

胡毅龙,赵怡楠,苗晋鑫,等. 大小鼠帕金森病行为学评价方法概述及常用动物模型特点分析 [J]. 中国实验动物学报, 2024, 32(7): 942-954.

HU Y L, ZHAO Y N, MIAO J X, et al. Overview of behavioral evaluation methods of Parkinson's disease in rat and mouse and analysis of the characteristics of common animal models [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2024, 32(7): 942-954.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2024.07.013

大小鼠帕金森病行为学评价方法概述及常用动物模型特点分析

胡毅龙^{1,2}, 赵怡楠^{1,2}, 苗晋鑫^{1,2}, 苗明三^{1,2*}

(1. 河南中医药大学, 郑州 450046; 2. 豫药全产业链研发河南省协同创新中心, 郑州 450046)

【摘要】 帕金森病 (Parkinson's disease, PD) 是第二大中老年人常见的神经退行性疾病, 患病周期长、治疗过程复杂, 是当今社会的一个巨大挑战。PD 动物模型的行为学变化可以直观地反映出实验动物的成模情况与药物干预后的变化情况。因此选择规范的动物模型以及相适宜的行为学检测方法是进行 PD 机制研究、抗 PD 药物研发的基础。本文对国内外关于大小鼠的帕金森行为学实验方法进行归纳, 对常用帕金森行为学实验的实验设备、实验方法、评价指标、注意事项进行了系统性总结, 同时对目前常用的帕金森模型进行了概述, 对模型的造模机制、与帕金森临床特征的吻合情况、优缺点进行了分析, 以期研究者根据研究目的选择适宜的帕金森模型与行为学检测方法。

【关键词】 帕金森病; 大小鼠; 行为学实验; 动物模型

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2024) 07-0942-13

Overview of behavioral evaluation methods of Parkinson's disease in rat and mouse and analysis of the characteristics of common animal models

HU Yilong^{1,2}, ZHAO Yinan^{1,2}, MIAO Jinxin^{1,2}, MIAO Mingsan^{1,2*}

(1. Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China; 2. Collaborative Innovation Center of Research and Development on the Whole Industry Chain of Yu-Yao, Henan Province, Zhengzhou 450046, China)

Corresponding author: MIAO Mingsan. E-mail: miaomingsan@163.com

【Abstract】 Parkinson's disease is the second most common neurodegenerative disease in middle-aged and elderly people. It is characterized by a long disease course and complex treatment process, introducing great challenges to society. Behavioral changes in animal models of Parkinson's disease can intuitively reflect the modeling situation of experimental animals and the effects of drug interventions. Therefore, selecting standardized animal models and appropriate behavioral assays is fundamental for both understanding the mechanisms of Parkinson's disease and developing anti-Parkinson drugs. In this paper, we summarize the method of behavioral experiments of Parkinson's disease using mice and rats at home and abroad and systematically summarize the experimental equipment, experimental method, evaluation indexes, and precautions of commonly used Parkinson's behavioral experiments. We also provide an overview of the commonly used animal models of

[基金项目] 岐黄学者 (国中医药人教函 2022-6), 河南省重大公益专项 (201300310100), 河南省高等学校重点科研项目计划 (22A360013)。

Funded by Qihuang Scholar (Letter of Teaching Traditional Chinese Medicine 2022-6), Major Public Welfare Projects in Henan Province (201300310100), Key Research Project Program for Higher Education Institutions in Henan Province (22A360013)。

[作者简介] 胡毅龙, 男, 在读硕士研究生, 研究方向: 中药学。Email: huyilong20001003@163.com

[通信作者] 苗明三, 男, 教授, 博士生导师, 研究方向: 中药学。Email: miaomingsan@163.com

Parkinson's disease and analyze their modeling mechanisms, alignment with the clinical features of Parkinson's disease, and respective advantages and disadvantages. This analysis will help researchers in choosing appropriate animal models of Parkinson's disease and behavioral testing method according to the purpose of the study.

【Keywords】 Parkinson's disease; rat and mouse; behavioral experiment; animal model

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

帕金森病(Parkinson's disease, PD)又称震颤麻痹^[1],是第二大中老年常见的神经系统变性疾病。PD 的病理特征是纹状体和中脑黑质致密区多巴胺能神经元功能障碍和丢失,临床表现分为运动症状:动作迟缓、肌强直、静止性震颤、姿势平衡障碍以及非运动症状:嗅觉减退、便秘、睡眠障碍、抑郁。流行病学调查显示,全球每 10 万人中就有 100 ~ 200 例 PD 患者,且年发病率为 0.0015%。截至 2016 年,中国的 PD 患者近 300 万,是 PD 患者最多的国家^[2-3]。PD 患病周期长、治疗过程复杂,主要治疗手段是药物治疗和手术治疗,但手术治疗后仍需服用药物,这在全球老龄化的今天,是一个巨大的挑战。

实验动物的行为响应特征与人类具有相似性,因此建立模型进行推演,实现动物与人之间生物效应的等效性分析,是研究 PD 发生机制及抗 PD 药物药效学评价的主要有效途径。在开展动物实验研究时,通过观察 PD 动物模型的表现表现判断药效是比病理指标更为直观的手段,这就需要借助行为学实验来对 PD 动物模型的运动行为进行观察和评价。因此,本文对大小鼠 PD 行为学实验的实验设备、实验方法、评价指标、注意事项以及常用的帕金森病动物模型进行综述,以期为 PD 机制的进一步研究与治疗药物开发提供参考。

1 大小鼠 PD 行为学评价方法

大小鼠 PD 行为学评价方法是以运动迟缓、肌强直、姿势异常以及静止性震颤 4 大临床症状为核心而设计,主要对大小鼠的运动能力、平衡能力、四肢协调能力、行为姿势、震颤行为进行评价,PD 的行为学实验方法主要有旷场实验、爬杆实验、悬挂实验、疲劳转棒实验、平衡木实验、阿扑吗啡诱导旋转实验等。此外,针对大小鼠的肌强直和震颤行为又有僵直评分测试、震颤麻痹评分、行为学评分。

1.1 旷场实验(open field test)

旷场实验最早于 1934 年由 HALL^[4]设计,是测试实验动物在规定时间内在一定区域的自发活动情况,是研究小型动物活动能力的主要行为学测试

方法之一。检测指标为实验动物的运动总路程、运动总时间、平均速度、站立次数。旷场实验一般需要借助自动摄像设备记录动物的运动轨迹、时间、速度等行为指标。观察帕金森动物模型的运动能力,从而评价帕金森动物模型的成模情况以及药物的抗帕金森作用。

1.1.1 实验设备

旷场实验的设备分为 3 部分:黑色敞口观察箱、观察箱上方摄像设备和数据记录与分析系统(计算机)。

1.1.2 实验方法

与焦虑、抑郁行为实验方法不同,旷场实验在用于测定自发活动时需要适应期,实验方法参见文献^[5-10]。

1.1.3 评价指标

(1)总路程:动物在实验记录时间内产生的运动总路程。正常动物 5 min 内的总路程为 1000 ~ 2500 cm,动物出现 PD 样行为时运动能力下降,运动总路程显著性减少($P < 0.05$)^[5]。(2)运动总时间:动物在实验记录时间内运动状态的时间累积。正常动物运动时间多大于检测时间的 30%,动物出现 PD 样行为时运动能力下降,运动总时间显著性减少($P < 0.05$)^[6-8]。(3)平均速度:总路程与运动总时间的比值。正常动物的运动速度多为 3 ~ 8 cm/s。动物出现 PD 样行为时运动能力下降,运动速度显著性下降($P < 0.05$)^[9]。(4)站立次数:动物在实验记录时间内的站立总次数。10 min 检测时间,正常大鼠站立次数 20 ~ 50 次;正常小鼠站立次数 60 ~ 130 次,动物出现 PD 样行为时运动能力下降,站立次数显著性减低($P < 0.05$)^[9]。

1.1.4 主要注意事项

(1)实验环境应保持安静^[10]; (2) C57BL/6 等品系的黑色小鼠在进行旷场实验时应在动物背部做明显标记提高对比度,以供摄像装置的捕捉。

1.2 爬杆实验(pole test)

