

逍遥散通过 SKN-1 抗氧化通路改善秀丽隐杆线虫帕金森病模型 α -突触核蛋白聚集和神经元损伤

叶丽旋¹, 廖雨欣², 刘 琼², 张 佳², 高 磊², 董钊扬¹

¹广州中医药大学护理学院, 广东 广州 510006; ²南方医科大学中医药学院, 广东 广州 510515

摘要:目的 探讨逍遥散(XYS)在秀丽隐杆线虫(*C. elegans*)帕金森病(PD)模型中的神经保护作用及其分子机制。方法 采用6-羟基多巴胺(6-OHDA)诱导建立PD线虫模型,并结合 α -突触核蛋白(α -syn)过表达转基因虫株(NL5901)进行验证。将线虫分为对照组、模型组及XYS低(25 μ g/mL)、中(50 μ g/mL)、高(100 μ g/mL)剂量组。通过生存曲线分析评估寿命;采用20 s内身体弯曲次数及基础减慢反应分别评价线虫的运动功能和食物相关行为;利用GFP标记的转基因虫株观察多巴胺能神经元损伤及 α -syn聚集水平;采用二氢乙锭荧光探针(DHE)检测体内活性氧(ROS)水平,并结合RT-qPCR分析*dat-1*、*cat-2*、*ced-9*、*gst-4*及*sod-3*等相关基因表达;通过RNA干扰(RNAi)沉默*skn-1*表达,以验证XYS作用是否依赖于SKN-1/Nrf2信号通路。结果 YYS可显著延长PD模型线虫寿命($P<0.001$),增加第5天和第10天的20 s内身体弯曲次数($P<0.05$),并改善基础减慢反应($P<0.05$);XYS可减轻6-OHDA诱导的多巴胺能神经元损伤,提高*dat-1*、*cat-2*及*ced-9*表达水平($P<0.05$),并降低 α -syn聚集水平($P<0.001$)。此外,XYS处理后降低ROS水平($P<0.05$),*sod-3*及*gst-4*等抗氧化相关基因表达上调($P<0.05$)。机制研究显示,XYS可增强*skn-1::GFP*及*sod-3::GFP*荧光信号($P<0.05$)。在*skn-1* RNAi条件下,脂质含量下降($P<0.05$),且XYS对上述改变无明显改善作用($P>0.05$);同时,XYS对*sod-3::GFP*荧光降低的恢复作用消失($P>0.05$)。结论 YYS可减轻氧化应激并抑制 α -syn异常聚集,从而改善秀丽隐杆线虫PD模型神经功能,其作用可能与SKN-1/Nrf2相关抗氧化通路有关。

关键词:逍遥散;帕金森病;多巴胺能神经元;6-羟基多巴胺; α -突触核蛋白;秀丽隐杆线虫

Xiaoyao San alleviates abnormal α -syn aggregation and neuronal injury in a *Caenorhabditis elegans* model of Parkinson disease via the SKN-1 antioxidative pathway

YE Lixuan¹, LIAO Yuxin², LIU Qiong², ZHANG Jia², GAO Lei², DONG Zhaoyang¹

¹School of Nursing, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China; ²School of Traditional Chinese Medicine, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China

Abstract: Objective To investigate the neuroprotective effects of Xiaoyao San (XYS) in a *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) model of Parkinson disease (PD) and explore its molecular mechanism. **Methods** A PD model was established in *C. elegans* using 6-hydroxydopamine (6-OHDA) and validated using a transgenic strain overexpressing α -synuclein (α -syn) (NL5901). The worms were treated with 25, 50 or 100 μ g/mL YYS, and their lifespan was recorded. Their motor function and food-related behaviors were evaluated by counting body bends within 20 s and observing the basal slowing response. Dopaminergic neuron degeneration and α -syn aggregation were observed in GFP-labeled transgenic worms. Intracellular ROS levels were measured using a DHE fluorescent probe, and the mRNA expressions of *dat-1*, *cat-2*, *ced-9*, *gst-4*, and *sod-3* were analyzed using RT-qPCR. RNA interference (RNAi) was employed to knock down *skn-1* expression to determine whether the effects of YYS depend on the SKN-1/Nrf2 signaling pathway. **Results** YYS significantly prolonged the lifespan of PD model worms, increased their body bends within 20 s on day 5 and day 10, and improved the basal slowing response. YYS obviously alleviated 6-OHDA-induced dopaminergic neuronal damage, upregulated the expression of *dat-1*, *cat-2*, and *ced-9*, and reduced α -syn accumulation. Treatment with YYS decreased reactive oxygen species (ROS) levels and upregulated the antioxidant-related genes including *sod-3* and *gst-4*. Mechanistic studies showed that YYS significantly enhanced *skn-1::GFP* and *sod-3::GFP* fluorescence signals. Knocking down *skn-1* resulted in decreased lipid content in the worms, and YYS failed to significantly reverse this change; *skn-1* knockdown also abolished the restorative effect of YYS on *sod-3::GFP* fluorescence reduction. **Conclusion** YYS improves neurological function in *Caenorhabditis elegans* PD model by alleviating oxidative stress and suppressing abnormal α -syn aggregation, and its neuroprotective effect is mediated probably by the SKN-1/Nrf2-related antioxidant pathway.

Keywords: Xiaoyao San; Parkinson disease; dopaminergic neurons; 6-hydroxydopamine; α -synuclein; *C. elegans*

收稿日期:2026-01-20

基金项目:国家自然科学基金(82004091);广州市科技计划基础与应用基础研究专题(SL2024A04J01591);广州中医药大学固本工程一级学科能力提升项目(GZY2025GB0920)

Supported by National Natural Science Foundation of China (82004091).

作者简介:叶丽旋,在读硕士研究生,E-mail: 2669556676@qq.com

通信作者:董钊扬,博士,副教授,硕士生导师,E-mail: 021092@gzucm.edu.cn

帕金森病(PD)是一种常见的神经退行性疾病,目前临床治疗仍以对症治疗为主,尚缺乏能够延缓或阻止疾病进展的有效药物^[1]。近年来研究表明,氧化应激在PD发生发展中发挥关键作用,活性氧(ROS)的过量积累可诱导线粒体功能障碍,并促进 α -突触核蛋白(α -syn)异常聚集,从而加剧神经毒性损伤^[2]。Nrf2作为重要的抗氧化转录因子,可通过激活抗氧化反应元件(ARE)调控

多种抗氧化及解毒基因表达,其在线虫中的同源蛋白 SKN-1 具有类似功能^[3]。因此,靶向 SKN-1/Nrf2 通路调控氧化应激已成为 PD 干预的重要研究方向。

复方逍遥散(XYS)作为经典中药方剂,具备一定的神经保护特性^[4],其抗炎、抗氧化等药理机制与 PD 病理契合^[5-8],研究表明,XYS 可降低细胞内 ROS 水平并提高抗氧化酶活性,从而改善细胞氧化损伤^[9];其组成药物中的活性成分,柴胡中的槲皮素^[8, 10, 11]、白芍中的芍药苷^[12]等,也在 6-羟基多巴胺(6-OHDA)诱导 PD 模型中表现出改善线粒体功能、降低氧化应激及抑制 α -syn 聚集的作用。然而,现有研究多集中于单一成分或体外模型,关于 YYS 在 PD 模型中的整体神经保护作用及其是否通过 SKN-1/Nrf2 通路发挥作用的机制,尚缺乏系统研究。

6-OHDA 是构建 PD 模型的经典神经毒素,其可通过多巴胺转运进入神经元并诱导 ROS 生成,从而引发氧化应激及神经元损伤^[13]。尽管哺乳动物模型在 PD 研究中应用广泛,但存在实验周期长、成本高等局限。相比之下,秀丽隐杆线虫(*C. elegans*)具有生命周期短、遗传操作简便及信号通路高度保守等优势,已成为研究神经退行性疾病机制及药物筛选的重要模型^[14]。因此,本研究结合 6-OHDA 诱导及 α -syn 过表达两种建模策略,以更全面地模拟 PD 相关病理过程。

基于此,本研究旨在探讨复方逍遥散在 PD 线虫模型中的神经保护作用,并进一步明确其是否通过激活 SKN-1/Nrf2 通路发挥抗氧化效应及抑制 α -syn 聚集,从而为中药复方干预 PD 提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 实验材料

逍遥散(XYS)由柴胡 30 g、当归 30 g、茯苓 30 g、白芍 30 g、白术 30 g、炙甘草 15 g、生姜 10 g、薄荷 10 g 八味中药组成。所有药材均购自广州中医药大学第一附属医院药房,经该院中药鉴定室依据《中华人民共和国药典》(2020 年版)进行性状及显微鉴别,鉴定结果均符合药典规定的质量标准。

实验中使用的秀丽隐杆线虫(*C. elegans*)品系有野生型线虫 N2 Bristol,转基因品系 XE1311(*vtIs7[dat-1p::GFP]*),NL5901(*pkIs2386[unc-54p:: α -synuclein::YFP+unc-119]*),CF1553(*mulIs84[(pAD76)sod-3p::GFP+rol-6(su1006)]*),DMS303(*nIs590[fat-7p::fat-7::GFP+lin15(+)]V*),LIU104(*ldrIs1[dhs-3p::dhs-3::GFP+unc-76(+)]*),LD1(*ldIs7[skn-1b/c::GFP+rol-6(su1006)]*)以及大肠杆菌 *Escherichia coli* OP50(OP50),均来源于 *Caenorhabditis Genetics Center*(CGC)。线虫与线虫生长培养基(NGM)常规培养于

