



乳胞素诱导食蟹猴慢性帕金森模型的初步建立

宋净洋¹, 郭清华², 车祥源², 郑志勇², 彭俊宇², 邢红霞¹, 刘捷³

1. 新乡医学院第三附属医院, 河南 新乡 453000

2. 新乡医学院第一附属医院, 河南 新乡 453100

3. 加拿大英属哥伦比亚大学icord研究所, 加拿大英属哥伦比亚省温哥华市 V5Z 1M9

摘要:目的 探索通过脑室内注射蛋白酶体抑制剂乳胞素的方法建立帕金森病(PD)食蟹猴动物模型。方法 选取老龄健康雄性食蟹猴3只,随机分为实验猴2只(A猴、B猴)、对照猴1只(C猴)。实验猴多次重复脑室内注射乳胞素,对照猴注射同等剂量的0.9%氯化钠溶液。于给药前后60 min观察其行为学变化。采用免疫组织化学方法染色和行为学评分对模型进行验证。结果 行为学观察结果显示,实验猴出现类似PD典型的手臂震颤、运动迟缓、运动量减少等行为学改变;行为学评分与对照猴相比,差异有统计学意义($P<0.05$)。免疫组化结果显示,实验猴酪氨酸羟化酶(TH)阳性面积较对照猴减少,差异有统计学意义($P<0.05$);实验猴平均吸光度较对照猴减少,差异有统计学意义($P<0.05$)。实验猴 α -突触核蛋白(α -syn)阳性面积较对照猴增加,差异有统计学意义($P<0.05$);实验猴平均吸光度较对照猴增加,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 该实验采用小剂量、多次重复脑室内注射蛋白酶体抑制剂乳胞素方式产生了类似PD的行为学改变,免疫组化结果显示黑质存在PD样病变,可认为已建立食蟹猴慢性PD模型,该模型能够较好地模拟PD患者的临床症状和病理进程。 [国际神经病学神经外科学杂志, 2021, 48(4): 321-326.]

关键词: 帕金森病;乳胞素;酪氨酸羟化酶; α -突触核蛋白;食蟹猴

中图分类号:R742.5

DOI:10.16636/j.cnki.jinn.1673-2642.2021.04.001

Preliminary establishment of a cynomolgus monkey model of chronic Parkinson's disease induced by lactacystin

SONG Jing-Yang¹, GUO Qing-Hua², CHE Xiang-Yuan², ZHENG Zhi-Yong², PENG Jun-Yu², XING Hong-Xia¹, LIU Jie³

1.The Third Affiliated Hospital of Xinxiang Medical College, Xinxiang, Henan 453000, China

2.The First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical College, Xinxiang, Henan 453100, China

3.Icordgraduate School, University of British Columbia, Vancouver, British Columbia V5Z 1M9, Canada

Corresponding author: XING Hong-Xia, Email: xhxwh02@163.com; LIU Jie, Email: jliu@icord.org

Abstract: Objective To establish a cynomolgus monkey model of Parkinson's disease (PD) through intracerebroventricular injection of the proteasome inhibitor lactacystin. **Methods** Three elderly healthy male cynomolgus monkeys were randomly divided into experimental group, control group, and blank control group, with one cynomolgus monkey in each group. The experimental monkey was given repeated intracerebroventricular injection of lactacystin, the control monkey was given the injection of an equal dose of 0.9% sodium chloride solution, and the blank control monkey was not given any treatment. Behavioral changes were observed at 60 minutes before and after administration. Immunohistochemical staining and behavioral score were used to validate the model. **Results** Behavioral observation showed that the experimental monkey had the typical behavioral changes of PD such as arm tremor, bradykinesia, and reduced amount of exercise, and there was

基金项目:河南省科技攻关项目基金(182102310156)

