

文章编号:1003-2754(2019)01-0010-05

α -突触核蛋白通过抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路参与帕金森病发病机制

程丽萍¹, 王浩², 车峰远², 亓法英²

摘要: **目的** 探讨帕金森病动物模型和细胞模型中 α -突触核蛋白与 Wnt/ β -catenin 信号通路的相关关系及其导致神经元损伤的可能机制。**方法** 在动物水平和细胞水平上应用 western blotting 方法、流式细胞术、免疫荧光法等方法研究 α -synuclein 与 Wnt/ β -catenin 信号通路关键信号分子 GSK-3 β 的表达关系及其对细胞活性的影响。**结果** α -syn 转基因小鼠脑组织中 α -synuclein、p-GSK-3 β 蛋白表达量均明显增加,与对照组和 MPTP 组相比具有统计学差异($P < 0.05$); α -syn 过表达组 SH-SY5Y 细胞中 α -synuclein、p-GSK-3 β 表达量较对照组及 MPP + 损伤组明显升高,结果具有统计学差异($P < 0.05$);阿立哌唑预处理组 α -synuclein 较对照组及 MPP + 组明显增加,p-GSK-3 β 与对照组及 MPP + 组差异不具有统计学意义;阿立哌唑预处理组细胞活性明显高于 α -syn 过表达组,细胞凋亡率较 α -syn 过表达组明显下降,差异具有统计学意义($P < 0.05$);免疫荧光法示 α -synuclein 与 p-GSK-3 β 存在共定位关系。**结论** α -synuclein 可能通过抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路导致神经元损伤,从而参与帕金森病的发病机制。

关键词: 帕金森病; α -突触核蛋白; Wnt/ β -catenin 信号通路

中图分类号: R742.5 **文献标识码:** A

α -synuclein Participate in the pathogenesis of Parkinson's disease by inhibiting Wnt/ β -catenin signaling CHENG Liping, WANG Hao, CHE Fengyuan, et al. (Qingdao University, Eleventh Clinical Medical College-Linyi People's Hospital, Qingdao 266000, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effect of α -synuclein (α -syn) on Wnt/ β -catenin signaling pathway in Parkinson's disease animal models and cell models and the possible mechanism of neuronal injury. **Methods** Western blotting, flow cytometry, immunofluorescence and other methods were used to detect the expression of α -synuclein and the key signal molecule GSK-3 β in Wnt/ β -catenin signaling pathway and its effect on cell viability at the animal and cell levels. **Results** The expressions of α -synuclein and p-GSK-3 β in the brain tissue of α -syn transgenic mice increased significantly, compared with the control group and MPTP group ($P < 0.05$). The expression levels of α -synuclein and p-GSK-3 β in SH-SY5Y cells of α -syn overexpression group were significantly higher than those in the control group and MPP + injury group, and the results were statistically significant ($P < 0.05$). The α -synuclein in the aripiprazole pretreatment group was significantly increased compared with the control group and the MPP + group. There was no significant difference in p-GSK-3 β between the control group and the MPP + group. The cell viability of aripiprazole pretreatment group was significantly higher than that of α -syn overexpression group, and the apoptosis rate was significantly lower than that of α -syn overexpression group, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). Immunofluorescence showed a colocalization relationship between α -synuclein and p-GSK-3 β . **Conclusion** α -synuclein may participate in the pathogenesis of Parkinson's disease by inhibiting the Wnt/ β -catenin signaling pathway leading to neuronal damage.