20 °C 恒温培养箱。

1.2 实验方法

1.2.1 逍遥散的制备与质量控制 按逍遥散方剂比例准确称取八味药材(总量 185 g),与蒸馏水按 1:10(v/w)比例混合浸泡约 1 h 以促进有效成分溶出;随后进行第 1 次煎煮约 30 min,过滤收集煎液;对残渣再加入蒸馏水按 1:8(v/w)比例煎煮 25 min,将两次煎煮的液体合并。合并液在旋转蒸发仪下于 60 °C、0.08 MPa 条件下浓缩至相当于每毫升含 1 g 生药量的浓缩液。本研究采用超高效液相色谱-高分辨质谱(UHPLC-HRMS)对提取液进行化学成分分析^[15]。

1.2.2 UHPLC-HRMS 分析

1.2.2.1 色谱条件 采用 Thermo Fisher Scientific AQ-C18 色谱柱(150×2.1 mm,1.8 μ m)。流动相 A 为 0.1% 甲酸水溶液(v/v),流动相 B 为乙腈(ACN)。流速 0.30 mL/min,柱温 35 °C,进样量 5 μ L。梯度程序如表 1。

表 1 色谱梯度程序

Tab.1 Chromatography gradient program

Time (min)	Flow (mL/min)	% B
0.00	0.30	5.0
2.00	0.30	5.0
18.00	0.30	95.0
20.00	0.30	95.0

1.2.2.2 质谱条件 质谱采用恒电势电喷雾离子源(H-ESI),正离子电压 3500 V,负离子电压 3000 V;鞘气 40 Arb,辅助气 10 Arb;毛细管温度 320 °C,雾化器温度 350 °C。采集模式为全扫描结合数据依赖 MS²(Full Scan/dd-MS²),扫描质量范围 *m/z* 100~1000,数据采集持续 20 min。

1.2.3 线虫的同步化处理 线虫年龄同步化采用强碱-次氯酸钠裂解法。以 M9 缓冲液收集产卵期成虫,2000 r/min、20 °C 离心 2 min。弃上清后,依次加入 1.5 mL M9 缓冲液及 2 mL 裂解液(1 mol/L NaOH 与 1 mol/L NaClO 按体积比 3:2 配制),充分振荡并镜检至成虫完全裂解。离心收集虫卵,M9 缓冲液洗涤 3 次去除残留裂解液,后将虫卵重悬于 1 mL M9 缓冲液,20 °C 静置孵化 36 h,获得同步化 L1 幼虫。转至涂布 OP50 的 NGM 培养至 L4 期,用于后续实验^[16]。给药方法:将逍遥散液蒸馏水稀释至 1 mg/mL 作为母液,经 0.22 μ m 微孔滤膜(GSWP14250, Merck millipore)过滤除菌,分装后 -20 °C 保存,避免反复冻融。提取液按实验设计与 OP50 混合至实验所需终浓度(如 12.5、25、50、100、200、400、800 μ g/mL,以生药量计)后,均匀涂布至 NGM 培养基上。通过线虫对培养基中含药环境的摄食,确保线虫

在整个实验过程中持续暴露于逍遥散提取液。

1.2.4 线虫生存分析 按照1.2.3所述方法同步化后的L4期N2线虫分为对照组、12.5、25、50、100、200、400、800 $\mu\text{g/mL}$,共8组。后续为了进行模型药效评价,将同步化L1期N2虫经6-OHDA诱导后,分空白对照、模型及25、50、100 $\mu\text{g/mL}$ XYS,共5组。利用转基因品系NL5901线虫进行药效验证时,将同步化至L4期线虫设空白对照及25、50、100 $\mu\text{g/mL}$ XYS,共4组。各组线虫转移至相应含XYS或不含XYS的NGM培养板中,每组纳入50条线虫。以线虫转移至培养板当天记为第0天,此后每日采用铂丝轻触线虫虫体,若无任何反应则判定为死亡。爬壁死亡或袋状死亡个体不纳入统计。持续观察并记录至全部线虫死亡,用于绘制生存曲线及计算平均寿命。所有实验独立重复3次。

1.2.5 线虫PD模型 已有研究表明,6-OHDA处理会在荧光标记多巴胺能神经元的转基因线虫(*dat-1p::GFP*等荧光报告虫株)中诱导多巴胺能神经元选择性退化并逐渐丢失,这些神经元损伤表型在多个实验体系中反复被观察到并用作评估模型是否成功的标准^[17-19]。也有研究将该神经元损伤与行为学表型一起用作PD核心特征的综合评价,从而进一步证明了6-OHDA模型的稳定性与可靠性^[20,21]。基于这些前期工作,本研究以多巴胺能神经元的退化/丢失作为6-OHDA模型构建成功的直接证据。因此,模型构建完成后,在荧光显微镜下观察XE1311线虫多巴胺能神经元GFP荧光信号,以神经元荧光减弱或缺失作为模型构建成功的判定标准。模型成功判定结果在3次独立重复中一致,显示该处理条件具有较高的稳定性与可重复性,具体操作如下:将同步化L1期线虫置于含50 mmol/L 6-OHDA[25 mg(99%;造模试剂), HARVEYBIO]及10 mmol/L 抗坏血酸(A800296, Macklin/麦克林)的M9缓冲液中,20℃避光处理1 h,期间每10 min轻摇1次;以确保线虫充分暴露于药物环境中。诱导结束后自然沉淀,弃上清, M9缓冲液洗涤3次。随后将线虫随机分为5组:空白对照组(M9处理);模型组(6-OHDA处理);6-OHDA+25 $\mu\text{g/mL}$ XYS组;6-OHDA+50 $\mu\text{g/mL}$ XYS组;6-OHDA+100 $\mu\text{g/mL}$ XYS组。各组线虫转移至相应的含或不含XYS的NGM培养板,20℃继续培养72 h,后续进行表型及机制检测。所有实验独立重复3次,每次随机纳入30条线虫进行分析。

1.2.6 运动能力测定 取同步化后L3-L4期NL5901及经6-OHDA诱导后培养至发育阶段的XE1311线虫,分别于给药第5天及第10天测定其身体弯曲次数。将线虫挑至添加了M9缓冲液的96孔板中,适应2 min后,在体式显微镜下观察线虫运动状态,统计其20 s内身体弯曲的次数,以此作为衡量运动能力的指标。所有实验独立重复3次,每次随机纳入30条线虫进行分析。

1.2.7 基础减慢反应 取同步化L1期N2线虫,随机分为对照组、模型组和XYS组,6-OHDA诱导后继续培养72 h。用M9缓冲液收集线虫并去除体表细菌,分别转移至含细菌或不含细菌的平板上,适应5 min。盲法标记培养皿,显微镜下记录20 s身体弯曲次数($n=30/\text{组}$,重复3次)。基础减慢率按公式计算^[21]:基础减慢率=(无食物条件下运动速率-有食物条件下运动速率)/有食物条件下运动速率,用以评价线虫的食物相关行为。所有实验独立重复3次,每次随机纳入30条线虫进行分析。

1.2.8 多巴胺能神经元改变 将同步化至L1期的XE1311线虫按1.2.5方法处理后,随机分为5组:空白对照组、模型组及25、50、100 $\mu\text{g/mL}$ XYS处理组。各组于20℃培养72 h后,采用10 mmol/L叠氮化钠溶液麻醉线虫,并转移至载玻片上加盖盖玻片固定。在正置荧光显微镜(ECLIPSE Ni-E, Nikon)下观察并采集图像,各组采用相同曝光参数进行成像。随后使用ImageJ 1.53a软件测定单条线虫的荧光强度,以评价多巴胺能神经元损伤情况。所有实验独立重复3次,每次随机纳入30条线虫进行分析。

1.2.9 α -syn聚集分析 α -syn是PD的核心病理特征之一。取同步化L1期NL5901转基因线虫,随机接种于涂布OP50的大肠杆菌NGM培养板,设空白对照组及25、50、100 $\mu\text{g/mL}$ XYS处理组,于20℃培养72 h。培养结束后,在正置荧光显微镜下观察并采集图像,各组采用相同曝光参数进行成像。随后使用ImageJ勾画线虫头部区域并测定平均荧光强度,以荧光强度反映 α -syn::YFP聚集水平。所有实验独立重复3次,每次随机纳入30条线虫进行分析。所得数据用于评估XYS对 α -syn聚集的抑制作用。

1.2.10 二氢乙啶荧光探针(DHE) 按1.2.3及1.2.5方法处理N2线虫,采用M9缓冲液收集线虫并离心,弃上清后重悬于1×DHE工作液(S0064S,碧云天)中,于20℃避光孵育1 h。孵育结束后采用M9缓冲液洗涤3次,以去除残余染液。随后在线虫荧光显微镜下采集图像,各组采用相同曝光参数进行成像。使用ImageJ对单条线虫的荧光强度进行测量和定量分析。所有实验独立重复3次,每次随机纳入30条线虫进行分析。

1.2.11 尼罗红染色 按1.2.3及1.2.5方法处理N2线虫, M9缓冲液收集置于1.5 mL离心管中离心,弃上清液后加入1%多聚甲醛于室温固定30 min,用异丙醇脱水后,避光条件下,加入1 $\mu\text{g/mL}$ 尼罗红染液(N121291, Aladdin/阿拉丁),于摇床室温孵育30 min。染色结束后,采用M9缓冲液洗涤3次以去除残余染液,在线虫荧光显微镜下观察并拍照,各组采用相同曝光参数采