收稿日期:2021-03-09;修回日期:2021-05-31

作者简介:宋净洋(1991—),女,神经内科住院医师,硕士,主要从事脑血管病及神经变性疾病的研究。

通信作者:邢红霞(1972—),女,神经内科教授,主任医师,主要从事脑血管病及神经变性疾病的研究。Email:xhxwh02@163.com。

刘捷(1956—),男,研究员,主要从事神经科学领域的研究(包括神经系统创伤、变性等)。Email:jliu@icord.org。

a significant difference in behavioral score between the experimental monkey and the control monkey ($P < 0.05$). Immunohistochemistry showed that compared with the blank control monkey, the experimental monkey and the control monkey had a significant reduction in TH-positive area, and compared with the control monkey, the experimental monkey had significant reductions in TH-positive area ($P < 0.05$) and mean absorbance ($P < 0.05$). Compared with the blank control monkey, the experimental monkey and the control monkey had a significant increase in α -synuclein (α -syn)-positive area, and the α -syn-positive area in the experimental monkey was 214.5% that in the control monkey ($P < 0.05$); the experimental monkey had a significant increase in mean absorbance compared with the control monkey ($P < 0.05$). **Conclusions** In this experiment, repeated small-dose intraventricular injection of the proteasome inhibitor lactacystin produced the behavioral changes similar to those in PD, and immunohistochemical results showed PD-like lesions in the substantia nigra; therefore, a cynomolgus monkey model of chronic PD can be considered successfully established. This model can better simulate the clinical symptoms and pathological process of PD patients and is thus a reliable experimental animal model for studying the etiology, pathogenesis, drug therapy, and gene therapy for PD.

[Journal of International Neurology and Neurosurgery, 2021, 48(4): 321–326.]

Keywords: Parkinson's disease; lactacystin; tyrosine hydroxylase; α -synuclein; cynomolgus monkey

帕金森病(Parkinson's disease, PD)是中老年常见神经系统变性疾病之一,是全球第二大神经退行性疾病^[1]。PD的临床症状包括静止性震颤、运动迟缓、肌僵直和姿势平衡障碍,这些临床症状是由多巴胺能系统的神经变性引起的。多巴胺能神经退行性变具有2个重要的病理改变:①黑质中的多巴胺能神经元大量丢失(50%~80%);②路易小体的异常沉积^[2]。但是PD的病因和发病机制尚不明确,至今仍未发现能够完全治愈该病的药物,因此建立一个简便高效的PD模型为探究其病因、发病机制和新药评价提供实验基础至关重要。

目前,6-羟基多巴胺(6-hydroxydopamine, 6-OHDA)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)是2种最常见的用来建立PD动物模型的神经毒素。这两种模型均表现出与特发性PD相似的黑质纹状体变性^[3-4],可以在体内外成功监测到多巴胺能神经元的损失。PD患者多巴胺能黑质神经元变性的重要病理特征是 α -突触核蛋白(α -synuclein, α -syn)的积聚,但目前6-OHDA模型和MPTP模型均无法模拟出 α -syn聚集这一病理现象。有研究表明,PD患者死后脑组织中受影响神经元内异常的 α -syn聚集与泛素-蛋白酶体系统(ubiquitin-proteasome system, UPS)功能障碍有关^[5]。根据UPS功能障碍和路易小体表达的相关性,一些研究通过给予UPS抑制剂(如乳胞素)开发了新的PD动物模型^[6]。乳胞素有2种给药方法:颅内注射和全身给药。但是,后一种给药方式目前尚有些争议,很少用作PD动物模型^[7-10]。

因此,基于目前PD动物模型不能真正完全模拟人类PD发病机制和进程的问题,本研究采用与人类生理结构、病理特征及生化特点相似的非人灵长类动物健康老龄食蟹猴为研究对象,采用小剂量、多次重复脑室内注射

乳胞素的方法建立帕金森病食蟹猴动物模型,并采用免疫组织化学方法染色和行为学评分来验证模型是否成功建立,为PD发病机制的研究创造一个新的科研平台。

1 材料与方法

1.1 实验动物

老龄健康雄性食蟹猴3只,体重8.3~9.2 kg,年龄13~16岁,由中国军事科学院实验动物中心提供(实验动物伦理编号:IACUC-DWZX-2018-301)。动物自由饮水进食,在昼夜交替的自然光周期下饲养。实验中对动物的处置符合中华人民共和国科学技术部《关于善待实验动物的指导性意见》的规定。