爬杆实验最早在 1985 年由 OGAWA 等^[11]设计,用于 1-甲基-4-苯基-1, 2, 3, 6-四氢吡啶(1-Methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine

hydrochloride, MPTP) 诱导的 PD 小鼠模型运动迟缓的研究。其原理是通过记录小鼠由杆顶端往下爬到底端所需要的时间来分析小鼠的运动协调能力和运动耐受力。爬杆实验操作和观察指标简单、实验误差小,是检测小鼠 PD 的常用行为学实验。

1.2.1 实验设备

爬杆实验的设备分为 2 个部分:直径 1 cm,长 50 cm 固定于底座的长杆、固定于杆部上方直径 2.5 cm 的小球。

1.2.2 实验方法

爬杆实验在正式实验之前需要进行适应性训练,因此本实验分适应期和实验期,实验方法参见

文献^[12-15]。

1.2.3 评价指标

(1)小鼠头朝上转为头朝下的时间:小鼠在顶端小球的转头时间反映了小鼠的运动协调能力,当小鼠出现 PD 样行为时,小鼠转头时间显著性上升($P < 0.05$)^[12]。(2)小鼠自顶端爬至底部的总时间:小鼠爬行的总时间可反映小鼠的运动协调能力和运动耐受力,小鼠若出现 PD 样行为,则运动耐受力下降,出现从杆上掉落或停留在顶部不动现象^[13-14]。当小鼠出现 PD 行为时,小鼠爬行总时间显著性上升($P < 0.05$)。另有研究者根据小鼠爬行时间和状态对小鼠进行评分^[15],评分标准见表 1。

表 1 小鼠爬杆实验评分标准

Table 1 Scoring criteria for mouse pole test	
小鼠爬杆时间/s Mouse climbing time/s	分值/分 Score/points
小鼠从杆上一次顺利爬下,爬杆时间 < 4.00 s Mouse successfully climbed down from the pole for the first time, climbing time < 4.00 s	0
小鼠停顿数次后能爬下,爬杆时间为 4.01 ~ 8.00 s Mouse can climb down after several pauses, climbing time is 4.01 ~ 8.00 s	1
小鼠缓慢爬行伴轻微震颤,爬杆时间为 8.01 ~ 12.00 s Mouse crawled slowly with slight tremor, climbing time is 8.01 ~ 12.00 s	2
小鼠掉落,频繁性震颤,四肢僵直或爬杆时间 > 12.00 s Mouse fell, frequently trembled, their limbs were stiff, or the climbing time > 12.00 s	3

1.2.4 主要注意事项

(1)实验装置顶部小球一般为木制粗糙小球,防止小鼠滑落;长杆表面应粗糙,必要时可在长杆表面覆盖胶布以增加摩擦力^[15];(2)大鼠体重较重、身形较长,爬杆时易掉落,因此爬杆实验更适用于小鼠。

1.3 悬挂实验(wire hanging test)

用来检测 PD 的典型症状——肌强直和震颤,小鼠出现肌强直和震颤症状时可表现为肌无力和运动障碍,此时将动物前肢悬挂于不锈钢棒上,通过动物坚持的时间以及动物在悬挂过程中的机体协调度可判断动物是否出现 PD 样行为以及严重程度。悬挂实验操作简单、实验设备易得,广泛用于检测 PD 模型的造模情况。

1.3.1 实验设备

悬挂实验的设备分为 2 部分:距离 100 cm 的两支架底座、水平放置于两支架间的直径 1.5 mm 的不锈钢棒。不锈钢棒距离地面 50 cm,装置下方铺设布料或垫料防止动物摔伤。

1.3.2 实验方法

轻提小鼠尾巴将小鼠倒置,令其前肢刚好抓住不锈钢棒后放开小鼠尾巴,观察小鼠的状态,记录

小鼠悬挂的时间。重复 3 次,计算重复测量的平均值作为悬挂实验结果^[16-17]。

1.3.3 评价指标

小鼠自挂上不锈钢棒至掉落的时间:小鼠悬挂时间可以反映小鼠的运动能力与耐力,小鼠的后肢攀援情况可反映小鼠的运动协调能力。当小鼠出现 PD 样行为时,小鼠悬挂时间显著性下降($P < 0.05$)。本实验亦可通过小鼠的后肢攀援上不锈钢棒情况与悬挂时间进行评分^[16],评分标准见表 2,另外每爬上一个后肢,则在分数基础上加 1 分。当小鼠出现 PD 样行为时,小鼠悬挂评分与正常小鼠相比显著性下降($P < 0.05$)。

表 2 小鼠悬挂实验评分标准

Table 2 Scoring criteria for mouse wire hanging test	
悬挂至掉落时间/s Suspension to drop time/s	分值/分 Score/points
0 ~ 4	0
5 ~ 9	1
10 ~ 14	2
15 ~ 19	3
20 ~ 24	4
25 ~ 29	5
≥ 30	6

1.3.4 主要注意事项

(1) 两支架之间的距离应足够宽, 防止小鼠悬挂过程中尾巴钩到两端支架; (2) 大鼠体重过重, 不易正常维持悬挂状态, 应控制大鼠体重或选取其他行为学测试^[17]。

1.4 疲劳转棒实验 (rotarod system test)

疲劳转棒实验最早出现在 1957 年 DUNHAM 等^[18]研究中。1968 年, JONES 等^[19]改进设计了经典的工业转棒。疲劳转棒实验原理是让动物被迫于旋转棒之上保持平衡并跟随旋转棒运动, 动物的表现可以用来评价动物的平衡能力、四肢协调能力与耐力。疲劳转棒实验可以很好地反映出动物的运动协调能力, 广泛用于 PD 动物模型的运动功能评价。

1.4.1 实验设备

疲劳转棒实验的实验设备为疲劳转棒仪, 小鼠转棒直径 3 cm、长度 6 cm; 大鼠转棒直径 7 ~ 9 cm、长度 9 cm。

1.4.2 实验方法

疲劳转棒实验在正式实验之前需要进行适应性训练, 因此本实验分适应期和实验期, 实验方法参见文献^[20-22]。

1.4.3 评价指标

(1) 首次跌落时间: 动物从放上转棒至第 1 次掉落的时间, 首次跌落时间越短则动物平衡与协调能力越差。正常动物 5 min 内的首次跌落时间一般 ≥ 200 s, 当动物出现 PD 样行为时, 动物首次跌落时间显著性下降 ($P < 0.05$)^[20]。(2) 力竭时间: 动物从放上转棒至第 3 次掉落的时间。力竭时间反映了动物的耐力、平衡能力与四肢协调能力, 同时也反映了动物的运动学习能力。正常动物的 5 min 内的力竭时间一般 ≥ 200 s, 当动物出现 PD 样行为时, 动物力竭时间显著性下降 ($P < 0.05$)^[21]。

1.4.4 主要注意事项

(1) 转棒的转速应随实验动物的运动情况随时进行调整, 但实验整体应使用同一模式与同一转速。(2) 在训练期应对活动过多或过少的动物进行剔除, 以保证后期实验的均一性^[22]。

1.5 平衡木实验 (balance beam test)

平衡木实验包括平衡实验和行走实验, 平衡实验主要对动物的平衡能力进行检测, 行走实验则是对动物的运动协调能力进行评估。PD 动物模型前庭功能紊乱会造成实验动物难以维持平衡、协调能力下降。平衡木实验对实验动物前庭与运动脑区

缺陷敏感, 检测方法简便, 是常用的运动功能障碍行为学实验。

1.5.1 实验设备

1 ~ 2 m 长木条与两端底座, 木条末端应设有黑色笼子供动物休息。两端底座应有高度差以保证平衡木维持 15° 倾斜或底座水平。平衡木宽度随实验动物的品系不同而调整, 大鼠平衡木一般宽 1.8 cm, 小鼠平衡木一般宽 0.6 cm。