集图像。所有实验独立重复3次,每次随机纳入30条线虫进行分析。

1.2.12 RNA 干扰实验 按1.2.5与1.2.9所述方式造模并分组,全程以RNAi菌株喂养。将HT115(DE3)大肠杆菌分别转化L4440空载体或*skn-1* RNAi质粒,于37℃振荡培养过夜,加1 mmol/L IPTG诱导后涂布于相应的NGM培养板。同步化L1期转基因线虫(对应的荧光报告基因品系)接种至上述培养板,20℃培养72 h后,在正置荧光显微镜下观察,后续使用ImageJ软件勾画头部区域进行分析,以平均荧光强度反映相关荧光蛋白表达水平。所有实验独立重复3次,每次随机纳入30条线虫进行分析。

1.2.13 RT-qPCR检测 采用M9缓冲液收集线虫并洗涤3次以去除残余细菌。采用Trizol法提取线虫总RNA,按照RNA提取试剂(AG21101,AG21303,AG/艾科瑞生物)说明书进行总RNA提取,提取的RNA逆转录合成cDNA后,采用qPCR Master Mix (Q312-02, Vazyme/诺唯赞)进行RT-qPCR检测相关mRNA表达情况。RT-qPCR在实时荧光定量PCR仪(Bio-Rad)上进行。PCR反应结束后,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算目标基因相对表达水平,以 β -actin作为内参基因。所有样本均设3次独立生物学重复,每个生物学重复设3个技术平行孔,结果以相对表达量表示。RT-qPCR所用引物由北京擎科生物科技有限公司合成,引物序列(表2)。

表2 目的基因引物序列
Tab.2 Primer sequences of target genes

Gene	Forward primer (5'-3')	Reverse primer (5'-3')
<i>Dat-1</i>	TTGGTGCCTACAGACGATCC	GCTGTTCCGTCTTCTGACCA
<i>Cat-2</i>	ACTGAAGAACCTGCGGTACG	CCGATGGTGATTGCTCCTGC
<i>Gst-4</i>	GATGCTCGTGCTCTTGCTGA	GGAGTCGTTGGCTTCAGCTT
<i>Ced-9</i>	TGCTCAGGACTTGCCATCAC	GCGTGAAATAGTCGACCACA
<i>Sod-3</i>	ATCTACTGCTCGCACTGCTT	ACGTAGGTGGCATGATGCTT
β -actin	ACGACGAGTCCGGCCCATCC	GAAAGCTGGTGGTGACGATGGTT

1.3 统计学分析

实验数据均以均数±标准差表示,采用GraphPad Prism 8.0软件进行统计分析。线虫寿命实验采用Log-rank (Mantel-Cox)检验进行生存曲线比较;两组间比较采用独立样本*t*检验;多组间比较采用单因素方差分析。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。所有实验均至少进行3次独立重复。

2 结果

2.1 逍遥散成分的分析

采用UHPLC-HRMS对逍遥散药液进行分析,获得正、负离子模式下的总离子流图(图1)。两种离子模式下均检测到多个色谱峰。结果显示,正离子模式(图1A)中,基峰离子为 m/z 498.19681($t_R=7.28$ min);负离子模式(图1B)中,基峰离子为 m/z 525.16052($t_R=7.27$ min)。

2.2 XYS 干预能够延长PD线虫寿命并改善其活动能力

在不同浓度XYS处理下,25、50及100 $\mu\text{g/mL}$ XYS组的线虫寿命均较对照组显著延长($P<0.05$,图2A)。而200 $\mu\text{g/mL}$ 及以上浓度组均未进一步提高寿命(图2A)。在6-OHDA诱导PD模型中(图2B),与模型组对比,XYS各剂量组均延长线虫生存期,其中25 $\mu\text{g/mL}$ 和50 $\mu\text{g/mL}$ 组效果最强($P<0.0001$,图2C)。基础减慢反应结果显示,模型组较对照组下降38%($P<0.05$,图2D),

XYS处理后显著恢复,其中25 $\mu\text{g/mL}$ 组提高约45% ($P<0.01$,图2D),50、100 $\mu\text{g/mL}$ 组分别提高35%、38% ($P<0.05$,图2D)。运动能力分析结果显示,6-OHDA处理显著降低第5天及第10天的20 s内的身体弯曲次数 ($P<0.05$,图2E),但XYS处理后能够有效改善其运动能力,各剂量组运动能力均显著恢复($P<0.01$,图2E)。

2.3 XYS 干预能够延长PD转基因模型NL5901线虫寿命并改善其体内的 α -syn聚集

寿命分析结果显示,XYS各剂量组均能显著延长PD转基因模型NL5901线虫平均寿命($P<0.05$,图3A),其中高剂量组效果最为显著($P<0.01$,图3A)。运动能力分析结果显示,XYS处理后NL5901线虫在第5天及第10天的20 s内的身体弯曲次数显著增加($P<0.05$,图3B)。此外,XYS处理后线虫头部神经元区域的 α -syn::YFP荧光强度显著降低($P<0.0001$,图3C)。

2.4 XYS 干预显著改善6-OHDA诱导的PD线虫模型多巴胺能神经元变性

通过多巴胺能神经元荧光标记突变体线虫(*dat-1p::GFP*)分析表明,与对照组相比,6-OHDA处理显著降低多巴胺能神经元荧光强度并破坏其结构 ($P<0.0001$,图4A)。与模型组相比,XYS处理显著提高了多巴胺能神经元荧光强度及神经元形态得到明显改善($P<0.001$,图4A)。qPCR结果显示,与模型组相比,XYS

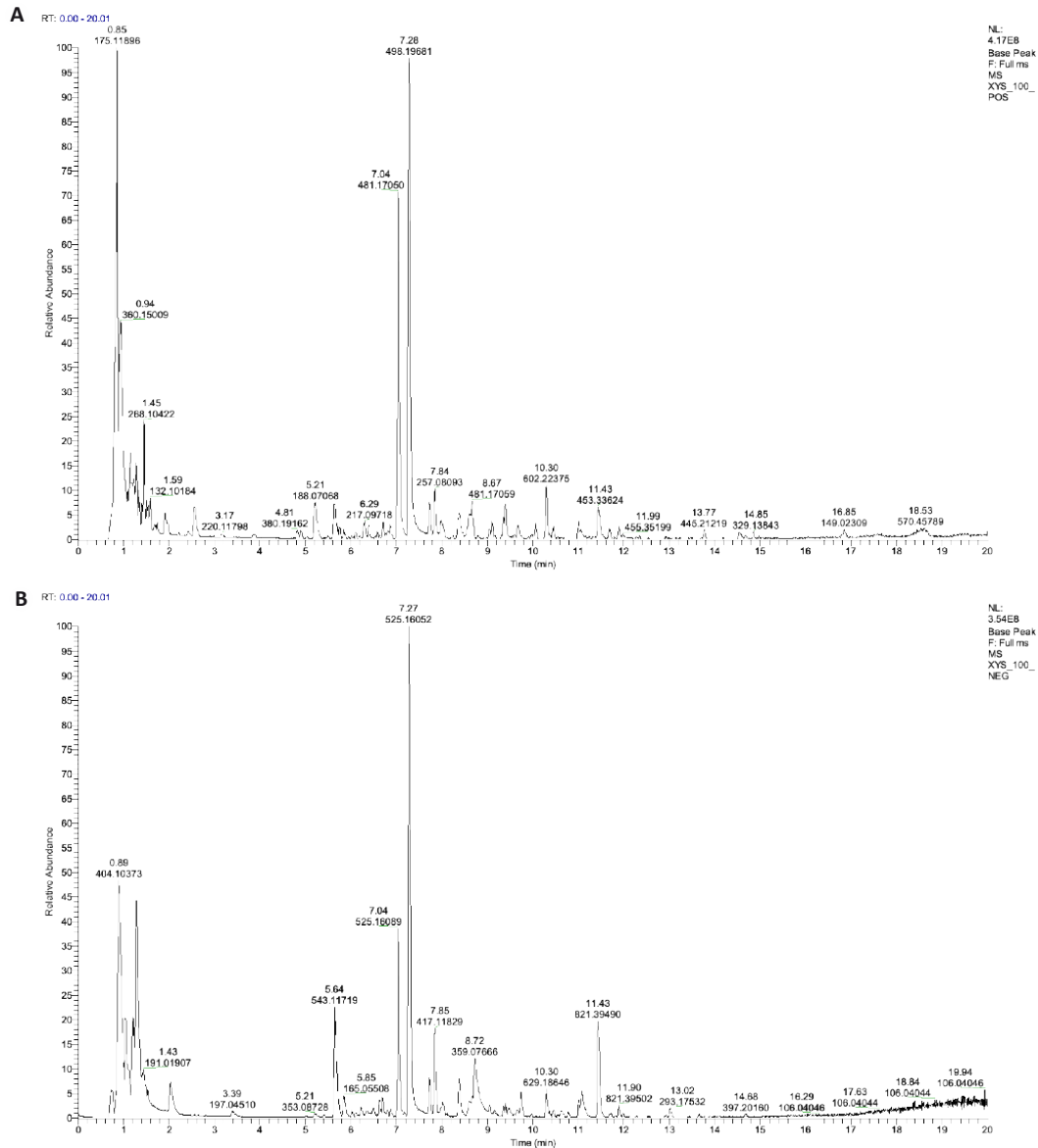


图1 UHPLC-HRMS总离子流图

Fig.1 UHPLC-HRMS total ion chromatogram (TIC) of Xiaoyao San (XYS). A: Positive ion mode (POS). B: Negative ion mode (NEG).