1.2 主要试剂与仪器

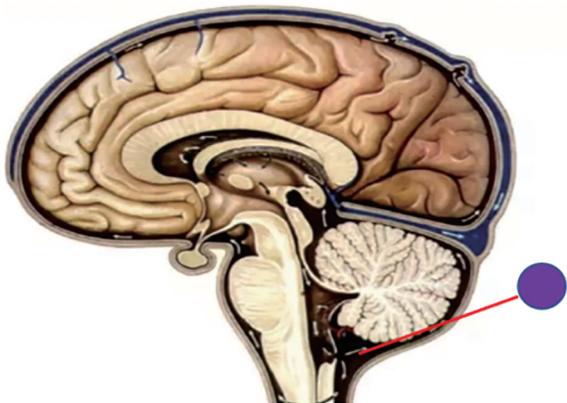
蛋白酶体抑制剂乳胞素(CAS133343-34-7, Sigma);兔抗人酪氨酸羟化酶(ab112, Abcam);鼠抗人 α -突触核蛋白(ab138501, Abcam)。

脱水机(购自武汉俊杰电子有限公司,型号:JJ-12J);包埋机(购自武汉俊杰电子有限公司,型号:JB-P5);病理切片机(购自上海徠卡仪器有限公司,型号:RM2016)。

1.3 实验方法

1.3.1 PD食蟹猴模型制作 将3只食蟹猴随机分为实验猴2只(A猴、B猴)、对照猴1只(C猴),单笼喂养。3只食蟹猴(A猴、B猴、C猴)手术前一天晚上禁食但不禁水,术前给予氯胺酮0.1 mL/kg肌肉注射麻醉,固定于脑立体定位仪上。予以气管插管并连接麻醉机,维持麻醉,测试麻醉深度,监测并记录生命体征。备皮消毒后,于颈中线做与颈部肌肉平行的直切口,钝性分离各层,暴露覆盖后部枕叶皮质和小脑的颅骨。在小脑顶部(枕骨嵴)颅骨中线下不到1 cm处钻入一个直径为4~6 mm的小孔,暴露硬膜并且开一小口,将特制导管(5H VAP管)缓慢插入骨孔并沿小脑和硬脑膜之间进入小脑延髓池(图1)。导管长

度延伸至 VAP 注射端口,并保证无张力。导管末端处有灌注孔,以减少阻塞的机会。通过插入一个无菌胡贝尔针,连接于 1 mL 注射器,进入 VAP 端口的顶部,轻轻取少量脑脊液液体,再慢慢重新注入,以检查管道通畅情况。颅骨上的洞用一滴医用生物蛋白胶封闭,同时也将导管固定于颅骨,以防止尖端运动使导管滑出。轻推 VAP 端口至颈部皮下口袋注射端口,并用生物胶/外科非可吸收缝线固定在耳后皮下(肌肉表面),同时确保导管较松以便于动物可自由地移动头部。终止手术前,用无菌的胡贝尔针穿过皮肤的隔膜处取出少量脑脊液,再慢慢重新注入,检查导管/VAP 的通畅情况。用 4/5~0 可吸收线缝合皮下和不可吸收缝线缝合皮肤,清洁切口。常规移除气管导管和静脉输液装置,术后给予抗生素应用。实验猴(A猴、B猴)均以 20 μg 起始,每 20 μg 逐渐增加,多次重复脑室注射乳胞素,观察食蟹猴行为变化。对照猴(C猴)注射同等剂量的 0.9% 氯化钠溶液。造模结束后全部处死并取材。



该图为作者自行绘制,图中线条表示 5H VAP 管缓慢插入骨孔并沿小脑和硬脑膜之间进入小脑延髓池,圆形部分表示 VAP 端口

图1 实验造模模式图

1.3.2 行为学评分 于乳胞素脑室内注射前后 60 min 观察食蟹猴行为学表现,并进行记录及评分,每周的平均得分为该周的最后得分。通过食蟹猴的行为学表现,判断造模是否成功。评分从 3 个方面进行。

