

罗海玉,吴正存,马开利. 基于 α -突触核蛋白原纤维的帕金森氏疾病模型的研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(9): 103-108.

Luo HY, Wu ZC, Ma KL. Research progress of Parkinson's disease models based on α -synuclein fibrils [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(9): 103-108.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2019.09.016

基于 α -突触核蛋白原纤维的帕金森氏疾病模型的研究进展

罗海玉^{1#}, 吴正存^{1#}, 马开利^{1,2*}

(1. 中国医学科学院 & 北京协和医学院, 医学生物学研究所, 药物安全性评价研究中心, 昆明 650118;
2. 中国医学科学院 & 北京协和医学院, 医学灵长类研究中心 & 神经科学中心, 北京 100005)

【摘要】 帕金森氏病(Parkinson's disease, PD)是一种常见的神经系统退行性疾病,主要病理学标志为中脑黑质致密部可见部分的一种球状包涵体,称为路易小体(Lewy bodies, LBs)。LBs的主要成分为部分中空的放射状淀粉样纤维,而该淀粉样纤维的主要成分为 α -突触核蛋白(α -synuclein, AS)。AS与PD的发生有着密切的关系,是PD致病机制研究中的关键蛋白。AS的原纤维具有独特的传播特性,且能诱发产生与PD病理相类似的一系列特征,因此其可以作为建立PD模型的全新材料。本文就基于AS原纤维的PD模型的研究进展进行综述。

【关键词】 帕金森氏病; α -突触核蛋白; 原纤维; 疾病模型

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2019) 09-0103-06

Research progress of Parkinson's disease models based on α -synuclein fibrils

LUO Haiyu^{1#}, WU Zhengcun^{1#}, MA Kaili^{1,2*}

(1. Center for Drug Safety Evaluation and Research, Institute of Medical Biology, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Kunming 650118, China. 2. Medical Primate Research Center & Neuroscience Center, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100005)

【Abstract】 Parkinson's disease (PD) is a common neurodegenerative disease. The main pathological marker, termed Lewy bodies (LBs), is a globular inclusion in the visible part of the substantia nigra pars compacta. The main component of LBs is a partially hollow radial amyloid fiber, and the main component of the amyloid fiber is α -synuclein (AS). AS has a close association with the occurrence of PD and is a key protein in the study of PD pathogenesis. The AS fibrils have unique propagation characteristics and can induce a series of features similar to PD pathology, thus they can be used as a new material for efficient PD model establishment. This paper reviews the research progress of PD models based on AS fibrils.

【Keywords】 Parkinson's disease; α -synuclein; fibrils; disease model

【基金项目】 国家自然科学基金(81571254); 国家科技重大专项(2016ZX08011007-003); 云南省应用基础项目(2016FA032); 中国医学科学院医学与健康科技创新工程(2016-I2M-2-001, 2016-I2M-1-004)。

【作者简介】 罗海玉(1995—), 女, 硕士研究生, 专业: 药理学。E-mail: luohaiyu5201314@163.com

吴正存(1986—), 女, 硕士, 助理研究员, 主要研究方向: 神经科学。E-mail: 604037178@qq.com [#]共同第一作者

【通信作者】 马开利(1981—), 男, 博士, 副研究员, 硕士生导师, 主要研究方向: 药理学和毒理学。E-mail: makaili@imbcams.com.cn

帕金森氏病(Parkinson's disease, PD)是一种常见的神经系统退行性疾病,发病率仅次于阿尔兹海默症^[1],其主要的临床症状表现为运动功能障碍和静止性震颤,并且常伴随有抑郁和睡眠障碍等非运动症状^[2]。一旦发病,将对患者的身心造成严重损害,同时,给整个家庭带来巨大的经济和精神负担。PD的主要病理学表现为中脑多巴胺能神经元死亡和纹状体损失,主要的病理学标志为中脑黑质致密部形成的路易小体(Lewy bodies, LBs)^[1, 3]。LBs是黑质致密部可见部分的一种球状包涵体,主要成分为部分中空的放射状淀粉样纤维,而该淀粉样纤维的主要成分为 α -突触核蛋白(α -synuclein, AS)^[3]。