处理显著上调*dat-1*和*cat-2*的mRNA水平($P < 0.0001$),并显著提高*ced-9*的mRNA水平($P < 0.01$,图4B)。

2.5 YYS干预能够显著改善线虫体内抗氧化效应

荧光观察结果显示,在CF1553线虫中,50和100 $\mu\text{g/mL}$ YYS处理可显著增强*sod-3::GFP*荧光强度($P < 0.05$,图5A)。qPCR结果显示,YYS处理后*sod-3*和*gst-4*的mRNA表达水平均显著升高($P < 0.05$,图5B)。

2.6 YYS干预能够显著降低不同PD线虫模型体内氧化应激水平

DHE探针染色结果显示,在NL5901线虫中,YYS处理显著降低ROS水平($P < 0.01$,图6A)。此外,与对照组相比,6-OHDA处理显著升高了N2线虫体内ROS水平($P < 0.0001$,图6B)。与模型组相比,YYS处理后ROS水平显著降低($P < 0.05$),其中100 $\mu\text{g/mL}$ 组下降最为明显($P < 0.01$,图6B)。

2.7 YYS通过上调SKN-1改善PD线虫模型抗氧化效应

荧光观察结果显示,与对照组相比,6-OHDA处理显著降低*skn-1::GFP*荧光强度($P < 0.01$,图7A、B)。与模型组相比,YYS处理显著提高了*skn-1::GFP*荧光强度,其中100 $\mu\text{g/mL}$ 组作用最明显($P < 0.01$,图7A、B)。此外,在CF1553线虫中,与对照组相比,6-OHDA处理显著降低*sod-3::GFP*荧光强度($P < 0.01$,图7C、D)。与模型组相比,YYS处理显著增强*sod-3::GFP*荧光强度($P < 0.05$,图7C、D)。然而,在*skn-1* RNAi处理诱导线虫*skn-1*沉默状态下,6-OHDA处理仍显著降低了*sod-3::GFP*荧光强度($P < 0.05$),且YYS处理后未观察到*sod-3*表达的显著恢复($P > 0.05$,图7E)。

2.8 YYS干预能够改善PD线虫模型脂质代谢异常

荧光观察结果显示,与对照组相比,6-OHDA处理

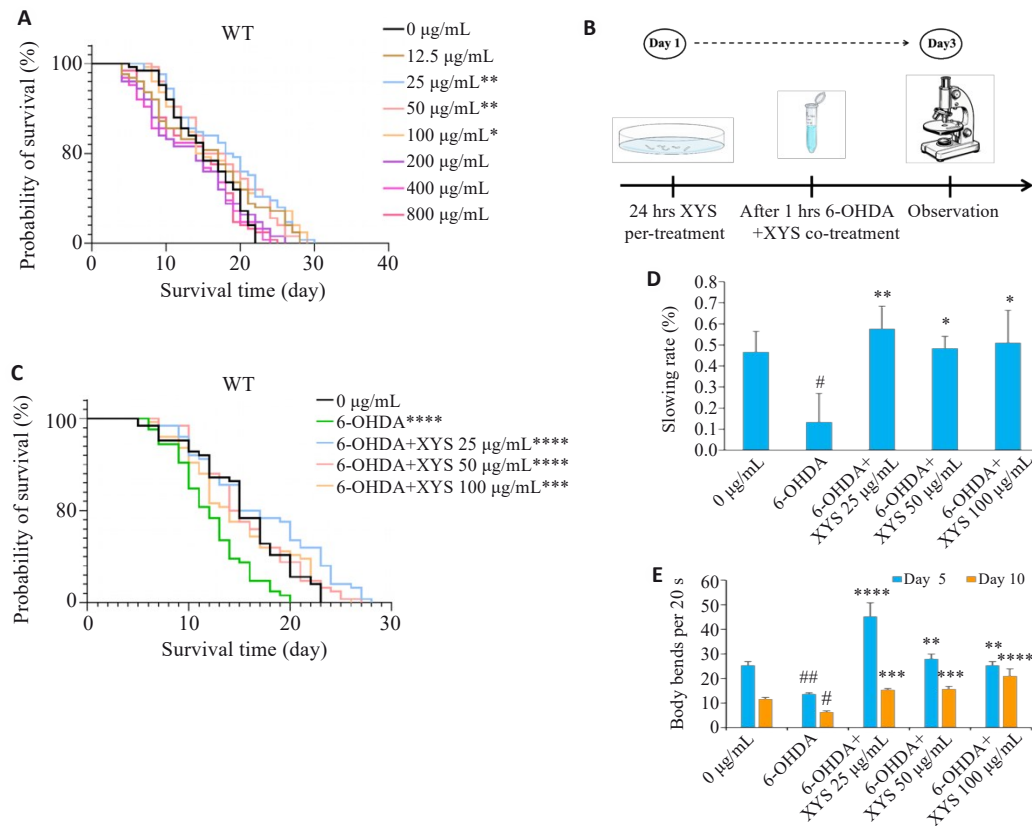


图2 YYS干预能够延长PD线虫寿命并改善其活动能力

Fig.2 YYS extends lifespan and improves locomotor activity of *C. elegans* PD models. **A**: Survival curves of *C. elegans* exposed to different concentrations of YYS. **B**: Schematic diagram of the experimental design for combined 6-OHDA and YYS treatment. **C**: Survival curves of 6-OHDA-induced PD model worms with or without YYS treatment. **D**: Quantification of the basal slowing response. **E**: Quantification of body bends within 20 s on days 5 and 10 post-treatment. Data represent $Mean \pm SD$ from at least 3 independent biological replicates ($n=50$ for lifespan assays and $n=30$ for other assays). * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs control group; * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$, **** $P<0.0001$ vs model group.

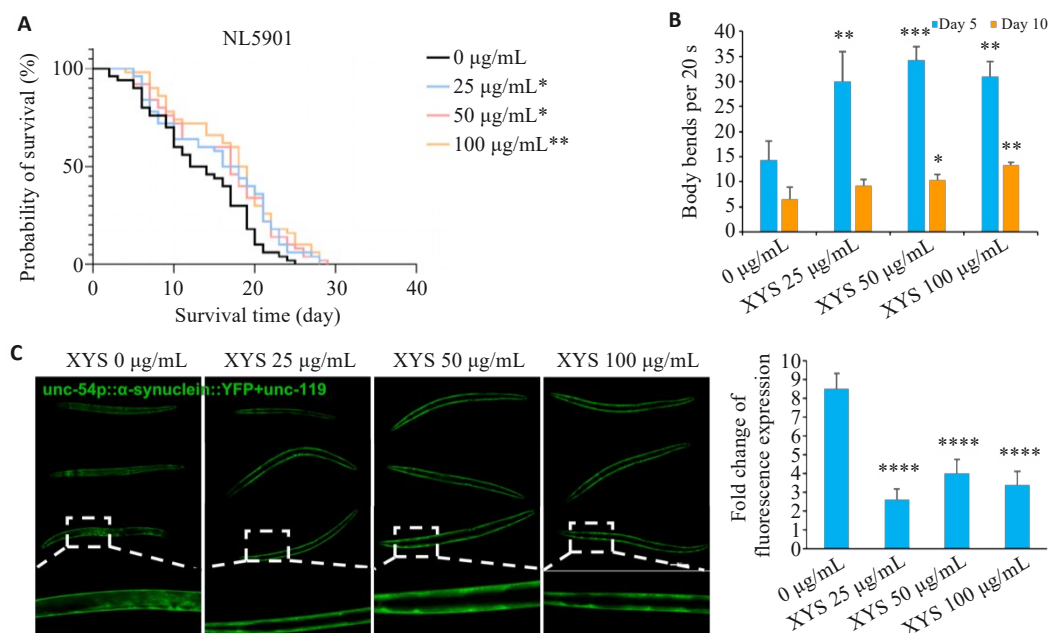


图3 YYS干预能够延长PD转基因模型NL5901线虫寿命并改善其体内的α-syn聚集

Fig.3 YYS extends lifespan and reduces α-syn aggregation in NL5901 worms. **A**: Survival curves of NL5901 worms with or without YYS treatment. **B**: Quantification of body bends within 20 s on days 5 and 10 post-treatment. **C**: Representative images of α-syn::YFP fluorescence in body wall muscle cells and quantification of fluorescence intensity (Scale bar=100 µm). Data represent $Mean \pm SD$ from at least 3 independent biological replicates ($n=50$ for lifespan assays and $n=30$ for other assays). * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$, **** $P<0.0001$ vs control group.