活动量:0分,不活动;1分,在笼子的地板上,活动头部;2分,仍在笼子的地板上,只有四肢活动,没有位置移动;3分,待在除地板外的其他位置;4分,待在除地板外的其他位置,且活动头部,没有位置移动;5分,在笼子的地板上走动;6分,在笼子的地板上跳跃;7分,在笼子里攀爬移动,移动时间小于观察总时间的 50%;8分,在笼子里攀爬移动,移动时间大于观察总时间的 50%;9分,在笼子里不断的跑及跳跃。

姿势:0分,很正常,保持头部向上;1分,姿势异常,正面朝下,身体蜷缩。

动作徐缓程度:0分,速度正常,有运动倾向;1分,温和地放慢运动的速度;2分,中等地动作缓慢,身体僵硬,起步活动困难;3分,僵硬的时间延长,基本不能活动。

1.3.3 组织学检查 食蟹猴处理前禁食 10 h,静脉注射氯化钾(kalium chloratum, KCL)处死,开颅后将大脑取出,在冰上迅速剥离出中脑,放入 4% 甲醛溶液固定。后进行石蜡切片,片厚 5 μm。切片分为 2 套,分别进行免疫组织化学酪氨酸羟化酶(tyrosine hydroxylase, TH)和 α-syn 染色。石蜡切片脱蜡至水,使用柠檬酸(pH6.0)进行抗原修复;用 PBS(pH7.4)漂洗 3 次,每次 5 min;切片在室温下用内源性过氧化物酶阻断液孵育 25 min, PBS 漂洗 3 次,每次 5 min;封闭:在组化圈内滴加 3% BSA,室温封闭 30 min。加一抗:在切片上滴加与 PBS 按 1:750 配好的 TH 抗体和按 1:200 配好的 α-syn 抗体,4°C 孵育过夜;加二抗:切片用 PBS 漂洗 3 次,每次 5 min,滴加与 PBS 按 1:200 配制的 HRP 标记的山羊抗兔二抗,室温孵育 50 min。显色:DAB 显色,显微镜下控制显色时间,阳性为棕黄色,自来水冲洗终止显色;苏木素复染 1 min 左右,自来水冲洗,苏木素返蓝液返蓝,流水冲洗;脱水封片。每只食蟹猴的黑质部位切片,每个部位随机选取 5 张切片,每张切片选取 5 个视野,测量在光镜 200 倍视野下阳性细胞平均吸光度值和阳性产物面积,并取其平均值。

1.4 统计学方法

数据采用 SPSS 25.0 软件进行统计分析。计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用独立样本 *t* 检验。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 行为学改变

实验猴(A猴、B猴)在注射乳胞素后前 4 周未见明显行为学变化。在第 5 周时,实验猴(A猴、B猴)开始出现类似 PD 的行为学改变(运动迟缓、手臂震颤等),继续注射乳胞素至 7 周后,行为学出现显著变化,停止给药,并于 1 周后全部麻醉,开颅取脑。对照猴(C猴)行为学表现未见明显变化。实验猴(A猴、B猴)行为学评分与对照猴(C猴)相比,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表 1。

表1 行为学评分比较分 ($\bar{x} \pm s$)

组别	活动量	姿势	动作徐缓程度
实验猴	8.31±0.79	0.62±0.72	1.06±1.12
对照猴	9.00±0.00	0	0
<i>t</i> 值	2.731	2.432	2.645
<i>P</i> 值	0.024	0.024	0.015

2.2 TH免疫组织化学染色

黑质部位DAB染色的阳性表达为棕黄色,主要分布于神经元胞质和突起内(图2),经苏木素染细胞核为蓝色。实验猴A猴黑质致密部TH阳性细胞较少,绝大部分胞体呈蓝色,另可见极少量的神经突起着色(图2A)。实验猴B猴TH阳性物质较A猴变化不大,TH阳性细胞少,未见明显神经突起着色(图2B)。对照猴C猴黑质致密部(图2C)TH阳性细胞较多,棕黄色阳性物质较多。

实验猴(A猴、B猴)TH染色平均每200×视野下阳性面积变化趋势及平均吸光度与其临床症状和行为学评分结果一致。实验猴(A猴、B猴)TH阳性面积与对照猴(C猴)比较减少,差异有统计学意义($P<0.05$)。实验猴(A猴、B猴)平均吸光度与对照猴(C猴)相比减少,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表2 乳胞素对TH在黑质的表达与分布的影响 ($\bar{x}\pm s$)

