

# 钙敏感受体在帕金森病发病中的机制研究

陈曦 许叶 王焱

(海南医学院第一附属医院)

**摘要:**目的:探讨钙敏感受体(CaSR)抑制剂(Calhex231)、CaSR激动剂(GdCl<sub>3</sub>)对PD炎症细胞模型发挥的作用。研究能否通过调控CaSR来影响的PD发生发展,为PD的研究提供了新的思路。方法:使用MPP<sup>+</sup>在人神经母细胞瘤(SH-SY5Y)细胞上制备PD炎症细胞模型,使用CCK8法检测不同浓度MPP<sup>+</sup>、Calhex231、GdCl<sub>3</sub>处理后对SH-SY5Y细胞增殖的影响,确定合适的药物实验浓度。分为空白对照组、MPP<sup>+</sup>组、Calhex231组、GdCl<sub>3</sub>组、MPP<sup>+</sup>+Calhex231组、MPP<sup>+</sup>+GdCl<sub>3</sub>组。采用Western blot法检测各分组中CaSR、TH蛋白的表达水平和灰度分析;采用PCR法检测各分组中CaSR的mRNA表达水平;采用CCK8法分别检测各组细胞增殖的情况。结果:与空白对照组相比,使用250 μmol/L的MPP<sup>+</sup>、25 μmol/L的GdCl<sub>3</sub>处理后能明显抑制细胞增殖,使用3.13 μmol/L Calhex231处理后可明显促进细胞增殖;与空白对照组比较,MPP<sup>+</sup>组、GdCl<sub>3</sub>组TH蛋白表达含量降低,Calhex231组TH蛋白表达含量升高;与MPP<sup>+</sup>组比较,MPP<sup>+</sup>+Calhex231组TH蛋白表达含量升高,MPP<sup>+</sup>+GdCl<sub>3</sub>组TH蛋白表达含量降低;与空白对照组相比,MPP<sup>+</sup>组、GdCl<sub>3</sub>组中CaSR的mRNA及CaSR蛋白表达上调,Calhex231组中CaSR的mRNA及CaSR蛋白表达下降;与MPP<sup>+</sup>组相比,MPP<sup>+</sup>+Calhex231组中的CaSR的mRNA及CaSR蛋白表达下降,MPP<sup>+</sup>+GdCl<sub>3</sub>组中CaSR的mRNA及CaSR蛋白表达上调;与空白对照组比较,MPP<sup>+</sup>、GdCl<sub>3</sub>组细胞增殖被抑制,Calhex231组细胞增殖被激活,与MPP<sup>+</sup>组相比,MPP<sup>+</sup>+GdCl<sub>3</sub>组细胞增殖被抑制,MPP<sup>+</sup>+Calhex231组细胞增殖被激活。结论 CaSR抑制剂可促进PD炎症细胞模型增殖,CaSR调节剂可影响PD发生、发展过程。

**关键词:**钙敏感受体;帕金森病;神经母细胞瘤细胞;神经炎症;NLRP3

帕金森病(Parkinson disease, PD)是好发于中老年人的神经退行性疾病。PD的发病机制与神经炎症密切相关。炎症小体的激活及其导致的促炎介质的释放,在慢性神经炎症反应中扮演着十分重要的角色。钙敏感受体(calcium sensing receptor, CaSR)是炎症小体产生的重要上游关卡,钙敏感受体是G蛋白偶联受体超家族的一员,通过组织特异性方式与多种G蛋白结合,激活下游信号通路,以发挥其生理功能。其可通过PLC/IP<sub>3</sub>等通路,促进胞内Ca<sup>2+</sup>动员,最终导致炎症小体的组装激活及促炎介质的释放<sup>[1]</sup>。本文用CaSR调节剂对MPP<sup>+</sup>诱导的SH-SY5Y细胞PD炎症细胞模型进行干预<sup>[2]</sup>,通过检测使用CaSR调节剂对CaSR蛋白及mRNA表达水平的影响及对PD炎症细胞模型增殖的作用,探究CaSR对PD炎症细胞模型的作用,为研究PD的发病机制及治疗方案奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验细胞