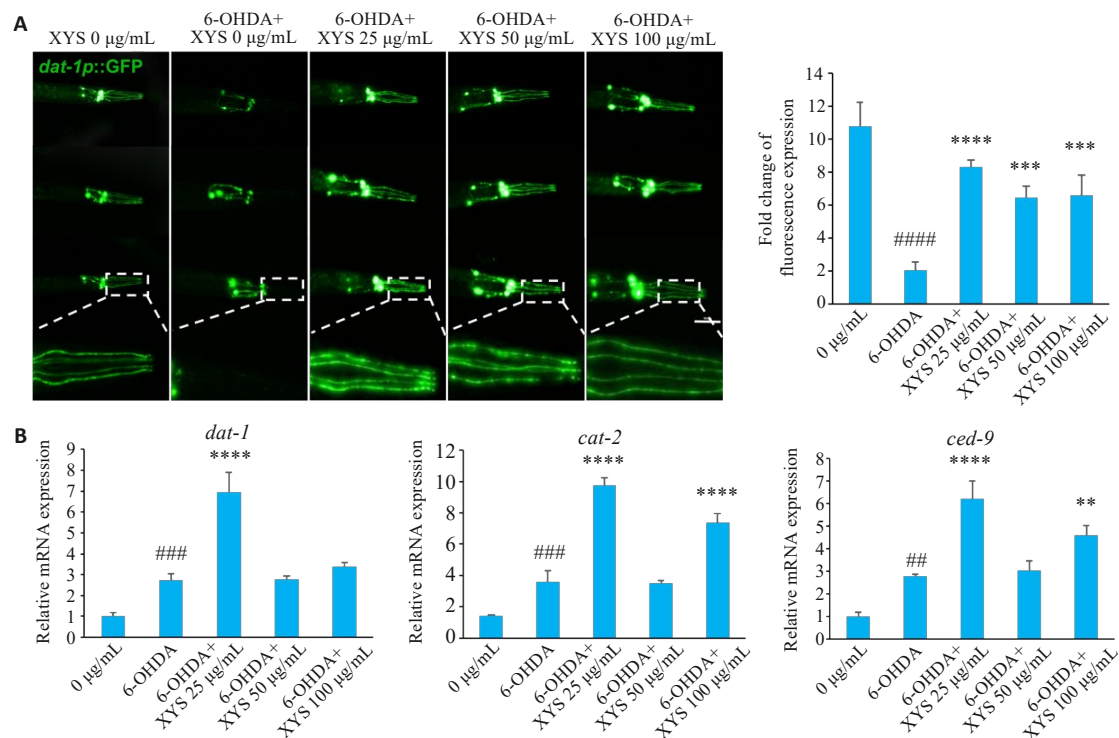


图4 XYs干预显著改善6-OHDA诱导的PD线虫模型多巴胺能神经元变性

Fig.4 XYs protects against 6-OHDA-induced dopaminergic neurodegeneration in *C. elegans*. **A**: Representative GFP images of dopaminergic neurons with or without XYs treatment and quantification of fluorescence intensity (Scale bar=100 μm). **B**: Relative mRNA expression levels of *dat-1*, *cat-2*, and *ced-9*. Data represent Mean $\pm$ SD from at least three independent biological replicates ($n=30$ for fluorescence analysis and $n=3$ for qPCR analysis). $^{##}P<0.01$, $^{***}P<0.001$, $^{****}P<0.0001$ vs control group; $^{**}P<0.01$, $^{***}P<0.001$, $^{****}P<0.0001$ vs model group.

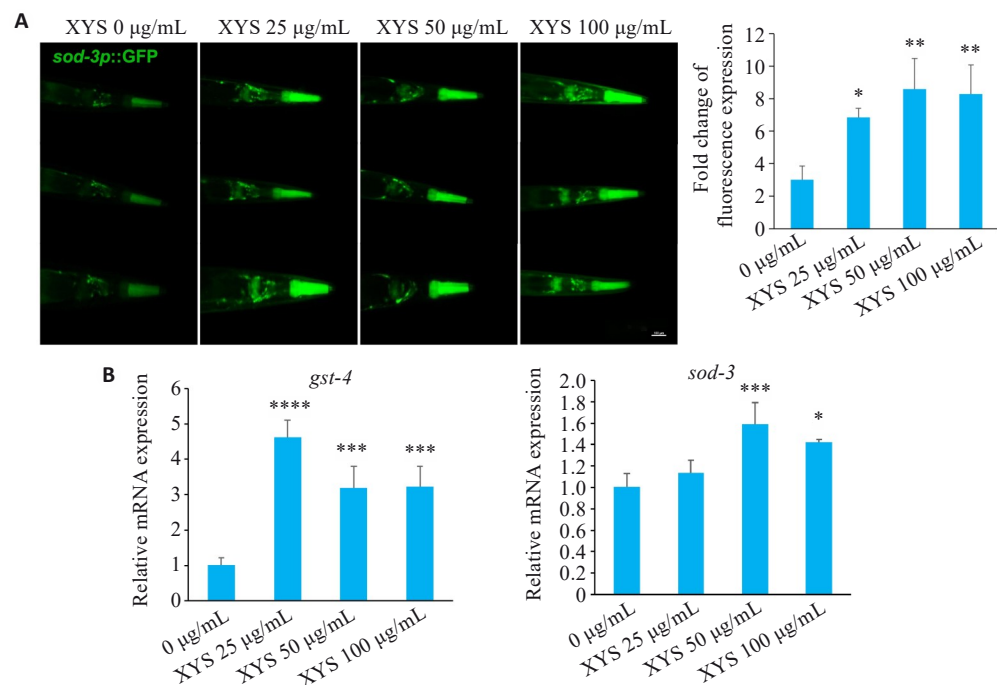


图5 XYs干预能够显著改善线虫体内抗氧化效应

Fig.5 XYs significantly enhances antioxidant capacity in *C. elegans*. **A**: Representative fluorescence images of *sod-3p::GFP* worms and quantification of *sod-3p::GFP* fluorescence intensity (Scale bar=100 μm). **B**: Relative mRNA expression levels of *sod-3* and *gst-4*. Data represent Mean $\pm$ SD from at least 3 independent biological replicates ($n=30$ for fluorescence analysis and $n=3$ for qPCR analysis). $^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.01$, $^{***}P<0.001$, $^{****}P<0.0001$ vs control group.

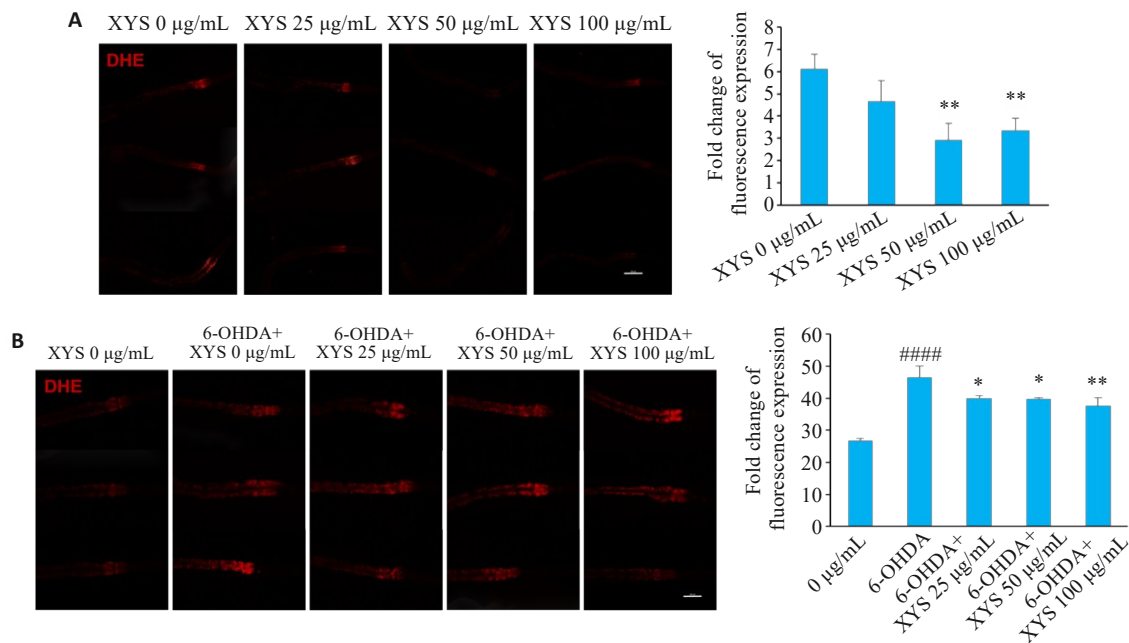


图6 YYS干预能够显著降低不同PD线虫模型体内氧化应激水平

Fig. 6 YYS significantly reduces oxidative stress levels in different *C. elegans* models of PD. **A**: Representative DHE staining images of NL5901 worms with or without YYS treatment and quantification of DHE fluorescence intensity. **B**: Representative DHE staining images of 6-OHDA-treated N2 worms with or without YYS treatment and quantification of DHE fluorescence intensity. Scale bar=100 µm. Data represent Mean±SD from at least 3 independent biological replicates ($n=30$). #### $P<0.0001$ vs control group; * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs model group.

显著降低LIU104和DMS303线虫的脂质相关GFP荧光强度($P<0.05$,图8A、B),而且YYS处理较模型组显著提高了两种线虫的脂质相关GFP荧光强度($P<0.05$,图8A、B)。尼罗红染色结果显示,YYS处理后NL5901线虫的脂质荧光强度显著升高($P<0.01$,图8C)。

2.9 YYS通过SKN-1调节 α -syn蓄积及脂质积累

荧光观察及尼罗红染色结果显示,与模型组相比,通过RNAi诱导 $skn-1$ 基因沉默后 α -syn::YFP聚集水平显著降低($P<0.01$,图9A),脂质含量显著降低($P<0.001$,图9B)。此外,在 $skn-1$ 沉默状态下,YYS处理组与未处理组之间 α -syn聚集水平及脂质含量均无显著差异($P>0.05$,图9A、B)。

3 讨论

本研究基于6-OHDA诱导的线虫PD模型,系统评估了YYS的神经保护作用及其潜在机制。结果表明,YYS不仅可改善PD相关行为学表型,还能够降低氧化应激水平、调节多巴胺代谢相关基因表达,并抑制 α -syn异常聚集及脂质代谢紊乱。氧化应激被认为是连接线粒体功能障碍、 α -syn异常聚集及神经炎症的重要病理枢纽^[22]。本研究结果进一步支持了通过调控氧化还原稳态干预PD进程的理论基础。与既往主要关注YYS抗炎及情绪调节作用的研究相比,本研究从氧化应激、蛋白稳态和脂质代谢等多个方面对其作用进行了系统分析,提示其在神经退行性疾病中的调控作用具有一定的多层次特征。