组别	阳性面积	平均吸光度
实验猴	6 448.50±3 191.97	0.35±0.01
对照猴	1 3623.20±6 876.61	0.38±0.03
<i>t</i> 值	2.592	2.359
<i>P</i> 值	0.027	0.049

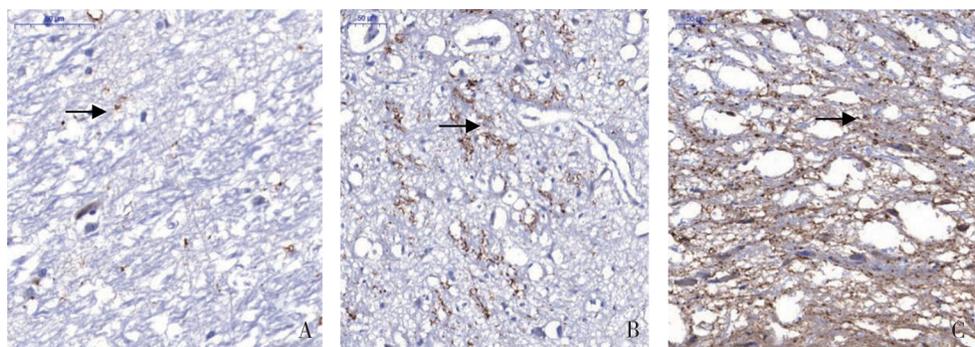
2.3 α -syn免疫组织化学染色

黑质部位DAB染色的 α -syn阳性物质呈棕黄色,主要分布于神经突起内(图3),经苏木素染细胞核为蓝色。实验猴A猴黑质致密部神经元胞体几乎呈蓝色,周围可见有棕色的阳性物质(图3A)。实验猴B猴黑质致密部可见位于细胞间质、神经胞体样棕色细小颗粒物质(图3B)。对照猴C猴(图3C) α -syn阳性细胞较少,未见棕黄色阳性物质。

实验猴(A猴、B猴) α -syn染色平均每200×视野下阳性面积变化趋势及平均吸光度与其临床症状和行为学评分结果一致。实验猴(A猴、B猴) α -syn阳性面积与对照猴(C猴)比较增加,差异有统计学意义($P<0.05$)。实验猴(A猴、B猴)平均吸光度与对照猴(C猴)相比增加,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

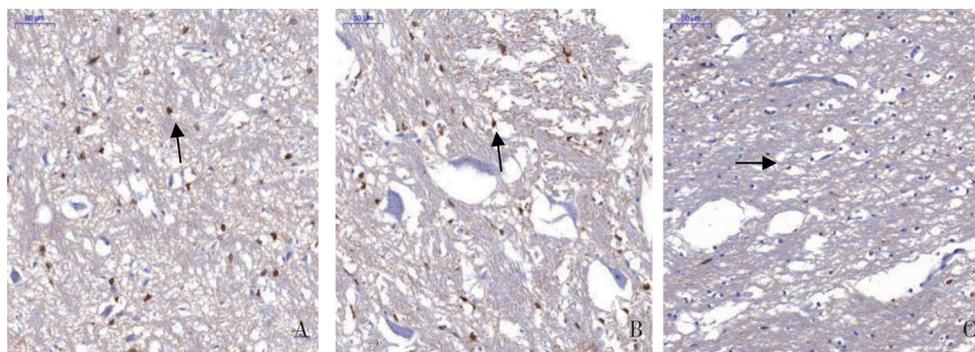
表3 乳胞素对 α -syn在黑质的表达与分布的影响 ($\bar{x}\pm s$)

组别	阳性面积	平均吸光度
实验猴	7 837.50±1 257.86	0.37±0.02
对照猴	3 653.80±1 519.37	0.33±0.01
<i>t</i> 值	3.674	3.098
<i>P</i> 值	0.021	0.036



A: 实验猴(A猴); B: 实验猴(B猴); C: 对照猴(C猴); 箭头所示神经元胞体中TH阳性反应

图2 TH在黑质致密部的表达与分布(200×)



