

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.21.003

α -核突触蛋白基因突变小鼠脑组织中内源性代谢产物的变化*

陈 宁¹ 隋云鹏¹ 张 亮² 曹屹东² 贾 栋² 魏明豪^{2Δ}

(1 首都医科大学附属北京天坛医院神经外科 北京 100050; 2 第四军医大学唐都医院神经外科 陕西 西安 710038)

摘要 目的:明确 α -核突触蛋白与帕金森病的病理生理相关性及其临床意义。**方法:**采用相色谱-质谱联用(UPLC-MS)检测野生型小鼠和基因突变型小鼠脑组织中内源性代谢产物,通过 mzcloud 法对小鼠脑组织中内源性代谢物质进行鉴定,将相应数据进行主成分分析(PCA)和聚类分析,分析其相关差异表达代谢物,并构建通路图和互作网络图。**结果:**(1)基于 LC/MS 法的代谢组分析结果显示两组间差异代谢物以氨基酸类及磷脂类等为主,包括 β -丙氨酸-L-组氨酸、L-精氨酸、L-组氨酸、L-亮氨酸、L-苯丙氨酸、L-缬氨酸、L-天门冬氨酸、L-丙氨酸、磷脂酰胆碱等;(2)构建的代谢通路主要涉及酮体的合成和降解、牛磺酸和亚牛磺酸代谢、丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢、精氨酸和脯氨酸代谢、组氨酸代谢、苯丙氨酸代谢、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的生物合成、甘油磷脂代谢等,从中发现 18 个具有标志性的代谢成分。**结论:** α -核突触蛋白基因突变后,酮体的合成和降解、牛磺酸和亚牛磺酸代谢、丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢、精氨酸和脯氨酸代谢、组氨酸代谢、苯丙氨酸代谢、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的生物合成、甘油磷脂代谢等代谢通路发生了变化,涉及 β -丙氨酸-L-组氨酸、L-精氨酸、L-组氨酸、L-亮氨酸、L-苯丙氨酸、L-缬氨酸、L-天门冬氨酸、L-丙氨酸、磷脂酰胆碱等的生物学标志性代谢产物变化。

关键词: α -突触核蛋白;基因突变;帕金森;代谢组学;标志性代谢产物

中图分类号:R-33;Q593.2;R742.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2019)21-4011-06

Changes of Endogenous Metabolites in Brain Tissues of Mice with Alpha - nuclear Synaptic Protein Gene Mutation*

CHEN Ning¹, SUI Yun-peng¹, ZHANG Liang², CAO Yi-dong², JIA Dong², WEI Ming-hao^{2Δ}

(1 Department of Neurosurgery, Beijing Tiantan Hospital, Capital Medical University, Beijing, 100050, China;

2 Department of Neurosurgery, Tangdu Hospital, Air Force Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710038, China)

ABSTRACT Objective: To clarify the pathophysiological correlation between alpha-nuclear synaptic protein and Parkinson's disease and its clinical significance. **Methods:** Chromatography - mass spectrometry (UPLC -ms) detection of wild type mice and endogenous metabolic product of gene mutant mice brain tissue by mzcloud endogenous metabolic substances identified in brain tissue in mice, the corresponding data of principal component analysis (PCA) and cluster analysis, analysis of the relevant differentially expressed metabolites, and construct the circuit diagram and interaction network diagram. **Results:** (1) the results of metabolism analysis based on LC/MS method showed that the metabolites between the two groups were mainly amino acids and phospholipids, including beta-alanyl-histidine, l-arginine, l-histidine, l-leucine, l-phenylalanine, l-valine, l-aspartic acid, l-alanine, phospholipid choline, etc. (2) build the metabolic pathways of mainly relates to the synthesis and degradation of ketone body, taurine and the metabolism of taurine, alanine, glutamic acid and aspartic acid metabolism, arginine and proline metabolism, histidine metabolism, phenylalanine metabolism, valine, leucine and isoleucine biosynthesis, glycerol phospholipid metabolism, etc., find 18 landmark metabolic components. **Conclusion:** after alpha nuclear synaptic protein gene mutations, ketone body of synthesis and degradation, taurine and the metabolism of taurine, alanine, glutamic acid and aspartic acid metabolism, arginine and proline metabolism, histidine metabolism, phenylalanine metabolism, valine, leucine and isoleucine biosynthesis and glycerol phospholipid metabolism in the changes of metabolic pathways, involved in beta - propylene ammonia acyl - L - histidine, L - arginine, L - histidine, L leucine, L - phenylalanine, L - valine, L - aspartate, L - alanine, phosphatidyl choline etc. Change the biological signature of metabolites.