行为学表型是评价PD模型神经功能损伤的核心指标。本研究发现,YYS可显著改善6-OHDA诱导的运动能力下降及食物感知缺陷,并延长线虫寿命。这一结果与既往研究中中药复方可改善PD模型行为异常的结论总体一致^[23],但仍存在重要差异。已有研究多在哺乳动物模型中观察到YYS对情绪及炎症相关行为的改善^[24],而本研究在秀丽隐杆线虫模型中进一步证明其可直接改善以多巴胺神经元损伤为核心的运动障碍表型,提示其作用不仅限于中枢炎症调控,还可能直接影响神经元功能完整性。该差异可能与模型系统复杂性及评价指标差异有关。哺乳动物模型更侧重行为及炎症反应,而线虫模型则能够在单神经环水平上更直接反映多巴胺能神经元功能变化^[25,26]。因此,本研究结果在一定程度上弥补了既往研究在神经元功能直接证据方面的不足,使得YYS作用靶点由炎症调控进一步拓展至神经元保护。此外,本研究同时检测了多巴胺代谢相关基因 $dat-1$ 和 $cat-2$ 的表达,发现YYS可显著上调其转录水平。已有研究表明,这些基因分别参与多巴胺转运及合成,其表达变化直接反映多巴胺神经系统功能状态^[27,28]。因此,本研究从行为学—分子水平双重角度证明,YYS不仅改善表型,还可能通过调节神经递质稳态发挥作用。相比仅观察行为变化的研究,本研究在机制层面提供了更直接证据。值得注意的是,本研究观察到YYS在中低剂量范围内表现出最优效应,而高剂量未进一步增强保护作用。与部分研究中呈现线性剂量依

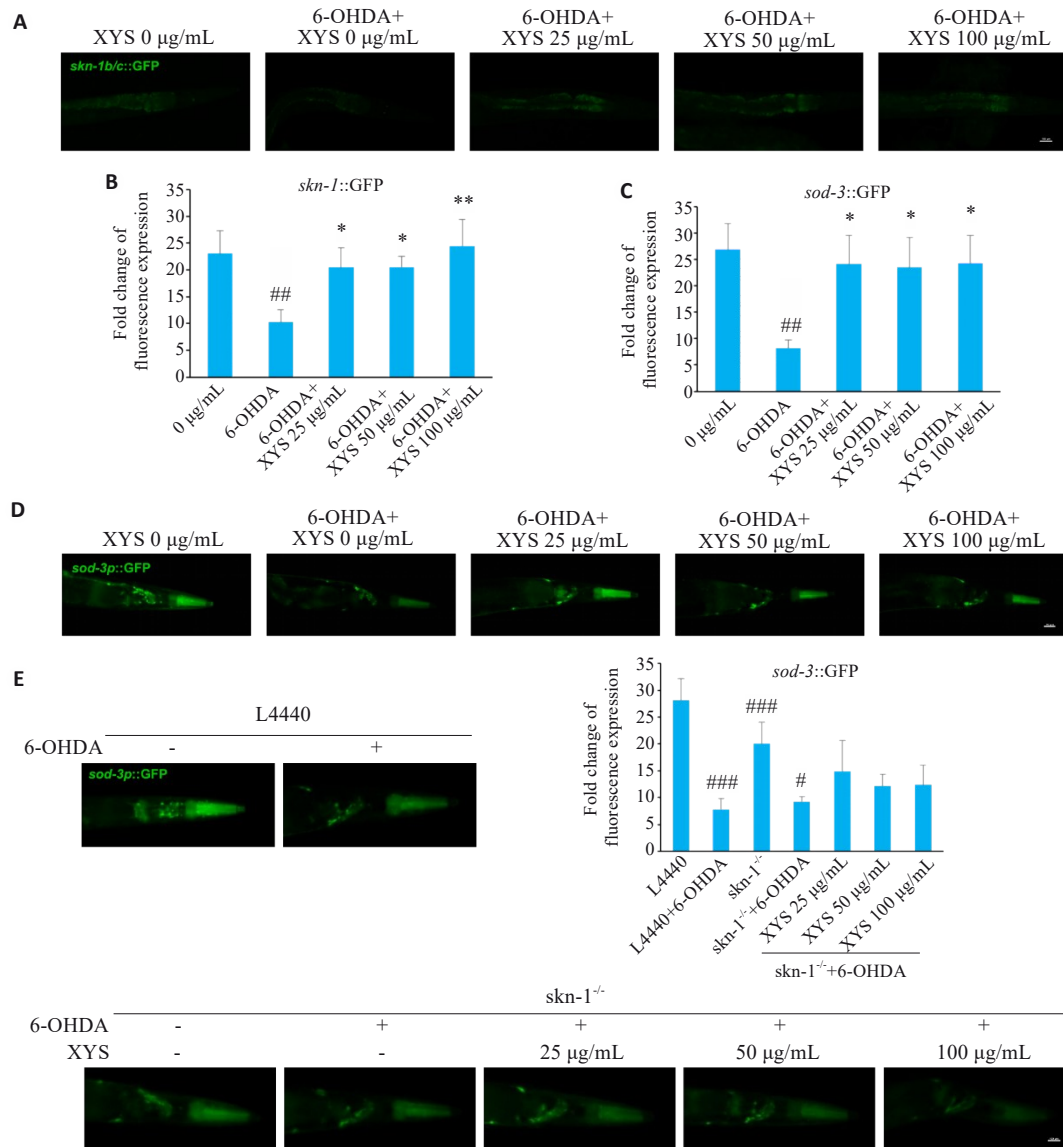


图7 YYS通过上调SKN-1改善PD线虫模型抗氧化效应

Fig. 7 YYS improves antioxidant responses in PD *C. elegans* models through upregulation of SKN-1. **A**: Representative fluorescence images of LD1 worms. **B**: Quantification of fluorescence intensity in LD1 worms. **C**: Quantification of fluorescence intensity in CF1553 worms. **D**: Representative fluorescence images of CF1553 worms. **E**: Representative fluorescence images of *skn-1* RNAi-treated worms and quantification of fluorescence intensity. Scale bar=100 μm . Data represent $\text{Mean} \pm \text{SD}$ from at least 3 independent biological replicates ($n=30$). $^{**}P<0.01$, $^{***}P<0.001$ vs control group; $^{\#}P<0.05$ vs *skn-1* RNAi group; $^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.01$ vs model group.

赖关系的结果不同^[29,30],这一非线性效应提示YYS可能存在多成分间复杂相互作用。这一结果支持中药复方通过多靶点协同调控发挥作用的特点,也为后续剂量优化及药效评价提供了重要参考。

氧化应激在PD发生发展中起核心作用,其主要表现为ROS过量生成及抗氧化防御系统失衡。已有研究表明,ROS不仅可直接损伤线粒体功能,还可促进 α -syn错误折叠及神经毒性损伤,形成正反馈循环^[2]。本研究发现,YYS显著降低PD模型线虫ROS水平,并上调*sod-3*及*gst-4*等抗氧化相关基因表达,这一结果与既往关于抗氧化干预可缓解PD病理进程的研究一致^[31]。进

一步结合本研究中行为学及神经元损伤改善结果,可以推测ROS水平的下降不仅反映氧化应激状态的缓解,还可能直接参与神经功能恢复过程。这一点不同于部分仅观察ROS变化的研究,而是将抗氧化效应与功能改善建立了更直接的联系。然而,与已有研究多停留于抗氧化现象描述不同,本研究进一步通过遗传学干预明确了其作用依赖于SKN-1信号通路。*skn-1*作为线虫中与哺乳动物Nrf2同源的转录因子,是调控抗氧化及解毒基因表达的核心调节因子,其激活可显著增强机体对氧化应激的耐受能力^[32]。本研究通过*skn-1*沉默实验进一步明确其分子机制,结果显示,在*skn-1*被沉默后,