Key words: Parkinson's disease; α -synuclein; Wnt/ β -catenin signaling pathway

帕金森病(Parkinson's disease, PD)是一种常见的以运动障碍为特征的中枢神经系统退行性疾病,其典型病理特征为 α -突触核蛋白(α -synuclein, α -syn)异常聚集后细胞内包涵体 Lewy 小体的形成^[1]。Wnt/ β -catenin 信号通路在神经发生、神经元存活、轴突延长中发挥重要作用,并参与癌症、糖尿病及神经退行性疾病等疾病的发生,研究提示在 PD 患者中枢神经系统中 Wnt/ β -catenin 信号通路受到抑制^[2-5],近年来有证据显示 α -synuclein 异常聚集可能对 Wnt/ β -catenin 信号产生影响^[6],但是其具体机制不明。本实验以 C57BL/6 小鼠和人神经母细胞瘤细胞(SH-SY5Y 细胞)为模型,探讨中脑组织中 α -synuclein 异常集聚对 Wnt/ β -catenin 信号通路的相关影响及其可能的分子机制,为 PD 的发病机制研究及干预策略提供思路。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物分组及处理 8 w 龄雄性 C57BL/6 小鼠 30 只,体重 23 ~ 27 g 随机分为正常对照组和 MPTP 损伤组,每组 15 只。 α -syn 转基因小鼠 15 只,购买于美国 Jackson 实验室。MPTP 损伤组小鼠腹腔注射 MPTP (20 mg/kg),每周 1 次,连续注射 3 w。正常对照组经相同方式给予相同体积的生理盐水。将动物圈养在(23 ± 1) °C 的环境温度和(60 ± 10)% 相对湿度 12 h 光照/黑暗周期下并允许水和自由获取食物。

1.1.2 细胞培养、转染和处理 SH-SY5Y 细

收稿日期:2018-05-15;修订日期:2018-09-01

基金项目:山东省自然科学基金(No. ZR2014HL041)

作者单位:(1. 青岛大学第十一临床医学院—临沂市人民医院,山东青岛 266000;2. 临沂市人民医院,山东 临沂 276000)

通讯作者:车峰远, E-mail: che1971@126.com

胞购自美国典型培养物保藏中心(ATCC, USA)。细胞培养液DMEM(GIBCO实验室, USA), 含10% FBS(Gibco公司实验室, USA), 100 U/ml青霉素(GIBCO实验室, USA)和100 mg/ml链霉素(Sigma-Aldrich公司生物技术, USA)。培养物保持在37 °C, 5% CO₂和95%空气的潮湿环境中。待细胞在35 mm培养皿内80%汇片时, 采用lipofectAMINE™按照实际说明书进行转染。用不含FBS的DMEM洗涤细胞两次, 用1 ml含有10 μl lipofectAMINE™和2 μg质粒DNA的OPTI-MEM孵育细胞5 h, 洗涤, 改用含10% FBS的DMEM继续培养48 h, 实验前将细胞接种于6孔板, 在含10%胎牛血清的DMEM中培养24 h, 然后用含或载体的无血清培养基代替培养基。2 h后, 将MPP+(1 mmol/L, 购自Sigma公司)或阿立哌唑(50 nM, Sigma-Aldrich Biotechnology, USA)加入到培养基中24 h。

1.2 方法

1.2.1 免疫印迹法(Western blotting)测定小鼠中脑组织中蛋白表达 取α-syn过表达转基因小鼠及正常小鼠、MPTP损伤小鼠的中脑组织, 用预冷的PBS漂洗细胞2次, 置于冰上, 每孔加入150 μl细胞裂解液(SDS 2 g、Tris碱0.7571 g、溴酚蓝0.01 g、DTT 0.771 g、去离子水90 ml、甘油10 ml)裂解20 min, 超声, 4 °C、1400 r/min离心10 min, 沸水煮5 min, 冷却。根据生产商的说明书(Beyotime Institute of Biotechnology, China)使用二辛可宁酸(BCA)法测定样品中蛋白质的含量, 并在十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)上分离。将40 μg蛋白质转移到硝酸纤维素滤膜上并用5%脱脂牛奶封闭2 h。然后将膜与一抗(抗T-GSK-3β, 抗p-GSK-3β, 抗α-syn)在4 °C过夜并用1×Tris-缓冲盐水/吐温20(TBST)洗涤10 min 3次。然后将膜与1:5000稀释度的相应的HRP偶联的第二抗体温育1 h, 并用1×TBST洗涤3 min 10 min。在Bio-Rad中观察膜并通过ImageLab软件分析图像。使用β-actin作为内部对照。

