

- cell - mediated killing: relevance to vitiligo [J]. *J Invest Dermatol*, 2005, 124(4): 798 - 806
- 14 Singh M, Mansuri MS, Kadam A, *et al.* Tumor Necrosis Factor - alpha affects melanocyte survival and melanin synthesis via multiple pathways in vitiligo [J]. *Cytokine*, 2021, 140: 155432
- 15 Kim NH, Torchia D, Rouhani P, *et al.* Tumor necrosis factor - α in vitiligo: direct correlation between tissue levels and clinical parameters [J]. *Cutan Ocul Toxicol*, 2011, 30(3): 225 - 227
- 16 Bae JM, Kim M, Lee HH, *et al.* Increased risk of vitiligo following anti - tumor necrosis factor therapy: a 10 - year population - based cohort study [J]. *J Invest Dermatol*, 2018, 138(4): 768 - 774
- 17 Karolina PA, Jean - Philippe B, Lynda B, *et al.* Cross - regulation of TNF and IFN - alpha in autoimmune diseases [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102(9): 3372 - 3377
- 18 Hirobe T, Furuya R, Ifuku O, *et al.* Granulocyte - macrophage colony - stimulating factor is a keratinocyte - derived factor involved in regulating the proliferation and differentiation of neonatal mouse epidermal melanocytes in culture [J]. *Exp Cell Res*, 2004, 297(2): 593 - 606
- 19 Wu XG, Hong WS, Xu A. GM - CSF: a possible prognostic serum biomarker of vitiligo patients' considered for transplantation treatment with cultured autologous melanocytes: a pilot study [J]. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2016, 30(8): 1409 - 1411
- 20 Imran M, Laddha NC, Dwivedi M, *et al.* Interleukin - 4 genetic variants correlate with its transcript and protein levels in patients with vitiligo [J]. *Br J Dermatol*, 2012, 167(2): 314 - 323
- 21 Choi H, Choi H, Han J, *et al.* IL - 4 inhibits the melanogenesis of normal human melanocytes through the JAK2 - STAT6 signaling pathway [J]. *J Invest Dermatol*, 2013, 133(2): 528 - 536
- 22 Singh M, Jadeja SD, Vaishnav J, *et al.* Investigation of the role of interleukin 6 in vitiligo pathogenesis [J]. *Immunol Invest*, 2020, 30: 1 - 18
- 23 Kim B, Kim M, Yang S, *et al.* Persistent expression of interleukin - 17 and downstream effector cytokines in recalcitrant psoriatic lesions after ustekinumab treatment [J]. *J Dermatol*, 2021, 48(6): 876 - 882
- 24 Abdel - Naser Mohamed Badawy, Liakou Aikaterini I, Elewa Rana, *et al.* Increased activity and number of epidermal melanocytes in lesional psoriatic skin [J]. *Dermatology*, 2016, 232(4): 425 - 430
- 25 Norgauer J, Dichmann SF, Mockenhaupt M, *et al.* Tumor necrosis factor alpha induces upregulation of CXC - chemokine receptor type II expression and magnifies the proliferative activity of CXC - chemokines in human melanocytes [J]. *European Journal of Dermatology*, 2003, 13(2): 124 - 129
- 26 Wang CQF, Akalu YT, Suarez - Farinas M, *et al.* IL - 17 and TNF synergistically modulate cytokine expression while suppressing melanogenesis: potential relevance to psoriasis [J]. *J Invest Dermatol*, 2013, 133(12): 2741 - 2752
- 27 Di Cesare Antonella, Fargnoli Maria Concetta, Marinucci Alessandro, *et al.* Rationale for the development of speckled hyperpigmentation in the areas of psoriatic plaques after treatment with biologic agents [J]. *J Invest Dermatol*, 2015, 135(1): 318 - 320
- 28 Cesare AD, Riitano A, Suppa M, *et al.* Frequency of melanocytic nevi in psoriatic patients is related to treatment and not to disease severity [J]. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 2013, 69(6): 947 - 953
- 29 Loti T, Hercogova J, Fabrizi G. Advances in the treatment options for vitiligo: activated low - dose cytokines - based therapy [J]. *Expert Opin Pharmacother*, 2015, 16(16): 2485 - 2496
- 30 Elder, James T. The quest for psoriasis autoantigens: genetics meets immunology in the melanocyte [J]. *Journal of Investigative Dermatology*, 2017, 137(10): 2042 - 2045

(收稿日期: 2022 - 01 - 26)

(修回日期: 2022 - 01 - 29)

帕金森病的外周血标志物研究进展

任炜霞 刘毅 蔡丽 武前福

摘要 帕金森病(Parkinson's disease, PD)是常见的老年神经退行性疾病,其患病率随着社会老龄化的进程而逐年增高,已成为仅次于阿尔茨海默病的第二大神经退行性疾病。其严重影响患者生活质量,并给社会和家庭带来沉重负担。PD的神经病理学特征是黑质纹状体中多巴胺能神经元的凋亡。研究表明 PD 患者在出现早期症状前,多巴胺能神经元就已经形成了不可逆的缺失。因此,PD的早期诊断对于疾病的治疗以及延缓病情发展有着非常重要的意义。目前,PD患者大多在运动症状出现后才被确诊,且缺乏比较客观的理化诊断依据,而 PD 生物学标志物的探索或可解决上述问题。目前已有不少研究证明,脑脊液中