1.5.2 实验方法

平衡木实验在正式实验之前需要进行适应性训练, 因此本实验分适应期和实验期, 实验方法参见文献^[23]。

1.5.3 评价指标

动物在平衡木上的姿势与跌落时间反映了动物的平衡能力和运动协调能力。如脑内单侧黑质区注射 6-羟基多巴 (6-hydroxydopa, 6-OHDA) 的小鼠出现单侧肢体运动受阻, 小鼠则会滑向平衡木的一侧或掉落。通过动物的运动姿势与掉落时间对动物进行评分^[23], 评分标准见表 3。

1.5.4 主要注意事项

(1) 本实验利用到了啮齿类动物趋暗的天性, 即诱导动物从明亮嘈杂场地走向平衡木另一端黑色鼠笼, 因此要保证鼠笼以外环境的灯光明亮^[24]。(2) 实验进行过程中, 应在平衡木下方铺设垫料, 防止动物跌伤。

1.6 阿扑吗啡诱导旋转实验 (apomorphine-induced rotation test)

阿扑吗啡诱导的旋转实验主要用于检测 6-羟基多巴制备的帕金森大鼠模型, 当大鼠脑内单侧注射 6-OHDA 后, 脑内单侧多巴胺能神经元出现变性坏死、多巴胺含量下降。此时给予效多巴胺受体激动剂阿扑吗啡 (apomorphine, APO), 大鼠脑内仅健康侧多巴胺能神经元被激活, 大鼠将出现单侧运动障碍, 表现出旋转行为。阿扑吗啡诱导的旋转实验简便易行、无需额外实验设备, 可以准确地检测 6-OHDA 帕金森大鼠的造模情况。

1.6.1 实验药品

生理盐水配置的 0.5 mg/mL 的 APO 注射液。

1.6.2 实验方法

大鼠脑立体定位注射 6-OHDA 造模, 2 ~ 3 周后, 颈背部皮下注射 0.05 mg/100 g APO。

1.6.3 评价指标

注射 APO 5 min 后, 记录大鼠 30 min 内的旋转

表 3 平衡木实验评分标准

Table 3 Scoring criteria for balance beam test

表现 Performance	分值/分 Score/points
稳定平衡姿势,顺利通过平衡木 Stabilize the balance posture and pass the balance beam smoothly	0
紧抓平衡木边缘,通过平衡木 Grasp the edge of the balance beam and pass through the balance beam	1
紧抱平衡木,一肢体从平衡木垂落通过平衡木 Hold the balance beam tightly, and one limb hangs from the balance beam and passes through the balance beam	2
两肢体从平衡木垂落或在平衡木上旋转超过 60 s 未掉落 Both limbs fall from the balance beam or rotate on the balance beam for more than 60 s without falling	3
试图在平衡木上平衡超过 40 s 但跌落 Trying to balance on the balance beam for more than 40 s but falling down	4
试图在平衡木上平衡超过 20 s 但跌落 Trying to balance on the balance beam for more than 20 s but falling down	5
未尝试在平衡木上平衡即跌落 Fall without trying to balance on the balance beam	6

圈数。PD 模型判定标准:大鼠 30 min 内每分钟的平均旋转圈数大于或等于 7^[21,25]。

1. 6. 4 主要注意事项

(1)6-OHDA 损毁多巴胺能神经元需要一定时间,若第 1 次检测大鼠未出现旋转反应,可在 1 周内重复检测;(2)大鼠注射 APO 后应置于干净无异味的空旷场地进行观察检测,异物或气味会对大鼠造成干扰^[25]。

2 常用 PD 动物模型

实验动物模型是研究疾病的基础,建立 PD 动物模型模拟 PD 患者的临床症状,对于帕金森病机制的研究以及抗帕金森药物的研发与临床诊疗均有重大意义。目前常用的 PD 动物模型主要分为两类:神经毒素类模型与基因工程类模型,两类模型的病理特征与临床相比各具有不同侧重点。

2. 1 神经毒素类模型

2. 1. 1 MPTP 模型

MPTP 是一种具有海洛因样作用的人工化学合成产物。MPTP 为脂溶性有机化合物,透过血脑屏障后可以选择性地被星形胶质细胞线粒体外膜的单胺氧化酶-B (monoamine oxidase-B, MAO-B) 催化并进一步自发氧化生成 MPP⁺^[26-27]。MPP⁺与多巴胺结构相似,因此可与多巴胺转运体 (dopamine transporter, DAT) 高度亲和进入多巴胺能神经元^[28], MPP⁺进入多巴胺能神经元后能够抑制线粒体复合物 I 活性,干扰并阻断线粒体电子传递链,最终导致三磷酸腺苷 (adenosine triphosphate, ATP) 的消耗,

氧自由基生成增加,细胞内一氧化氮含量增加,从而导致多巴胺能神经元变性和死亡。MPTP 制备 PD 模型的方法简单,给药方式多样,且该模型的运动症状与病理特征均较符合 PD 的临床表现。根据其造模机制,该模型更适用于帕金森线粒体功能障碍的研究^[29]。但该模型具有一定的自发修复且 MPTP 的剂量和给药方法对造模情况具有较大影响^[30]。

2. 1. 2 6-OHDA 模型

6-OHDA 是一种儿茶酚胺选择性神经毒素,不能通过血-脑屏障,因此需要通过脑立体定位注射的方式注射于特定脑区,常见的注射靶点为:黑质、纹状体、内侧前脑束。6-OHDA 是多巴胺的羟基化衍生物,注射入脑以后,一方面可与多巴胺质膜转运蛋白高度亲和,在多巴胺能神经元内运输毒素,竞争性抑制多巴胺^[31],诱导多巴胺能神经元变性。另一方面,可以触发氧化应激相关细胞毒性和小胶质细胞依赖性多巴胺神经元炎症^[32]。6-OHDA 模型对多巴胺能神经元的特异性强、病理特征明显、稳定性强。但该模型的运动症状与临床不相符,且脑立体定位注射对操作者要求较高。另外值得注意的是,6-OHDA 极易氧化,在实验和贮存过程中要格外注意。

2. 1. 3 鱼藤酮模型

鱼藤酮是一种天然有机化合物,存在于豆科 (Fabaceae) 鱼藤属植物的根中,常被用作杀虫剂。鱼藤酮具有亲脂性,其透过血-脑屏障后,既能直接作用于多巴胺能神经元细胞内的线粒体,释放活性

氧(reactive oxygen species, ROS), 干扰多巴胺代谢, 通过氧化应激引起细胞凋亡与坏死, 又可作用于非多巴胺能神经元, 释放细胞因子与 ROS, 从而间接引起多巴胺能神经元细胞的凋亡与坏死^[33]。鱼藤酮诱导 PD 模型涵盖氧化应激、神经炎症、细胞凋亡等多种机制, 运动症状与病理特征均与临床高度符合, 是研究 PD 路易小体(Lewy-bodies)形成的理想模型。但鱼藤酮自身半衰期短、降解较快, 用该模型进行实验研究时周期不能过长。

2.1.4 百草枯模型

百草枯是一种联吡啶类除草剂, 其化学结构与 MPTP、MPP⁺相似, 也是一种神经毒素。百草枯用于诱导 PD 模型是由于其可能是帕金森病因的环境因素之一, 百草枯透过血-脑屏障之后, 可通过中性氨基酸转运系统以 Na⁺ 依赖方式进入神经元内^[34], 抑制线粒体复合物 I 活性而致线粒体功能异常^[35]。此外还可使神经元内 α -突触核蛋白(α -synuclein)纤维化聚集、路易小体形成^[36]。百草枯模型的病理特征与临床吻合度高且操作简单。但临床百草枯所致帕金森主要是小剂量经口暴露, 实验研究所用腹腔注射大剂量方式与临床不相符。

2.2 基因工程类模型

2.2.1 α -synuclein

α -synuclein 是一种在中枢神经系统突触前及核周表达的可溶性蛋白质, 而帕金森标志物 Lewy-bodies 的主要组成部分是纤维化的 α -synuclein, 因此, α -synuclein 的纤维化在帕金森发病中起着重要作用^[37]。 α -synuclein 基因突变可导致分子结构突变, 形成蛋白聚集^[38]。异常的 α -synuclein 聚集与 Lewy-bodies 的形成、多巴胺能神经元死亡乃至 PD 的发生有密切关系。 α -synuclein 转基因模型具有 PD 的运动症状和经典标志 Lewy-bodies, 但尚未有关于黑质、纹状体内神经损伤的报道。