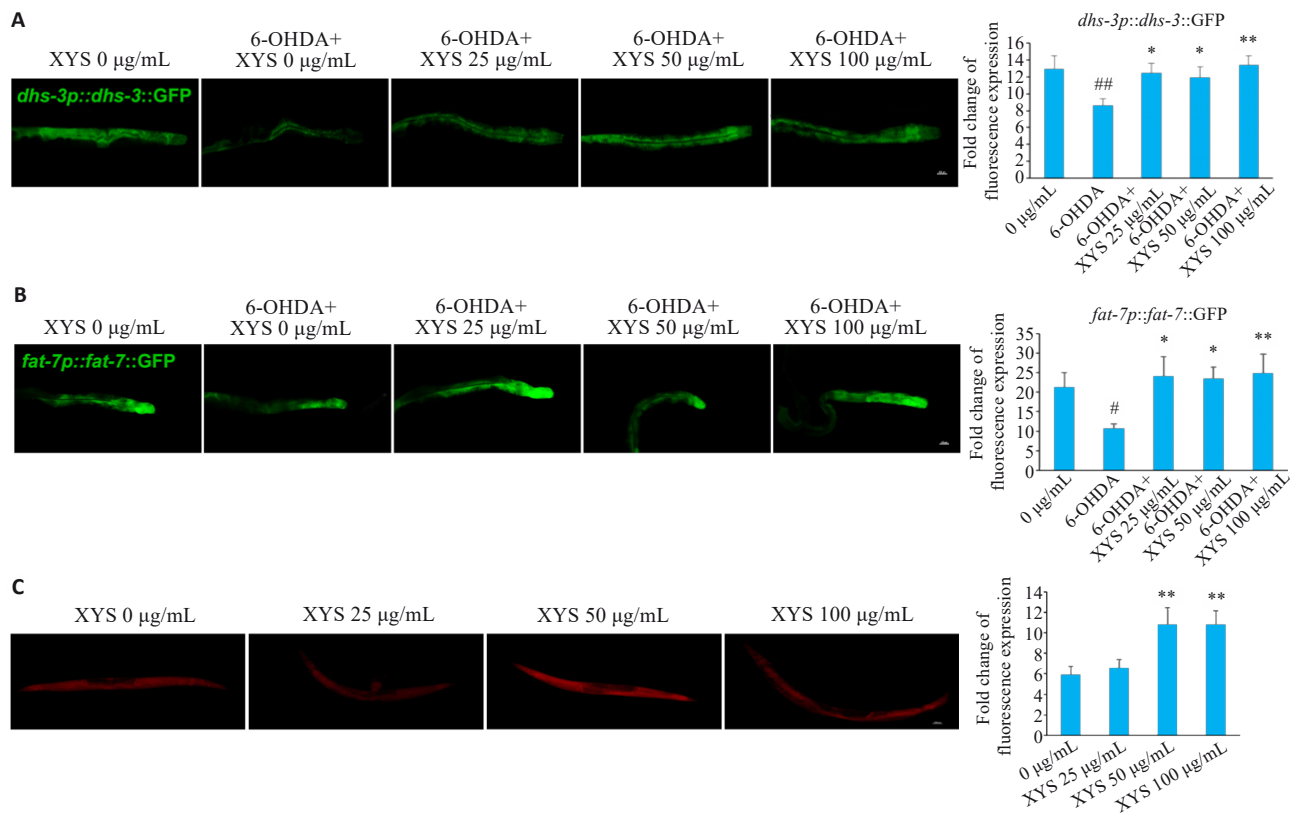


图8 XYs干预能够改善PD线虫模型脂质代谢异常

Fig.8 XYs ameliorates lipid metabolic dysfunction in PD *C. elegans* models. **A**: Representative fluorescence images of LIU104 worms and quantification of fluorescence intensity. **B**: Representative fluorescence images of DMS303 worms and quantification of fluorescence intensity. **C**: Representative Nile Red staining images of NL5901 worms and quantification of fluorescence intensity. Scale bar=100 μm . Data represent *Mean* $\pm$ *SD* from at least 3 independent biological replicates ($n=30$). * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs control group; * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs model group.

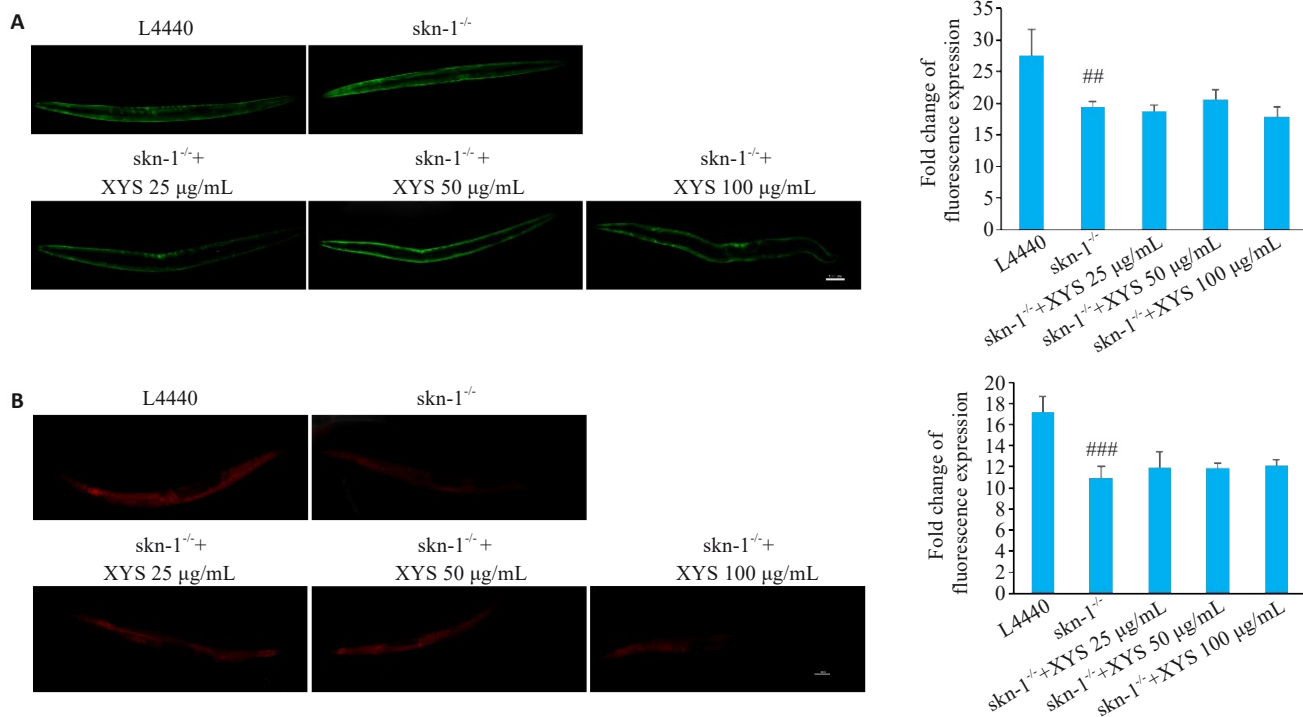


图9 XYs通过 *skn-1* 调节 α -syn 蓄积及脂质积累

Fig.9 XYs regulates α -synuclein accumulation and lipid deposition via *skn-1*. **A**: Representative fluorescence images of *skn-1* RNAi worms and quantification of fluorescence intensity. **B**: Representative Nile Red staining images of *skn-1* RNAi worms and quantification of lipid accumulation based on Nile Red staining. Scale bar=100 μm . Data represent *Mean* $\pm$ *SD* from at least 3 independent biological replicates ($n=30$). ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ vs control group.

XYS对ROS水平、抗氧化基因表达及行为表型的改善作用显著减弱甚至消失,证实了 *skn-1* 在其保护作用中的必要性。相较于既往多基于表达变化推测Nrf2参与的研究,本研究通过 *skn-1* 沉默实验提供了较为直接的证据,从机制层面进一步明确了SKN-1是XYS干预PD线虫模型的关键调控靶点。

值得注意的是,在 *skn-1* 沉默条件下,线虫表现出脂质沉积异常及氧化应激水平升高,这一结果与既往研究对SKN-1/Nrf2在代谢稳态及应激反应中作用的认识一致^[33, 34]。近年来研究表明,Nrf2不仅是抗氧化反应的核心调控因子,还可通过调节代谢相关基因参与能量稳态维持^[33]。此外,Nrf2通路还被证实可通过调控蛋白稳态及细胞应激反应参与神经退行性疾病进程。结合本研究结果可以推测, *skn-1* 可能在细胞内形成一个整合调控网络^[33],将氧化应激反应与代谢调控及蛋白稳态连接起来。当该通路被激活时,不仅ROS水平下降,同时脂质代谢及蛋白折叠环境得到改善,从而在多个层面发挥保护作用。与既往研究不同,本研究不仅仅关注单一抗氧化效应,而是从功能层面证明,XYS可同时改善氧化应激与脂质代谢紊乱,并且该效应依赖于SKN-1通路,提示其在氧化应激-代谢调控之间发挥桥梁作用。这种调控模式体现了中药复方在复杂疾病干预中的优势。这一特点也与单一靶点药物形成对比,后者往往仅作用于特定信号通路,而难以同时调控多种病理过程。

α -syn异常聚集是PD的重要病理特征,其形成与氧化应激及脂质代谢紊乱密切相关^[2, 35]。已有研究表明, α -syn聚集可破坏细胞内氧化还原稳态,并进一步诱导ROS生成,加剧神经毒性损伤^[2];同时,Nrf2通路的激活可促进 α -syn降解并改善蛋白稳态^[36]。本研究发现,XYS不仅能够显著降低 α -syn荧光强度,还可改善脂质稳态并恢复脂质相关荧光水平,这一结果与既往研究中关于 α -syn与脂质稳态改变的相关认识一致^[37]。不同于既往分别观察蛋白聚集或代谢变化的研究,本研究在同一模型中同时评估 α -syn及脂质代谢变化,从而揭示两者之间可能的协同关系。进一步研究表明,在 *skn-1* 沉默条件下,XYS对 α -syn调节作用完全消失,同时伴随脂质代谢异常加重。这一结果不同于既往将 *skn-1* 同源转录因子Nrf2主要视为抗氧化调控因子的观点,而是提示其在蛋白稳态与脂质代谢之间具有关键整合作用。已有研究指出, α -syn病理可激活Nrf2抗氧化反应,并伴随抗氧化基因表达改变,而本研究进一步提示该通路在调控蛋白聚集及代谢稳态中的功能意义。从机制角度来看,脂质代谢异常可改变细胞膜组成及脂质微环境,从而影响 α -syn的稳定性及聚集倾向^[38],而ROS则可加速该过程形成正反馈循环。因此,XYS可能通过激活SKN-1信号,在降低氧化应激水平的同时调节脂质代谢,从而在一定程度上干预ROS生成、脂质过氧化

及 α -syn聚集之间的相互作用。上述结果提示其可能通过多通路协同机制发挥神经保护作用。

综上所述,本研究证实XYS在线虫PD模型中具有显著神经保护作用,并与SKN-1的激活密切相关。通过降低ROS水平、改善脂质代谢及抑制 α -syn蛋白聚集,XYS在多个层面干预PD相关病理过程。与既往研究相比,本研究不仅从功能层面验证了其抗氧化作用,还进一步揭示其在蛋白稳态与代谢调控中的协同机制。然而,本研究仍存在一定局限性,如缺乏蛋白水平验证及活性成分-靶点直接互作证据。未来研究可结合多组学分析及哺乳动物模型验证,以进一步阐明其分子机制并推动临床转化应用。

Declaration of interests: The authors declare no competing interests.