基金项目:上海市卫生和计划生育委员会中医药科研项目(2018LP029);上海市临床重点专科建设项目(中医专业)(201913502N);上海市杏林新星项目[ZY(2018 - 2020) - RCPY - 3009]

作者单位:201203 上海中医药大学(任炜霞);200071 上海中医药大学附属上海市中医医院(刘毅、蔡丽、武前福)

通信作者:刘毅,副教授,主任医师,硕士生导师,电子信箱:Liuy60117@163.com

的相关组织成分可作为 PD 的生物学标志物,但是因其操作创伤性大且不易获取,临床可行性不强。因此,对外周血 PD 生物学标志物的研究有望开辟一条更便捷的早期检测诊断路径。

关键词 帕金森病 外周血 生物学标志物

中图分类号 R34

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2022.08.038

生物学标志物被定义为“客观测量和评估的特征,作为正常生物过程、致病过程或对治疗干预的药理学反应的指标”。其可以是临床的(如客观测量的体格检查结果),可以是基于成像的(如 MRI 上特定大脑区域的显像),也可以是遗传的(如基因型作为疾病发生的预测因子)。此外,生化指标也成为了生物学标志物的潜在候选者,这些生化生物学标志物可以来自脑脊液、血液成分、尿液和皮肤等。考虑到外周血检验的可及性、微创性和低成本性,基于血液的生物学标志物被视为一种理想的可选择途径。无偏移的生物学标志物发现方法包括蛋白质组学、代谢组学和基因表达谱 3 种。其中,蛋白质组学广义上被定义为对许多蛋白质的结构和功能的大规模研究;代谢组学(或称代谢组学分析)是对化学代谢过程的深入研究,继而反映于低分子代谢物的测量中;而基因表达谱的研究主要依赖于微阵列,涉及核酸样品与大量寡核苷酸探针的杂交,其可以测试给定样本中数千个基因的平行表达,并且全基因组表达的变化为生物学标志物的发现可做出重要贡献^[1]。本文将主要从以上 3 个方面出发,讨论部分重要的帕金森病(Parkinson's disease, PD)外周血生物学标志物的研究现状,为 PD 生物学标志物的发掘提供理论依据与创新思路。

一、蛋白质组学

1. α -突触核蛋白(α -synuclein, α -syn): α -syn 是 PD 定义的神经病理学病变——路易体中包含的主要蛋白质,被认为是 PD 的重要病理产物,其在体内(主要为脑脊液)含量的高低与患者临床症状的严重程度密切相关。大量实验证据表明,在啮齿动物和猴子的黑质中施用人 α -syn 或慢病毒或携带重组腺相关病毒的野生或突变人 α -syn 基因可导致 PD 的进行性进展^[2]。不少关于 α -syn 在脑脊液和血浆中的鉴定性研究提供了它是由细胞分泌的证据。其中脑脊液中 α -syn 作为 PD 诊断性生物学标志物的研究努力已经取得了一些希望,而基于血液中 α -syn 生物学标志物尚需进一步探索。已有研究发现, α -syn 在血液中的浓度远高于脑脊液,这或可表明脑脊液的血液污染可能是一个严重的问题^[3]。在一

项研究中,Shi 等^[4]通过注射放射性标记的 α -syn 进入小鼠大脑,发现脑脊液 α -syn 很容易被运输到血液中,PD 患者的血浆外泌体 α -syn 水平显著升高。此外,该研究还发现,血浆外泌体 α -syn 的诊断敏感度和特异性与脑脊液 α -syn 测定的诊断敏感度和特异性相当。此外,不少研究证实, α -syn 作为 PD 的关键病理成分,与先天性和适应性免疫系统的激活有关。Williams 等^[5]通过实验发现,来自 PD 患者的外周循环 CD4 和 CD8 T 细胞可产生 Th1/Th2 细胞因子以响应 α -syn,同时 CD4 缺陷小鼠可以免受由于 α -syn 过度表达导致的多巴胺能细胞损失,这表明 PD 可能存在慢性记忆 T 淋巴细胞反应。除此之外,也有报道称 α -syn 与其他病理性蛋白的相互作用也会导致突触功能障碍,从而促使 PD 的进一步发展,SNARE 蛋白便是其中之一^[6]。

2. DJ-1:除了 α -syn 外,DJ-1 也被认为是 PD 诊断和(或)监测疾病进展的主要生物学标志物。它是一种多功能蛋白,在氧化应激、细胞死亡和突触核蛋白病(包括 PD)中扮演着重要角色。有研究结果显示,与对照组比较,PD 患者脑脊液中的总 DJ-1 水平降低^[7]。为了证明血浆中 DJ-1 的水平与 PD 的相关性,探索 PD 外周生物学标志物,Lin 等^[8]在一项针对 119 例受试者的初步研究中检测到了 7 种 DJ-1 同种型,并且发现具有 4-羟基-2-壬烯醛修饰的患者血液水平在晚期 PD 中发生了改变,由此证明了 DJ-1 与 PD 在一定程度上的相关性。另外,Shi 等^[9]使用改良的多重免疫测定法研究了来自 126 例 PD 患者和 122 例正常对照的样本,据报道,与 ELISA 和蛋白质印迹比较,该方法表现出更高的敏感度。此外,该研究还评估了各种因素的影响,包括溶血、血小板污染和年龄依赖性,结果显示血红蛋白和 DJ-1 之间呈正相关,并发现超过 95% 的血浆 DJ-1 和 α -syn 均来自红细胞,且随着 PD 患者的年龄增长,检测到的 DJ-1 值显著下降。但 PD 和正常对照组在 DJ-1 或 α -syn 的血浆水平比较,差异无统计学意义,这表明它们尚不能用作 PD 诊断和(或)预后的生物学标志物,因此需要进一步验证。但是该研究中开发生物学标志物过程中,重要的质量控制步骤为