2.2.2 Parkin/PINK1

PARK 基因的突变会导致线粒体功能障碍, 即 PINK1(PARK6)和 Parkin(PARK2)。PINK1 突变导致常染色体隐性遗传性 PD, 帕金森某些临床特征在 PINK1 突变患者中更为常见。Parkin 相关基因的激活可改善线粒体功能、恢复 PD 运动症状。PINK1 突变与隐性 PD 有关, 其突变体表现出多巴胺能神经元变性和运动缺陷。PARK 基因突变模型对氧化应激和活性氧的产生很敏感, 但是未观察到多巴胺能神经元变性或纹状体多巴胺水平降低等

病理学特征^[39-40]。

2.2.3 LRRK2

LRRK2 是由 PARK8 基因编码的一种蛋白激酶。LRR2 基因缺失影响内质网输出蛋白的调控, 进而影响纹状体中多巴胺在细胞表面的分布。LRRK2 转基因模型具有不同的病理特征。LRRK2 的 BAC 转基因小鼠模型显示出年龄依赖性进行性运动障碍, 纹状体多巴胺释放轻度减少, 但无明显的多巴胺细胞损失和 α -synuclein 聚集^[41]。LRRK2 KO 小鼠缺乏神经退行性或神经元结构的改变, 但导致了 α -synuclein 在大脑中的聚集^[42]。

2.2.4 DJ-1

DJ-1 是一种抗氧化蛋白, 可以保护细胞免受氧化应激伤害。DJ-1 基因突变会造成氧化应激反应功能紊乱, 导致常染色体隐性 PD。DJ-1 基因敲除小鼠的纹状体中多巴胺水平下降, 运动能力受损, 黑质致密部中多巴胺能神经元损失^[43-44]。DJ-1 敲除大鼠表现出明显的黑质多巴胺能神经元损失并伴有运动缺陷^[45-46]。各类型动物模型特征与优缺点见表 4。

3 小结与展望

PD 致病因素多、发病机制复杂, 帕金森行为学实验主要围绕 PD 的临床运动症状如运动迟缓、肌强直、姿势异常以及静止性震颤而设计。主要运用的行为学实验包括: 检测动物运动能力的旷场实验; 检测动物运动协调能力和运动耐受力的爬杆实验; 判断动物是否出现肌强直和静止性震颤症状的悬挂实验; 评估动物平衡能力、四肢协调能力与耐力的疲劳转棒实验; 评价动物平衡、协调能力的平衡木实验; 直接判断动物是否出现神经元损伤的阿扑吗啡诱导旋转实验。PD 的动物模型以 PD 的病理特征: 多巴胺神经元功能障碍和丢失与运动症状为核心而建立, 常用的模型包括: MPTP 模型、6-OHDA 模型、鱼藤酮模型、百草枯模型与基因工程模型。

选择规范的动物模型以及相适宜的行为学检测方法, 是进行 PD 机制研究、抗 PD 药物研发的基础。现有的 PD 动物模型均符合 PD 的首要病理特征——黑质、纹状体多巴胺能神经元的丢失, 同时不同模型又各有特点与针对性, 因此实验者在进行实验研究时, 也应依据模型特点检测不同的指标, 详见表 5。如对 PD 线粒体功能障碍进行研究时可

表 4 帕金森病动物模型
Table 4 Parkinson's disease animal models

类型 Types	模型 Models	造模方法 Modeling methods	造模机制 Modeling mechanism	运动特征 Motion characteristics	病理特征 Pathological features	优点 Advantages	缺点 Disadvantages
神经毒 素类 Neurotoxic	MPTP 模型 ^[47-51] MPTP model ^[47-51]	腹腔注射; 每天 30 mg/kg; 持续 1 周 Intraperitoneal injection; 30 mg/kg per day; lasting for 1 week	抑制线粒体复 合物 I 活性, 干 扰并阻断线粒 体电子传递链 Inhibit the activity of mitochondrial complex I, interfere with and block the mitochondrial electron transfer chain	震颤、痉挛, 四 肢协调性明显 下降 Tremors, spasms, and decreased coordination of limbs	多巴胺能神经 元变性、死亡; 多巴胺含量降 低; TH 含量降 低; α -synuclein 产生纤维化 Dopaminergic neurons degenerated and died; Dopamine content decreased; TH content decreased; α - synuclein produces fibrosis	造模方法简单, 给药方式多样, 运动症状与病 理特征均较符 合临床 Modeling method is simple, administration methods are diverse, motor symptoms and pathological features are more in line with the clinic	具有一定的自发修 复作用, 且 MPTP 的剂量和给药方法 的对造模情况具有 较大影响 It has a certain spontaneous repair effect, dosage and administration method of MPTP have great influence on the modeling situation
	6-OHDA 模型 ^[52-54] 6-OHDA model ^[52-54]	黑质、内侧前脑 束、纹状体区脑 立体注射; 每个 点位 6 μ g 左 右; 单次注射 Stereoscopic injection of substantia nigra, medial forebrain tract and striatum; each point is about 6 μ g; single injection	竞争性抑制多 巴胺; 触发氧化 应激, 引起多巴 胺能神经元 炎症 Competitive inhibition of DA; trigger oxidative stress, cause inflammation of DA neurons	单侧旋转 Unilateral rotation	多巴胺能神经 元变性、坏死; 多巴胺含量降 低; TH 含量降 低; α -synuclein 含量下降, 未产 生纤维化 Dopaminergic neurons degenerated and died; Dopamine content decreased; TH content decreased; content of α - synuclein decreased without fibrosis	对多巴胺能神 经元的特异性 强, 病理特征明 显, 模型稳定 性强 It has strong specificity for dopaminergic neurons, obvious pathological features and strong model stability	运动症状与临床不 符, 且脑立体定位 注射对操作者要求 较高 Motor symptoms are inconsistent with the clinic, stereotactic injection of brain requires the operator more
	鱼藤酮 模型 ^[55-57] Rotenone model ^[55-57]	颈背部皮下注 射; 每天 2 mg/ kg; 持续 3 周 Subcutaneous injection of neck and back; 2 mg/kg per day; lasting for 3 weeks	激起氧化应激, 引起多巴胺能 神经元细胞凋 亡坏死 Arouse oxidative stress, cause apoptosis and necrosis of DA neurons	动作迟缓、弓 背、四肢僵硬或 瘫痪、震颤 Slow movement, hunchback, stiff limbs, paralysis, tremor	多巴胺能神经 元丢失、死亡; 多巴胺含量降 低; TH 含量降 低; α -synuclein 产生纤维化; 出 现富含纤维化 α -synuclein 的 路易小体 Dopaminergic neurons lost and died; Dopamine content decreased; TH content decreased; α - synuclein produces fibrosis; Lewy bodies rich in fibrotic α - synuclein appeared	涵盖氧化应激、 神经炎症、细胞 凋亡等多种机 制, 且运动症状 与病理特征均 与临床高度 符合 It covers many mechanisms such as oxidative stress, neuroinflammation, apoptosis, etc., motor symptoms and pathological features are highly consistent with the clinic	鱼藤酮半衰期短, 降解快 Rotenone has short half-life, fast degradation