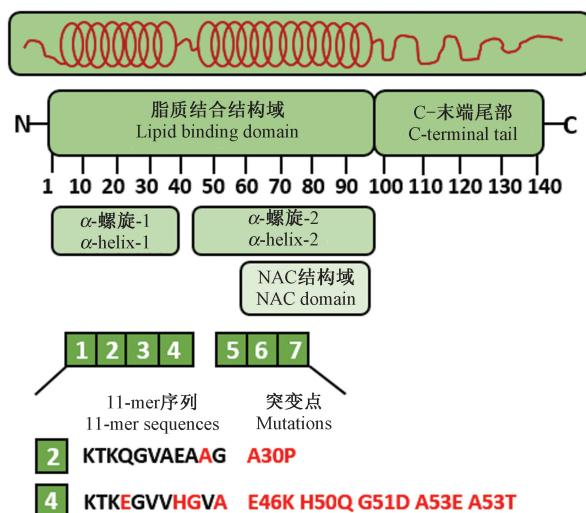
1988年,Maroteaux等人^[4]在电鳗体内首次发现了AS的存在,并且确定了其位于突触前末梢和核周。随后,AS被证实是LBs的主要成分并且与PD的发生有密切的关系,并且越来越多的研究将AS作为了PD致病机制研究中的关键蛋白。近年来,有大量研究表明,异常聚集的AS具有类朊病毒样的传播特性,其能够在神经元细胞之间进行传播,导致脑内更多AS聚集体的产生,最终造成大脑中负责运动区域的神经元死亡^[5-6]。于是,研究者们将AS原纤维接种于原代神经元细胞,发现诱导产生了大量包涵体并且发现其磷酸化水平明显升高^[7]。同时,利用AS原纤维建立的PD动物模型能诱导产生大量类LBs的包涵体,与PD病人的病理特征相类似^[8]。更重要的是,相比于传统的神经毒性模型和过表达AS的转基因模型,利用AS原纤维建立的PD模型,所诱导产生的内源性AS的水平更接近于人类的生理水平并且其病理变化更类似于人类的病症^[8]。因此,利用AS原纤维建立PD模型,将有望成为研究体内PD样LB病理学的通用造模方法。因此,本文就基于AS原纤维的帕金森氏疾病模型的研究进展进行综述。

1 AS的结构及传播

1.1 AS的结构

AS是一种由140个氨基酸残基组成的蛋白质,分子量约为 14×10^3 。AS具有独特的结构(如图1),其中1~60号残基为N-末端(氨基端),介导了AS与脂质膜的结合^[9];60~95号残基为NAC结构域,该区域被认为是检测AS聚集的重要指标^[10]。1~95号残基共同组成了脂质结合结构域,包括了7个11-mer(11个氨基酸残基)的重复序列,KTKGEV

为其共有序列,与载脂蛋白类似,形成两个 α -螺旋、三个转角^[9-10]。所有与突触核蛋白病相关的已鉴定的突变位点都位于该区域:A30P、E46K、H50Q、G51D、A53E和A53T^[11]。AS的96~140号残基为C-末端(羧基端),是高度酸性的不规则卷曲结构,也是各种翻译后修饰的靶标^[12]。C-末端是AS与各类蛋白质、离子、聚阳离子相互作用的部位,同时也调节了AS的膜结合,以及保护AS免于聚集^[13]。



注:在与脂质膜结合后,AS的N-末端结构域折叠成两个两亲性螺旋;AS的C-末端尾部不会促进膜结合。脂质结合结构域可以分成七个高度保守的11-mer序列。 α -螺旋-2包含易聚集的NAC结构域。AS的所有疾病相关突变位于第二和第四11-mer伸展中。

图1 AS的结构域示意图

Note. Upon binding to the lipid membrane, the N-terminal domain of AS folds into two amphipathic helices; the C-terminal tail of AS does not promote membrane binding. The lipid binding domain can be divided into seven highly conserved 11-mer sequences. α -Helix-2 contains a cluster of NACs that are susceptible to aggregation. All disease-associated mutations in AS are located in the second and fourth 11-mer stretches.