后续研究提供了一定的技术指导^[1]。

3. 载脂蛋白 A1: 载脂蛋白 A1 是一种多功能载脂蛋白, 在人体生理学中具有多种作用, 包括调节炎症和胆固醇转运等, 且具有抗氧化和抗炎特性, 在神经退行性疾病的诊断与预防方面有着重要价值^[10]。有研究发现, 与健康受试者比较, HY II 期和 III 期 PD 患者聚类蛋白、补体 C1r 亚组分和载脂蛋白 A1 的表达水平显著降低。其中, 与 HY II 期比较, HY III 期 PD 患者载脂蛋白 A1 水平明显降低, 且其水平与 PD 的进展具有相关性^[11]。另一项研究通过对 624 例 PD 受试者的基线血清中载脂蛋白 A1 的测量以及前瞻性队列分析, 证明载脂蛋白 A1 与以 PD 为主的严重运动和非运动疾病表型显著相关^[12]。Qiang 等^[13] 在 152 例 PD 患者的队列研究中发现, 通过多重免疫测定法测量了 96 种蛋白质的血浆水平, 并通过线性回归确定与 PD 发病年龄相关的蛋白质, 筛选出最佳候选载脂蛋白 A1, 并证明低水平的载脂蛋白 A1 与早期 PD 发作相关。基于既往研究, 载脂蛋白 A1 被鉴定为 PD 风险的潜在标志物。

4. S100B: S100B 是一种 Ca^{2+} 结合蛋白, 主要集中于星形胶质细胞中, 它在脑脊液、外周血等体液中的水平被认为与神经退行性疾病密切相关, 可作为监测疾病趋势的重要辅助手段^[14]。在 PD 的发病机制中, S100B 的过度生产和释放起着至关重要的作用, 以响应纹状体多巴胺能去神经支配或 6-羟多巴胺^[15]。有研究发现, 在 PD 患者的黑质纹状体中存在着 S100B 过表达现象^[16]。此外, 也有报道称, 过表达 S100B 的转基因小鼠可出现 PD 的特征性表现, 如运动协调能力受损和一些分子包括多巴胺-d2 受体的产生。S100B 基因敲除小鼠与可以模拟 PD 的神经毒性物质 1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶 (1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine, MPTP) 处理的野生型小鼠比较, MPTP 处理减少了多巴胺能神经元的损失和小胶质细胞增生; 同样地, 使用 arundic 酸抑制星形细胞 S100B 的合成可保护小鼠多巴胺能神经元免受 MPTP 毒性^[17]。

除了以上几种蛋白生物学标志物外, 还有一些研究也发现了其他可作为 PD 外周血的蛋白组学生物学标志物。Posavi 等^[18] 从大约 1000 种血浆蛋白的无偏筛选开始, 研究了发现-复制设计中的多个队列, 从中筛选出 4 个关键性候选生物学标志物——氨酰化酶 1 (aminoacylase 1, ACY1)、骨唾液酸蛋白 (bone sialic acid protein, BSP)、生长激素受体 (growth hor-

mone receptor, GHR) 和骨调节蛋白 (bone regulatory protein, OMD), 并证明 ACY1 和 GHR 的基线水平与队列中的认知下降率相关。 α -syn 有两大降解途径, 即自噬-溶酶体途径和泛素蛋白酶途径, 因此通过对这两大途径中相关蛋白的研究, 或可成为发现 PD 生物学标志物的一个重要方向。在自噬-溶酶体途径中, α -syn 的降解主要依赖于分子伴侣介导的自噬和巨自噬。Juhee 等^[19] 通过对 PD 患者血浆样本的定量分析, 发现其 *athenogene 2* (一种 Hsp70/Hsc70 分子伴侣相互作用蛋白) 和组织蛋白酶 D (一种主要溶酶体蛋白酶, 直接参与 α -syn 的降解) 水平显著降低, 该研究为此二者成为早期诊断 PD 的血浆生物学标志物提供了可能性。