续表 4

类型 Types	模型 Models	造模方法 Modeling methods	造模机制 Modeling mechanism	运动特征 Motion characteristics	病理特征 Pathological features	优点 Advantages	缺点 Disadvantages
基因工 程类 Genetic	百草枯 模型 ^[58-60] Paraquat model ^[58-60]	腹腔注射; 每天 10 mg/mg; 连续 1 周 Intraperitoneal injection; 10 mg/mg per day; lasting for 1 week	抑制线粒体复 合物 I 活性而 致线粒体功能 异常 Inhibition of mitochondrial complex I activity leads to abnormal mitochondrial function	反应迟钝、动作 缓慢、肌肉僵硬 Slow response, slow movement, stiff muscles	多巴胺能神经 元减少; TH 含 量降低; α - synuclein 纤维 化聚集; 神经元 细胞中出现路 易小体 Dopaminergic neurons decreased; TH content decreased; α - synuclein fibrinosis aggregation; Lewy bodies appeared in neurons	病理特征与临 床吻合度高, 操 作简单 Pathological features are highly consistent with the clinic and the operation is simple	临床百草枯所致帕 金森主要是小剂量 经口暴露, 实验研 究所用腹腔注射大 剂量方式与临床不 相符 Parkinson's disease caused by paraquat is mainly caused by low-dose oral exposure, and the way of intraperitoneal injection of high- dose in experimental research is not consistent with clinic
	α - synuclein ^[61]	α -synuclein 基 因突变 α -synuclein gene mutation	分子结构突变, 形成 α - synuclein 蛋白 聚集 Molecular structure mutation, forming α - synuclein protein aggregation.	反应迟钝、四肢 震颤, 行为能力 丧失 Slow response, limb tremor, loss of behavioral ability	α -synuclein 异 常聚集; 路易小 体形成 α -synuclein abnormal aggregation; Lewy body formation	模型种类多样, 在猴、果蝇、小 鼠、秀丽线虫中 过表达均可较好 模拟帕金森 There are many kinds of models, and over- expression in monkeys, fruit flies, mice and Caenorhabditis elegans can simulate Parkinson's disease well	未有黑质、纹状体 神经损伤 There was no nerve injury in substantia nigra and striatum
	Parkin/ PINK1 ^[39-40]	基因突变 Gene mutation	线粒体功能障 碍、氧化损伤 Mitochondrial dysfunction and oxidative damage	运动缺陷 Motion defect	多巴胺能神经 元变性、死亡 Dopaminergic neurons degenerated and died	机制多样, 可对 帕金森线粒体 功能和氧化应 激等机制进行 研究 There are various mechanisms, which can be used to study the mitochondrial function and oxidative stress of Parkinson's disease	未有多巴胺能神经 元变性或纹状体多 巴胺水平降低等病 理学特征 There were no pathological features such as dopaminergic neuron degeneration or decreased dopamine level in striatum
	LRRK2 ^[41-42]	LRR2 基因敲除 LRR2 gene knockout	影响内质网输 出蛋白的调控, 进而影响纹状 体中多巴胺在 细胞表面的分 布 It affects the regulation of endoplasmic reticulum output protein, and then affects the distribution of dopamine on the cell surface in striatum	运动障碍 Dyskinesia	多巴胺含量轻 度减少; α - synuclein 异常 聚集 Dopamine content decreased slightly; α - synuclein anomaly aggregation	LRR2 敲除小鼠 模型显示出年 龄依赖性运动 障碍, 更符合帕 金森的发病 规律 LRR2 knockout mouse model shows age- dependent dyskinesia, which is more in line with the pathogenesis of Parkinson's disease	没有明显的多巴胺 细胞损失和 α -突触 蛋白聚集 There was no obvious loss of dopamine cells and aggregation of α -synuclein

续表 4

类型 Types	模型 Models	造模方法 Modeling methods	造模机制 Modeling mechanism	运动特征 Motion characteristics	病理特征 Pathological features	优点 Advantages	缺点 Disadvantages
	DJ-1 ^[43-46]	DJ-1 基因敲除 DJ-1 gene knockout	氧化应激反应 功能紊乱 Oxidative stress response dysfunction	运动缺陷 Motion defect	多巴胺能神经 元明显损伤;多 巴胺含量降低 Detail damage Dopaminergic neurons damaged obviously; Dopamine content decreased	DJ-1 敲除后对 神经毒素更敏 感,更利于联合 造模 DJ-1 is more sensitive to neurotoxin after knockout, which is more conducive to joint modeling	小鼠模型多巴胺含 量虽下降,但黑质 致密部中多巴胺能 神经元并未损失 Although the content of DA in mouse model decreased, the DA neurons in substantia nigra compacta were not lost

表 5 模型检测指标
Table 5 Model detection index

动物模型 Animal models	组织病理 Histopathology	生化指标 Biochemical indicator	蛋白质印迹 Western Blot	免疫组化 Immunohisto- chemical	免疫荧光 Immunofluo- rescence	mRNA 指标 mRNA index
MPTP 模型 ^[63-64] MPTP model ^[63-64]	纹状体细胞数量减少,排列疏松,胞核固缩与空泡变性增多;神经元细胞变性坏死,数量明显减少;尼氏小体减少,细胞质染色变浅,细胞核固缩、破裂溶解 Number of striatal cells decreased, the arrangement was loose, nuclear condensation and vacuolar degeneration increased, neurons degenerated and died, and the number decreased obviously; Nissl bodies decreased, cytoplasm staining became shallow, and the nucleus contracted, ruptured and dissolved	炎症因子 IL-1β ↑、TNF-α ↑、IL-18 ↑; 氧化应激指标 SOD ↓、MDA ↑、GSH-Px ↓; 免疫因子 IFN-γ ↓ Inflammatory factor IL-1β ↑, TNF-α ↑, IL-18 ↑; Oxidative stress index SOD ↓, MDA ↑, GSH-Px ↓; Immune factor IFN-γ ↓	炎症相关 IL-1β ↑、TNF-α ↑、NLRP3 ↑、ASC ↑、PKA C-α ↓; 凋亡通路蛋白 Caspase-1 ↑; 铁死亡标志物 GPX4 ↓、FTH1 ↓; Wnt 非经典途径 Wnt5a ↓、β-catenin ↓ Inflammation related IL-1β ↑, TNF-α ↑, NLRP3 ↑, ASC ↑, PKA C-α ↓; Apoptosis pathway protein Caspase-1 ↑; Ferroptosis marker GPX4 ↓, FTH1 ↓; Wnt non-classical approach Wnt5a ↓, β-catenin ↓	酪氨酸羟化酶 ↓; 半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白酶 1 ↑ Tyrosine hydroxylase ↓; Caspase-1 ↑	酪氨酸羟化酶 ↓; 半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白酶 1 ↑ Tyrosine hydroxylase ↓; Caspase-1 ↑ Microglial activation marker Iba1 ↑	酪氨酸羟化酶 mRNA ↓; 多巴胺转运体 mRNA ↓ TH mRNA ↓; Dopamine transporter mRNA ↓
6-OHDA 模型 ^[65-66] 6-OHDA model ^[65-66]	脑组织细胞排布紊乱、肿胀,且出现细胞破裂现象;神经元细胞数量减少,胞核固缩,核仁模糊不清,出现空泡化 Brain tissue cells are disordered and swollen, and cell rupture occurs; Number of neurons decreased, nucleus contracted, nucleoli was blurred, vacuolation appeared	炎症因子 TNF-α ↑、IL-1β ↑、IL-6 ↑; 氧化应激指标 GSH ↓、SOD ↓、MDA ↑ Inflammatory factor TNF-α ↑, IL-1β ↑, IL-6 ↑; Oxidative stress index GSH ↓, SOD ↓, MDA ↑	炎症因子 IL-1β ↑、TNF-α ↑、IL-6 ↑、IL-10 ↓; 炎症通路 p-IκBα ↑、NF-κB p65 ↑; 凋亡与内质网应激蛋白 TRPV4 ↑、PERK ↑、CHOP ↑ Inflammatory factor IL-1β ↑, TNF-α ↑, IL-6 ↑, IL-10 ↓; Inflammatory pathway p-IκBα ↑, NF-κB p65 ↑; Apoptosis and endoplasmic reticulum stress protein TRPV4 ↑, PERK ↑, CHOP ↑	-	-	-

