

·实验研究·

本文引用: 俞瑞珊, 贺佳琦, 杜楠, 王高峰, 杨一帆, 李涛, 闫咏梅, 刘燕妮. 丹星止颤方通过 PINK1/Parkin 通路调控自噬改善帕金森病小鼠运动功能的机制研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2026, 46(4): 669–679.

丹星止颤方通过 PINK1/Parkin 通路调控自噬改善帕金森病小鼠运动功能的机制研究

俞瑞珊¹, 贺佳琦¹, 杜楠¹, 王高峰¹, 杨一帆², 李涛¹, 闫咏梅², 刘燕妮^{2*}

1.陕西中医药大学, 陕西 咸阳 712046; 2.陕西中医药大学附属医院, 陕西 咸阳 712000

〔摘要〕 **目的** 探讨丹星止颤方通过调控 PTEN 诱导激酶 1(PINK1)/E3 泛素连接酶(Parkin)通路治疗帕金森病(PD)的作用及机制。**方法** 48 只 C57BL/6J 小鼠随机分为空白组、模型组、美多芭组及丹星止颤方低、中、高剂量组, 每组 8 只。除空白组外, 其余各组给予鱼藤酮 10 mg/(kg·d)混悬液灌胃, 1 次/d, 连续 28 d, 构建 PD 小鼠模型。造模成功后, 美多芭组灌胃美多芭混悬液 112.5 mg/(kg·d), 丹星止颤方低、中、高剂量组分别灌胃丹星止颤方水煎液 11.1、22.2、44.4 g/(kg·d), 空白组、模型组灌胃等量生理盐水。1 次/d, 连续灌胃 28 d。末次灌胃结束, 采用步态实验检测小鼠通过特定距离的时间、最大速度变化率、平均运动速度及单位时间脚步数; 旷场实验检测小鼠运动总距离、运动时间、平均速度及穿过总分区次数; 爬杆实验检测小鼠转头时间和爬杆时间; 尼氏染色观察小鼠中脑黑质区尼氏阳性神经元数量、尼氏阳性神经元平均面积、尼氏小体平均灰度值和积分光密度(IOD); 免疫组织化学检测小鼠中脑黑质区 α -突触核蛋白(α -syn)阳性表达面积占比及酪氨酸羟化酶(TH)阳性细胞平均面积占比; Western blot 检测中脑黑质区 α -syn 及自噬相关蛋白表达水平。**结果** 与空白组相比, 模型组小鼠通过特定距离的时间延长、最大速度变化率升高、平均运动速度降低、单位时间脚步数减少、运动总距离缩短、平均速度降低、运动时间及穿过总分区次数减少、转头时间和爬杆时间延长($P<0.05$), 尼氏阳性神经元数量减少、尼氏阳性神经元平均面积缩小、尼氏小体平均灰度值及 IOD 值降低($P<0.05$), α -syn 阳性表达面积占比及 α -syn 蛋白表达水平平均升高($P<0.05$), TH 阳性细胞平均面积占比及 Parkin、PINK1、Beclin-1 蛋白表达水平、LC3-II/LC3-I 蛋白比值均降低($P<0.05$); 与模型组相比, 美多芭组及丹星止颤方中、高剂量组小鼠通过特定距离的时间缩短、最大速度变化率降低、平均运动速度升高、单位时间脚步数增加、运动总距离延长、运动时间增加、平均速度升高、穿过总分区次数增加、转头时间和爬杆时间缩短($P<0.05$), 尼氏阳性神经元数量增加、尼氏阳性神经元平均面积增大、尼氏小体平均灰度值及 IOD 值升高($P<0.05$), α -syn 阳性表达面积占比及 α -syn 蛋白表达水平平均降低($P<0.05$), TH 阳性细胞平均面积占比及 Parkin、PINK1、Beclin-1 蛋白表达水平、LC3-II/LC3-I 蛋白比值均升高($P<0.05$); 与丹星止颤方低剂量组相比, 丹星止颤方中剂量组小鼠通过特定距离的时间缩短、最大速度变化率降低、平均运动速度升高、单位时间脚步数增加、运动总距离延长、运动时间增加、平均速度升高、转头时间和爬杆时间缩短($P<0.05$), 尼氏阳性神经元数量增加、尼氏阳性神经元平均面积增大、尼氏小体平均灰度值及 IOD 值升高($P<0.05$), α -syn 阳性表达面积占比及 α -syn 蛋白表达水平平均降低($P<0.05$), TH 阳性细胞平均面积占比及 Parkin、PINK1、Beclin-1 蛋白表达水平、LC3-II/LC3-I 蛋白比值均升高($P<0.05$); 与丹星止颤方中剂量组相比, 丹星止颤方高剂量组小鼠通过特定距离的时间延长、最大速度变化率升高、平均运动速度降低、单位时间脚步数减少、运动总距离缩短、运动时间减少、平均速度降低、转头时间及爬杆时间延长($P<0.05$), 尼氏阳性神经元数量减少、尼氏小体平均灰度值及 IOD 值降低($P<0.05$), α -syn 阳性表达面积占比及 α -syn 蛋白表达水平平均升高($P<0.05$), TH 阳性细胞平均面积占比及 Parkin、PINK1 蛋白表达水平、LC3-II/LC3-I 蛋白比值均降低($P<0.05$)。**结论** 丹星