#### SH-SY5Y细胞

### 1.2 主要试剂及仪器

MEM培养基(Wisent, 320-005-CL)、Ham's F12(Wisent, 318-011-CL)、Gadolinium chloride(MCE, HY-103314)、MPP<sup>+</sup>iodide(MCE)、Calhex 231 hydrochloride(MCE, HY-103320A)、MPP<sup>+</sup>iodide(MCE, HY-W008719)、CaSR抗体(Abcam, ab137408)、蛋白marker(雅酶, WJ103)、GAPDH抗体(Zen-bio, 200306-7E4)、HRP抗小鼠抗体(Beyotime, A0216)、HRP抗兔抗体(Beyotime, A0208)、BCA蛋白浓度测定试剂盒(Beyotime, P0010)、SDS-PAGE电泳仪(Bio-Rad, Mini Protean 3)、化学发光检测系统(Tanon, 5200)、高速冷冻离心机(ependorf, 5418)、荧光显微镜、CCK8试剂盒(Beyotime, C0037)、酶标仪(Thermo fisher, Multiskan FC)、荧光定量PCR仪、PCR仪、Nano drop one(Thermo fisher)、Primers(Sangon Biotech): PCRSYBR<sup>®</sup> Premix Ex Taq(Takara)、PCRPrimeScript<sup>™</sup> RT reagent Kit with gDNA Eraser(Takara)、PCRRNAiso Plus(Takara)、PCRNano drop one(Thermo fisher)、PCRPrimers(Sangon Biotech)

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 SH-SY5Y细胞培养与分组

SH-SY5Y细胞用MEM/F12完全培养基培养在37℃含5%CO<sub>2</sub>的培养箱中,细胞传代培养。分组如下:空白对照组、MPP<sup>+</sup>组、Calhex231组、GdCl<sub>3</sub>组、MPP<sup>+</sup>+Calhex231组、MPP<sup>+</sup>+GdCl<sub>3</sub>组。

#### 1.3.2 CCK8法检测细胞增殖能力

将长到培养皿80%-90%的SH-SY5Y细胞用胰酶消化1000rpm离心,去上清,加入完全培养基重悬细胞,将细胞分别种在96孔板中,每孔5000个细胞。将接种好的96孔板放于细胞培养箱中培养。待细胞贴壁后,使用不同浓度MPP<sup>+</sup>(3.9 μmol/L、7.8 μmol/L、15.6 μmol/L、31.3 μmol/L、62.5 μmol/L和125 μmol/L、250 μmol/L、500 μmol/L、1 μmol/L)、GdCl<sub>3</sub>(0.39 μmol/L、0.78 μmol/L、1.56 μmol/L、3.13 μmol/L、6.25 μmol/L和12.5 μmol/L、25 μmol/L、50 μmol/L、100 μmol/L)、Calhex231(0.39 μmol/L、0.78 μmol/L、1.56 μmol/L、3.13 μmol/L、6.25 μmol/L和12.5 μmol/L、25 μmol/L、50 μmol/L、100 μmol/L)对SH-SY5Y细胞进行干预,摇匀后放入培养箱中培养24h。向96孔板中加10 μL的CCK8试剂,摇匀后放入培养箱中培养3h,将96孔板放置于酶标仪中以450nm波长处测定吸光值。1.3.3 Western blot法检测酪氨酸羟化酶(Tyrosine hydroxylase, TH)、CaSR蛋白表达量

(1)蛋白的提取:200 μL RIPA裂解液加到处理好的细胞中,裂解30min,将裂解液转移到预冷过的离心管内,离心,将上清液转移到离心管中,-20℃保存。

(2)蛋白含量测定:按照试剂盒说明书配置BCA检测溶液。将蛋白标准品稀释至100 μL,使其浓度为0.5mg/ml。将标准品按0、1、2、4、8、12、16、20 μL的顺序加入到96孔板的标准品孔内,加入稀释液使各孔中溶液为20 μL。加入适当体积的样品到96孔板的样品孔中,加入稀释液使各孔中溶液为20 μL。在96孔板中加200 μL BCA溶液,静置30min。在A562下测定按照标准曲线计算蛋白浓度。

#### (3) SDS-PAGE电泳

(4)电泳:根据蛋白条件选择合适的电压和时间跑分离胶和浓缩胶。

(5) 转膜: 需准备滤纸和 PVDF 膜, 将 PVDF 膜浸泡于甲醇溶液中活化 1min。将浓缩胶刮去, 剥下分离胶浸泡在转膜液中, 在转膜仪上, 将 PVDF 膜、分离胶、滤纸依次放在转膜仪平台上。开始转膜。