续表 5

动物模型 Animal model	组织病理 Histopathology	生化指标 Biochemical indicator	蛋白质印迹 Western Blot	免疫组化 Immunohisto- chemical	免疫荧光 Immunofluo- rescence	mRNA 指标 mRNA index
鱼藤酮 模型 ^[67-68] Rotenone model ^[67-68]	脑组织细胞存在大量破裂、肿胀等异常表现,细胞排列紊乱;DA 能神经元细胞数量明显减少,且排列紊乱,胞体皱缩	炎症因子 IL-3 ↑、TNF-α ↑; 神经递质 5-HT ↓; 氧化应激指标 CAT ↓、AOPP ↑	炎症通路 TLR4 ↑、MyD88 ↑、NF-κB p65 ↑、p-NF-κB p65 ↑、PI3K ↑、mTOR ↓; 凋亡通路 p53 ↑、Bax ↑、Caspase-3 ↑、Bcl-2 ↓		α-突触核蛋白 ↑; 小胶质细胞活化标志 Iba-1 ↑	p53 mRNA ↑; Bax mRNA ↑; Caspase-3 mRNA ↑
	There are a lot of abnormal manifestations such as rupture and swelling in brain tissue cells, and the cells are arranged in disorder; Number of DA neurons is obviously reduced, and the arrangement is disordered, cell body shrinks	Inflammatory factor IL-3 ↑, TNF-α ↑; Neurotransmitter 5-HT ↓; Oxidative stress index CAT ↓, AOPP ↑	Inflammatory pathway TLR4 ↑, MyD88 ↑, NF-κB p65 ↑, p-NF-κB p65 ↑, PI3K ↑, mTOR ↓; Apoptosis pathway p53 ↑, Bax ↑, Caspase-3 ↑, Bcl-2 ↓	酪氨酸羟化酶 ↓ Tyrosine hydroxylase ↓	α-synuclein ↑; Microglial activation marker Iba1 ↑	
百草枯 模型 ^[69-70] Paraquat model ^[69-70]	纹状体区域细胞肿胀破裂,核仁皱缩;神经元细胞固缩减少,排列紊乱	炎症因子 TNF-α ↑、IL-1β ↑、IL-6 ↑、IL-10 ↓; 氧化应激指标 SOD ↓、MDA ↑、CAT ↓、GPx ↓; 线粒体功能指标 ATP ↓	炎症因子 iNOS ↑、IL-1β ↑、HMGB1 ↑; 炎症通路 PI3K ↑、PDK-1 ↑、p-AKT ↑; 神经递质 TGF-β ↓、GDNF ↓; 线粒体融合/分裂蛋白 Mfn2 ↓、Drp1 ↑		酪氨酸羟化酶 ↓; 小胶质细胞活化标志 Iba1 ↑	NF-κB mRNA ↑
	Cells in the striatum area swell and rupture, nucleoli shrink; Neuron cells are reduced in shrinkage, disordered in arrangement	Inflammatory factor TNF-α ↑, IL-1β ↑, IL-6 ↑, IL-10 ↓; Oxidative stress index SOD ↓, MDA ↑, CAT ↓, GPx ↓; Mitochondrial function index ATP ↓	Inflammatory factor iNOS ↑, IL-1β ↑, HMGB1 ↑; Inflammatory pathway PI3K ↑, PDK-1 ↑, p-AKT ↑; Neurotransmitter TGF-β ↓, GDNF ↓; Mitochondrial fusion/division protein Mfn2 ↓, Drp1 ↑	-	Tyrosine hydroxylase ↓; Microglial activation marker Iba1 ↑	

选择 MPTP 模型,针对 Lewy-bodies 进行研究时可选择鱼藤酮模型、百草枯模型或 α-synuclein 转基因模型,对 PD 致病因素进行研究可选择百草枯模型,对 PD 遗传因素进行研究可选择基因工程模型。在对 PD 模型动物进行行为学测试时,应从多方面、多角度对动物模型进行评价。文中综述的行为学实验均有不同的侧重点,实验研究时应根据 PD 模型的运动协调能力、平衡能力、肌张力等进行综合评价,对同一个模型应至少选择两种以上的行为学测试,且两种行为学的指标均趋向 PD 的临床运动症状或至少有一项行为学测试出现显著性变化^[62]。

综上所述,本文对大小鼠 PD 模型行为学测试的实验设备、实验方法、评价指标、注意事项进行了系统性归纳,同时,对常用的 PD 大小鼠模型的造模机制、与 PD 临床特征的吻合情况、优缺点、检测指标进行了总结分析,旨在对 PD 的机制研究、抗 PD 药物的研发提供参考。

参 考 文 献(References)

[1] TOLOSA E, GARRIDO A, SCHOLZ S W, et al. Challenges in the diagnosis of Parkinson’s disease [J]. Lancet Neurol, 2021, 20(5): 385–397.

[2] ASCHERIO A, SCHWARZSCHILD M A. The epidemiology of Parkinson’s disease: risk factors and prevention [J]. Lancet Neurol, 2016, 15(12): 1257–1272.

[3] TYSNES O B, STORSTEIN A. Epidemiology of Parkinson’s disease [J]. J Neural Transm, 2017, 124(8): 901–905.

[4] HALL C S. Emotional behavior in the rat. I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality [J]. J Comp Psychol, 1934, 18(3): 385–403.

[5] MASINI D, KIEHN O. Targeted activation of midbrain neurons restores locomotor function in mouse models of Parkinsonism [J]. Nat Commun, 2022, 13(1): 504.

[6] BESERRA-FILHO J I A, MARIA-MACÊDO A, SILVA-MARTINS S, et al. Lippia grata essential oil complexed with β-cyclodextrin ameliorates biochemical and behavioral deficits in an animal model of progressive Parkinsonism [J]. Metab Brain Dis,

