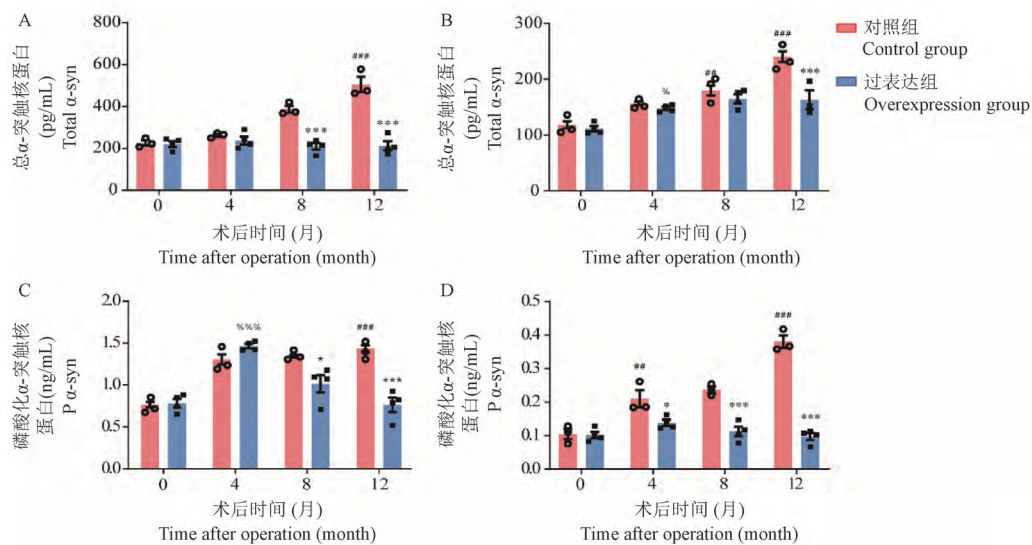


注:A:中央平板取食实验装置;B:中央平板取食实验中左右手取食时间的比值;C:中央平板取食实验中左、右手分别取食的时间;D:两端平板取食实验装置;E:两端平板取食实验中左右手取食时间的比值;F:两端平板取食实验中左右手分别取食的时间。与对照组相比, * $P < 0.05$ 。

图3 平板取食实验装置及结果($\bar{x} \pm s$)

Note. A, Middle plate pick up test equipment. B, Ratio of time spent on the left hand to the right hand in middle plate pick up test. C, Time to get food from left and right hands in middle plate pick up test. D, Outside plate pick up test equipment. E, Ratio of time spent on the left hand to the right hand in outside plate pick up test. F, Time to get food from left and right hands in outside plate pick up test. Compared to the control group, * $P < 0.05$.

Figure 3 Pick-up test equipment and results



注:A:实验猴脑脊液总 α -syn水平;B:实验猴血清总 α -syn水平;C:实验猴脑脊液磷酸化 α -syn水平;D:实验猴血清磷酸化 α -syn水平。与同时期对照组相比, * $P < 0.05$, *** $P < 0.01$;与对照组0月相比, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$;与LAMP2A过表达组0月相比, % $P < 0.05$, %%% $P < 0.001$ 。

图4 实验猴脑脊液和血清总 α -syn水平和磷酸化 α -syn水平比较($\bar{x} \pm s$)

Note. A, Total α -syn level of experimental monkey cerebrospinal fluid. B, Total α -syn level of experimental monkey serum. C, Phosphorylated α -syn level of experimental monkey cerebrospinal fluid. D, Phosphorylated α -syn level of experimental monkey serum. Compared with the control group in the same period, * $P < 0.05$, *** $P < 0.01$. Compared to the control group at 0 months, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$. Compared to the LAMP2A overexpression group at 0 months, % $P < 0.05$, %%% $P < 0.001$.