Figure 1 Schematic diagram of the AS domains

1.2 AS在体内的生理病理构象及传播

正因为AS的结构特性,导致了其在体内的构象容易发生改变(如图2),AS的异常构象对于PD病理学的传播和神经元功能障碍来说至关重要。AS本质上是一种无序的蛋白质,正常生理状态下是自然伸展的单体形式,但是不同的环境条件会影响其构象的可塑性。AS单体在体内以两种状态存在,即可溶状态(天然非结构化)和膜结合状态(部分螺旋构象)。当体内环境改变时,天然非结构化的单体可以通过部分折叠的成核结构转化为寡聚体,寡

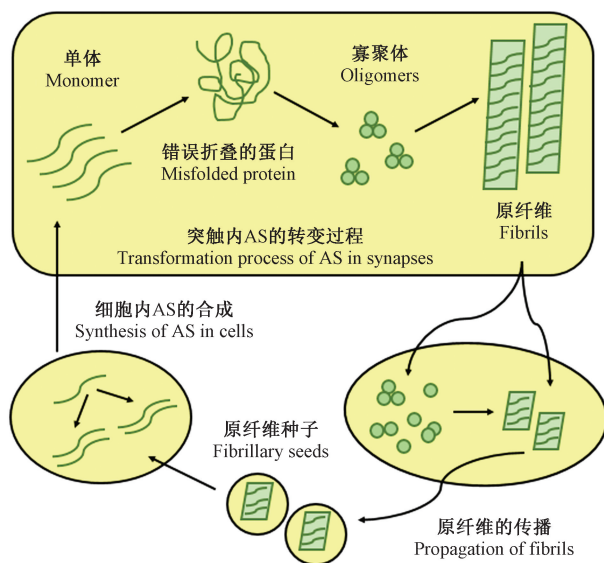
聚体最终会转化为高度有序的 β -折叠淀粉样蛋白原纤维,但目前寡聚体的转化机制尚不清楚^[14]。天然非结构化蛋白质也会形成无序结构,这导致了其他无序聚集体的形成^[15]。AS 的这种聚集倾向正是导致 PD 的主要原因之一。另外,高度有序的 AS 原纤维具有类朊病毒样传播特性,会形成原纤维种子,在神经元细胞之间进行传播^[16]。

AS 会在体内传播的首次报道来自于 22 年 PD 病史的患者,为了减轻纹状体多巴胺的损失,其在 1993 年接受了 6.5 ~ 9 周龄的胚胎干细胞移植^[17]。2008 年,也是其移植手术的 14 年后,研究者们在其中脑黑质内新移植的神经元细胞中检测出了 LBs^[17-18]。随后,研究者们在小鼠体内对这一现象进行了验证,发现注射了 AS 原纤维的小鼠脑内出现了大量具备 PD 病理特征的 LBs 样包涵体^[19]。已有研究表明,原纤维种子从一个细胞到另一个细胞的传播可通过直接穿透、内吞作用或受体介导的转运等多种方式发生^[20-21]。最新研究表明,原纤维的生长和传播在 AS 介导的细胞凋亡和细胞死亡中发挥着核心作用,研究如何抑制原纤维的生长传播对 PD 和其他神经系统退行性疾病的治疗有重要意义^[22-23]。然而,驱动原纤维种子传递和增殖的生理化学条件以及控制体内聚集体生长和扩增速率的因子至今仍不清楚。