Key words: Alpha-synuclein; gene mutant; Parkinson's disease; Metabolomics; Biologically metabolic marker

Chinese Library Classification(CLC): R-33; Q593.2; R742.5 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2019)21-4011-06

前言

α -核突触蛋白(α -Synuclein)是一种表达在中枢神经系统突触前及核周的可溶性蛋白质,在正常的生理状态下是由 140

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81701251)

作者简介:陈宁(1985-),博士,医师,研究方向:功能神经外科,电话:13691265596, E-mail: Q13691265596@163.com

Δ 通讯作者:魏明豪(1983-),硕士,研究方向:主治医师,神经外科,电话:13991810596, E-mail: 13991810596@139.com

(收稿日期:2019-06-27 接受日期:2019-07-21)

个氨基酸组成的天然的未折叠的蛋白质^[1]。帕金森病(Parkinson disease, PD)是一种常见的中枢神经系统退行性疾病,其确切的病理生理机制仍未明确^[2,3]。近年来,相关研究显示 α -核突触蛋白基因(SNCA)突变可能会导致家族型帕金森病的发生,其产生的毒性作用通过一系列反应最终会引起多巴胺神经元的凋亡^[4,5],提示 α -核突触蛋白可能与帕金森病的发生发展相关^[1,6-10],但其确切的分子机制至今仍未完全揭示。

代谢组学是近年来继基因组学和蛋白组学之后发展的一门新型学科,是从宏观的角度分析一个生物系统中相对分子质量 1000 以内的小分子物质,通过研究其内源性代谢产物的变化,从活性、功能、表达等多个层面逆向推理机体内发生生物学变化的特定分子^[11-14]。因此,代谢组学可单次同时系统的挖掘生物体内变化的生物分子或其相关的分子调控网络。中脑是帕金森病中发生病理改变引起相关症状的关键部位^[15,16]。因此,本研究以代谢组为研究工具,通过比较野生型和转基因小鼠中脑组织内的代谢产物的变化,寻找与这些产物相关的调控通路和生物分子网络,旨在进一步明确 α -核突触蛋白的生理功能和病理意义,为临床上诊断和治疗 α -核突触蛋白相关性疾病提供新的参考依据。

1 材料与方法

1.1 仪器和试剂

DIONEX Ultimate 3000 超高效液相色谱仪, Thermo Q EXACTIVE 质谱仪, 色谱柱: Thermo Synchronis C18 (1.7 μ m, 2.1 $\times$ 100 mm), Milli-Q Advantage A10 型超纯水仪(美国 Millipore 公司), KQ-250 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。甲醇, 乙腈, 甲酸均为色谱级(Thermo Fisher), -80℃ 冰箱(Thermo 公司)离心机(Sigma)、电子天平(METTLER TOLEDO)。醋酸纤维素钠(购于国药集团)。

1.2 动物

Pmp-SNCA A53T 雄性纯合转基因(TG)小鼠购自南京大学模式动物研究所,首都医科大学实验动物中心按照 SPF 级别饲养,同时以相应月龄的通窝雄性野生型(WT)小鼠为对照。以上动物均适应性饲养 1 周后进行正式试验。每次实验前动物先在超净台适应 1h。

1.3 方法

1.3.1 动物分组与给药 随机取 10 只野生型小鼠以及 10 只转基因小鼠,分别为 A:WT 组、B: TG 组,均常规喂养,自由饮水。取中脑组织用生理盐水清洗,滤纸擦干称重,置于 -80℃ 冰箱保存备用。

1.3.2 样品采集和处理 采用甲醇:乙腈(1:1)有机溶剂沉淀蛋白法,在中脑组织中加入 10 倍甲醇匀浆 3 min,匀浆液取出 100 μ L 加入甲醇:乙腈(1:1)有机溶剂沉淀蛋白,涡旋 30s,在 4℃ 条件下离心 15 min (13000 $r \cdot min^{-1}$),取上清液直接进样分析。

1.3.3 液相色谱 (UPLC) 条件 仪器名称:DIONEX Ultimate 3000 超高效液相色谱仪,色谱柱: Thermo Synchronis C18 1.7 μ m, 2.1 $\times$ 100 mm。液相条件:A:水(含 0.1%甲酸及 2 mmol/L 甲酸铵),D:乙腈;梯度洗脱,分析时间 0-35 min,进样量 10 μ L,流速 0.3 mL/min。流动相梯度见表 1。

表 1 梯度条件

Table 1 Gradient Conditions

Time(min)	A(%)	D(%)
0	95	5
1.00	95	5
16	5	100
16.01	5	100
18	95	5

1.4 质谱(MS/MS2)条件

仪器名称: Thermo Q EXACTIVE, 离子源: ESI(-); 监测模式: 一级全扫描 (Full scan), 二级数据依赖性扫描 (Full MS/dd-MS2); 离子源参数: ESI(-); 喷雾电压: 2800 V; 蒸发温度: 350℃; 化合物参数: 一级全扫描 (Full scan): 分辨率: 70000; 二级数据依赖性扫描 (Full MS/dd-MS2): 分辨率: 35000。

1.5 质量控制

选择 1:1 的混合溶液的乙腈 / 甲醇进行除蛋白, 以确保尽可能多的代谢产物都溶解。取各组混合样品, 除杂, 离心, 取上清 200 μ L, 进样, 每 5 针, 平行进一针作为质量控制, 以考察仪器的稳定性, 重复性及样品的稳定性。