- 2022, 37(7): 2331–2347.
- [7] WEN J, ZHANG Y Q, LIU D Q, et al. Demethylenetetrahydroberberine protects dopaminergic neurons in a mouse model of Parkinson's disease [J]. Chin J Nat Med, 2022, 20(2): 111–119.
 - [8] ACAR N, PARLAK H, OZKAN A, et al. The effect of docosahexaenoic acid on apelin distribution of nervous system in the experimental mouse model of Parkinson's disease [J]. Tissue Cell, 2019, 56: 41–51.
 - [9] RAY A, KAMBALI M, RAVINDRANATH V. Thiol oxidation by diamide leads to dopaminergic degeneration and Parkinsonism phenotype in mice: a model for Parkinson's disease [J]. Antioxid Redox Signal, 2016, 25(5): 252–267.
 - [10] BISPO J M M, MELO J E C, GOIS A M, et al. Sex differences in the progressive model of Parkinsonism induced by reserpine in rats [J]. Behav Brain Res, 2019, 363: 23–29.
 - [11] OGAWA N, HIROSE Y, OHARA S, et al. A simple quantitative bradykinesia test in MPTP-treated mice [J]. Res Commun Chem Pathol Pharmacol, 1985, 50(3): 435–441.
 - [12] BEAUCHAMP L C, LIU X M, VELLA L J, et al. ATH434 rescues pre-motor hyposmia in a mouse model of Parkinsonism [J]. Neurotherapeutics, 2022, 19(6): 1966–1975.
 - [13] MARTINEZ P A, MARTINEZ V E, RANI S, et al. Impaired aldehyde detoxification exacerbates motor deficits in an α -synuclein mouse model of Parkinson's disease [J]. Brain Behav, 2023, 13(9): e3150.
 - [14] HENG Y, ZHANG Q S, MU Z, et al. Ginsenoside Rg1 attenuates motor impairment and neuroinflammation in the MPTP-probenecid-induced Parkinsonism mouse model by targeting α -synuclein abnormalities in the substantia nigra [J]. Toxicol Lett, 2016, 243: 7–21.
 - [15] 林臻, 陈洪志, 赵航, 等. MPTP 诱导 C57BL/6 小鼠帕金森模型的制备和评估 [J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(8): 57–62, 85.
LIN Z, CHEN H Z, ZHAO H, et al. Preparation and assessment of a C57BL/6 mouse Parkinson's model induced by MPTP [J]. Chin J Comp Med, 2020, 30(8): 57–62, 85.
 - [16] EYVARI BROOSHGHANAN S, SABAHI M, EBADI S A, et al. Silibinin chronic treatment in a rat model of Parkinson disease: a comprehensive *in-vivo* evaluation and *in silico* molecular modeling [J]. Eur J Pharmacol, 2023, 941: 175517.
 - [17] NASER A F A, AZIZ W M, AHMED Y R, et al. Parkinsonism-like disease induced by rotenone in rats: treatment role of curcumin, dopamine agonist and adenosine A_{2A} receptor antagonist [J]. Curr Aging Sci, 2022, 15(1): 65–76.
 - [18] DUNHAM N W, MIYA T S. A note on a simple apparatus for detecting neurological deficit in rats and mice [J]. J Am Pharm Assoc Am Pharm Assoc, 1957, 46(3): 208–209.
 - [19] JONES B J, ROBERTS D J. The quantitative measurement of motor inco-ordination in naive mice using an accelerating rotarod [J]. J Pharm Pharmacol, 1968, 20(4): 302–304.
 - [20] INOUE N, OGURA S, KASAI A, et al. Knockdown of the mitochondria-localized protein p13 protects against experimental Parkinsonism [J]. EMBO Rep, 2018, 19(3): e44860.
 - [21] LI M, WANG K, SU W T, et al. Effects of electroacupuncture on metabolic changes in motor cortex and *Striatum* of 6-hydroxydopamine-induced parkinsonian rats [J]. Chin J Integr Med, 2020, 26(9): 701–708.
 - [22] MOHAMMAD H M F, EL-BAZ A A, MAHMOUD O M, et al. Protective effects of evening primrose oil on behavioral activities, nigral microglia and histopathological changes in a rat model of rotenone-induced Parkinsonism [J]. J Chem Neuroanat, 2023, 127: 102206.
 - [23] KUMARI M, RAMDAS P, RADHAKRISHNAN A K, et al. Tocotrienols ameliorate neurodegeneration and motor deficits in the 6-OHDA-induced rat model of Parkinsonism: behavioural and immunohistochemistry analysis [J]. Nutrients, 2021, 13(5): 1583.
 - [24] 刘新民, 陈善广, 秦川. 动物行为实验方法学 [M]. 北京: 中国轻工业出版社; 2023.
LIU X M, CHEN S G, QIN C. Experimental methodology based on animal behaviour research [M]. Beijing: China Light Industry Press; 2023.
 - [25] HAGHDOST-YAZDI H, SAROOKHANI M, FARAJ A, et al. Evaluation of the association between blood homocysteine concentration and the degree of behavioral symptoms in the 6-hydroxydopamine-induced Parkinsonism in rat [J]. Pharmacol Biochem Behav, 2014, 124: 297–304.
 - [26] CHIBA K, TREVOR A, CASTAGNOLI N Jr. Metabolism of the neurotoxic tertiary amine, MPTP, by brain monoamine oxidase [J]. Biochem Biophys Res Commun, 1984, 120(2): 574–578.
 - [27] 周甜甜, 张秋双, 陈颖, 等. 天麻联苳化合物 20C 对 MPTP/p 诱导帕金森小鼠模型的作用及机制 [J]. 中国药物警戒, 2020, 17(11): 753–757, 772.
ZHOU T T, ZHANG Q S, CHEN Y, et al. Effects of bibenzyl Compound(20C) from *Gastrodia elata* on MPTP/p-induced mice and mechanism [J]. Chin J Pharmacovigil, 2020, 17(11): 753–757, 772.
 - [28] 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.
 - [29] BIAN M, LIU J, HONG X, et al. Overexpression of parkin ameliorates dopaminergic neurodegeneration induced by 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine in mice [J]. PLoS One, 2012, 7(6): e39953.
 - [30] FRANCARDO V. Modeling Parkinson's disease and treatment complications in rodents: Potentials and pitfalls of the current options [J]. Behav Brain Res, 2018, 352: 142–150.
 - [31] LITVAN I, HALLIDAY G, HALLETT M, et al. The etiopathogenesis of Parkinson disease and suggestions for future research. Part I [J]. J Neuropathol Exp Neurol, 2007, 66(4): 251–257.
 - [32] MATHEUS F C, RIAL D, REAL J I, et al. Decreased synaptic

- plasticity in the medial prefrontal cortex underlies short-term memory deficits in 6-OHDA-lesioned rats [J]. Behav Brain Res, 2016, 301: 43–54.
- [33] BISBAL M, SANCHEZ M. Neurotoxicity of the pesticide rotenone on neuronal polarization: a mechanistic approach [J]. Neural Regen Res, 2019, 14(5): 762–766.
- [34] PRASAD K, WINNIK B, THIRUCHELVAM M J, et al. Prolonged toxicokinetics and toxicodynamics of paraquat in mouse brain [J]. Environ Health Perspect, 2007, 115(10): 1448–1453.
- [35] LI X, YIN J, CHENG C M, et al. Paraquat induces selective dopaminergic nigrostriatal degeneration in aging C57BL/6 mice [J]. Chin Med J, 2005, 118(16): 1357–1361.
- [36] 张宝馥, 王楷栋, 张冰洋, 等. 百草枯引起神经元 α -突触核蛋白寡聚化并向细胞核易位的时间依赖性研究 [J]. 环境与职业医学, 2022, 39(2): 193–199.
- ZHANG B F, WANG K D, ZHANG B Y, et al. Temporal dependence of neuronal alpha-synuclein oligomerization and nuclear translocation induced by paraquat. [J]. J Environment Occupat Med, 2022, 39(2): 193–199.
- [37] BHURTEL S, KATILA N, SRIVASTAV S, et al. Mechanistic comparison between MPTP and rotenone neurotoxicity in mice [J]. Neurotoxicology, 2019, 71: 113–121.
- [38] DETTMER U, NEWMAN A J, LUTH E S, et al. *In vivo* cross-linking reveals principally oligomeric forms of α -synuclein and β -synuclein in neurons and non-neural cells [J]. J Biol Chem, 2013, 288(9): 6371–6385.
- [39] MOISOI N, FEDELE V, EDWARDS J, et al. Loss of PINK1 enhances neurodegeneration in a mouse model of Parkinson's disease triggered by mitochondrial stress [J]. Neuropharmacology, 2014, 77: 350–357.
- [40] ZHANG R, JIANG W, WANG G, et al. Parkin inhibits proliferation and migration of bladder cancer via ubiquitinating Catalase [J]. Commun Biol, 2024, 7(1): 245.
- [41] LI Y, LIU W, OOT F, et al. Mutant LRRK2(R1441G) BAC transgenic mice recapitulate cardinal features of Parkinson's disease [J]. Nat Neurosci, 2009, 12(7): 826–828.
- [42] PELLEGRINI L, HAUSER D N, LI Y, et al. Proteomic analysis reveals co-ordinated alterations in protein synthesis and degradation pathways in LRRK2 knockout mice [J]. Hum Mol Genet, 2018, 27(18): 3257–3271.
- [43] 张秩荻, 张迎宏, 马芙蓉, 等. DJ-1 蛋白在帕金森病嗅觉障碍中作用研究进展 [J]. 中国老年学杂志, 2022, 42(23): 5881–5885.
- ZHANG Z D, ZHANG Y H, MA F R, et al. Research progress on the role of DJ-1 protein in olfactory dysfunction of Parkinson's disease [J]. Chin J Gerontol, 2022, 42(23): 5881–5885.
- [44] HAUSER D N, PRIMIANI C T, LANGSTON R G, et al. The polg mutator phenotype does not cause dopaminergic neurodegeneration in DJ-1-deficient mice [J]. eNeuro, 2015, 2(1): 75.
- [45] DAVE K D, SILVA S D, SHETH N P, et al. Phenotypic characterization of recessive gene knockout rat models of Parkinson's disease [J]. Neurobiol Dis, 2014, 70: 190–203.
- [46] 王华林, 刘冉, 纪文亮, 等. DJ-1 在运动改善 PD 行为功能障碍中的作用研究进展 [J]. 生命科学, 2022, 34(2): 197–202.
- WANG H L, LIU R, JI W L, et al. Research progress on the role of DJ-1 in regulating PD behavioral dysfunction by exercise [J]. Chin Bull Life Sci, 2022, 34(2): 197–202.
- [47] 陈世坚, 李舸, 张钰, 等. MPTP 诱导帕金森病小鼠亚急性与慢性模型的比较及评价 [J]. 中国组织工程研究, 2022, 26(8): 1247–1252.
- CHEN S J, LI G, ZHANG Y, et al. Comparison and evaluation of MPTP-induced subacute and chronic models of Parkinson's disease in mice [J]. Chin J Tissue Eng Res, 2022, 26(8): 1247–1252.
- [48] HU M, LI F, WANG W. Vitexin protects dopaminergic neurons in MPTP-induced Parkinson's disease through PI3K/Akt signaling pathway [J]. Drug Des Devel Ther, 2018, 12: 565–573.
- [49] JANG Y, KWON I, SONG W, et al. Modulation of mitochondrial phenotypes by endurance exercise contributes to neuroprotection against a MPTP-induced animal model of PD [J]. Life Sci, 2018, 209: 455–465.
- [50] MOCHIZUKI H, GOTO K, MORI H, et al. Histochemical detection of apoptosis in Parkinson's disease [J]. J Neurol Sci, 1996, 137(2): 120–123.
- [51] ELSAYED M H, ATIF H M, ELADL M A, et al. Betanin improves motor function and alleviates experimental Parkinsonism via downregulation of TLR4/MyD88/NF- κ B pathway: Molecular docking and biological investigations [J]. Biomed Pharmacother, 2023, 164: 114917.
- [52] RODRÍGUEZ M, BARROSO-CHINEA P, ABDALA P, et al. Dopamine cell degeneration induced by intraventricular administration of 6-hydroxydopamine in the rat: similarities with cell loss in Parkinson's disease [J]. Exp Neurol, 2001, 169(1): 163–181.
- [53] HERNANDEZ-BALTAR D, ZAVALA-FLORES L M, VILLANUEVA-OLIVO A. The 6-hydroxydopamine model and parkinsonian pathophysiology: Novel findings in an older model [J]. Neurologia, 2017, 32(8): 533–539.
- [54] 王孟迪, 张秋梅, 范蓓, 等. 基于文献数据库的 6-OHDA 帕金森病大鼠模型特点分析及在中药研究中的应用 [J]. 中国比较医学杂志, 2023, 33(1): 93–102.
- WANG M D, ZHANG Q M, FAN B, et al. Analysis on the characteristics of 6-OHDA induced rat model of Parkinson's disease based on literature data base and the application in the study of traditional Chinese medicine [J]. Chin J Comp Med, 2023, 33(1): 93–102.
- [55] WANG Y, LIU W, YANG J, et al. Parkinson's disease-like motor and non-motor symptoms in rotenone-treated zebrafish [J]. Neurotoxicology, 2017, 58: 103–109.