(6) 封闭: 将膜转移到含有封闭液的容器中, 25℃脱色摇床封闭 1h。

(7) 一抗孵育: 将 TH 一抗、CaSR 一抗分别用含 1% BSA 的 TBST 按照 1:1000 比例稀释, 低温孵育 12h。用 TBST 溶液在 25℃下脱色摇床洗 3 次, 每次 10min。

(8) 二抗孵育: 将 TH 二抗、CaSR 二抗分别用 TBST 按照 1:5000 比例稀释, 在室温下孵育 2 小时后, 用 TBST 溶液在 25℃下脱色摇床洗 3 次, 每次 10min。

(9) 化学发光: 使用 Tanon ECL 进行化学发光, 在化学发光成像仪下拍照。

### 1.3.4 实时荧光定量 PCR 检测 CaSR 的 mRNA 表达

(1) 提取细胞 RNA: 根据分组收集样本, 放入液氮研磨, 向其中加入 1ml 的 Trizol 溶液, 将其转移到无菌、无 RNA 酶的管中。加入氯仿溶液 200ul, 混匀, 静置 15min 后离心。将上层液体转移至另一管中。加入等体积的异丙醇, 混匀, 静置 15min 后离心。去上清, 向沉淀中加 75% 的乙醇 1ml, 混匀后离心。去上清, 将管沉淀干燥 3-5min。加入 50 μl DEPC 水溶解, nanodrop 检测 RNA 浓度, 进行逆转录。

### (2) RNA 逆转录

逆转录的实验步骤按照逆转录试剂盒说明书将试剂混匀即可。具体步骤为去除基因组 DNA、逆转录 PCR 反应。是 TAKARA PrimeScript<sup>TM</sup> RT reagent Kit with gDNA Eraser 试剂盒中的试剂, 根据试剂盒操作即可, 就是将 RNA 同上述反应体系的试剂混匀后, 放入 PCR 中根据所需的温度反应即可。实验所需引物方案如下,

引物名称	体积
hsa-GAPDH-F	CACCATCTCCAGGAGCGAG
hsa-GAPDH-R	TGATGACCCCTTTTGCTCCC
hsa-CaSR-F	AATCAAGGCCGGAGTCTGTG
hsa-CaSR-R	AAGTTGGGAAGAAGGGCTGG

### (3) 荧光定量 PCR:

试剂	体积 (μL)
cDNA	2
PCR 上游引物 (10μM)	0.4
PCR 下游引物	0.4
SYBR Green solution	10
蒸馏水	7.2
共计	20

反应条件:

95.0 °C	20 s	
95.0 °C	3 s	40 cycles

60.0 °C	30 s	melt curve
95.0 °C	15 s	
60.0 °C	1 min	
95.0 °C	15 s	

定量 PCR 根据上述反应体系加入各种反应试剂 (冰上配制), 混匀后, 将 8 连管用盖子盖好, 用离心机瞬间离心, 让粘附在管壁上的液体下沉至最底部。用 PCR 方法测定, PCR 反应结束后, 将 8 联管丢弃, 根据仪器所收集的数据进行分析。

(5) 实验计算方法: 应用  $2^{-\Delta\Delta CT}$  法对实验结果进行处理分析。

### 1.3.5 CCK8 法检测细胞增殖情况

将长到培养皿 80%-90% 的 SH-SY5Y 细胞用胰酶消化, 1000rpm 离心, 去上清, 重悬细胞, 将细胞种在 96 孔板中。将其放于培养箱中培养。待细胞贴壁后, 在相应分组中加入的 MPP<sup>+</sup> (250 μM)、Calhex231 (3.13 μM)、GdCl<sub>3</sub> (25 μM), 混匀后放入培养箱中培养 24h。向培养基中加入 10 μL 的 CCK8 溶液, 培养 3h 后将 96 孔板取出, 将其放于酶标仪中, 在 450nm 波长处检测细胞的吸光值。根据实验数据结果计算并分析各组细胞存活情况。

### 1.3.7 统计学处理

实验中使用 one-way ANOVA 统计实验组与对照组之间是否有统计学差异, 实验所得结果为多次, 重复数据, 重复实验数据最少为三次, \*表示 P<0.05, \*\*表示 P<0.01, \*\*\*表示 P<0.001, P<0.05 差异有统计学意义。