1.6 数据处理及分析

数据采用 mzcloud 对小鼠中脑组织内源性代谢物质进行鉴定, 利用分子式和分子量确定内源性物质, 同时在 Trace Finder 软件进行自建内源性物质, Metlin, HMDB 及 KEGG 数据库中进行检索和确认。采用 Metaboanalyst 4.0 进行主成分分析 (PCA) 和偏最小二乘判别分析 (PLSDA) 及正交偏最小二乘判别分析 (Analysis OPLS-DA) 和拓扑分析, 使用 R 统计软件包进行分析 $R \times 64$ 3.2.4 进行高通量代谢通路分析。最后用 Cytoscape 及 metsape 和 MCODE 插件绘制内源性物质网络图模块化分析。

2 结果

2.1 两组样本 UPLC-MS 数据模式的 PLS-DA 和 OPLS-DA 识别

采用 PLS-DA 和 Orthogonal PLS-DA 分析方法将 WT 组和 TG 组中脑组织代谢组学数据进行分析, 结果见图 1。由图 1 可知, 两组样本之间的样本点相分离, 且同一组内各样本点在一定范围内聚集较好, 提示两组之间的代谢产物和代谢特征具有明显的差异。

2.2 中脑组织样品中的差异代谢物

采用上述方法得到一个 20 样本 $\times$ 495 变量的数据矩阵。在 PLS-DA 模型中, 提取 VIP 值最大的前 66 个变量 (VIP 值大于 1.0), 这 66 个变量的载荷矩阵图距原点比较大的距离。对这 66 个变量进行手动积分及非参数检验, 通过对目标变量进行手动积分, 并综合 VIP 值、非参数检验和 ROC 曲线的精密度 (>0.5) 来筛选差异代谢物, 确定 42 个变量为代谢标志物。结果见表 2、表 3。其中, 表 2 为上调差异代谢物, 表 3 为下调差异代谢物。