参考文献:

- [1] Tanner CM, Ostrem JL. Parkinson's disease[J]. N Engl J Med, 2024, 391(5): 442-52.
- [2] Chen Y, Luo XX, Yin YK, et al. The interplay of iron, oxidative stress, and α -synuclein in Parkinson's disease progression[J]. Mol Med, 2025, 31(1): 154.
- [3] Blackwell TK, Steinbaugh MJ, Hourihan JM, et al. SKN-1/Nrf, stress responses, and aging in *Caenorhabditis elegans* [J]. Free Radic Biol Med, 2015, 88: 290-301.
- [4] Chen JB, Lei CF, Li XJ, et al. Research progress on classical traditional Chinese medicine formula Xiaoyaosan in the treatment of depression[J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 925514.
- [5] Liu XY, Yan YZ, Jiang AJ, et al. Xiaoyao San against depression via Glia-mediated neuroinflammation using network pharmacology and experimental validation[J]. Sci Rep, 2025, 15: 39708.
- [6] Wei YY, Lin WF, Zhang TH, et al. Effectiveness of traditional Chinese medicines as an adjunct therapy for refractory schizophrenia: a systematic review and meta analysis[J]. Sci Rep, 2018, 8: 6230.
- [7] Chen JX, Xu JK, Huang P, et al. The potential applications of traditional Chinese medicine in Parkinson's disease: a new opportunity[J]. Biomed Pharmacother, 2022, 149: 112866.
- [8] Zhang Y, Xu XM. Chinese herbal medicine in the treatment of depression in Parkinson's disease: from molecules to systems[J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 879459.
- [9] Xu Y, Chen WY, Chen ZR, et al. Mechanism of action of Xiaoyao San in treatment of ischemic stroke is related to anti-apoptosis and activation of PI3K/Akt pathway[J]. Drug Des Devel Ther, 2021, 15: 753-67.
- [10] Magalingam KB, Radhakrishnan A, Haleagrahara N. Protective effects of quercetin glycosides, rutin, and isoquercetrin against 6-hydroxydopamine (6-OHDA)-induced neurotoxicity in rat pheochromocytoma (PC-12) cells[J]. Int J Immunopathol Pharmacol, 2016, 29(1): 30-9.
- [11] Singh S, Kumar P. Piperine in combination with quercetin halt 6-OHDA induced neurodegeneration in experimental rats: Biochemical and neurochemical evidences[J]. Neurosci Res, 2018, 133: 38-47.

- [12] Hu K, Zhu SS, Wu FY, et al. Aureusidin ameliorates 6-OHDA-induced neurotoxicity via activating Nrf2/HO-1 signaling pathway and preventing mitochondria-dependent apoptosis pathway in SH-SY5Y cells and *Caenorhabditis elegans*[J]. Chem Biol Interact, 2024, 387: 110824.
- [13] Tamuli R, Mellick GD, Schirra HJ, et al. Mode of action of toxin 6-hydroxydopamine in SH-SY5Y using NMR metabolomics[J]. Molecules, 2025, 30(16): 3352.
- [14] Kimble J, Nüsslein-Volhard C. The great small organisms of developmental genetics: *Caenorhabditis elegans* and *Drosophila melanogaster*[J]. Dev Biol, 2022, 485: 93-122.
- [15] Ma JY, Li KL, Shi SL, et al. The application of UHPLC-HRMS for quality control of traditional Chinese medicine[J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 922488.
- [16] 陈周雯, 任雨敏, 唐 鲜, 等. 西南手参醇提物通过抗氧化途径延缓秀丽隐杆线虫衰老的机制[J]. 食品科学, 2026, 47(6): 214-25.
- [17] Offenburger SL, Ho XY, Tachie-Menson T, et al. 6-OHDA-induced dopaminergic neurodegeneration in *Caenorhabditis elegans* is promoted by the engulfment pathway and inhibited by the transthyretin-related protein TTR-33[J]. PLoS Genet, 2018, 14(1): e1007125.
- [18] Tsai RT, Tsai CW, Liu SP, et al. Maackiain ameliorates 6-hydroxydopamine and SNCA pathologies by modulating the PINK1/parkin pathway in models of Parkinson's disease in *Caenorhabditis elegans* and the SH-SY5Y cell line[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(12): 4455.
- [19] Palikaras K, SenGupta T, Nilsen H, et al. Assessment of dopaminergic neuron degeneration in a C. elegans model of Parkinson's disease[J]. STAR Protoc, 2022, 3(2): 101264.
- [20] Balkrishna A, Pathak N, Singh R, et al. Neurogrit gold attenuates 6-OHDA-induced dopaminergic neurodegeneration in Parkinson's model of *Caenorhabditis elegans* by reducing α -synuclein accumulation and pink/pdr-1 driven mitochondrial dysfunction[J]. CNS Neurosci Ther, 2025, 31(5): e70401.
- [21] Sawin ER, Ranganathan R, Horvitz HR. C. elegans locomotory rate is modulated by the environment through a dopaminergic pathway and by experience through a serotonergic pathway[J]. Neuron, 2000, 26(3): 619-31.
- [22] Picca A, Calvani R, Coelho-Junior HJ, et al. Mitochondrial dysfunction, oxidative stress, and neuroinflammation: intertwined roads to neurodegeneration[J]. Antioxidants, 2020, 9(8): 647.
- [23] Fu RH, Tsai CW, Liu SP, et al. Neuroprotective capability of narcissoside in 6-OHDA-exposed Parkinson's disease models through enhancing the MiR200a/nrf-2/GSH axis and mediating MAPK/Akt associated signaling pathway[J]. Antioxidants, 2022, 11(11): 2089.
- [24] Kwon TG, Kim YJ, Hong JY, et al. A review of antidepressant and anxiolytic effects of Soyo-San (Xiaoyao-San) and modified Soyo-San in animal models[J]. Phytomedicine, 2024, 135: 155387.
- [25] Bastien BL, Haury WR, Smisko WR, et al. Nlr-1/CNTNAP regulates dopamine circuit structure and foraging behaviors in C. elegans[J]. Commun Biol, 2024, 7: 1248.
- [26] Lee I, Knickerbocker AC, Depew CR, et al. Effect of altered production and storage of dopamine on development and behavior in C. elegans[J]. Front Toxicol, 2024, 6: 1374866.
- [27] Jeong H, Park JY, Lee JH, et al. Deficiency in RCAT-1 function causes dopamine metabolism related behavioral disorders in *Caenorhabditis elegans*[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(4): 2393.
- [28] Maulik M, Mitra S, Bult-Ito A, et al. Behavioral phenotyping and pathological indicators of Parkinson's disease in C. elegans models[J]. Front Genet, 2017, 8: 77.
- [29] Abidar S, Nhiri M, Hritcu L. Phytochemicals against the 6-hydroxydopamine-induced Parkinson's disease in rodents: a systematic review[J]. Next Res, 2025, 2(3): 100473.
- [30] Kim KH, Lee SY, Shin J, et al. Dose-dependent neuroprotective effect of standardized bee venom phospholipase a(2) against MPTP-induced Parkinson's disease in mice[J]. Front Aging Neurosci, 2019, 11: 80.
- [31] Liu XJ, Zheng ZJ, Xue C, et al. LRRK2 mediates α -synuclein-induced neuroinflammation and ferroptosis through the p62-Keap1-Nrf2 pathway in Parkinson's disease[J]. Inflammation, 2025, 48(5): 3666-91.
- [32] Chakraborty S, Bornhorst J, Nguyen TT, et al. Oxidative stress mechanisms underlying Parkinson's disease-associated neurodegeneration in C. elegans[J]. Int J Mol Sci, 2013, 14(11): 23103-28.
- [33] Phan HD, Nguyen TTM, Lee S, et al. The metabolic contribution of SKN-1/Nrf2 to the lifespan of *Caenorhabditis elegans*[J]. Metabolomics, 2023, 19(6): 58.
- [34] Pang SS, Lynn DA, Lo JY, et al. SKN-1 and Nrf2 couples proline catabolism with lipid metabolism during nutrient deprivation[J]. Nat Commun, 2014, 5: 5048.
- [35] Zhao CY, Tu J, Wang CC, et al. Lysophosphatidylcholine binds α -synuclein and prevents its pathological aggregation[J]. Natl Sci Rev, 2024, 11(6): nwae182.
- [36] Lastres-Becker I, Ulusoy A, Innamorato NG, et al. α -Synuclein expression and Nrf2 deficiency cooperate to aggravate protein aggregation, neuronal death and inflammation in early-stage Parkinson's disease[J]. Hum Mol Genet, 2012, 21(14): 3173-92.
- [37] Idi W, Sheta R, Oueslati A. Interplay between lipid droplets and alpha-synuclein: implication in Parkinson's disease pathogenesis[J]. Front Mol Neurosci, 2025, 18: 1681039.
- [38] Coles NP, Elsheikh S, Quesnel A, et al. Alpha-synuclein aggregation induces prominent cellular lipid changes as revealed by Raman spectroscopy and machine learning analysis[J]. Brain Commun, 2025, 7(2): fcfa133.

(编辑:余诗诗)