Figure 4 Comparison of total α -syn levels and phosphorylated α -syn levels in the cerebrospinal fluid and serum of experimental monkeys

表达组脑脊液磷酸化 α -syn 浓度在术后第 4 月显著增加 ($P < 0.001$), 而在术后第 8 月出现下降并于第 12 月恢复至术前水平, 表明 LAMP2A 在第 8 月作用凸显 (图 4C); 对照组恒河猴血清磷酸化 α -syn 水平在术后第 4 月开始, 也均高于同期的过表达组 (图 4D)。ELISA 结果说明 LAMP2A 降低了过表达组恒河猴血清、脑脊液的总 α -syn 和磷酸化 α -syn 水平, 同时生物学证据也支撑了 LAMP2A 过表达组恒河猴的较好的行为学表现, 提示 LAMP2A 在帕金森病病理进程中潜在的治疗作用。

3 讨论

本研究行为学实验表明, 过表达 LAMP2A 可以改善 PD 恒河猴模型的精细运动能力, 避免潜在的肢体运动障碍。我们在研究中并没有加入野生型恒河猴和 1-甲基-4-苯基-1, 2, 3, 6-四氢吡啶 (1-Methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine, MPTP) 诱导的 PD 恒河猴模型进行比较分析。但 Recasens 等^[7] 在研究中证实单侧纹状体注射 LBs 构建的 PD 恒河猴模型具备 α -syn 病理和黑质纹状体变性表现, 术后第 9 月开始出现纹状体多巴胺能神经元减少, 并发现同侧颞叶皮层的中央前回、额叶上回和内嗅皮层的 α -syn 免疫组化信号增加。这可能是由于纹状体在解剖上的高度联接性导致 LBs 在同侧脑区的扩散, 在 PD 恒河猴模型和 PD 小鼠模型中尚未有 LBs 单侧注射向对侧扩散的报告。因此, 本研究中对照组实验猴左手抓取效率的下降是由于其右侧纹状体 LBs 的注射引起。

Shimozawa 等^[18] 将人工合成的 α -syn 原纤维注射入野生型猴纹状体 3 月后便能够检测到磷酸化 α -syn 免疫反应阳性, 但没有观察到明显的行为障碍。本研究也未发现恒河猴明显的肢体运动障碍, 这与先前的研究一致。人类黑质多巴胺神经元数量减少 50% 以上、纹状体多巴胺含量降低 80% 以上才会出现明显的 PD 运动障碍症状^[19]。本研究中术后第 14 月出现精细运动能力下降的实验猴在病理阶段可能已经达到多巴胺能神经元损伤并出现行为异常的阈值^[20]。不同于 MPTP 注射诱导的急性 PD 恒河猴模型, 早期即出现明显肢体运动障碍^[21], 本文中 PD 恒河猴模型模拟慢性病理进程^[22], 早期肢体运动障碍不明显, 故对照组实验猴肢体精细运动能力的下降是 α -syn 病理进程的反映。

LAMP2A 是 CMA 的限速步骤, 前期的 PD 大鼠

模型中已经证实, LAMP2A 可以显著提高 CMA 活性, 减少了黑质区酪氨酸酶阳性神经元的丢失, 总 α -syn 也接近于对照组水平^[6]。我们分析恒河猴精细运动能力下降是因为 α -syn 寡聚体可以抑制核心蛋白复合体 (soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptor, SNARE) 的组成, 抑制囊泡内神经递质的释放^[23], 造成纹状体多巴胺含量的降低, 引起运动症状。此外, α -syn 寡聚体可以损伤线粒体复合体 I, 造成线粒体脂质过氧化, 导致多巴胺能神经元死亡^[24]。因此, 当 α -syn 的产生和清除之间的平衡被打破时, α -syn 单体便会错误折叠成 α -syn 寡聚体, 引发神经毒性^[25]。而 α -syn 被热休克蛋白 70 (heat shock protein 70, HSP70) 识别后, LAMP2A 能够将 α -syn-HSP70 复合物募集到溶酶体表面, 随后进入溶酶体降解^[23-24], 因此 LAMP2A 过表达通过直接增加溶酶体膜表面的 LAMP2A 受体, 提高了 CMA 清除 α -syn 的效率。更为重要的是, 磷酸化 α -syn 可以阻止高尔基体或者内质网形成自噬体膜, 以减少自噬溶酶体途径对自身的降解^[26]。但磷酸化 α -syn 是否也抑制了溶酶体膜的形成, 尚未有更多的报道。而且, LAMP2A 过表达可以激活蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC)^[27], 同时 PKC 可以诱导转录因子 EB (transcription factor EB, TFEB) 入核激活, 促进溶酶体的产生^[28]。因此, LAMP2A 不仅可以直接提高 CMA 活性增加 α -syn 的清除, 可能同时也促进了溶酶体的产生。