2.3 中脑组织中差异代谢物的代谢通路分析

将选择代谢通路影响值的临界设置为 0.10, 高于这个值, 认为与潜在的靶标路径关系密切。结果显示, 酮体的合成和降

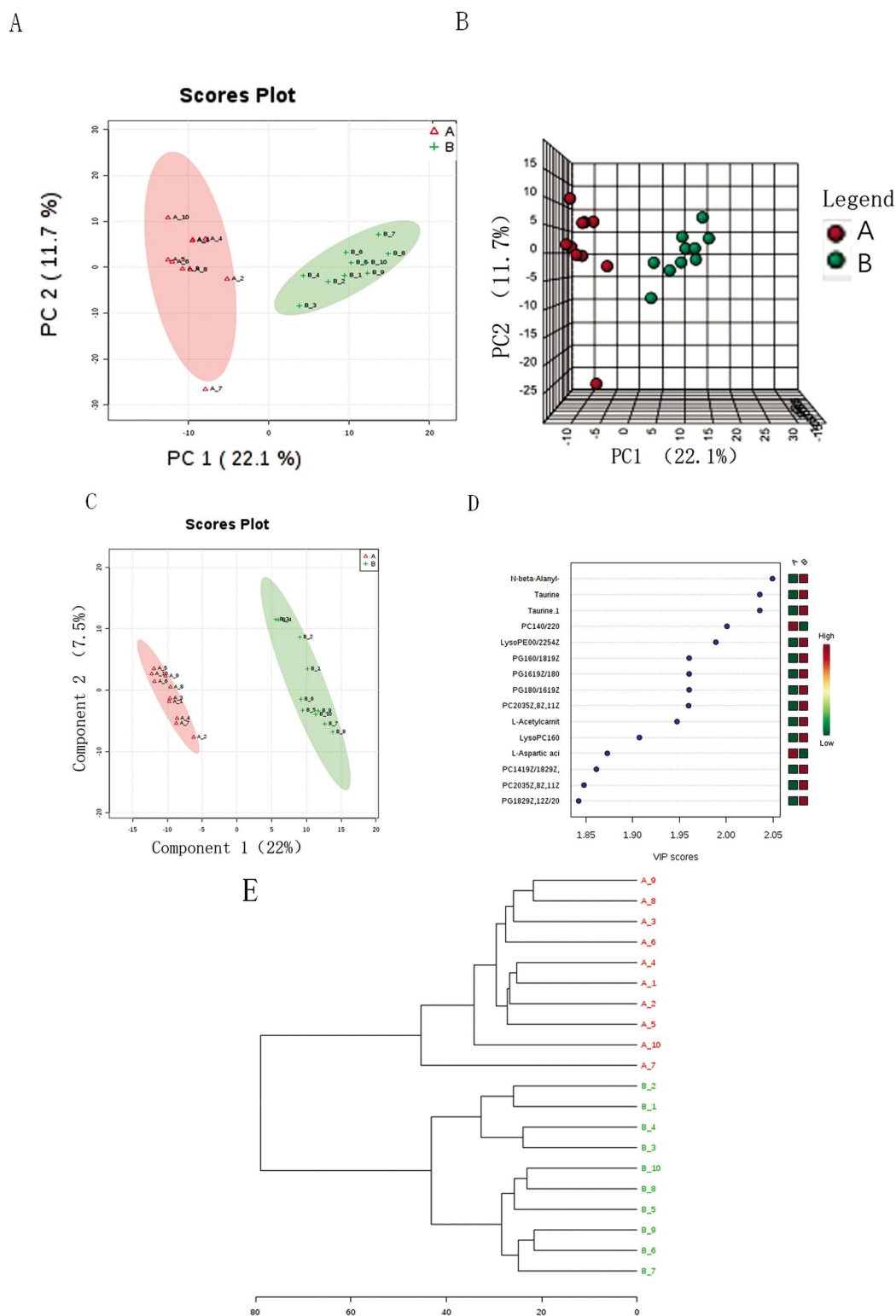


图1 WT组和TG组小鼠中脑组织样本PCA和聚类分析

注: (A) 小鼠中脑组织 PLS-DA 得分图; (B) 小鼠中脑组织 PLS-DA-3D 得分图; (C) 小鼠中脑组织 OPLS-DA 得分图; (D) PLS-DA 鉴定的中脑组织内源性变量的重要特征, 右边的染色框表示 WT 组和 TG 组中相应代谢物的相对浓度; (E) 对 WT 组和 TG 组进行聚类分析

Fig.1 PCA and cluster analysis of midbrain tissue samples from WT and TG group

Note: (A) PLS-DA Score Map of Mouse Midbrain Tissue; (B) PLS-DA-3D Score Map of Mouse Midbrain Tissue; (C) OPLS-DA Score Map of Mouse Midbrain Tissue; (D) Significant Characteristics of Endogenous Variables in Midbrain Tissue Identified by PLS-DA. The right dye box indicates the relative concentration of corresponding metabolites in WT and TG groups; (E) Aggregation of WT and TG groups.

解、牛磺酸和亚牛磺酸代谢、丙氨酸, 天冬氨酸和谷氨酸代谢、精氨酸和脯氨酸代谢、组氨酸代谢、苯丙氨酸代谢、缬氨酸, 亮氨酸和异亮氨酸的生物合成、甘油磷脂代谢影响值大于 0.10,

提示PLS-DA 所筛选出的差异代谢物与这几个代谢途径有密切的相关性, 进一步说明 α -核突触蛋白基因突变后引起的小鼠的病理变化与这些代谢途径有密切的关系(表 4、图 2)。

表 2 上调的潜在生物标志物的相对含量
Table 2 Relative content of up-regulated potential biomarkers

Metabolites	WT	TG	Fold
N-beta-Alanyl-L-histidine	0.33± 0.46	4.60± 5.54**	12.90↑
L-Arginine	0.41± 0.82	1.12± 1.02**	2.54↑
Taurine	1.16± 0.32	2.76± 0.51**	2.24↑
4-Hydroxyproline	0.86± 0.56	2.31± 1.40**	2.48↑
PG(16:0/18:1(9Z))	1.33± 0.34	10.27± 2.99**	6.80↑
5-Amino-2-oxopentanoate	0.86± 0.56	2.31± 1.40**	2.48↑
7,10,13,16-Docosatetraenoic acid	0.98± 0.54	2.35± 1.05**	2.33↑
4-D-Hydroxysphinganine	2.82± 0.66	6.43± 0.96**	2.22↑
D-Sorbitol	0.18± 0.38	2.43± 9.04**	12.89↑
LysoPC(16:0)	1.92± 0.42	5.04± 0.79**	2.50↑
LysoPC(18:0)	1.28± 0.43	2.47± 0.61**	1.85↑
LysoPC(18:3(6Z,9Z,12Z))	1.45± 0.44	3.15± 0.56**	2.07↑
LysoPC(20:4(8Z,11Z,14Z,17Z))	3.90± 0.42	8.47± 0.63**	2.08↑
PC(14:0/22:5(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z))	0.31± 0.79	1.32± 2.26**	3.92↑
PC(14:1(9Z)/20:0)	5.27± 0.16	6.87± 0.30*	1.27↑
PC(16:1(9Z)/22:5 (7Z,10Z,13Z,16Z,19Z))	2.72± 0.37	4.87± 0.59**	1.73↑
PC(18:0/20:4(8Z,11Z,14Z,17Z))	5.34± 0.28	8.27± 0.42**	1.51↑
PC(18:1(9Z)/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z))	1.52± 0.21	2.81± 0.58**	1.80↑
PC(18:3(6Z,9Z,12Z)/16:0)	3.83± 0.57	9.40± 0.74**	2.35↑
PC(20:3(5Z,8Z,11Z)/20:3 (5Z,8Z,11Z))	1.36± 0.34	12.18± 4.40**	8.60↑
PG(16:1(9Z)/18:0)	1.33± 0.34	10.27± 2.99**	6.80↑
PG(18:0/16:1(9Z))	1.33± 0.34	10.27± 2.99**	6.80↑
PG(18:1(11Z)/18:1(11Z))	0.57± 0.25	2.40± 2.72**	4.08↑
SM(d18:0/18:1(11Z))	7.88± 0.39	10.55± 0.32*	1.32↑

注:与 WT 组相比 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;比率 =TG 组 /WT 组。

Note: Compared with WT group * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; ratio = TG group / WT grou.