〔收稿日期〕2026-01-05

〔基金项目〕陕西省自然科学基金基础研究计划项目(2025SYS-SYSZD-048); 研究生创新实践能力提升项目(CXS J202515); 秦创原中医药产业创新聚集区项目(L2024-QCY-ZYYJJQ-Y02, L2024-QCY-ZYYJJQ-Y25)。

〔通信作者〕* 刘燕妮, 女, 硕士, 副主任医师, 硕士生导师, E-mail: liuyanni0828@qq.com。

止颤方立足帕金森病核心病机,以化痰祛瘀、息风止颤为治则,通过调控 PINK1/Parkin 通路介导的自噬相关过程,减少 α -syn 异常聚集,保护多巴胺能神经元及黑质区神经元结构完整性,进而改善小鼠运动功能。

〔关键词〕 帕金森病;丹星止颤方;PINK1/Parkin 通路;自噬; α -突触核蛋白

〔中图分类号〕R277.7

〔文献标志码〕A

〔文章编号〕doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2026.04.003

Mechanistic study of Danxing Zhichan Formula in improving motor function in Parkinson's disease mice by regulating autophagy via PINK1/Parkin pathway

YU Ruishan¹, HE Jiaqi¹, DU Nan¹, WANG Gaofeng¹, YANG Yifan², LI Tao¹, YAN Yongmei², LIU Yanni^{2*}

1. Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang, Shaanxi 712046, China;

2. Affiliated Hospital of Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang, Shaanxi 712000, China

〔Abstract〕 **Objective** To investigate the effects and mechanisms of Danxing Zhichan Formula (DXZCF) in treating Parkinson's disease (PD) by regulating the PTEN-induced putative kinase 1 (PINK1)/E3 ubiquitin ligase (Parkin) pathway. **Methods** Forty-eight C57BL/6J mice were randomly divided into blank group, model group, Madopar group, and low-, medium-, and high-dose DXZCF groups, with eight mice in each group. Except for the blank group, the other groups were intragastrically administered rotenone suspension at a dose of 10 mg/(kg·d) once daily for 28 consecutive days to establish a PD mouse model. After successful modeling, the Madopar group was given Madopar suspension at a dose of 112.5 mg/(kg·d) via gavage, while the low-, medium-, and high-dose DXZCF groups received DXZCF decoctions at doses of 11.1, 22.2, and 44.4 g/(kg·d) via gavage, respectively. The blank and model groups received an equal volume of normal saline. All administrations were performed once daily for 28 consecutive days. Following the final gavage, gait analysis was performed to measure the time for mice to traverse a specific distance, maximum velocity change rate, average locomotor velocity, and number of footsteps per unit time. Open-field test was used to determine total locomotor distance, locomotor duration, average velocity, and number of total zone crossings. Pole-climbing test was applied to evaluate head-turning time and pole-climbing time. Nissl staining was used to observe the number of Nissl-positive neurons, average area of Nissl-positive neurons, average gray value of Nissl bodies, and integrated optical density (IOD) in the substantia nigra of the midbrain. Immunohistochemistry was performed to determine the proportion of α -synuclein (α -syn)-positive expression area and the proportion of average area of tyrosine hydroxylase (TH)-positive cells in the substantia nigra. Western blot was used to measure the expression levels of α -syn and autophagy-related proteins in the midbrain substantia nigra. **Results** Compared with the blank group, mice in the model group exhibited prolonged time to traverse a specific distance, elevated maximum velocity change rate, decreased average locomotor velocity, fewer footsteps per unit time, shortened total locomotor distance, reduced average velocity, decreased locomotor duration, and fewer total zone crossings, as well as prolonged head-turning time and pole-climbing time ($P < 0.05$). Additionally, there was a reduction in the number and average area of Nissl-positive neurons, along with reduced average gray value and IOD of Nissl bodies ($P < 0.05$). The proportion of α -syn-positive expression area and α -syn protein expression level both increased ($P < 0.05$), while the proportion of average area of TH-positive cells, as well as the expression levels of Parkin, PINK1, and Beclin-1 proteins, and the LC3-II/LC3-I protein ratio, all decreased ($P < 0.05$). Compared with the model group, mice in the Madopar group and the medium- and high-dose DXZCF groups showed shortened time to traverse a specific distance, decreased