1.2.2 流式细胞术检测细胞中α-突触核蛋白和p-GSK-3β蛋白表达 SH-SY5Y细胞分为3组: 对照组、α-syn过表达组(过表达α-syn的SH-SY5Y细胞)、MPP+损伤组(MPP+干预的SH-SY5Y细胞)。制备单细胞悬液1 ml(含1×10⁶细胞), 冷PBS洗涤1次, 100 μl PBS悬浮细胞, 分别向其中加入抗α-syn抗体10 μl、抗p-GSK-3β抗体10 μl, 室温避光放置30 min, 之后加入相应荧光二抗室温孵育60 min后进行流式细胞术检测。

1.2.3 Western blotting 检测细胞中蛋白表达 SH-SY5Y细胞分为4组: 对照组、α-syn过表达组(过表达α-syn的SH-SY5Y细胞)、MPP+损伤组(MPP+干预的SH-SY5Y细胞)、阿立哌唑预处理组(经阿立哌唑干预的过表达α-syn的SH-SY5Y细

胞)。根据生产商的说明书(Beyotime Institute of Biotechnology, China)使用二辛可宁酸(BCA)法测定样品中蛋白质的含量, 并在十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)上分离。将40 μg蛋白质转移到硝酸纤维素滤膜上并用5%脱脂牛奶封闭2 h。然后将膜与一抗(抗T-GSK-3β, 抗p-GSK-3β, 抗α-syn)在4 °C过夜并用1×Tris-缓冲盐水/吐温20(TBST)洗涤10 min 3次。然后将膜与1:5000稀释度的相应的HRP偶联的第二抗体温育1 h, 并用1×TBST洗涤10 min 3次。在Bio-Rad中观察膜并通过ImageLab软件分析图像。使用β-actin作为内部对照。

1.2.4 四甲基偶氮唑盐法(MTT)测定细胞活性 SH-SY5Y细胞分为4组: 对照组、α-syn过表达组(过表达α-syn的SH-SY5Y细胞)、MPP+损伤组(MPP+干预的SH-SY5Y细胞)、阿立哌唑预处理组(经阿立哌唑干预的过表达α-syn的SH-SY5Y细胞)。置于37 °C和5% CO₂环境下孵育24 h, 加入96孔板中, 并加入150 μl, 0.5 mg/ml的MTT(Sigma-Aldrich公司生物技术, USA), 将细胞维持在37 °C, 5% CO₂和95%空气的环境中。在450 nm波长处检测到每个孔的吸光度H。随后, 除去细胞上清液, 然后200 °C温浴。

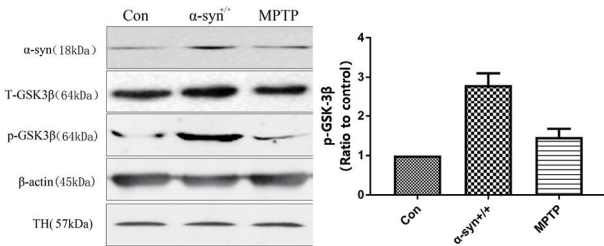
1.2.5 Hoechst 33342/PI双染法检测细胞凋亡 SH-SY5Y细胞分为3组: 对照组、α-syn过表达组(过表达α-syn的SH-SY5Y细胞)、阿立哌唑预处理组(经阿立哌唑干预的过表达α-syn的SH-SY5Y细胞)。SH-SY5Y细胞(10⁵个细胞/孔)置于24孔板上的盖玻片上生长。在室温黑暗中用Hoechst 33342/PI[10 μg/(ml·孔)]染色10 min。进行流式分析检测。

1.2.6 免疫荧光双标染色 将α-syn转染细胞接种在无菌盖玻片上。贴壁后, 将它们在室温下在4%多聚甲醛中孵育15 min。将固定的细胞用含有0.1% Triton X-100的0.01 M磷酸盐缓冲盐水(PBS)透化20 min, 然后用10%山羊血清在室温下封闭1 h。封闭后, 将细胞在4 °C与用抗α-syn(1:500稀释, Bioworld Technology, USA)、抗GSK-3β(1:600稀释, Millipore, USA)一起孵育过夜。用0.01 M PBS将细胞洗涤3次5 min。与Alexa Fluor 555缀合的山羊抗小鼠抗体(CST, USA)和异硫氰酸荧光素(FITC)偶联的山羊抗兔抗体(Jackson ImmunoResearch, Inc, West Grove, PA, USA)作为二抗, 稀释倍数为1:1000, 室温孵育2 h。在共聚焦激光扫描显微镜LEICA TCS SP5 MP(Leica, Heidelberg, 德国)下检查细胞之前, 细胞核用4',6-二脒基-2-苯基吡啶(DAPI, CST, USA)在室温下染色45 s。