3 讨论

α -核突触蛋白(α -Synuclein)是一种表达在中枢神经系统突触前及核周,在正常生理状态下以天然未折叠的可溶性蛋白质形式存在^[17]。既往研究报道 α -核突触蛋白基因突变可能会导致家族型帕金森病(Parkinson disease, PD)的发生,主要是由于其产生的毒性作用通过一系列反应最终会引起多巴胺神经元的凋亡^[18-20],进而引起帕金森疾病的发生。但是鉴于机体生物分子网络之间关系复杂性, α -核突触蛋白的变异会引起生物体内多个生物靶点以及这些靶点相关联的组织器官的功能变化。因此,明确 α -核突触蛋白相关靶点所构成的生物分子网络有助于我们全面解析其在生物体内的生理功能,为我们提供利用该分子靶点构建机制明确的病理模型或开发针对该靶点治疗的有效药物。

代谢组学是近几年继基因组学和蛋白组学之后发展起来

的对生物体内源性小分子物质及其动态变化规律的进行检测分析的一门新兴技术。其主要是研究特定的生物体受到干预之后产生的内源性代谢产物变化,并对代谢循环情况的关键化合物进行定性和定量分析,进而明确该生物系统中所有组成成分的构成及其在特定条件下之间的相互关系^[13,14]。目前常用的分离分析技术手段包括液相联用、质谱气相色谱、核磁共振技术及质谱联用液相色谱。本研究利用液质联用技术,以中脑组织为研究对象,对 α -核突触蛋白基因突变的模式动物小鼠的内源性代谢产物进行了检测,采用主成分、聚类分析等化学计量学方法进行了深入挖掘。

研究结果显示 α -核突触蛋白基因突变后,酮体的合成和降解、牛磺酸和亚牛磺酸代谢、丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢、精氨酸和脯氨酸代谢、组氨酸代谢、苯丙氨酸代谢、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的生物合成、甘油磷脂代谢等代谢通路受到了显著影响,其中涉及 β -丙氨酸-L-组氨酸、L-精氨酸、L-组

表 3 下调的潜在生物标志物的相对含量
Table 3 Relative content of down-regulated potential biomarkers

Metabolites	WT	TG	Fold
L-Alanine	6.34± 0.30	4.54± 0.20*	0.75↓
L-Aspartic acid	2.89± 0.15	1.82± 0.16**	0.67↓
L-Histidine	3.54± 0.30	1.81± 0.15**	0.55↓
L-Leucine	9.80± 0.35	5.92± 0.14**	0.64↓
L-Phenylalanine	6.85± 0.37	3.42± 0.19**	0.55↓
L-Valine	1.05± 0.33	0.48± 0.18**	0.51↓
Cytosine	2.54± 0.38	0.92± 0.33**	0.43↓
Allopurinol	6.08± 0.19	4.75± 0.14*	0.80↓
Hypoxanthine	6.08± 0.19	4.75± 0.14*	0.80↓
Succinic acid	3.01± 0.40	1.38± 0.47**	0.54↓
Creatinine	4.10± 0.31	2.42± 0.36**	0.66↓
Methylmalonic acid	3.01± 0.40	1.38± 0.47**	0.54↓
Malic acid	5.99± 0.37	4.00± 0.16*	0.70↓
Acetoacetic acid	3.01± 0.41	1.38± 0.47**	0.54↓
3-Hydroxy-3-methyl-2-oxobutanoate	4.39± 0.31	2.73± 0.37*	0.68↓
PC(14:0/22:0)	3.06± 0.33	0.08± 0.28**	0.12↓

表 4 构建的分析通路(Impact>0.10)
Table 4 Constructed analytical pathway (Impact >0.10)

Metabolic Pathway	Total metabolites	Number of related metabolites	Related metabolites	Effect
Synthesis and de-seission of ketones	6	1	Acetyl acid	0.7
Taurineand ubourant metabolism	20	2	L-Alanine, taurine	0.4
Aspartain, temporinine and glutamate metabolism	24	4	N-acetyl-L-winterine, L-tianmen winterine, L-alanine, amber acid	0.3
Argine and proline metabolism	77	5	Creatine, L-arginine, L-winterine, hydroxyproline, 5-amino-2-oxrylic acid	0.2
Hetine metabolism	44	3	L-hetine,carnosine,L-tianmenwinterine	0.1
Phenylalaine Metabolism	45	2	L-phenylalanine, succinic acid	0.1
Biosynthesis of proline, leucine and isolunine	27	3	3-Hydroxy-3-methyl-2-oxybutyric acid, L-leucine, L-proline	0.1
Glycerin phospholipid metabolism	39	2	LysoPC(18:1(9Z)),phospholipid metabolism	0.1