2 基于 AS 原纤维的 PD 模型的研究进展

2.1 基于 AS 原纤维的细胞模型

基于 AS 原纤维的传播特性,尤其能诱发一系列接近人生理病理的 PD 特征,采用 AS 原纤维制备各种细胞、动物模型成为了 PD 造模中的一大热点。2009 年, Luk 等^[24]首次将外源性的重组 AS 原纤维添加到过表达 AS 的哺乳动物细胞系内(QBI-HEK-293 和 SH-SY5Y),建立了 AS 原纤维的细胞模型,发现触发了细胞内可溶性的 AS 发生聚集,同时磷酸化和泛素化水平都上调。该 AS 原纤维的细胞模型概括了 PD 病人脑中 LBs 的关键特征。相比于传统的 PD 神经毒性模型和过表达 AS 的腺相关病毒系统模型^[25-26],AS 原纤维的 PD 细胞模型的优点是在培养的原代神经元中产生类似真正的路易体和路易神经突的包涵体。2011 年, Volpicelli-Daley 等^[27]将外源性的 AS 原纤维接种于原代神经元细胞,发现诱导了路易体病变,并最终导致了突



注:正常生理状态下,细胞质中的 AS 是自然伸展的单体形式。在与突触小泡结合后,AS 发生错误折叠,N-末端残基变为螺旋结构。病理状态下,错误折叠的 AS 发生聚集形成具有细胞毒性的寡聚体,同时,AS 会转化为含 β -折叠的原纤维,最终形成淀粉样蛋白原纤维。AS 原纤维会形成原纤维种子,在神经元细胞之间进行传播,促进细胞内可溶性 AS 的合成。

图 2 AS 在体内的生理病理构象及传播过程

Note. Under normal physiological conditions, the cytosolic AS naturally occurs in the monomeric form. After binding to synaptic vesicles, AS misfolds and the N-terminal residue becomes a helical structure. Under pathological conditions, misfolded AS aggregates to form cytotoxic oligomers and is converted to β -sheet-containing fibrils, eventually forming amyloid fibrils. AS fibrils form fibril seeds that propagate between neuronal cells and promote the synthesis of soluble AS in cells.

Figure 2 Physiological and pathological conformation and propagation of AS *in vivo*

触功能障碍和神经元死亡。随后,其又发现 AS 原纤维会被神经元摄取,最终导致内源性的 AS 发生聚集并形成 LBs,所产生的包涵体首先在轴突当中形成,然后逐渐扩散到体细胞和树突当中^[28]。更加有趣的是,AS 原纤维也能被星形胶质细胞摄取(胞吞作用),并且能够在原代神经元细胞和星形胶质细胞之间进行传播,对细胞造成毒性作用^[29]。在接种外源性 AS 原纤维的原代神经元细胞中,外源性的 AS 原纤维诱导了内源性表达的 AS 形成包涵体,与人类的 PD 病理特征非常相似。同时,最新研究表明,AS 原纤维对原代神经元的细胞毒性程度强于细胞系的毒性作用^[30]。

由于 AS 原纤维独特的传播特性以及其能够作

为高效建立 PD 细胞模型的全新材料,越来越多的研究者开始对其进行深入的研究。2019 年, Tanaka 等^[31]发现当 AS 发生自发聚集时,会形成不同结构的多态性原纤维;而将 AS 进行接种时,则会产生具有传播特性的原纤维种子。在 AS 原纤维的 PD 细胞模型中,当原纤维接种于原代神经元 7 d 后,发现神经元中自发性的 Ca^{2+} 瞬变的频率和幅度都会减小^[32],并且当神经元还未死亡时,轴突中的内含物便会选择性地损害携带 TrkB 受体和 LC3 阳性自噬体内体的轴突运输,导致轴突转运功能损伤^[33]。该研究提示,神经毒性和突触功能相关指标的监测可以作为 PD 风险防范的临床前的诊断方式之一。