1.3 统计学分析 数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, SPSS 19.0软件对数据进行多因素方差分析及 q 检验, $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

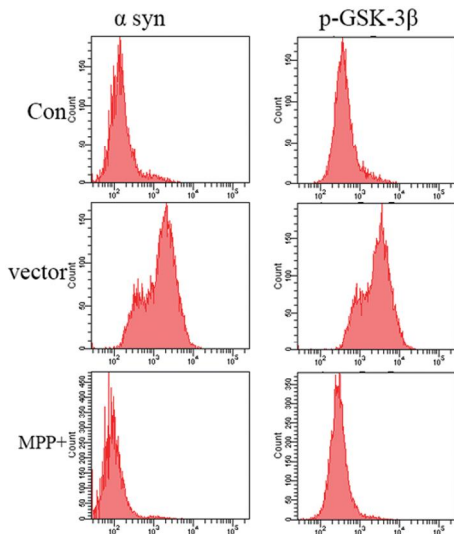
2.1 α -synuclein 转基因小鼠模型中 α -synuclein 过表达上调 p-GSK-3 β 的表达水平 正常小鼠与 MPTP 损伤模型组小鼠中脑组织中 α -synuclein 表达无明显差异 ($P > 0.05$), α -syn 转基因小鼠组中脑组织中 α -synuclein 表达量较对照组明显增高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。T-GSK-3 β 组表达无显著差异 ($P > 0.05$), α -syn 转基因小鼠中脑组织中 p-GSK-3 β 蛋白水平上调, α -syn 的过表达与 p-GSK-3 β 上调具有相关性, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 提示 α -syn 的过表达可能诱导了 p-GSK-3 β 上调 (见图 1)。



MPTP 损伤组与正常组相比 ($P > 0.05$); α -syn 转基因组与正常组、MPTP 损伤组相比 ($P < 0.05$)。与对照组比较 ($\bar{x} \pm s, n = 15$)

图 1 Western blotting 检测小鼠中脑组织中蛋白的表达

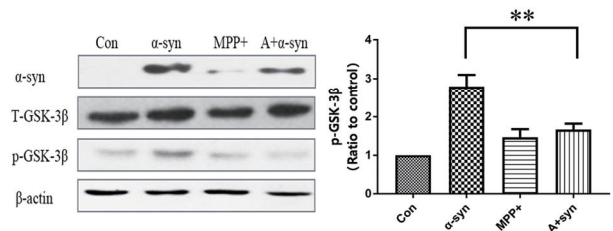
2.2 α -synuclein 过表达 SH-SY5Y 细胞模型中 α -synuclein 显著上调 p-GSK-3 β 水平 在以上结果基础之上, 我们进一步在细胞水平进行相关实验, 应用 α -syn 过表达 SH-SY5Y 细胞作为模型进行相关检测, 流式细胞术结果提示: α -syn 过表达 SH-SY5Y 细胞中 α -synuclein 表达量明显增高, 与正常对照组及 MPP + 损伤组相比, α -syn 过表达组中 p-GSK-3 β 蛋白水平显著增加, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 提示 α -syn 的过表达可能诱导了 p-GSK-3 β 上调 (见图 2)。



MPP + 损伤组与正常组相比 ($P > 0.05$); α -syn 转基因组与正常组、MPP + 损伤组相比 ($P < 0.05$)。与对照组相比 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