最近的一项研究显示, 研究人员靶向小鼠神经元线粒体, 小鼠初期表现出精细运动能力障碍^[29], 这与我们的研究结论不谋而合。但小鼠的研究中没有进行 α -syn 病理分析, 因此本研究也尚需进一步的病理探究。另外, 一项前瞻性研究表明确诊帕金森病 10 年后 28% 的患者出现痴呆, 确诊 17 年后有 78% 进展为帕金森病痴呆^[30]。而本研究中动物接受手术时间较短, 实验猴在由透明挡板和模具构成的立体空间中并没有表现出视觉空间认知^[31] 的差异, 因此有必要对其进行长期的观察研究以确定 LAMP2A 对认知功能的影响。

综上所述, 本研究在帕金森病恒河猴模型上初次验证了过表达 LAMP2A 可能通过增加 α -syn 的 CMA 途径清除、促进溶酶体的产生和减少磷酸化 α -syn 对溶酶体膜形成的抑制改善了 PD 恒河猴模型的精细运动能力, 为进一步研究其中的机制以及为 PD 的治疗提供了实验依据。

参考文献:

- [1] Chatterjee D, Bhatt M, Butler D, et al. Proteasome-targeted nanobodies alleviate pathology and functional decline in an α -synuclein-based Parkinson's disease model [J]. NPJ Parkinson Dis, 2018, 4: 25.
- [2] Cuervo AM, Stefanis L, Fredenburg R, et al. Impaired degradation of mutant α -synuclein by chaperone-mediated autophagy [J]. Science, 2004, 305(5688): 1292-1295.
- [3] Xilouri M, Brekk OR, Polissidis A, et al. Impairment of chaperone-mediated autophagy induces dopaminergic neurodegeneration in rats [J]. Autophagy, 2016, 12(11): 2230-2247.
- [4] Alvarez-Erviti L, Rodriguez-Oroz MC, Cooper JM, et al. Chaperone-mediated autophagy markers in Parkinson's disease brains [J]. Arch Neurol, 2010, 67(12): 1464-1472.
- [5] Du XY, Xie XX, Liu RT. The role of α -synuclein oligomers in Parkinson's disease [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(22): 8645.
- [6] Xilouri M, Brekk OR, Landeck N, et al. Boosting chaperone-mediated autophagy *in vivo* mitigates α -synuclein-induced neurodegeneration [J]. Brain, 2013, 136(7): 2130-2146.
- [7] Recasens A, Dehay B, Bové J, et al. Lewy body extracts from Parkinson disease brains trigger α -synuclein pathology and neurodegeneration in mice and monkeys [J]. Ann Neurol, 2014, 75(3): 351-362.
- [8] Banerjee R, Rai A, Lyer 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.
- [9] Chansel-Debordeaux L, Bezard E. Local transgene expression and whole-body transgenesis to model brain diseases in nonhuman primate [J]. Animal Model Exp Med, 2019, 2(1): 9-17.
- [10] Yu X, Persillet M, Zhang L, et al. Evaluation of blood flow as a route for propagation in experimental synucleinopathy [J]. Neurobiol Dis, 2021, 150: 105255.
- [11] François C, Yelnik J, Percheron G. A stereotaxic atlas of the basal ganglia in macaques [J]. Brain Res Bull, 1996, 41(3): 151-158.
- [12] Le Gal R, Bernaudin M, Toutain J, et al. Assessment of behavioural deficits following ischaemic stroke in the marmoset [J]. Behav Brain Res, 2018, 352: 151-160.
- [13] 黄忠强, 刘书华, 关雅伦, 等. 非人灵长类单侧脑损伤模型运动感知行为的评价研究 [J]. 中国实验动物学报, 2019, 27(5): 577-582.
- [14] 胡亚松. MPTP 诱导的食蟹猴慢性偏侧帕金森病模型行为学评价研究 [D]. 南宁: 广西医科大学, 2017.
- [15] 田肇隆, 马艳辉, 李丽, 等. 恒河猴大脑中动脉 M1 段栓塞建模中麻醉方案的选择 [J]. 中国比较医学杂志, 2017, 27(6): 53-55, 62.
- [16] 陈霆, 丛喆, 魏强. 实验用猴脑脊液采集技术方法的创新 [J]. 中国比较医学杂志, 2011, 21(2): 49-50, 79.