二、代谢组学

1. 尿酸: 尿酸在 PD 病理生理学中被提出是基于推论的尿酸抗氧化特性、PD 患者黑质中发现的低水平尿酸以及尿酸降低多巴胺氧化能力的相关性。早期研究表明, 低血浆尿酸水平是 PD 的危险因素, 并且尿酸与铁结合蛋白有关。尿酸作为一种生物学标志物的潜力首先是通过参加檀香山心脏计划的 7968 例男性的尿酸水平和发生 PD 的风险进行分析而展开的。在该队列中, 在基线和超过 30 年的随访中获得了血清尿酸水平, 其中 92 例男性发展为特发性 PD。在调整年龄或吸烟史后, 基线时尿酸浓度高于中位数的男性与低于中位数的男性比较, PD 发生率降低了 40%。该研究提供了尿酸与 PD 发生率之间关联的前瞻性证据, 并表明有必要对这种关联进行进一步调查^[20]。此外, 一篇关于尿酸与 PD 联系的系统评价共分析了 1104 例患者的数据, 试图揭示血清尿酸浓度与一些 PD 非运动症状类型之间的相关性, 结果显示睡眠与疲劳、注意力与记忆的相关性最大。但是遗憾的是, 该研究表明血清尿酸水平与 PD 中非运动症状的发生和恶化之间的相关性无法明确化, 可能与尿酸水平本身是一种易受多种因素影响的生物学标志物有关, 因此需要对更多样化的患者群体、运用更准确的 PD 非运动症状评估方法进行大规模研究^[21]。

在此基础之上, 有研究已开始评估尿酸水平是否会在 PD 的遗传形式中发生变化。为了探索存在葡萄糖脑苷酸酶 (glucocerebrosidase, GBA) 基因突变的 PD 患者、散发型 PD 患者和纵向随访的健康对照组血清尿酸水平的差异。Koros 等^[22] 从 PD 进展标志物倡议 (Parkinson's disease progression marker initia-

ative, PPMI) 数据库中下载了 120 例 GBA - PD 患者 2 年的血清尿酸测量数据, 该队列与 369 例偶发 PD 患者和 195 例健康对照者进行了比较。结果表明, 校正年龄、性别和体重指数 (body mass index, BMI) 后, 与对照组比较, GBA - PD 队列的 2 年纵向尿酸水平较低; 基线尿酸测量结果显示仅有微小差异, 但在 GBA - PD 队列中, 第 2 年的尿酸水平较低。这是在 GBA - PD 队列中评估血清尿酸的研究, 该研究结果证实低血清尿酸可能是 GBA - PD 进展的一个生物学标志物。然而, 关于低血清尿酸与 GBA - PD 临床数据之间的关系还需要更多的研究。另有报道指出, 铁死亡或为 PD 的重要发病机制之一。

为了检测 PD 患者和健康对照者的血浆尿酸水平和外周铁代谢标志物, Garrido 等^[23]对 40 例 PD 患者和 29 例对照者进行了临床筛查和实验室测试, 结果显示, 患者的血浆尿酸水平明显低于对照组, 血浆铁参数水平比较, 差异无统计学意义, 但血浆尿酸水平与患者和对照者的血清铁蛋白密切相关。该研究对 PD 的发病机制提供了建议, 也为尿酸成为 PD 外周标志物的确定提供了依据。

2. 谷胱甘肽 (glutathione, GLU): 氧化还原应激是 PD 病理生理学的重要表现之一, 总谷胱甘肽由还原型 (GSH) 和氧化型 (GSSG) 组成, 对于维持氧化还原稳态、清除代谢废物以及作为中枢神经系统中氨基酸的储存库起着至关重要的作用^[24]。1982 年有研究提出 GSH 缺乏在 PD 中起致病作用。为了进一步描述 PD 个体 GLU 状态的中枢和外周测量, 并评估 GLU 状态是否与 PD 严重程度相关, Mischley 等^[25]通过研究发现, GLU 的血液测量值随着年龄的增长而下降, 且血液 GLU 浓度越低, 统一 PD 评定量表 (unified Parkinson's disease rating scale, UPDRS) 和患者报告的 PD 结果 (patient - reported PD, PRO - PD) 分数越高 (病情越严重)。这些结果表明, 全血 GLU 可能具有作为 PD 生物学标志物的潜力, 未来的研究可致力于评估它是否为 PD 进展的可改变风险因素。

针对 GLU 与 PD 的相关性, 已经有研究从治疗方面入手, 探索 GSH 疗法对疾病的改善作用。Coles 等^[26]在 PD 患者和健康对照者中进行了一项开放标签、前瞻性研究, 口服 4 周高剂量 N - 乙酰半胱氨酸 (N - acetylcysteine, NAC, 一种抗氧化剂和谷胱甘肽前体)。NAC 的主要作用机制是被假设通过去乙酰化产物半胱氨酸 (cysteine, Cys) 发生。4 周的高剂量口服 NAC 方案导致 Cys、血液抗氧化物质 GSH/

GSSG 和过氧化氢酶显著增加。该研究还提示 NAC 不会增加 GSH 脑浓度, 而且一些 PD 患者的症状在使用高剂量 NAC 后会随着治疗的停止而恶化。由于样本量较小等局限性, 该实验结果未能检测到大脑任何部位的化学物质变化, 但是为未来的大样本量、多部位、多给药途径、治疗时间以及寻找最佳生物学标志物和选择监测方法提供了一定的参考。