## 2 实验结果

### 2.1 MPP<sup>+</sup>、Calhex231、GdCl<sub>3</sub> 对 SH-SY5Y 细胞增殖的影响

使用不同浓度的 MPP<sup>+</sup>、Calhex231、GdCl<sub>3</sub> 药物对 SH-SY5Y 细胞进行干预后, 实验结果提示在所使用浓度的 MPP<sup>+</sup>、GdCl<sub>3</sub> 作用下, 各组细胞增殖均有所抑制; 在不同浓度 Calhex231 的作用下, 各组细胞增殖均被激活, 差异有统计学意义 (P<0.05)。当 MPP<sup>+</sup> 浓度为 250 μmol/L、GdCl<sub>3</sub> 浓度为 25 μmol/L, 细胞增殖明显被抑制, 当 Calhex231 浓度为 3.13 μmol/L, 对细胞增殖有明显激活作用; 本实验选择 250 μM 的 MPP<sup>+</sup>、3.13 μmol/L 的 Calhex231、25 μmol/L 的 GdCl<sub>3</sub> 溶液作为药物干预浓度, 见图 1-3。

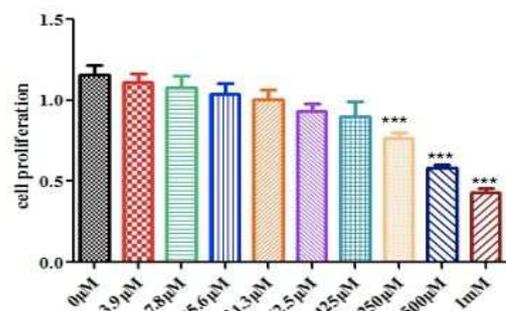


图 1: MPP<sup>+</sup>对 SH-SY5Y 细胞增殖情况的影响

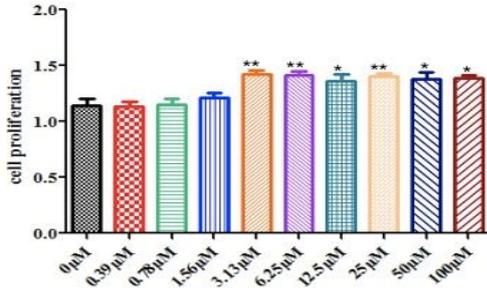


图 2: Calhex231 对 SH-SY5Y 细胞增殖情况的影响

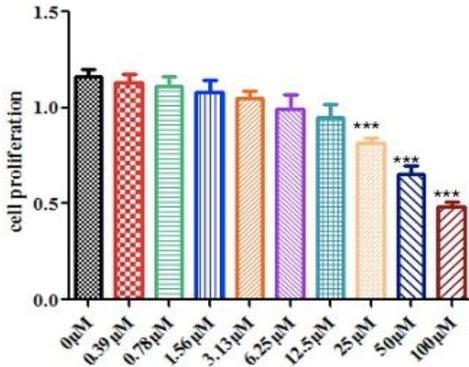


图 3: GdCl<sub>3</sub> 对 SH-SY5Y 细胞增殖情况的影响

2.2 采用 Western blot 法检测 MPP<sup>+</sup>、Calhex231、GdCl<sub>3</sub> 对 TH、CaSR 蛋白表达水平的影响

与空白对照组比较, MPP<sup>+</sup>组、GdCl<sub>3</sub>组 TH 蛋白表达含量降低、CaSR 蛋白表达增加, Calhex231 组 TH 蛋白表达含量升高、CaSR 蛋白表达降低; 与 MPP<sup>+</sup>组比较, MPP<sup>+</sup>+Calhex231 组 TH 蛋白表达含量升高、CaSR 蛋白表达降低, MPP<sup>+</sup>+GdCl<sub>3</sub> 组 TH 蛋白表达含量降低、CaSR 蛋白表达增加, 差异有统计学意义 (P < 0.05)。结果表明在 MPP<sup>+</sup>诱导的 SH-SY5Y 细胞炎症模型中 TH 的蛋白被有效激活, 造模成功。与对照组相比, MPP<sup>+</sup>和 GdCl<sub>3</sub> 促进 CaSR 蛋白表达; Calhex231 抑制 CaSR 蛋白表达。见图 4-5。