但是,AS 原纤维究竟是通过什么途径在细胞内发挥功能的,仍不清楚。最近,有研究者发现,小胶质细胞的自噬是由 AS 原纤维持续积累引起的溶酶体损伤引起的^[34]。最新研究发现,内化的 AS 原纤维会导致溶酶体活性受损,但对蛋白酶体活性和线粒体在受体细胞中的稳态不会造成影响^[35]。与此相反,也有大量研究表明,AS 原纤维会优先与线粒体结合,最终导致线粒体功能障碍^[36-37]。这些研究结果提示,或许可以将细胞器作为介入的靶点,进一步研究 AS 原纤维在 PD 中的作用机制。

2.2 基于 AS 原纤维的动物模型

正如上文所提到的,AS 原纤维的 PD 细胞模型可以诱导产生类 LBs 和路易神经突的包涵体。随后,研究者将 AS 原纤维定位注射于小鼠(以及大鼠)脑内,发现小鼠的海马、皮质、中脑以及其他的大脑区域的神经元中都出现了类 LBs 的包涵体^[38-39],这可帮助我们更好地去研究不同神经元群体的功能。因为不需要转基因过表达人 AS,所以相比于传统的过表达 AS 的腺相关病毒系统模型^[26],利用外源性的 AS 原纤维建立 PD 动物模型的优点是可以直接利用基因敲除或转基因小鼠研究任何我们感兴趣的基因对聚集体形成的影响。

至今,越来越多的研究者通过实验证实了该模型的有效性和可操作性。Paumier 等与 Suzukake 等^[38, 40]将超声后的 AS 原纤维注射到小鼠(和大鼠)的纹状体、SNpc、内嗅皮质,甚至是小鼠(和大鼠)的肌肉中,发现无论注射部位如何,AS 包涵体不仅会在注射部位形成,同时也会出现在远离注射部位的其他脑区,并且注射后 4 周,可检测到小鼠 30% 的 TH 阳性神经元发生了损失(大鼠 50%),另

外,即使当原纤维仅注射在纹状体的单侧且 AS 包涵体仅出现在注射侧时,另外一侧也能检测出神经元损伤和功能障碍^[38]。

利用这一模型,Tran 等^[41]发现使用针对病理性 AS 的抗体可以防止 AS 的扩散和毒性作用的产生。他们的研究发现,在接受原纤维注射的小鼠中,注射单克隆抗体减少了病理性 AS 的产生,并且 SNpc 中的多巴胺能神经元损失减少,运动行为也得到了改善^[41]。因此,基于 AS 原纤维的 PD 动物模型的这些实验证明了免疫疗法有可能成为预防 PD 的全新疗法。基于以上研究结果,Luan 等^[42]将 AS 原纤维模型用于研究慢性咖啡因的治疗效果,发现慢性咖啡因治疗降低了 pSer129 的聚集、神经元细胞的死亡以及小胶质细胞、星形胶质细胞的激活,并且还发现该治疗可以选择性地逆转由 AS 诱导以及分子伴侣介导的自噬缺陷。这些发现提示了一种与环境因素相关的通过靶向自噬途径来治疗 PD 的新型药理学疗法。2019 年,Bieri 等^[43]使用 AS 原纤维的 PD 模型,对与 AS 聚集有关的修饰物进行了与 PD 相关的风险基因的靶向遗传筛选,发现 *LRRK2* 和 *GBA* 基因的表达下调,会促进小鼠原代神经元中的 AS 发生聚集;并且,在过表达与 PD 连锁的 *LRRK2* 突变基因的小鼠中检测到了 AS 的聚集。同时,也有研究者发现内源性 *LRRK2* 蛋白的减少,会降低该 PD 模型中 AS 包涵体的形成^[44]。这些研究揭示了 *LRRK2* 蛋白在 PD 中的重要作用,并且提供了一种潜在的 PD 治疗策略。