三、基因表达谱

1. GBA 基因: PD 发生的一个重要危险因素为遗传, 研究指出, 其在 PD 的发病因素中占比不低于 27%, 目前在真核生物和哺乳动物中发现了大量 PD 相关基因, 其中编码溶酶体酶葡萄糖脑苷脂酶 (glucocerebrosidase, GCase) 的 GBA 突变被认为是 PD 发病的常见遗传风险因素, 其发生于 7% ~ 15% 的 PD 患者中, 使患病风险增加了 5% ~ 25%^[27]。有研究通过比较具有和没有 GBA 突变的 PD 患者血浆中的 α - syn 水平、GCase 相关的溶酶体整合膜蛋白 - 2 (lysosomal integration membrane protein - 2, LIMP - 2) 来定义 GBA 基因相关 PD 的生化特征。其外周血单核细胞 (peripheral blood monocyte, PBMC) 的测量结果显示, 与非突变 PD 比较, GBA 突变的 PD 患者表现出更高的 α - syn 水平、更低的 GCase 活性和更高的 LIMP - 2 水平^[28]。有一项研究已证明, 通过对 GBA 基因杂合子 c. 1226A > G (p. N370S) 突变患者 PBMC 重编程, 获得 ICGi034 - A 诱导的多能干细胞 (iPSC) 系, 以此可用于研究 GBA 相关 PD 的基本发病机制以及潜在的药物筛选, 为 GBA 基因提供了新的研究方向^[29]。

2. 环状 RNA (circRNA): 多项研究揭示了神经退行性疾病中存在明显的 circRNA 失调。考虑到 circRNA 具有以下特性: ①稳定性; ②不会像蛋白质一样被修饰, 因此水平与活性直接相关; ③可以通过快速和常规的实验室方法准确量化。这 3 种特性为其成为优秀的候选生物学标志物提供了有利的研究条件。为了鉴定 PD 患者的 PBMC 中差异表达的脑富集 circRNA, Ravanidis 等^[30]通过研究发现, 与健康对照受试者比较, 从 PD 患者获得的 PBMC 中, 有 6 个 circRNA 发生了显著变化, 即 MAPK9_circ_0001566、HOMER1_circ_0006916、SLAIN1_circ_0000497、DOP1B_circ_0001187、RESP1_circ_0004368 和 PSEN1_circ_0003848 在 PD 队列中均被下调, 且 PD 患者组比健康对照组平均下降了 17%。此外, 有研究使用外周血中的 RNA 测序发现大量 circRNA 在

PD患者和正常对照组之间差异表达,其中包括129个上调的circRNA,282个下调的circRNA。通过使用京都基因与基因组百科全书(kyoto encyclopedia of genes and genomes,KEGG)数据库进行分析,结果显示第二富集的KEGG途径即为PD。此外,circRNA谱表明PD发病机制可能与氧化反应和止血途径有关。这些数据均可证明外周血中circRNA的水平可能被用作PD的生物学标志物。

3. microRNA(miRNA):越来越多的证据表明,神经变性疾病中存在miRNA的失调,这开启了对血液或其他生物体液中miRNA的循环水平进行表征的研究道路,也为其用作非侵入性诊断性生物学标志物筛选开发了潜能,用以支持早期疾病检测和可能的疾病进展监测。据报道,人类的 α -syn基因在整个3'-非翻译区高度保守,这与miRNA的调节作用相关。特别是已发现 α -syn是miR-7和miR-153的靶标。这两种miRNA似乎通过与 α -syn的3'-非翻译区结合而借助协同作用以下调 α -syn的mRNA和蛋白质水平。这一观察也得到了体外研究结果的支持,其中miR-7被描述为抑制神经元培养物中 α -syn诱导的细胞毒性物。

此外,有研究对7例PD患者通过电刺激诱导的脑深部电刺激治疗前后的血液白细胞中获得的miRNA进行了评估,并将结果与通过下一代小RNA进行全面miRNA分析后的6例健康对照受试者的结果进行了比较测序和外显子及剪接点微阵列。结果显示,与对照组比较,PD患者中有16种miRNA存在差异表达,其中11种miRNA的表达模式通过脑深部电刺激进行了修饰。而且在通过电刺激改变的这11种miRNA中,有5种(miR-1249、miR-20a、miR-18b、miR-378c、miR-4293)与健康对照组中存在的相匹配,这表明PD-miRNA模式在刺激后逆转为健康个体的模式,为PD提供了一种可能的治疗途径。

在另一项关于miRNA参与PD病因的研究中,研究者使用微阵列对从19例PD患者和13例健康对照获得的PBMC进行miRNA表达谱分析。结果显示,与对照组比较,18种miRNA在PD患者中差异表达。此外,进行染色质免疫沉淀测序分析以揭示 α -syn的全基因组相互作用,并将这些数据与miRNomics数据以及计算机数据合并对PD相关基因的分析表明,鞘糖脂生物合成途径以及蛋白质泛素化途径是PD疾病进展的关键因素,并且发现有3种miRNA是这两种重要生物学途径的主要调节因子,即miR-

26a、miR-30b和miR-30c,其中两个基因(ST8SIA4和USP37)与PD发病机制相关。以上研究均可作为miRNA成为PD潜在的诊断性生物学标志物提供可能。