[56] INDEN M, KITAMURA Y, ABE M, et al. Parkinsonian rotenone mouse model; reevaluation of long-term administration of rotenone in C57BL/6 mice [J]. Biol Pharm Bull, 2011, 34(1): 92-96.

[57] 毛美玲, 关银瑞, 闫咏梅, 等. 鱼藤酮致帕金森病模型的最佳造模方法探讨 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2022, 20(9): 1611-1616.

MAO M L, GUAN Y R, YAN Y M, et al. Discussion on the best modeling method of Parkinson's disease model induced by rotenone [J]. Chin J Integr Med Cardio Cerebrovasc Dis, 2022, 20(9): 1611-1616.

[58] MANNING-BOG A B, MCCORMACK A L, LI J, et al. The herbicide paraquat causes up-regulation and aggregation of alpha-synuclein in mice; paraquat and alpha-synuclein [J]. J Biol Chem, 2002, 277(3): 1641-1644.

[59] CHENG Y H, CHOU W C, YANG Y F, et al. PBPK/PD assessment for Parkinson's disease risk posed by airborne pesticide paraquat exposure [J]. Environ Sci Pollut Res Int, 2018, 25(6): 5359-5368.

[60] 刘哲川, 李坤, 马帅男, 等. 利拉鲁肽对百草枯诱导的小鼠帕金森病模型炎症及线粒体融合/分裂的影响 [J]. 解剖学报, 2023, 54(6): 676-681.

LIU Z C, LI K, MA S N, et al. Effects of liraglutide on inflammation and mitochondrial fusion/division in Parkinson's disease model of mice induced by paraquat [J]. Acta Anat Sin, 2023, 54(6): 676-681.

[61] SEN A, KALVAKURI S, BODMER R, et al. Clueless, a protein required for mitochondrial function, interacts with the PINK1-Parkin complex in *Drosophila* [J]. Dis Model Mech, 2015, 8(6): 577-589.

[62] 姜宁, 张亦文, 姚彩虹, 等. 大小鼠抑郁行为实验方法概述 [J]. 中国实验动物学报, 2021, 29(6): 830-838.

JIANG N, ZHANG Y W, YAO C H, et al. Overview of animal behavioral tests of depression [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2021, 29(6): 830-838.

[63] 张新宁, 陈志刚, 陈路, 等. 补肾益髓方对帕金森病模型小鼠脑组织 NLRP3 炎症小体激活相关蛋白表达的影响 [J]. 中医杂志, 2023, 64(1): 71-76.

ZHANG X N, CHEN Z G, CHEN L, et al. Effect of Bushen yisui formula on the expression of NLRP3 inflammasome activation-related protein in the brain tissue in Parkinson's disease model mice [J]. J Tradit Chin Med, 2023, 64(1): 71-76.

[64] 刘柯婷, 陈缤彬, 税玉莲, 等. 外源性 H₂S 对帕金森病模型小鼠神经保护作用及其对基质金属蛋白酶 9 和 Caspase-1 表达的影响 [J]. 解剖学报, 2023, 54(3): 289-295.

LIU K T, CHEN B B, SHUI Y L, et al. Neuroprotective effect of exogenous hydrogen sulfide and the expression of matrix metalloproteinases-9 and Caspase-1 in mice model of Parkinson's disease [J]. Acta Anat Sin, 2023, 54(3): 289-295.

[65] 孙伟, 吴春明, 刘张, 等. 6-羟基多巴胺损毁单侧内侧前脑束和单侧纹状体的帕金森大鼠模型早期和晚期行为学 [J]. 中国医科大学学报, 2023, 52(2): 120-125.

SUN W, WU C M, LIU Z, et al. Behavior at early and later stages after unilateral medial forebrain bundle and striatal lesions induced by 6-hydroxydopamine in a rat model of Parkinson disease [J]. J China Med Univ, 2023, 52(2): 120-125.

[66] 徐利, 李莹莹, 张锦军, 等. 毛钩藤碱对 6-羟基多巴胺诱导的帕金森病模型大鼠神经保护作用及机制研究 [J]. 沈阳药科大学学报, 2023, 40(5): 613-619.

XU L, LI Y Y, ZHANG J J, et al. Neuroprotective effect and mechanism of hirsutine on 6-hydroxydopamine induced Parkinson's disease model in rats [J]. J Shenyang Pharm Univ, 2023, 40(5): 613-619.

[67] 才昊, 栾梅, 赵德福. 沉默 miR-331-5p 对帕金森病模型大鼠的干预效果及作用机制 [J]. 中国老年学杂志, 2023, 43(1): 192-195.

CAI H, LUAN M, ZHAO D F. Intervention effect and mechanism of silent miR-331-5p on Parkinson's disease model rats [J]. Chin J Gerontol, 2023, 43(1): 192-195.

[68] 崔拓拓, 曹俊岭, 欧阳竞锋, 等. 大定风珠对帕金森病模型小鼠脑黑质小胶质细胞活化及 TLR4/MyD88/NF-κB 信号通路的影响 [J]. 中医杂志, 2023, 64(9): 930-938.

CUI T T, CAO J L, OUYANG J F, et al. Effect and dadingfengzhu pill on the activation of microglial cells in the substantia nigra and TLR4/MyD88/NF-κB signaling pathway in Parkinson's disease model mice [J]. J Tradit Chin Med, 2023, 64(9): 930-938.

[69] WANG K, ZHANG B, TIAN T, et al. Taurine protects dopaminergic neurons in paraquat-induced Parkinson's disease mouse model through PI3K/Akt signaling pathways [J]. Amino Acids, 2022, 54(1): 1-11.

[70] FATHY S M, EL-DASH H A, SAID N I. Neuroprotective effects of pomegranate (*Punica granatum* L.) juice and seed extract in paraquat-induced mouse model of Parkinson's disease [J]. BMC Complementary Med Ther, 2021, 21(1): 130.

[收稿日期] 2023-11-23