A: 实验猴(A猴); B: 实验猴(B猴); C: 对照猴(C猴); 箭头所示神经元胞体中 α -syn阳性反应

图3 α -syn在黑质致密部的表达与分布(200×)

3 讨论

PD的病因和发病机制十分复杂,迄今仍未彻底明确,目前最受关注的几个机制有氧化应激、线粒体功能缺陷、UPS功能障碍等,多种发病机制之间存在着紧密的联系。根据目前的理论,氧化应激和线粒体功能障碍可以生成过量的错误折叠和受损的蛋白质^[11],超过了细胞通过UPS途径和自噬溶酶体途径作用正常清除这些蛋白质的能力^[12-14],从而导致了毒性蛋白的累积,形成不可溶性蛋白的沉积并促进神经元细胞的死亡。而氧化应激、线粒体功能障碍、铁的过量积累都可以降低UPS活性,并进一步损害细胞其他功能^[15]。从散发的PD获得的验尸数据表明,26/20S蛋白酶体中存在结构和功能缺陷。另外,神经病理学研究提供了PD蛋白酶体系统衰竭的间接证据,该研究记录了UPS的组成成分的积累^[16],UPS损伤可能会导致PD的潜在病态以及其他蛋白质聚集失调^[6]。无论是正常老化相关的UPS活性降低和/或基因突变造成的UPS功能障碍,以上这些结果充分说明,UPS的功能障碍,可导致有毒蛋白质的积累,从而导致了细胞死亡。因此,UPS在散发型PD的发病中可能发挥着一定的作用,McNaught等^[17]构建出一种基于抑制UPS的PD模型,该模型似乎能够复制这种疾病的大多数特征。因此本研究就采用蛋白酶体抑制剂乳胞素来诱导建立PD模型。

蛋白酶体抑制剂乳胞素是一种存在于土壤中的链霉菌的代谢产物^[18],在环境中广泛存在,当易感人群通过生活接触、饮食等方式将其摄入体内时,可以通过抑制20S/26S蛋白酶体功能,致使UPS功能缺陷,异常蛋白累积,诱发多种疾病。本实验动物模型的建立,采用与人类较为相似的非人灵长类动物健康老龄食蟹猴作为研究对象,能更好的模拟PD患者的临床特征及病程进展。此外,食蟹猴行为学评分也很重要。从动作徐缓程度、活动量及姿势3个方面进行行为学评价,较为客观,是本实验重要的评价依据之一。从实验结果来看,实验猴食蟹猴行为学评分逐渐降低,较对照猴出现活动量下降、姿势不稳、运动徐缓程度增加,持续1周时间,行为学改变持续存在。另外,有研究表明,通过免疫组化检测TH和 α -syn在黑质部位的分布与表达变化对模型进行验证是非常可靠的方法。本研究证实实验猴食蟹猴出现典型的行为学改变,对照猴行为学未见明显改变。免疫组化结果示,实验猴TH、 α -syn染色平均每200 \times 视野下阳性面积变化趋势及平均吸光度与其临床症状和行为学评分结果一致。以上实验结果表明,该模型能较好的模拟PD患者的临床特征及病程进展。本研究利用灵长类造模可以对该疾病相关的认知功能及在其他的动物模型中无法观察的PD相关的非运动症状(淡漠、抑郁状态等)的机制有更加深入的探究;可以使UPS实验模型的转化价值达到最高。有效的帕金森病模型,将有助于检测和筛选出更加有效的

药物和疗法,为帕金森病的更深入的研究提供一定的理论基础和可靠研究载体。

本实验不足之处在于样本量太少,没有设置空白对照组,且停药后直接进行组织学检测,没有做延长观察比较是否存在自愈的可能,可通过加大样本量,延长观察时间进一步确认此慢性PD食蟹猴动物模型。

综上,本研究表明,以小剂量、重复多次脑室注射乳胞素来建立慢性PD食蟹猴动物模型,在很大程度上能够模拟PD患者慢性发病进程,是一种较理想的PD动物模型,为PD动物模型的建立提供较好的参考。