maximum velocity change rate, increased average locomotor velocity, increased number of footsteps per unit time, prolonged total locomotor distance, prolonged locomotor duration, increased average velocity, increased total zone crossings, and reduced head-turning time and pole-climbing time ($P<0.05$). Additionally, the number and average area of Nissl-positive neurons increased, and the average gray value and IOD of Nissl bodies were elevated ($P<0.05$). The proportion of α -syn-positive expression area and α -syn protein expression level decreased ($P<0.05$), while the proportion of average area of TH-positive cells, as well as the expression levels of Parkin, PINK1, and Beclin-1 proteins, and the LC3-II/LC3-I protein ratio, increased ($P<0.05$). Compared with the low-dose DXZCF group, mice in the medium-dose DXZCF group showed shortened time to traverse a specific distance, reduced maximum velocity change rate, increased average locomotor velocity, increased number of footsteps per unit time, prolonged total locomotor distance, extended locomotor duration, increased average velocity, and shortened head-turning time and pole-climbing time ($P<0.05$). Additionally, the number and average area of Nissl-positive neurons increased, and the average gray value and IOD of Nissl bodies were elevated ($P<0.05$). The proportion of α -syn-positive expression area and α -syn protein expression level decreased ($P<0.05$), while the proportion of average area of TH-positive cells, as well as the expression levels of Parkin, PINK1, and Beclin-1 proteins, and the LC3-II/LC3-I protein ratio, increased ($P<0.05$). Compared with the medium-dose DXZCF group, mice in the high-dose DXZCF group exhibited prolonged time to traverse a specific distance, elevated maximum velocity change rate, reduced average locomotor velocity, fewer footsteps per unit time, shortened total locomotor distance, reduced average velocity, decreased locomotor duration, and prolonged head-turning time and pole-climbing time ($P<0.05$). Additionally, these mice showed fewer Nissl-positive neurons, reduced average gray value and IOD of Nissl bodies ($P<0.05$), increased proportion of α -syn-positive expression area and elevated α -syn protein expression level ($P<0.05$), as well as reduced proportion of average area of TH-positive cells, and reduced expression levels of Parkin and PINK1 proteins and the LC3-II/LC3-I protein ratio ($P<0.05$). **Conclusion** DXZCF is formulated based on the core pathogenesis of PD, adhering to the treatment principles of transforming phlegm and eliminating stasis, as well as extinguishing wind and alleviating tremors. By regulating the autophagy-related processes mediated by the PINK1/Parkin pathway, it reduces abnormal α -syn aggregation, protects the structural integrity of dopaminergic neurons and neurons in the substantia nigra, thereby improving motor function in mice.

[**Keywords**] Parkinson's disease; Danxing Zhichan Formula; PINK1/Parkin pathway; autophagy; α -synuclein synuclein

帕金森病(Parkinson's disease, PD)是中老年高发的神经退行性疾病^[1]。其主要病理特征为黑质多巴胺能神经元丢失和 α -突触核蛋白(α -synuclein, α -syn)聚集形成的路易小体^[2-4]。其核心运动症状包括肌肉强直、静止性震颤和运动迟缓,常伴认知障碍及精神异常等非运动症状^[5-6]。这些症状进行性加重会严重影响患者日常生活能力并造成巨大社会经济负担^[7]。研究显示,全球 65 岁以上人群 PD 患病率为 1%~2%,我国为 1.7%;随着人口老龄化的加剧,预计 2030 年我国 PD 患者将达 500 万,接近全球总数一半^[8-10]。