氨酸、L-亮氨酸、L-苯丙氨酸、L-缬氨酸、L-天门冬氨酸、L-丙氨酸、磷脂酰胆碱等标志性代谢产物的生物学变化。转基因小鼠的中脑组织中多种磷脂酰胆碱及溶血性磷脂酰胆碱均有明显升高。结合 α -synuclein 在中枢神经系统中脂质转运过程中起到的重要作用^[21,22], 磷脂酰胆碱及溶血性磷脂酰胆碱的升高可能与脂质转运障碍有关, 从而影响神经元的正常功能。脂肪酸氧化异常也同样出现在一些其他的神经精神疾病中, 而在帕金森病患者的尿液样本中则同样存在脂肪酸 β 氧化及氨基酸代谢异常^[23]。一项纳入 575 例人血液样本及 383 例人脑脊液样

本的代谢组学研究显示中和长链脂肪酸的代谢变化与帕金森病进展相关^[24]。此外, 帕金森病中常并发的认知障碍也与脂肪酸氧化异常有关^[25]。有学者总结了帕金森病相关的代谢组学研究, 发现脂肪酸以及氨基酸代谢异常为帕金森病代谢变化的主要特征^[26]。一项针对北印度帕金森病患者的代谢组学研究报道显示有一定神经毒性的支链氨基酸含量有所上升^[27]。

在血浆中, 除了脂类代谢, 尚有糖和氨基酸代谢异常, 以及胆汁酸的生物合成异常^[28]。而一项关于脑脊液的帕金森病研究则同样提示帕金森病的发病机制与脂肪酸代谢以及能量代谢

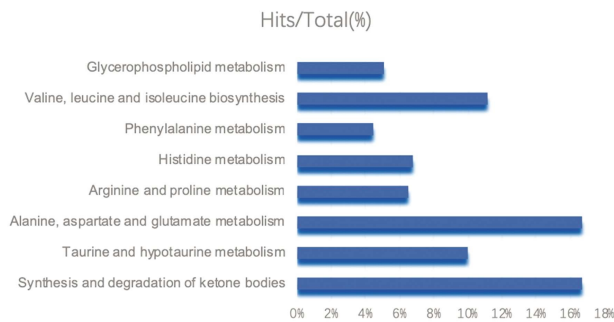


图2 重要内源性物质对代谢通路影响的贡献率

Fig. 2 The contribution rate of important endogenous substances to metabolic pathways

有关。在另一项基于基因突变的 PARK2 模型中也得出了类似的结果,脂肪酸亦有所增加^[29]。最近的一项研究表明,在 ohda 诱发的帕金森模型中,饱和脂肪酸有所增加^[30]。此外,多种氨基酸含量均有所减少,说明转基因小鼠模型中亦存在一定程度的氨基酸代谢障碍,很多较为基本的生物学过程可能会从根本上受到影响。

总之,本研究结果提示在转基因小鼠的中,脑组织中存在如氨基酸和脂质等的代谢异常,并可从根本上影响各种生物过程,且帕金森为全身性疾病,相关的代谢障碍也可出现于身体的其他部位。本研究首次明确了小鼠 α -核突触蛋白基因突变对于中脑组织代谢的影响,对于进一步明确帕金森病的病理机制具有一定的参考意义。

参考文献(References)

- [1] 魏文石,任文磊. 帕金森病 α 突触核蛋白的研究现状及展望 [J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2019, 21(02): 113-114
- [2] Wang C, Ma Z, Yan D Y, et al. Alpha-Synuclein and Calpains Disrupt SNARE-Mediated Synaptic Vesicle Fusion During Manganese Exposure in SH-SY5Y Cells[J]. Cells, 2018, 7(12): E258
- [3] White A J, Wijeyekoon R S, Scott K M, et al. The Peripheral Inflammatory Response to Alpha-Synuclein and Endotoxin in Parkinson's Disease[J]. Front Neurol, 2018, 9: 946
- [4] Zhang G, Xia Y, Wan F, et al. New Perspectives on Roles of Alpha-Synuclein in Parkinson's Disease [J]. Front Aging Neurosci, 2018, 10: 370
- [5] Prots I, Grosch J, Brazdis R M, et al. alpha-Synuclein oligomers induce early axonal dysfunction in human iPSC-based models of synucleinopathies [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2018, 115(30): 7813-7818
- [6] 田小军,郝洁,邢红霞,等. SNCA 基因多态性与 PD 患者发病和临床特征的相关性分析[J]. 实验与检验医学, 2018, 36(02): 159-161
- [7] 龙汉春,彭国光,周长青,等. 少数民族帕金森病患者 α -突触核蛋白和 PARK 基因突变与多态性的研究 [J]. 中国地方病防治杂志, 2016, 31(01): 22-24
- [8] 白小燕,王萍,付永旺,等. 不同 Hoehn-Yahr 分期 α -突触核蛋白基因 RS3831458 多态性与帕金森病的关系 [J]. 临床神经病学杂志, 2015, 28(04): 284-286
- [9] 焦淑洁,刘亚玲,朱红灿,等. 脑脊液 α -突触核蛋白和 SWI 在早期帕金森病诊断中的价值[J]. 中国实用神经病学杂志, 2019, 22(03):