- [17] Asakawa T, Fang H, Sugiyama K, et al. Animal behavioral assessments in current research of Parkinson's disease [J]. Neurosci Biobehav Rev, 2016, 65: 63-94.
- [18] Shimozawa A, Ono M, Takahara D, et al. Propagation of pathological α -synuclein in marmoset brain [J]. Acta Neuropathol Commun, 2017, 5(1): 12.
- [19] Kalia LV, Lang AE. Parkinson's disease [J]. Lancet, 2015, 386(9996): 896-912.
- [20] Bezard E, Dovero S, Prunier C, et al. Relationship between the appearance of symptoms and the level of nigrostriatal degeneration in a progressive 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine-lesioned macaque model of Parkinson's disease [J]. J Neurosci, 2001, 21(17): 6853-6861.
- [21] Vezoli J, Fifel K, Leviel V, et al. Early presymptomatic and long-term changes of rest activity cycles and cognitive behavior in a MPTP-monkey model of Parkinson's disease [J]. PLoS One, 2011, 6(8): e23952.
- [22] 刘永芳, 吴正存, 马开利. 非人灵长类帕金森模型的研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2021, 31(8): 134-142.
- [23] Moloney TC, Hyland R, O'Toole D, et al. Heat shock protein 70 reduces α -synuclein-induced predegenerative neuronal dystrophy in the α -synuclein viral gene transfer rat model of Parkinson's disease [J]. CNS Neurosci Ther, 2014, 20(1): 50-58.
- [24] Xilouri M, Brekk OR, Stefanis L. Autophagy and α -synuclein: relevance to Parkinson's disease and related synucleopathies [J]. Mov Disord, 2016, 31(2): 178-192.
- [25] Burré J, Sharma M, Südhof TC. Definition of a molecular pathway mediating α -synuclein neurotoxicity [J]. J Neurosci, 2015, 35(13): 5221-5232.
- [26] Rostami J, Holmqvist S, Lindström V, et al. Human astrocytes transfer aggregated α -synuclein via tunneling nanotubes [J]. J Neurosci, 2017, 37(49): 11835-11853.
- [27] Onofre TS, Rodrigues JPF, Shio MT, et al. Interaction of trypanosoma cruzi Gp82 with host cell LAMP2 induces protein kinase C activation and promotes invasion [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2021, 11: 627888.
- [28] Li Y, Xu M, Ding X, et al. Protein kinase C controls lysosome biogenesis independently of mTORC1 [J]. Nat Cell Biol, 2016, 18(10): 1065-1077.
- [29] González-Rodríguez P, Zampese E, Stout KA, et al. Disruption of mitochondrial complex I induces progressive parkinsonism [J]. Nature. 2021, 599(7886): 650-656.
- [30] Aarsland D, Andersen K, Larsen JP, et al. Prevalence and characteristics of dementia in Parkinson's disease: an 8-year prospective study [J]. Arch Neurol, 2003, 60(3): 387-392.
- [31] Karádi K, Lucza T, Aschermann Z, et al. Visuospatial impairment in Parkinson's disease: the role of laterality [J]. Laterality, 2015, 20(1): 112-127.

[收稿日期] 2021-12-15