PD 发病机制复杂,涉及炎症反应、氧化应激、自

噬功能紊乱等病理过程^[11]。其中自噬功能紊乱被认为是 PD 发生发展的核心驱动因素^[12]。PTEN 诱导激酶 1(PTEN-induced putative kinase 1, PINK1)/E3 泛素连接酶(E3 ubiquitin-protein ligase parkin, Parkin)是调控自噬的核心通路,该通路功能异常会导致受损线粒体累积,引发神经元的损伤而导致 PD^[13]。目前 PD 的西医治疗仅能缓解症状,且存在长期不良反应^[14]。近年来,多种中药及中药复方已广泛应用于 PD 的临床治疗,疗效显著并得到了广泛认可^[15]。

中医学认为痰瘀互结为 PD 的关键病机,痰瘀阻滞脑脉致气血不畅、筋脉失养、肝风内动,遂发震颤、强直、运动迟缓等症,其核心治则为化痰祛瘀、息

风止颤。岐黄学者闫咏梅教授基于该治则,结合多年临床经验创立丹星止颤方。该方诸药配伍精当,切中 PD 痰瘀互结、肝风内动的病机,兼顾运动与非运动症状,临床疗效确切^[6]。本研究旨在从自噬调控角度,探讨丹星止颤方的作用机制,为中医药治疗 PD 提供新依据。

1 材料

1.1 实验动物

SPF 级 C57BL/6J 雄性健康小鼠 48 只,体质量 20~30 g,8~12 周龄,购自成都达硕实验动物有限公司,动物生产许可证号 SCXK(川)2020-0030。小鼠饲养于陕西中医药大学协同创新中心,饲养环境温度控制在 22~24 ℃,保持 12 h 昼夜循环(光照/黑暗),自由摄食饮水。8~12 周龄为 PD 造模适宜周龄,小鼠状态稳定、造模敏感性适中^[17];仅用雄鼠,因 PD 男性发病率更高,且可避免雌鼠雌激素及发情周期带来的实验变异^[18-19]。本实验方案经陕西中医药大学实验室管理委员会与动物伦理委员会批准(批准号:SUCMD20240114803)。

1.2 主要药物及试剂

丹星止颤方组方为:丹参 30 g、白芍 12 g、陈皮 10 g、胆南星 12 g、龟板 15 g、甘草 6 g、全蝎 5 g、川芎 9 g、僵蚕 25 g、清半夏 9 g,中药饮片均购自陕西中医药大学附属医院,由药房统一调配。

美多芭(多巴丝肼片,上海罗氏制药有限公司,国药准字 H10930198,规格:0.25 g×40 片/盒,批号:YT0222);鱼藤酮(rotenone, ROT)、氯仿、羧甲基纤维素(美国 Sigma 公司,批号:R8875、C2432、1096553);兔抗小鼠 α -syn 抗体、兔抗小鼠酪氨酸羟化酶(tyrosine hydroxylase, TH)抗体、兔抗小鼠 PINK1、Parkin、Beclin-1、微管相关蛋白 1 轻链 3(microtubule-associated protein 1 light chain 3, LC3)抗体(英国 Abcam 公司,批号:ab138501、ab315252、ab23707、ab77924、ab62557、ab48394);SABC 免疫组化试剂盒(兔)即用型(武汉博士德生物工程有限公司,批号:SA1022)。

1.3 主要仪器

生物组织脱水机、摊烤片机、生物组织包埋机

(浙江省金华市科迪仪器设备有限公司,型号:KD-TS3A、KD-TK、KD-BM);石蜡切片机(德国 Lecia 公司,型号:HistocoreBIOCUT);离心机(美国 ThermoFisher 公司,型号:Micro17R 型);电泳仪(美国伯乐公司,型号:Mini-PROTEAN Tetra Cell)。

2 方法

2.1 动物分组

将 48 只 SPF 级 C57BL/6J 雄性健康小鼠适应性饲养 1 周,待小鼠活动状态良好、毛发顺滑、饮食及体重正常后,随机分为 6 组:空白组、模型组、美多芭组及丹星止颤方低、中、高剂量组,每组 8 只。