3 结语

总而言之,开发 PD 模型的目的是为了了解疾病是如何发展,以及如何采取有效的措施减缓或阻止疾病的发生。PD 的 AS 原纤维模型概括了 PD 的许多特征:神经元丢失、具有生物化学和形态学特征的包涵体、类 LBs 和路易神经突、整个大脑的病理学扩散以及运动行为缺陷等^[45-46]。另外,相比于传统的 PD 神经毒性模型和过表达 AS 的腺病毒系统模型,PD 的原纤维模型表现出了显著的优越性^[45, 47]。因此,基于 AS 原纤维的 PD 模型大大提高了我们对 PD 的理解。

参考文献:

[1] Wong YC, Krainc D. α -Synuclein toxicity in neurodegeneration;

- mechanism and therapeutic strategies [J]. *Nat Med*, 2017, 23(2): 1-13.
- [2] Parkinson J. Mr. Parkinson's letter on the Committee of Apothecaries [J]. *Med Phys J*, 1813, 29(168): 132-133.
- [3] Ono K. The oligomer hypothesis in α -synucleinopathy [J]. *Neurochem Res*, 2017, 42(12): 3362-3371.
- [4] Maroteaux L, Campanelli JT, Scheller RH. Synuclein: a neuron-specific protein localized to the nucleus and presynaptic nerve terminal [J]. *J Neurosci*, 1988, 8(8): 2804-2815.
- [5] Masaracchia C, Hnida M, Gerhardt E, et al. Membrane binding, internalization, and sorting of alpha-synuclein in the cell [J]. *Acta Neuropathol Commun*, 2018, 6(1): 2-10.
- [6] Tarutani A, Arai T, Murayama S, et al. Potent prion-like behaviors of pathogenic α -synuclein and evaluation of inactivation methods [J]. *Acta Neuropathol Commun*, 2018, 6(1): 29.
- [7] Panattoni G, Rota L, Colla E. Exogenous administration of microsomes-associated alpha-synuclein aggregates to primary neurons as a powerful cell model of fibrils formation [J]. *J Vis Exp*, 2018(136): e57884.
- [8] Polinski NK, Volpicelli-Daley LA, Sortwell CE, et al. Best practices for generating and using alpha-synuclein pre-formed fibrils to model Parkinson's disease in rodents [J]. *J Parkinson's Dis*, 2018, 8(2): 303-322.
- [9] Bussell RJ, Ramlall TF, Eliezer D. Helix periodicity, topology, and dynamics of membrane-associated alpha-synuclein [J]. *Protein Sci*, 2005, 14(4): 862-872.
- [10] Fusco G, De Simone A, Gopinath T, et al. Direct observation of the three regions in α -synuclein that determine its membrane-bound behaviour [J]. *Nat Commun*, 2014, 5: 3827.
- [11] Pasanen P, Myllykangas L, Siitonen M, et al. Novel α -synuclein mutation A53E associated with atypical multiple system atrophy and Parkinson's disease-type pathology [J]. *Neurobiol Aging*, 2014, 35(9): 2180-2181.
- [12] Sevcik E, Trexler AJ, Dunn JM, et al. Allosteric in a disordered protein: oxidative modifications to α -synuclein act distally to regulate membrane binding [J]. *J Am Chem Soc*, 2011, 133(18): 7152-7158.
- [13] Hoyer W, Cherny D, Subramaniam V, et al. Impact of the acidic C-terminal region comprising amino acids 109-140 on α -synuclein aggregation *in vitro* [J]. *Biochemistry*, 2004, 43(51): 16233-16242.
- [14] Mehra S, Sahay S, Maji SK. Alpha-synuclein misfolding and aggregation: Implications in Parkinson's disease pathogenesis [J]. *BBA-Proteins Proteom*, 2019, 1867(10): 890-908.
- [15] Baba M, Nakajo S, Tu PH, et al. Aggregation of alpha-synuclein in Lewy bodies of sporadic Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies [J]. *Am J Pathol*, 1998, 152(4): 879-884.