图 2 SH-SY5Y 细胞中 α -syn 和 p-GSK-3 β 蛋白的表达

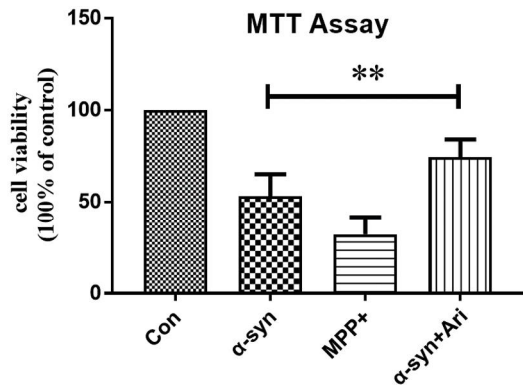
2.3 阿立哌唑可以抑制 α -synuclein 诱导的 p-GSK-3 β 上调 本实验同时引入 Wnt/ β -catenin 信号通路激动剂进行相关检测, MPP + 损伤组细胞与正常对照组细胞 α -synuclein 和 p-GSK-3 β 表达量无明显差异, 与以上两组细胞相比, α -syn 过表达组细胞中 α -synuclein 表达明显增高 ($P < 0.05$), T-GSK-3 β 无明显差异, 而 p-GSK-3 β 表达增加, 与正常对照组及 MPP + 处理组相比具有统计学差异 ($P < 0.05$)。阿立哌唑预处理组 α -synuclein 表达仍较正常组明显升高 ($P < 0.05$), 与 α -syn 过表达组无明显差异, 而 p-GSK-3 β 表达下降, 与 α -syn 过表达组具有统计学差异, 提示 α -syn 的过表达可能诱导了 p-GSK-3 β 上调, 而阿立哌唑可以显著缓解 α -syn 的过表达诱导的 p-GSK-3 β 上调 (见图 3)。



MPP + 损伤组与正常组相比 ($P > 0.05$); α -syn 转基因组与正常组、MPP + 损伤组相比 ($P < 0.05$); A + α -syn 与 α -syn 转基因组相比 ($P < 0.05$); A: 阿立哌唑。与对照组比较 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

图 3 Western blotting 检测 SH-SY5Y 细胞中蛋白的表达

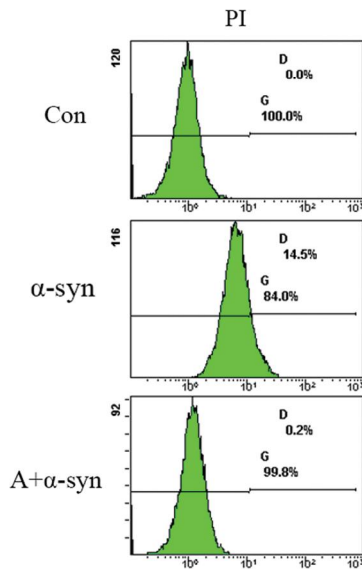
2.4 阿立哌唑可以缓解 α -synuclein 诱导的细胞活性降低 采用 MTT 方法对细胞活力进行相关检测, 结果提示: 与对照组细胞相比, MPP + 损伤组细胞活性明显降低, α -syn 过表达组细胞活性亦显著降低, 而阿立哌唑预处理组细胞活性高于 α -syn 转基因组, 提示 α -syn 的过表达可以导致细胞活性降低, 而阿立哌唑可以抵抗 α -syn 的过表达所诱导的细胞损伤 (见图 4)。



α -syn 转基因组与正常组、MPP + 损伤组相比 ($P < 0.05$); A + α -syn 与 α -syn 转基因组相比 ($P < 0.05$); A: 阿立哌唑。与对照组相比 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

图 4 不同组细胞活性的比较

2.5 阿立哌唑可以缓解 α -synuclein 诱导的细胞凋亡 采用 Hoechst 33342/PI 双染法对各组细胞凋亡率进行检测,结果提示:与对照组细胞相比,MPP+ 处理组细胞活性明显降低, α -syn 过表达组细胞活性亦显著降低,而阿立哌唑预处理组细胞活性高于 α -syn 转基因组,提示 α -syn 的过表达诱导细胞凋亡,而阿立哌唑可以抵抗 α -syn 的过表达所诱导的细胞凋亡(见图5)。