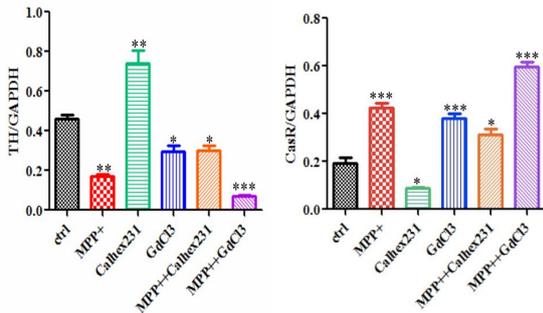


图 4、5: SH-SY5Y 细胞不同处理后 TH、CaSR 的表达情况

2.3 采用实时荧光定量 PCR 检测各分组基因 CaSR 的 mRNA 表达水平

与空白对照组相比, MPP<sup>+</sup>、GdCl<sub>3</sub>组中 CaSR 的 mRNA 表达上调, Calhex231 组中 CaSR 的 mRNA 表达下降; 与 MPP<sup>+</sup>组相比, MPP<sup>+</sup>+Calhex231 组中的 CaSR 的 mRNA 表达下降, MPP<sup>+</sup>+GdCl<sub>3</sub>组中 CaSR 的 mRNA 表达上调, 差异有统计学意义 (P < 0.05)。结果表明与对照组相比, MPP<sup>+</sup>、GdCl<sub>3</sub> 促进 CaSR 的 mRNA 表达, Calhex231 抑制 CaSR 的 mRNA 表达。见图 6-7。

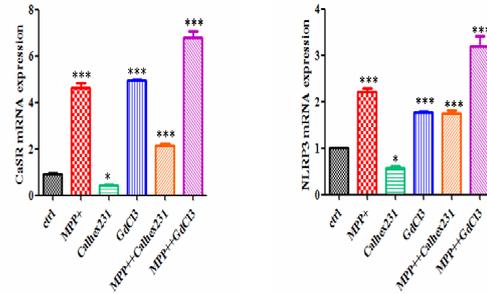


图 6、7: SH-SY5Y 细胞不同处理后 CaSR、NLRP3 mRNA 表达的变化

2.4 采用 CCK8 法检测各组细胞增殖情况

与空白对照组相比, MPP<sup>+</sup>、GdCl<sub>3</sub>组细胞增殖被抑制, Calhex231 组细胞增殖被激活; 与 MPP<sup>+</sup>组相比, MPP<sup>+</sup>+Calhex231 组细胞增殖被激活, MPP<sup>+</sup>+GdCl<sub>3</sub>组细胞增殖被抑制。结果可知: MPP<sup>+</sup>和 GdCl<sub>3</sub> 可抑制细胞增殖, Calhex231 可促进细胞增殖。说明在 MPP<sup>+</sup>诱导的 SH-SY5Y 细胞炎症模型中, CaSR 抑制剂可促进细胞增殖, 对 PD 炎症细胞模型有一定保护作用。见图 9。

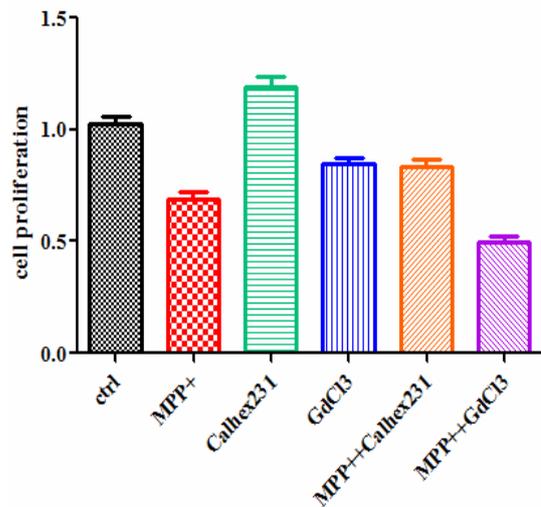


图 9: SH-SY5Y 细胞增殖的情况 (OD, 450nm)

### 3 讨论

帕金森病是一种进行性神经系统退行性疾病, 其病理改变为中脑黑质多巴胺能神经元变性死亡和路易小体的形成。PD 的临床表现包括运动症状, 如静止性震颤、运动迟缓、肌强直等<sup>[3]</sup>, 和非运动症状, 如便秘、认知功能障碍、睡眠障碍等。流行病学调查结果显示: PD 好发于中老年人群, 目前我国 65 岁以上人群帕金森患病率为 1.7%<sup>[4]</sup>。PD 的危险因素目前尚未完全明确, 目前研究表明与多种因素有关, 如年龄、遗传因素、环境因素、生活方式等<sup>[5]</sup>。年龄是 PD 最重要的危险因素, 男性发病率高于女性, 但可能受吸烟、绝经后激素使用等变量的影响<sup>[6-7]</sup>。目前, PD 的对症治疗方法已经可解决部分 PD 患者的症状, 但暂时无治愈帕金森疾病的有效方法, PD 患者的生理、心理、社会和经济负担仍是社会担忧的问题之一<sup>[6]</sup>。