4. G2019S LRRK2:富含亮氨酸重复激酶2(leucine-rich repeat kinase 2,LRRK2)突变是导致PD的常见基因突变,且G2019S LRRK2或其他LRRK2致病突变的非表现携带者患PD的风险随着年龄的增长而增加。为了确定G2019S突变型选择性LRRK2激酶抑制剂与非选择性抑制剂在遗传性和特发性PD受试者血液中对两种LRRK2生物学标志物pSer935 LRRK2和pThr73 Rab10的活性,研究者从13例患有或不患有PD的G2019S LRRK2突变的受试者和1例健康对照者身上采集血液,用新型G2019S LRRK2抑制剂(EB-42168)或非选择性抑制剂MLi-2离体处理PBMC,进行定量蛋白质免疫印迹分析。结果表明,与野生型LRRK2比较,EB-42168对G2019S LRRK2的选择性高100倍。该研究证明,G2019S LRRK2选择剂EB-42168以基因剂量依赖性方式降低人PBMC中pSer935 LRRK2和Thr73 Rab10的磷酸化,同时证实G2019S选择性抑制剂可以有效降低与致病性G2019S LRRK2相关的生物学标志物活性突变。

另有研究使用来自西班牙的LRRK2队列的PBMC库进行了一项蛋白质组学研究,在将所有G2019S携带者与健康对照进行比较时,发现了与G2019S突变状态相关的特定蛋白质差异。G2019S LRRK2相关PD(L2PD)和G2019S LRRK2非表现携带者(L2NMC)组的蛋白质差异独立地高于所有G2019S携带者,据此可初步说明PD和非PD G2019S携带者中存在特异性蛋白质磷酸化差异,为PD早期诊断的生物学标志物的发现提供了LRRK2靶向试验。虽然这些发现需要进一步证实,但它们证明了基因表达谱在识别基于血液的PD生物学标志物方面的潜在效用。

四、展 望

大量研究团体致力于探索开发PD生物学标志物的新方法,到目前为止,已经发现了许多候选的生物学标志物。生物学标志物作为正常生理或病理过程的指标,是疾病机制的重要反应物。鉴于疾病病因和病理的复杂性,更全面地识别特定疾病网络和分子途径将有助于更好地了解疾病过程并找到更有效的生物学标志物。到目前为止,仍没有公认的明确的PD生物学标志物,出于两个原因,迫切需要开发早期诊断的生物学标志物:①在疾病早期进行干预;②探

索可能延缓疾病进程的治疗干预。鉴于样本采集的便利性,PD 中基于血液的生物学标志物发现具有高度的研究优先性。近年来,蛋白质组学、代谢组学和基因表达谱等工具已趋于成熟,并被广泛应用于 PD 生物学标志物的研究。基于技术的完善和研究者的探索,已经提出了许多有前途的生物学标志物,或可为 PD 的早期诊断和治疗提供可能的检测手段。

在不断研究、探索过程中尚且存在一些不可忽视的问题:(1)基于血液的生物学标志物开发存在着一些挑战。很显然,大脑和外周血之间没有直接连接(特别是在完整的血-脑脊液屏障的情况下)。此外,血液可以被概念化为由血浆、血清和细胞区室组成,是细胞、蛋白质、脂质和各种代谢产物的异质混合物,在研究过程中还需考虑血液成分对生物学标志物水平的综合影响,这意味着很难将外周生物学标志物确定化,因此需要不断的技术更新和大量的研究验证。(2)理想的生物学标志物仍然难以捉摸。众所周知,生物学标志物在疾病过程的不同阶段扮演着不同的角色,而且各种生物学标志物水平又因人而异,因此单一的生物学标志物可能不足以早期诊断疾病,也无法以足够的敏感度或特异性预测疾病进程。在今后的探索道路中,使用由生物样本、临床特征、神经影像学和遗传信息组成的综合生物学标志物数据集开发组合方法,联合不同的生物学标志物,以提高 PD 的诊断准确性、敏感度和特异性,或可成为发掘 PD 生物学标志物的重要方法。