α -syn 转基因组与正常组相比($P < 0.05$); A + α -syn 与 α -syn 转基因组相比($P < 0.05$); A:阿立哌唑。与对照组比较($\bar{x} \pm s, n = 6$)

图5 不同组细胞凋亡的比较

2.6 α -synuclein 与 GSK-3 β 可能存在共定位关系 最后我们采用激光共聚焦显微镜进行相关检测以明确 α -synuclein 与 GSK-3 β 可能存在的共定位关系,结果显示 α -synuclein 及 p-GSK-3 β 的相应的荧光信号存在共定位关系,提示 α -synuclein 可能通过抑制 wnt/ β -catenin 信号通路关键分子 GSK-3 β 的活性而发挥作用(见图6)。

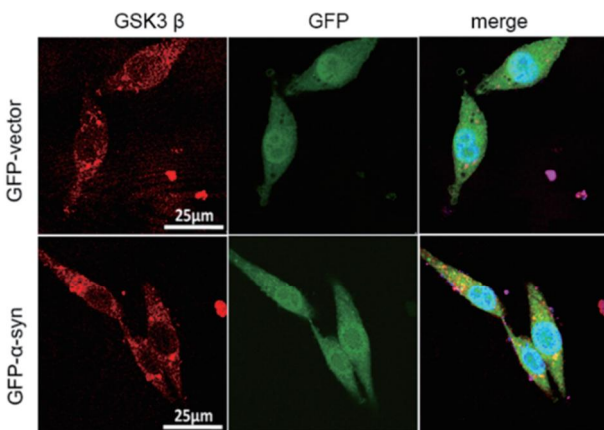


图6 激光共聚焦显微镜检测, α -synuclein 与 GSK-3 β 可能存在共定位关系

3 讨论

帕金森病是临床常见的中枢神经系统退行性疾病,研究提示 α -synuclein 的异常聚集是导致其发病的关键分子,异常聚集的 α -synuclein 可以诱导中脑多巴胺能神经元的凋亡增加并导致临床发病^[7],研究表明,Wnt/ β -catenin 信号通路作为一种信号级联反应在神经系统的生长、分化和发育中发挥了重要作用,该信号通路的过度活化或抑制参与多种疾病的发生和发展。在中枢神经系统退行性疾病如阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)中,发现 AD 患者的 PS1 突变能够导致 GSK-3 β 水平增加及 β -catenin 水平降低,Wnt/ β -catenin 信号通路失活^[8,9]。Wnt 共受体 LRP6 的剪接变体人 LRP6 Δ 3 也能够抑制 Wnt/ β -catenin 信号传导,增加患 AD 的风险。相反,在 SH-SY5Y 细胞中 Wnt 共受体(LRP5 / LRP6) 过表达可导致经典 Wnt 信号通路异常活化,从而保护神经元抵抗氧化应激损伤,并通过减少 GSK-3 β 介导的 Tau 过度磷酸化促进神经元存活^[10]。Sancho 等^[11]报道称,正常情况下,LRRK2 能与 Wnt 家族成员相互作用,特别是 Dishevelled 蛋白(Dvl-1, Dvl-2 和 Dvl-3)。LRKK2 作为支架蛋白连接经典 Wnt 信号通路膜组分与胞质组分,例如 LRP6 的细胞内结构域与 Dvl 蛋白连接,Dvl 蛋白再与 β -catenin 破坏复合物相结合,从而促进经典 Wnt 信号通路的活化。相反,Roc, COR 和激酶结构域中的 LRRK2 突变能够降低 LRRK2-LRP6 亲和力,从而抑制经典 Wnt 信号通路活性,导致神经变性增加^[12]。以上研究均提示 Wnt/ β -catenin 信号通路可能参与了中枢神经系统退行性疾病的发病机制,有证据表明 α -synuclein 可以抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路关键分子 NFAT 和 CREB 的转录激活^[6],提示 α -synuclein 可以影响 Wnt/ β -catenin 信号通路,因此在帕金森病中 α -synuclein 是否可以也可以通过抑制 Wnt 信号通路从而干扰神经细胞的增值和自我修复值得我们做进一步研究。