246-252

- [10] 洪梅,黄梦阳,江红,等. α -突触核蛋白寡聚体经氧化应激途径致帕金森病小鼠模型多巴胺能神经元损伤[J]. 神经损伤与功能重建, 2019, 14(02): 61-64
- [11] Hussein M, Han M L, Zhu Y, et al. Mechanistic Insights From Global Metabolomics Studies into Synergistic Bactericidal Effect of a Polymyxin B Combination With Tamoxifen Against Cystic Fibrosis MDR Pseudomonas aeruginosa[J]. Comput Struct Biotechnol J, 2018, 16: 587-599
- [12] Gomes R, Gebrim E. Metabolomics of thyroid nodules and the future [J]. Arch Endocrinol Metab, 2018, 62(5): 493-494
- [13] Verhoeven A, Giera M, Mayboroda O A. KIMBLE: A versatile visual NMR metabolomics workbench in KNIME [J]. Anal Chim Acta, 2018, 1044: 66-76
- [14] Celebier M, Ibanez C, Simo C, et al. A Foodomics Approach: CE-MS for Comparative Metabolomics of Colon Cancer Cells Treated with Dietary Polyphenols[J]. Methods Mol Biol, 2019, 1855: 303-313
- [15] 刘学玲,鲁佳荧,李郁欣,等. 帕金森病患者黑质在磁共振成像中表现的研究进展[J]. 中国临床神经科学, 2019, 27(01): 98-104
- [16] 崔亚欢,陈乃耀. 帕金森病的发病机制研究[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2019, 21(01): 106-110
- [17] Stopschinski B E, Holmes B B, Miller G M, et al. Specific glycosaminoglycan chain length and sulfation patterns are required for cell uptake of tau versus alpha-synuclein and beta-amyloid aggregates[J]. J Biol Chem, 2018, 293(27): 10826-10840
- [18] Iljina M, Dear A J, Garcia G A, et al. Quantifying Co-Oligomer Formation by alpha-Synuclein [J]. ACS Nano, 2018, 12 (11): 10855-10866
- [19] Larson M E, Greimel S J, Amar F, et al. Selective lowering of synapsins induced by oligomeric alpha-synuclein exacerbates memory deficits[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2017, 114(23): E4648- E4657
- [20] Iwasaki Y, Deguchi A, Mori K, et al. Autopsied centenarian case of Alzheimer's disease combined with hippocampal sclerosis, TDP-43, and alpha-synuclein pathologies [J]. Neuropathology, 2018,38 (6): 653-659
- [21] Perez-Villalba A, Sirerol-Piquer M S, Belenguer G, et al. Synaptic Regulator alpha-Synuclein in Dopaminergic Fibers Is Essentially Required for the Maintenance of Subependymal Neural Stem Cells[J]. J Neurosci, 2018, 38(4): 814-825
- [22] Sharon R, Goldberg M S, Bar-Josef I, et al. alpha-Synuclein occurs in lipid-rich high molecular weight complexes, binds fatty acids, and shows homology to the fatty acid-binding proteins[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2001, 98(16): 9110-9115
- [23] Quinones M P, Kaddurah-Daouk R. Metabolomics tools for identifying biomarkers for neuropsychiatric diseases [J]. Neurobiol Dis, 2009, 35(2): 165-176
- [24] LeWitt P A, Li J, Lu M, et al. Metabolomic biomarkers as strong correlates of Parkinson disease progression [J]. Neurology, 2017, 88 (9): 862-869
- [25] Burte F, Houghton D, Lowes H, et al. metabolic profiling of Parkinson's disease and mild cognitive impairment [J]. Mov Disord, 2017, 32(6): 927-932

(下转第 4025 页)