参考文献

- Chahine LM, Stern MB, Chen - Plotkin A. Blood - based biomarkers for Parkinson's disease [J]. *Parkinsonism & Related Disorders*, 2014, 20(1): 99 - 103
- Ganguly U, Singh S, Pal S, *et al.* Alpha - Synuclein as a biomarker of parkinson's disease: good, but not good enough[J]. *Front Aging Neurosci*, 2021, 13(8): 1 - 19
- Miller DB, O Callaghan JP. Biomarkers of Parkinson's disease: present and future[J]. *Metabolism*, 2015, 64(3): 40 - 46
- Shi M, Liu C, Cook TJ, *et al.* Plasma exosomal α - synuclein is likely CNS - derived and increased in Parkinson's disease[J]. *Acta Neuropathologica*, 2014, 128(5): 639 - 650
- Williams GP, Schonhoff AM, Jurkuvenaite A, *et al.* CD4 T cells mediate brain inflammation and neurodegeneration in a mouse model of Parkinson's disease[J]. *Brain*, 2021, 144(7): 2047 - 2059
- Agliardi C, Meloni M, Guerini FR, *et al.* Oligomeric α - Syn and SNARE complex proteins in peripheral extracellular vesicles of neural origin are biomarkers for Parkinson's disease [J]. *Neurobiology of Disease*, 2021, 148: 3 - 9
- Waragai M, Sekiyama K, Sekigawa A, *et al.* α - synuclein and DJ - 1 as potential biological fluid biomarkers for Parkinson's disease[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2010, 11(11): 4257 - 4266
- Lin X, Cook TJ, Zabetian CP, *et al.* DJ - 1 isoforms in whole blood as potential biomarkers of Parkinson disease[J]. *Scientific Reports*, 2012, 2(1): 954
- Shi M, Zabetian CP, Hancock AM, *et al.* Significance and confounders of peripheral DJ - 1 and alpha - synuclein in Parkinson's disease [J]. *Neuroscience Letters*, 2010, 480(1): 78 - 82
- Keeney JTR, Swomley AM, Förster S, *et al.* Apolipoprotein A - I: insights from redox proteomics for its role in neurodegeneration [J]. *PROTEOMICS - Clinical Applications*, 2013, 7(1 - 2): 109 - 122
- Kitamura Y, Kojima M, Kurosawa T, *et al.* Proteomic profiling of exosomal proteins for blood - based biomarkers in Parkinson's disease [J]. *Neuroscience*, 2018, 392: 121 - 128
- Lawton M, Baig F, Toulson G, *et al.* Blood biomarkers with Parkinson's disease clusters and prognosis: the oxford discovery cohort [J]. *Movement Disorders*, 2020, 35(2): 279 - 287
- Qiang JK, Wong YC, Siderowf A, *et al.* Plasma apolipoprotein A1 as a biomarker for Parkinson disease [J]. *Annals of Neurology*, 2013, 74(1): 119 - 127
- Michetti F, D'Ambrosi N, Toesca A, *et al.* The S100B story: from biomarker to active factor in neural injury [J]. *Journal of Neurochemistry*, 2019, 148(2): 168 - 187
- Batassini C, Broetto N, Tortorelli LS, *et al.* Striatal injury with 6 - OHDA transiently increases cerebrospinal GFAP and S100B [J]. *Neural Plasticity*, 2015, 2015: 1 - 9
- Viana SD, Valero J, Rodrigues - Santos P, *et al.* Regulation of striatal astrocytic receptor for advanced glycation end - products variants in an early stage of experimental Parkinson's disease [J]. *Journal of Neurochemistry*, 2016, 138(4): 598 - 609
- Sathe K, Maetzler W, Lang JD, *et al.* S100B is increased in Parkinson's disease and ablation protects against MPTP - induced toxicity through the RAGE and TNF - α pathway [J]. *Brain*, 2012, 135(11): 3336 - 3347
- Posavi M, Diaz - Ortiz M, Liu B, *et al.* Characterization of Parkinson's disease using blood - based biomarkers: a multicohort proteomic analysis [J]. *PLoS Medicine*, 2019, 16(10): e1002931
- Kang J, Kim JW, Heo H, *et al.* Identification of BAG2 and cathepsin d as plasma biomarkers for Parkinson's disease [J]. *Clinical and Translational Science*, 2021, 14(2): 606 - 616
- Davis JW, Grandinetti A, Waslien CI, *et al.* Observations on serum uric acid levels and the risk of idiopathic Parkinson's disease [J]. *Am J Epidemiol*, 1996, 144(5): 480 - 484
- Grażyńska A, Adamczewska K, Antoniuk S, *et al.* The influence of serum uric acid level on non - motor symptoms occurrence and severity in patients with idiopathic Parkinson's disease and atypical parkinsonisms—a systematic review [J]. *Medicina*, 2021, 57(9): 972
- Koros C, Simitsi A, Papagiannakis N, *et al.* Serum uric acid level as a putative biomarker in Parkinson's disease patients carrying GBA1 mutations: 2 - Year data from the PPMI study [J]. *Parkinsonism & Related Disorders*, 2021, 84: 1 - 4

(下转第 176 页)