参 考 文 献

- [1] 夏静. 单核苷酸多态性SNCA rs356221对帕金森病认知功能的影响[J]. 国际神经病学神经外科学杂志, 2020, 47(3): 300-304.
- [2] WENG CC, HUANG SL, CHEN ZA, et al. [¹⁸F]FP-(+)-DTBZ PET study in a lactacystin-treated rat model of Parkinson disease [J]. *Ann Nucl Med*, 2017, 31(7): 506-513.
- [3] TRONCI E, FRANCARDO V. Animal models of L-DOPA-induced dyskinesia: the 6-OHDA-lesioned rat and mouse[J]. *J Neural Transm*, 2018, 125(8): 1137-1144.
- [4] HAN B, CHE X, ZHAO Y, et al. Neuroprotective effects of Danshensu in Parkinson's disease mouse model induced by 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine[J]. *Behav Pharmacol*, 2019, 30(1): 36-44.
- [5] DELENCLOS M, BURGESS JD, LAMPROKOSTOPOULOU A, et al. Cellular models of alpha-synuclein toxicity and aggregation [J]. *J Neurochem*, 2019, 150(5): 566-576.
- [6] BENTE A E, VERBRUGGEN L, MASSIE A. The proteasome inhibition model of Parkinson's disease[J]. *J Parkinsons Dis*, 2017, 7(1): 31-63.
- [7] HIRST SJ, FERGER B. Systemic proteasomal inhibitor exposure enhances dopamine turnover and decreases dopamine levels but does not affect MPTP-induced striatal dopamine depletion in mice[J]. *Synapse*, 2008, 62(2): 85-90.
- [8] DUTY S, JENNER P. Animal models of Parkinson's disease: a source of novel treatments and clues to the cause of the disease [J]. *Br J Pharmacol*, 2011, 164(4): 1357-1391.
- [9] VERNON AC, CRUM WR, JOHANSSON SM, et al. Evolution of extra-nigral damage predicts behavioural deficits in a rat proteasome inhibitor model of Parkinson's disease[J]. *PLoS One*, 2011, 6(2): e17269.
- [10] DENEYER L, ALBERTINI G, BENTE A E, et al. Systemic LPS-induced neuroinflammation increases the susceptibility for proteasome inhibition-induced degeneration of the nigrostriatal pathway[J]. *Parkinsonism Relat Disord*, 2019, 68: 26-32.
- [11] LE WD. Role of iron in UPS impairment model of Parkinson's disease[J]. *Parkinsonism Relat Disord*, 2014, 20 Suppl 1: S158-S161.
- [12] MARTÍNEZ G, DURAN-ANIOTZ C, CABRAL-MIRANDA F, et

- al. Endoplasmic reticulum proteostasis impairment in aging[J]. Aging Cell, 2017, 16(4): 615-623.
- [13] HEGDE AN, LEEUWEN FWVAN. Editorial: ubiquitin and the brain: roles of proteolysis in the normal and abnormal nervous system[J]. Front Mol Neurosci, 2017, 10: 220.
- [14] WANG B, ABRAHAM N, GAO GD, et al. Dysregulation of autophagy and mitochondrial function in Parkinson's disease[J]. TranslNeurodegener, 2016, 5: 19.
- [15] BUKHATWA S, ZENG BY, ROSE S, et al. A comparison of changes in proteasomal subunit expression in the substantia nigra in Parkinson's disease, multiple system atrophy and progressive supranuclear palsy[J]. Brain Res, 2010, 1326: 174-183.
- [16] CIECHANOVER A, KWON YT. Degradation of misfolded proteins in neurodegenerative diseases: therapeutic targets and strategies[J]. Exp Mol Med, 2015, 47(3): e147.
- [17] MCNAUGHT KSP, OLANOW CW. Proteasome inhibitor-induced model of Parkinson's disease[J]. Ann Neurol, 2006, 60(2): 243-247.
- [18] ŌMURA S, CRUMP A. Lactacystin: first-in-class proteasome inhibitor still excelling and an exemplar for future antibiotic research[J]. J Antibiot (Tokyo), 2019, 72(4): 189-201.

责任编辑:龚学民