- come[J]. *Endocrinology*, 2018, 159(4): 1718-1733
- [10] Kleinridders A, Pothos EN. Impact of Brain Insulin Signaling on Dopamine Function, Food Intake, Reward, and Emotional Behavior [J]. *Curr Nutr Rep*, 2019, 8(2): 83-91
- [11] Unniappan S, McIntosh CH, Demuth HU, et al. Effects of dipeptidyl peptidase IV on the satiety actions of peptide YY [J]. *Diabetologia*, 2006, 49(8): 1915-1923
- [12] Unniappan S, Kieffer TJ. Leptin extends the anorectic effects of chronic PYY (3-36) administration in ad libitum-fed rats [J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2008, 295(1): R51-58
- [13] Sloth B, Holst JJ, Flint A, et al. Effects of PYY1-36 and PYY3-36 on appetite, energy intake, energy expenditure, glucose and fat metabolism in obese and lean subjects [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2007, 292(4): E1062-1068
- [14] Stergaard S, Kofoed J, Paulsson JF, et al. Design of Y2 Receptor Selective and Proteolytically Stable PYY3-36 Analogues [J]. *J Med Chem*, 2018, 61(23): 10519-10530
- [15] Witte AB, Grybäck P, Holst JJ, et al. Differential effect of PYY1-36 and PYY3-36 on gastric emptying in man [J]. *Regul Pept*, 2009, 158(1-3): 57-62
- [16] Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{-ΔΔC_T} Method[J]. *Methods*, 2001, 25(4): 402-408
- [17] Stanley S, Wynne K, McGowan B, et al. Hormonal regulation of food intake[J]. *Physiol Rev*, 2005, 85(4): 1131-1158
- [18] Blundell JE, Gibbons C, Caudwell P, et al. Appetite control and energy balance: impact of exercise[J]. *Obes Rev*, 2015, 16(1): 67-76
- [19] Holliday A, Blannin A. Appetite, food intake and gut hormone responses to intense aerobic exercise of different duration [J]. *J Endocrinol*, 2017, 235(3): 193-205
- [20] Reidelberger R, Haver A, Anders K, et al. Role of capsaicin-sensitive peripheral sensory neurons in anorexic responses to intravenous infusions of cholecystokinin, peptide YY- (3-36), and glucagon-like peptide-1 in rats [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2014, 307(8): E619-629
- [21] Rangwala SM, D'Aquino K, Zhang YM, et al. A Long-Acting PYY3-36 Analog Mediates Robust Anorectic Efficacy with Minimal Emesis in Nonhuman Primates[J]. *Cell Metab*, 2019, 29(4): 837-843
- [22] Franco-Sena AB, de Oliveira LC, de Jesus Pereira Pinto T. Factors associated with prospective leptin concentrations throughout pregnancy in pregestational normal weight, overweight and obese women[J]. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2015, 82(1): 127-135
- [23] Kassis A, Godin JP, Moille SE, et al. Effects of protein quantity and type on diet induced thermogenesis in overweight adults: A randomized controlled trial[J]. *Clin Nutr*, 2019, 38(4): 1570-1580
- [24] Pellonperä O, Koivuniemi E, Vahlberg T, et al. Dietary quality influences body composition in overweight and obese pregnant women[J]. *Clin Nutr*, 2019, 38(4): 1613-1619
- [25] Haghiac M, Basu S, Presley L, et al. Patterns of adiponectin expression in term pregnancy: impact of obesity [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2014, 99(9): 3427-3434
- [26] Zhang L, Lee NJ, Nguyen, et al. Additive actions of the cannabinoid and neuropeptide Y systems on adiposity and lipid oxidation [J]. *Diabetes Obes. Metab*, 2010, 12(7): 591-603
- [27] Cheng HL, Sainsbury A, Garden F, et al. Ghrelin and Peptide YY Change During Puberty: Relationships With Adolescent Growth, Development, and Obesity [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2018, 103(8): 2851-2860
- [28] Halaas JL, Gajiwala KS, Maffei M, et al. Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene [J]. *Science*, 1995, 269(5223): 543-546
- [29] Rahat-Rozenbloom S, Fernandes J, Cheng J, et al. Acute increases in serum colonic short-chain fatty acids elicited by inulin do not increase GLP-1 or PYY responses but may reduce ghrelin in lean and overweight humans[J]. *Eur J Clin Nutr*, 2017, 71(8): 953-958
- [30] Dardzińska JA, Kaska Ł, Wiśniewski P, et al. Fasting and post-prandial peptide YY levels in obese patients before and after mini versus Roux-en-Y gastric bypass[J]. *Minerva Chir*, 2017, 72(1): 24-30
- [31] Burcelin R. When gut fermentation controls satiety: A PYY story[J]. *Mol Metab*, 2016, 21: 6(1): 10-11
- [32] Berg AH, Combs TP, Du X, et al. The adipocyte-secreted protein Acrp30 enhances hepatic insulin action [J]. *Nat Med*, 2001, 7(8): 947-953
- [33] Fruebis J, Tsao TS, Javorschi S, et al. Proteolytic cleavage product of 30-kDa adipocyte complement-related protein increases fatty acid oxidation in muscle and causes weight loss in mice [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001, 98(4): 2005-2010
- [34] Kang SJ, Kim JH, Gang Z, et al. Effects of 12-week circuit exercise program on obesity index, appetite regulating hormones, and insulin resistance in middle-aged obese females[J]. *J Phys Ther Sci*, 2018, 30(1): 169-173
- [35] Lowell BB, V SS, Hamann A, et al. Development of obesity in transgenic mice after genetic ablation of brown adipose tissue [J]. *Nature*, 1993, 366(6457): 740-742

(上接第 4016 页)

- [26] Havelund J F, Heegaard N, Faergeman N, et al. Biomarker Research in Parkinson's Disease Using Metabolite Profiling [J]. *Metabolites*, 2017, 7(3): E42
- [27] G. Nagesh Babua M G V K, Royb R. Serum metabolomics study in a group of Parkinson's disease patients from northern India [J]. *Clinica Chimica Acta*, 2018, 480: 214-219
- [28] Zhao H, Wang C, Zhao N, et al. Potential biomarkers of Parkinson's disease revealed by plasma metabolic profiling [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2018, 1081-1082: 101-108
- [29] Okuzumi A, Hatano T, Ueno S I, et al. Metabolomics-based identification of metabolic alterations in PARK2 [J]. *Ann Clin Transl Neurol*, 2019, 6(3): 525-536
- [30] Willkommen D, Lucio M, Moritz F, et al. Metabolomic investigations in cerebrospinal fluid of Parkinson's disease [J]. *PLoS One*, 2018, 13(12): e208752