- 8 Moin ASM, Butler AE. Alterations in beta cell identity in type 1 and type 2 diabetes[J]. *Curr Diab Rep*, 2019, 19(9): 83
- 9 韦晓, 张少红, 张梦潇, 等. 胰岛 β 细胞去分化转分化的研究进展[J]. *医学综述*, 2020, 26(16): 3151 - 3155
- 10 Salinno C, Büttner M, Cota P, *et al.* CD81 marks immature and dedifferentiated pancreatic β - cells[J]. *Mol Metab*, 2021, 49: 101188
- 11 Zhu Y, Liu Q, Zhou Z, *et al.* PDX1, Neurogenin - 3, and MAFA: critical transcription regulators for beta cell development and regeneration[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8(1): 240
- 12 LaPierre MP, Stoffel M. MicroRNAs as stress regulators in pancreatic beta cells and diabetes[J]. *Mol Metab*, 2017, 6(9): 1010 - 1023
- 13 Zhu Y, Sun Y, Zhou Y, *et al.* MicroRNA - 24 promotes pancreatic beta cells toward dedifferentiation to avoid endoplasmic reticulum stress - induced apoptosis[J]. *J Mol Cell Biol*, 2019, 11(9): 747 - 760
- 14 Wang Z, Mohan R, Chen X, *et al.* MicroRNA - 483 protects pancreatic β - cells by targeting ALDH1A3[J]. *Endocrinology*, 2021, 162(5): bqab031
- 15 You L, Wang N, Yin D, *et al.* Downregulation of long noncoding RNA Meg3 affects insulin synthesis and secretion in mouse pancreatic beta cells[J]. *J Cell Physiol*, 2016, 231(4): 852 - 862
- 16 Ruan Y, Lin N, Ma Q, *et al.* Circulating lncRNAs analysis in patients with type 2 diabetes reveals novel genes influencing glucose metabolism and islet β - cell function[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 46(1): 335 - 350
- 17 Wang N, Zhu Y, Xie M, *et al.* Long noncoding RNA Meg3 regulates Mafa expression in mouse beta cells by inactivating Rad21, Smc3 or Sin3 α [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 45(5): 2031 - 2043
- 18 Martin - Montalvo A, Sun Y, Diaz - Ruiz A, *et al.* Cytochrome b(5) reductase and the control of lipid metabolism and healthspan[J]. *NPJ Aging Mech Dis*, 2016, 2: 16006
- 19 Fan J, Du W, Kim - Muller JY, *et al.* Cyb5r3 links FoxO1 - dependent mitochondrial dysfunction with β - cell failure [J]. *Mol Metab*, 2020, 34: 97 - 111
- 20 桑丽平, 郑栋栋, 郎元君, 等. 高迁移率族蛋白成员 HMG20a/b 的研究进展[J]. *现代生物医学进展*, 2018, 18(5): 997 - 1000
- 21 Mellado - Gil JM, Fuente - Martín E, Lorenzo PI, *et al.* The type 2 diabetes - associated HMG20A gene is mandatory for islet beta cell functional maturity[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(3): 279
- 22 Liu X. A structural perspective on gene repression by polycomb repressive complex 2[J]. *Subcell Biochem*, 2021, 96: 519 - 562
- 23 Lu TT, Heyne S, Dror E, *et al.* The polycomb - dependent epigenome controls β cell dysfunction, dedifferentiation, and diabetes[J]. *Cell Metab*, 2018, 27(6): 1294 - 1308, e1297
- 24 杨雪, 陈国芳, 刘超. 逆转 2 型糖尿病的现状及展望[J]. *中华糖尿病杂志*, 2021, 13(7): 666 - 672
- 25 Bensellam M, Jonas JC, Laybutt DR. Mechanisms of beta - cell dedifferentiation in diabetes: recent findings and future research directions [J]. *J Endocrinol*, 2018, 236(2): R109 - R143
- 26 FW P, JR M, M G, *et al.* Generation of functional human pancreatic β cells in vitro[J]. *Cell*, 2014, 159(2): 428 - 439
- 27 Wang L, Qing L, Liu H, *et al.* Mesenchymal stromal cells ameliorate oxidative stress - induced islet endothelium apoptosis and functional impairment via Wnt4 - β - catenin signaling[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8(1): 188
- 28 Wang L, Liu T, Liang R, *et al.* Mesenchymal stem cells ameliorate beta cell dysfunction of human type 2 diabetic islets by reversing beta cell dedifferentiation[J]. *EBioMedicine*, 2020, 51: 102615
- 29 Li B, Cheng Y, Yin Y, *et al.* Reversion of early - and late - stage β - cell dedifferentiation by human umbilical cord - derived mesenchymal stem cells in type 2 diabetic mice[J]. *Cytherapy*, 2021, 23(6): 510 - 520
- 30 王芳菲, 吕少诚, 贺强. 胰腺移植治疗终末期糖尿病研究进展[J]. *解放军医学院学报*, 2020, 41(11): 1118 - 1121, 1135
(收稿日期: 2021 - 11 - 13)
(修回日期: 2021 - 12 - 21)

(上接第 172 页)

- 23 Annamaki T, Muuronen A, Murros K. Low plasma uric acid level in Parkinson's disease[J]. *Mov Disord*, 2007, 22(8): 1133 - 1137
- 24 Younes - Mhenni S, Frih - Ayed M, Kerkeni A, *et al.* Peripheral blood markers of oxidative stress in Parkinson's disease[J]. *Eur Neurol*, 2007, 58(2): 78 - 83
- 25 Mischley LK, Standish LJ, Weiss NS, *et al.* Glutathione as a biomarker in Parkinson's disease: associations with aging and disease severity[J]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 2016: 1 - 6
- 26 Coles LD, Tuite PJ, Öz G, *et al.* Repeated - dose oral N - acetylcysteine in Parkinson's disease: pharmacokinetics and effect on brain glutathione and oxidative stress[J]. *The Journal of Clinical Pharmacology*, 2018, 58(2): 158 - 167
- 27 Gan - Or Z, Dion PA, Rouleau GA. Genetic perspective on the role of the autophagy - lysosome pathway in Parkinson disease[J]. *Autophagy*, 2015, 11(9): 1443 - 1457
- 28 Avenali M, Cerri S, Ongari G, *et al.* Profiling the biochemical signature of GBA - related Parkinson's disease in peripheral blood mononuclear cells[J]. *Movement Disorders*, 2021, 36(5): 1267 - 1272
- 29 Grigor'Eva EV, Drozdova ES, Sorogina DA, *et al.* Generation of induced pluripotent stem cell line, ICGi034 - A, by reprogramming peripheral blood mononuclear cells from a patient with Parkinson's disease associated with GBA mutation[J]. *Stem Cell Research*, 2022, 59: 102651
- 30 Ravanidis S, Bougea A, Karampatsi D, *et al.* Differentially expressed circularRNAs in peripheral blood mononuclear cells of patients with Parkinson's disease[J]. *Movement Disorders*, 2021, 36(5): 1170 - 1179
(收稿日期: 2022 - 02 - 23)
(修回日期: 2022 - 02 - 28)