- [16] Masuda-Suzukake M, Nonaka T, Hosokawa M, et al. Prion-like spreading of pathological α -synuclein in brain [J]. *Brain*, 2013, 136(4): 1128-1138.
- [17] Kordower JH, Chu Y, Hauser RA, et al. Lewy body-like pathology in long-term embryonic nigral transplants in Parkinson's disease [J]. *Nat Med*, 2008, 14(5): 504-506.
- [18] Li JY, Englund E, Holton JL, et al. Lewy bodies in grafted neurons in subjects with Parkinson's disease suggest host-to-graft disease propagation [J]. *Nat Med*, 2008, 14(5): 501-503.
- [19] Zhang B, Kehm V, Gathagan R, et al. Stereotaxic targeting of alpha-synuclein pathology in mouse brain using preformed fibrils [J]. *Methods Mol Biol*, 2019, 1948(45): 1-57.
- [20] Hansen C, Angot E, Bergstrom AL, et al. α -Synuclein propagates from mouse brain to grafted dopaminergic neurons and seeds aggregation in cultured human cells [J]. *J Clin Invest*, 2011, 121(2): 715-725.
- [21] Singh P, Bhat R. Binding of noradrenaline to native and intermediate states during fibrillation of alpha-synuclein leads to the formation of stable and structured cytotoxic species [J]. *ACS Chem Neurosci*, 2019, 4(1): 1-29.
- [22] Mahul-Mellier AL, Vercautere F, Maco B, et al. Fibril growth and seeding capacity play key roles in α -synuclein-mediated apoptotic cell death [J]. *Cell Death Differ*, 2015, 22(12): 2107-2122.
- [23] Yamasaki TR, Holmes BB, Furman JL, et al. Parkinson's disease and multiple system atrophy have distinct α -synuclein seed characteristics [J]. *J Biol Chem*, 2019, 294(3): 1045-1058.
- [24] Luk KC, Song C, O'Brien P, et al. Exogenous alpha-synuclein fibrils seed the formation of Lewy body-like intracellular inclusions in cultured cells [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(47): 20051-20056.
- [25] Yao K, Zhao YF. Aging modulates microglia phenotypes in neuroinflammation of MPTP-PD mice [J]. *Exp Gerontol*, 2018, 111: 86-93.
- [26] Croft CL, Cruz PE, Ryu DH, et al. rAAV-based brain slice culture models of Alzheimer's and Parkinson's disease inclusion pathologies [J]. *J Exp Med*, 2019, 216(3): 539-555.
- [27] Volpicelli-Daley LA, Luk KC, PATEL TP, et al. Exogenous α -synuclein fibrils induce Lewy body pathology leading to synaptic dysfunction and neuron death [J]. *Neuron*, 2011, 72(1): 57-71.
- [28] Volpicelli-Daley LA, Luk KC, LEE VM. Addition of exogenous α -synuclein preformed fibrils to primary neuronal cultures to seed recruitment of endogenous α -synuclein to Lewy body and Lewy neurite-like aggregates [J]. *Nat Protocol*, 2014, 9(9): 2135-2146.
- [29] Cavaliere F, Cerf L, Dehay B, et al. *In vitro* α -synuclein neurotoxicity and spreading among neurons and astrocytes using Lewy body extracts from Parkinson disease brains [J]. *Neurobiol Dis*, 2017, 103: 101-112.
- [30] Heravi M, Dargahi L, Parsafar S, et al. The primary neuronal cells are more resistant than PC12 cells to α -synuclein toxic