我们的研究发现,在 α -syn 转基因小鼠中脑系统中, α -syn 的表达增加与 p-GSK-3 β 的上调相关,而应用过表达 α -syn 的 SH-SY5Y 细胞进行相关实验得到了相同的实验结果,提示 α -syn 的过表达与 Wnt/ β -catenin 信号通路的相应变化存在相关关系。GSK-3 β 是一种重要的 Wnt 信号通路调控因子,它作为一种特异性神经元内丝氨酸-苏氨酸激酶,参与调节多种病理生理过程,如细胞膜信号传导、神经元极性分化、细胞凋亡和炎症反应。在 Wnt/ β -catenin 信号通路中,GSK-3 β 对 β -catenin 具有抑制作用,破坏 β -catenin 蛋白在细胞质中的稳定性并抑制其向细胞核迁移,从而抑制经典 Wnt 信号通路的活

性^[5]。我们的结果提示, α -syn 的过表达可能通过干扰 GSK-3 β 的酶解活力从而间接影响 β -catenin 的蛋白水平, 降低 Wnt/ β -catenin 信号通路活性, 而 MTT 法和流式细胞术分析结果也提示细胞活性的改变与 Wnt/ β -catenin 信号通路存在对应关系, 其中 GSK-3 β 的磷酸化水平可能发挥了重要的调节作用。MPP+ 是一种常用的 PD 细胞模型诱导药物^[13], 为了与 MPTP 损伤动物型对应, 本研究应用 MPP+ 作为细胞损伤剂, 结果提示单纯 MPP+ 处理 α -synuclein 表达未见明显升高, 同时对于 GSK-3 β 的活力也没有明显的影响, 而在 α -syn 过表达组发现细胞内 p-GSK-3 β 的水平上调, 提示其活力下降, 而 Wnt/ β -catenin 信号通路激动剂阿立哌唑^[14] 可以抑制 α -syn 过表达诱导的 p-GSK-3 β 的水平上调, 即 α -syn 过表达可以抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路, 而 MPP+ 处理没有此作用, 提示 Wnt/ β -catenin 信号通路的干扰是由 α -syn 过表达诱发的。

在以上实验基础之上, 我们进一步采用了激光共聚焦显微镜分析了 α -synuclein 与 GSK-3 β 的相关关系, 结果提示二者存在共定位, 进一步提示 α -syn 可能通过作用于 Wnt/ β -catenin 信号通路而发挥作用, 但是其作用是直接还是间接目前并不清楚, α -synuclein 对 GSK-3 β 活性的影响是否通过其他通路实现并不清楚, 相关研究已经证实, α -synuclein 异常聚集可以对 Parkin 蛋白的活性产生影响, 而早在 2009 年就有研究表明 Parkin 可以直接作用于 Wnt/ β -catenin 信号通路发挥保护作用^[15], α -synuclein 异常聚集是否可以通过对 Parkin 蛋白发挥作用从而间接的对 Wnt/ β -catenin 信号通路产生影响目前也未可知, 同时有研究显示 PPA 的活动作用参与了 α -synuclein 所诱导的 Wnt/ β -catenin 信号通路活动变化。其最终信号分子的水平与 PPA 的活性相关, PPA 可以通过调节 GSK-3 β 的磷酸化水平发挥其调控作用, 而大量研究已经证实了 α -synuclein 可以作用于 PPA 而抑制其磷酸化的能力^[16,17], 因此我们的研究提示了 α -synuclein 与 GSK-3 β 的可能相关关系, 但其具体的关联作用需要进一步研究探讨。同时 β -catenin 是 GSK-3 β 的作用底物, Wnt/ β -catenin 信号通路最终通过 β -catenin 水平变化发挥作用, 本研究的进一步方向将对 β -catenin 蛋白水平进行相应检测从而进一步明确 α -synuclein 与 Wnt/ β -catenin 信号通路的关系, 为进一步了解 PD 的中脑发病机制开阔研究思路。总之, 我们的研究提示了 α -synuclein 可能通过抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路导致神经元损伤, 从而参与帕金森病的发病机制。但是其具体机制需要进一步进行相关研究, 以期对帕金森病的发病机制探讨提供思路。