CaSR 是属于 G 蛋白偶联受体 C 家族成员<sup>[8]</sup>。其作用主要是通过调节甲状旁腺素的分泌来维持全身 Ca<sup>2+</sup>的平衡。CaSR 在细胞分化、细胞凋亡、激素分泌、钙稳态中起着关键的作用。CaSR 的调节剂

包括 CaSR 激动剂主要为  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Gd}^{3+}$ 、氨基酸、西那卡塞等<sup>[8]</sup>；CaSR 的抑制剂主要包括化学合成类如 Calhex231、NPS2143 和 ATF936 等<sup>[9]</sup>。CaSR 广泛存在于人体的各个组织器官中，如内分泌系统、泌尿系统、心血管系统、骨骼系统，其同样也在中枢神经系统存在。其在下丘脑、纹状体、海马、皮质、小脑和脑干等多个脑区均有表达<sup>[9]</sup>。CaSR 在大脑中的功能包括调节神经元的生长和迁移、离子通道、神经元兴奋性、神经纤维传递、参与少突胶质细胞的发育等。CaSR 通过调控  $\text{Ca}^{2+}$ -K<sup>+</sup>通道通道以及非选择性阳离子通道通道，影响了神经的传导，进而可以调节神经元的兴奋性<sup>[10]</sup>。因此，说明 CaSR 通过影响离子通道的开放来调节神经元的兴奋性。CaSR 可能会成为治疗中枢神经系统疾病的潜在靶点<sup>[11]</sup>。

现有研究表明，PD 的发病机制与神经细胞凋亡、蛋白清除异常、线粒体功能异常、内质网应激、 $\alpha$ -突触核蛋白错误的折叠、氧化应激以及神经炎症等密切相关<sup>[12,13]</sup>。慢性神经炎症在 PD 的发病过程中发挥了极为重要的作用<sup>[14]</sup>，PD 的神经炎症反应与炎症通路的表达有关。在 PD 炎症性反应中 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 (NLRP3)炎症小体是重要的炎症反应媒介。在正常情况下，NLRP3 炎症小体具有清除损伤细胞、组织修复、增强对病原体的免疫反应、平衡促炎和抑炎因子等功能<sup>[15]</sup>。在病理状态下，NLRP3 炎症小体的活化可导致神经系统疾病的发生。最近研究发现，PD 患者大脑病理标本的黑质中 NLRP3 炎症小体蛋白表达显著增加<sup>[16]</sup>。NLRP3 炎症小体激活后，使 pro-caspase-1 裂解为具有活性的 cleaved-caspase-1，进而裂解 pro-IL-1 $\beta$  和 pro-IL-18 形成 IL-1 $\beta$  和 IL-18，这些炎症因子的表达增加，促进了细胞的损伤及其他细胞免疫反应<sup>[17]</sup>。

CaSR 是 NLRP3 炎症小体产生的重要上游关卡。CaSR 可以通过以下两种方式来调控 NLRP3 炎症小体，一是通过增加细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  和降低细胞内环 AMP 来激活 NLRP3 炎症小体<sup>[18]</sup>。二是 CaSR 可通过 PLC / IP<sub>3</sub>通路促进胞内  $\text{Ca}^{2+}$ 动员，使内质网释放  $\text{Ca}^{2+}$ ，从而激活 NLRP3 炎症小体，抑制神经炎症的发生可能为 PD 提供新的治疗思路<sup>[1]</sup>。

目前，CaSR 能否影响以及如何影响 PD 的发生、发展的研究缺乏，本实验通过使用 CaSR 调节剂来验证 CaSR 是否以及如何参与了帕金森病的发生、发展过程，本实验表明，CaSR 抑制剂可抑制 CaSR 蛋白及 mRNA 的表达，CaSR 抑制剂可促进 MPP<sup>+</sup>诱导的 PD 炎症细胞模型的细胞增殖，对 PD 细胞模型有保护作用。使用 CaSR 抑制剂可抑制 CaSR 的表达以及延缓 PD 的发生、发展过程。

#### 小结与展望

本实验首次证明了可以通过调控 CaSR 来影响帕金森病的发生、发展过程。可进一步探索 CaSR 通过何种通路影响 PD，本实验为研究 PD 的发病机制及治疗方案奠定基础，CaSR 在未来或将成为治疗 PD 的新靶点。

#### 参考文献:

[1]Gao MR, Wang M, Jia YY, et al. Echinacoside protects dopaminergic neurons by inhibiting NLRP3/Caspase-1/IL-1 $\beta$  signaling pathway in MPTP-induced Parkinson's disease model[J]. Brain Res Bull, 2020,164:55-64.