- aggregates [J]. *Neurosci Lett*, 2019, 701: 38–47.
- [31] Tanaka G, Yamanaka T, Furukawa Y, et al. Sequence- and seed-structure-dependent polymorphic fibrils of alpha-synuclein [J]. *BBA-Mol Basis Dis*, 2019, 2(13): 925–4413.
- [32] Volpicelli-Daley LA. Assays for neuronal defects caused by early formation of alpha-synuclein inclusions in primary cultured neurons [J]. *Methods Mol Biol*, 2019, 1948: 1–14.
- [33] Volpicelli-Daley LA, Gamble KL, Schultheiss CE, et al. Formation of α -synuclein Lewy neurite-like aggregates in axons impedes the transport of distinct endosomes [J]. *Mol Biol Cell*, 2014, 25(25): 4010–4023.
- [34] Bussi C, Peralta RJ, Arroyo DS, et al. Alpha-synuclein fibrils recruit TBK1 and OPTN to lysosomal damage sites and induce autophagy in microglial cells [J]. *J Cell Sci*, 2018, 131(23): 2–10.
- [35] Hoffmann A, Minakaki G, Menges S, et al. Extracellular aggregated alpha synuclein primarily triggers lysosomal dysfunction in neural cells prevented by trehalose [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 544.
- [36] Wang X, Becker K, Levine N, et al. Pathogenic alpha-synuclein aggregates preferentially bind to mitochondria and affect cellular respiration [J]. *Acta Neuropathol Com*, 2019, 7: 41.
- [37] Ordonez DG, Lee MK, Feany MB. α -Synuclein induces mitochondrial dysfunction through spectrin and the actin cytoskeleton [J]. *Neuron*, 2018, 97(1): 108–124.e6.
- [38] Paumier KL, Luk KC, Manfredsson FP, et al. Intrastratial injection of pre-formed mouse α -synuclein fibrils into rats triggers α -synuclein pathology and bilateral nigrostriatal degeneration [J]. *Neurobiol Dis*, 2015, 82: 185–199.
- [39] Peelaerts W, Bousset L, Van der Perren A, et al. α -Synuclein strains cause distinct synucleinopathies after local and systemic administration [J]. *Nature*, 2015, 522(7556): 340–344.
- [40] Masuda-Suzukake M, Nonaka T, Hosokawa M, et al. Pathological alpha-synuclein propagates through neural networks [J]. *Acta Neuropathol Com*, 2014, 2: 88.
- [41] Tran HT, Chung CH, Iba M, et al. α -Synuclein immunotherapy blocks uptake and templated propagation of misfolded α -synuclein and neurodegeneration [J]. *Cell Rep*, 2014, 7(6): 2054–2065.
- [42] Luan Y, Ren X, Zheng W, et al. Chronic caffeine treatment protects against α -synucleinopathy by reestablishing autophagy activity in the mouse striatum [J]. *Front Neurosci*, 2018, 12: 301.
- [43] Bieri G, Brahic M, Bousset L, et al. LRRK2 modifies α -syn pathology and spread in mouse models and human neurons [J]. *Acta Neuropathol*, 2019, 3(29): 1–15.
- [44] Zhao HT, John N, Delic V, et al. LRRK2 antisense oligonucleotides ameliorate α -synuclein inclusion formation in a Parkinson's disease mouse model [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2017, 8: 508–519.
- [45] Volpicelli-Daley LA, Kirik D, Stoyka LE, et al. How can rAAV- α -synuclein and the fibril α -synuclein models advance our understanding of Parkinson's disease? [J]. *J Neurochem*, 2016, 139: 131–155.
- [46] Mohammad-Beigi H, Aliakbari F, Sahin C, et al. Oleuropein derivatives from olive fruit extracts reduce α -synuclein fibrillation and oligomer toxicity [J]. *J Biol Chem*, 2019, 294(11): 4215–4232.
- [47] Duffy MF, Collier TJ, Patterson JR, et al. Quality over quantity: advantages of using alpha-synuclein preformed fibril triggered synucleinopathy to model idiopathic Parkinson's disease [J]. *Front Neurosci*, 2018, 12: 621.

〔收稿日期〕2019-04-17