[参考文献]

- [1] Bengoa-Vergniory N, Roberts FR, Wade-Martins R, et al. Alpha-synuclein oligomers: a new hope [J]. *Acta Neuropathol*, 2017, 134(6):819-838.
- [2] Libro R, Bramanti P, Mazzoni E. The role of the Wnt canonical signaling in neurodegenerative diseases [J]. *Life Sci*, 2016, 158(8):78-88.
- [3] Nusse R, Clevers H. Wnt/beta-catenin signaling, disease, and emerging therapeutic modalities [J]. *Cell*, 2017, 169(6):985-999.
- [4] Maschio DA, Oliveira RB, Santos MR, et al. Activation of the Wnt/beta-catenin pathway in pancreatic beta cells during the compensatory islet hyperplasia in prediabetic mice [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 478(4):1534-1540.
- [5] L'Episcopo F, Tirolo C, Caniglia S, et al. Targeting Wnt signaling at the neuroimmune interface for dopaminergic neuroprotection/repair in Parkinson's disease [J]. *J Mol Cell Biol*, 2014, 6(1):13-26.
- [6] Yuan YH, Sun JD, Zhao M, et al. Overexpression of alpha-synuclein down-regulates BDNF expression [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2010, 30(6):939-946.
- [7] Dehay B, Decressac M, Bourdenx M, et al. Targeting alpha-synuclein: Therapeutic options [J]. *Mov Disord*, 2016, 31(6):882-888.
- [8] Boonen RA, Van Tijn P, Zivkovic D. Wnt signaling in Alzheimer's disease: up or down, that is the question [J]. *Ageing Res Rev*, 2009, 8(2):71-82.
- [9] Vargas JY, Ahumada J, Arrázola MS, et al. WASP-1, a canonical Wnt signaling potentiator, rescues hippocampal synaptic impairments induced by A β oligomers [J]. *Exp Neurol*, 2015, 264:14-25.
- [10] Zhang L, Bahety P, Ee PLR. Wnt co-receptor LRP5/6 overexpression confers protection against hydrogen peroxide-induced neurotoxicity and reduces tau phosphorylation in SH-SY5Y cells [J]. *Neurochem Int*, 2015, 87(8):13-21.
- [11] Sancho RM, Law BMH, Harvey K. Mutations in the LRRK2 ROCOR tandem domain link Parkinson's disease to Wnt signalling pathways [J]. *Hum Mol Genet*, 2009, 18(20):3955-3968.
- [12] Berwick DC, Harvey K. LRRK2 functions as a Wnt signaling scaffold, bridging cytosolic proteins and membrane-localized LRP6 [J]. *Hum Mol Genet*, 2012, 21(22):4966-4979.
- [13] Jantas D, Greda A, Golda S, et al. Neuroprotective effects of metabotropic glutamate receptor group II and III activators against MPP(+)-induced cell death in human neuroblastoma SH-SY5Y cells: the impact of cell differentiation state [J]. *Neuropharmacology*, 2014, 83(8):36-53.
- [14] Pariyar R, Lamichhane R, Jung HJ, et al. Chronic administration of aripiprazole activates GSK3 β -dependent signalling pathways, and up-regulates GABA α receptor expression and CREB1 activity in rats [J]. *Sci Rep*, 2016, 6(7):30040.
- [15] Rawal N, Corti O, Sacchetti P, et al. Parkin protects dopaminergic neurons from excessive Wnt/beta-catenin signaling [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 388(3):473-478.
- [16] Lou HY, Montoya SE, Alerte TNM, et al. Serine 129 phosphorylation reduces the ability of alpha-synuclein to regulate tyrosine hydroxylase and protein phosphatase 2A in vitro and in vivo [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(23):17648-17661.
- [17] Farrell KF, Krishnamachari S, Villanueva E, et al. Non-motor parkinsonian pathology in aging A53T alpha-synuclein mice is associated with progressive synucleinopathy and altered enzymatic function [J]. *J Neurochem*, 2014, 128(4):536-546.