[2]任传忠, 张敏, 李玮, 等. 银杏内酯 B 对 MPP<sup>+</sup>诱导的帕金森病 SH-SY5Y 细胞模型中  $\alpha$ -synuclein 表达的影响[J]. 中国临床药理学杂志, 2021,37(12):1551-1554.

[3]Schrag A, Schott JM. Epidemiological, clinical, and genetic characteristics of early-onset parkinsonism[J]. Lancet Neurol, 2006,5(4):355-363.

[4]庞文渊, 翟利杰, 刘依琳, 等. 全球帕金森病综合治疗指南的分析[J]. 中国临床药理学杂志, 2022,38(21):2638-2643.

[5]Pohl C, Dikic I. Cellular quality control by the ubiquitin-proteasome system and autophagy[J]. Science, 2019,366(6467):818-822.

[6]张辉, 王运良. 帕金森病的发病机制及治疗进展[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2021,24(15):1371-1380.

[7]Simon DK, Tanner CM, Brundin P. Parkinson Disease Epidemiology, Pathology, Genetics, and Pathophysiology[J]. Clin Geriatr Med, 2020,36(1):1-12.

[8]Giudice ML, Mihalik B, Dinnyés A, et al. The Nervous System Relevance of the Calcium Sensing Receptor in Health and Disease[J]. Molecules, 2019,24(14).

[9]Ruat M, Molliver ME, Snowman AM, et al. Calcium sensing receptor: molecular cloning in rat and localization to nerve terminals[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1995,92(8):3161-3165.

[10]Chen W, Bergsman JB, Wang X, et al. Presynaptic external calcium signaling involves the calcium-sensing receptor in neocortical nerve terminals[J]. PLoS One, 2010,5(1):e8563.

[11]开伟华, 丁彩娟, 戴晨, 等. 钙感受器在大脑中作用研究进展[J]. 牡丹江医学院学报, 2016,37(03):117-119.

[12]Breen DP, Halliday GM, Lang AE. Gut-brain axis and the spread of  $\alpha$ -synuclein pathology: Vagal highway or dead end?[J]. Mov Disord, 2019,34(3):307-316.

[13]Masters CL, Kril JJ, Halliday GM, et al. Overview and recent advances in neuropathology. Part 2: Neurodegeneration[J]. Pathology, 2011,43(2):93-102.

[14]Hou Y, Dan X, Babbar M, et al. Ageing as a risk factor for neurodegenerative disease[J]. Nat Rev Neurol, 2019,15(10):565-581.

[15]张鹏飞, 于春泽, 于建云, 等. NLRP3 炎症小体在中枢神经系统疾病中的作用研究进展[J]. 中国临床解剖学杂志, 2022,40(01):113-116.

[16]Surmeier DJ, Guzman JN, Sanchez J, et al. Physiological phenotype and vulnerability in Parkinson's disease[J]. Cold Spring Harb Perspect Med, 2012,2(7):a009290.

[17]Dostert C, Pétrilli V, Van Bruggen R, et al. Innate immune activation through Nalp3 inflammasome sensing of asbestos and silica[J]. Science, 2008,320(5876):674-677.

[18]Lee GS, Subramanian N, Kim AI, et al. The calcium-sensing receptor regulates the NLRP3 inflammasome through Ca<sup>2+</sup> and cAMP[J]. Nature, 2012,492(7427):123-127.

#### 作者简介:

第一作者: 姓名: 陈曦, 性别: 女, 民族: 汉族, 出生年月: 1995 年 11 月, 籍贯: 黑龙江哈尔滨, 学历: 研究生在读, 专业: 神经病学。

通讯作者: 姓名: 王琰, 性别: 女, 民族: 汉族, 出生年月: 1968 年 11 月, 籍贯: 重庆市, 学历: 博士, 专业: 神经病学。