2.2 药物制备

丹星止颤方于陕西中医药大学附属医院制剂中心煎至 96 mL/服,生药浓度为 1.39 g/mL(总生药量 133 g)。按 60 kg 成年人临床等效剂量的 10 倍计算^[20],低、中、高丹星止颤方的灌胃剂量分别为:11.1、22.2、44.4 g/(kg·d)。鱼藤酮混悬液:称取鱼藤酮粉末 50 mg,先加入 1 mL 氯仿充分溶解,再用 0.5%羧甲基纤维素钠溶液定容至 79 mL,涡旋混匀,配制成终浓度为 0.625 mg/mL 的混悬液,现配现用,灌胃剂量为 10 mg/(kg·d)^[21]。美多芭混悬液:将美多芭药片研磨成粉末,溶于氯化钠溶液中,配制成 9.75 g/L 的混悬液,灌胃剂量为 112.5 mg/(kg·d)^[22]。

2.3 造模及给药

2.3.1 造模 除空白组外,其余各组均采用浓度为 10 mg/(kg·d)的鱼藤酮混悬液灌胃,每日 1 次,连续 28 d,构建 PD 小鼠模型^[23]。当小鼠出现震颤、主动活动量减少、拒捕行为减弱、弓背、毛发失去光泽且污秽、不自主竖毛等异常行为时,PD 模型制备成功^[20]。

2.3.2 给药 造模成功后立即启动干预给药,各给药组分别灌胃相应剂量的美多芭混悬液及丹星止颤方,空白组、模型组灌胃等量生理盐水,每日 1 次,连续灌胃 28 d。

2.4 行为学检测

2.4.1 步态实验评估小鼠的运动平衡协调能力 检测前 3 d,每日对小鼠进行步态训练。用 DigiGait 动物步态检测分析系统记录小鼠通过特定距离的时

间、最大速度变化率、平均运动速度及单位时间脚步数,每只小鼠检测3次,间隔 ≥ 10 min,检测后用肥皂水清洁跑带,避免气味干扰^[24]。

2.4.2 旷场实验评估小鼠的自主活动能力及整体运动功能 末次灌胃结束后,采用自动摄像系统记录小鼠5 min内自发活动情况,分析运动总距离、运动时间、平均速度及穿过总分区次数^[25]。

2.4.3 爬杆实验评估小鼠的运动迟缓程度 检测前3 d,每日训练,将小鼠背向木杆置于杆顶木塞上,记录转头时间(转身至有下爬趋势的时间)和爬杆时间(从杆顶爬至杆底的时间),每只检测3次,间隔 ≥ 10 min,中途停顿或反向爬行则重新检测,每次检测不超过3 min,检测后用75%乙醇擦拭木杆^[25]。

2.5 标本采集

行为学检测完成后,给予小鼠2%戊巴比妥钠(0.1 mL/10 g)腹腔注射麻醉。每组随机选取4只小鼠,经4%多聚甲醛心脏灌注后取全脑,分离中脑黑质区组织,用于组织学检测;其余小鼠断头处死,于冰上快速剥离鼠脑,弃去小脑并切取前囟,用眼科镊小心分离中脑黑质区组织,置于 -80°C 冰箱保存,用于蛋白检测。

2.6 尼氏染色检测小鼠中脑黑质区尼氏小体水平

将石蜡切片脱蜡至水,经甲苯胺蓝染色、盐酸分化、梯度脱水透明后,中性树胶封片;采用切片扫描仪观察尼氏小体水平。进一步运用ImageJ软件对中脑黑质区尼氏阳性神经元数量、尼氏阳性神经元平均面积、尼氏小体平均灰度值及积分光密度(integrated optical density, IOD)进行定量分析,以评价黑质区尼氏小体水平。

2.7 免疫组织化学法检测小鼠中脑黑质区 α -syn、TH蛋白表达水平

石蜡切片经梯度脱蜡、水化后,用蒸馏水冲洗3次,每次5 min;滴加山羊血清室温封闭30 min,加入 α -syn、TH一抗(1:100), 4°C 湿盒孵育15 h;PBS冲洗3次,每次5 min,滴加HRP标记二抗(1:2 000), 37°C 孵育1 h;PBS冲洗后进行DAB显色,显微镜下观察显色情况,蒸馏水终止显色;经苏木素复染、稀盐酸分化、氨水返蓝后,梯度脱水、透明,中性树胶

封片。切片扫描仪观察并拍照,采用ImageJ软件分析 α -syn阳性表达面积占比及TH阳性细胞平均面积占比。

2.8 Western blot检测小鼠中脑黑质区 α -syn及自噬相关蛋白表达水平

取小鼠双侧中脑黑质组织,加入含蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂的RIPA裂解液, 4°C 匀浆、超声裂解,离心30 min取上清,BCA法测定蛋白浓度。制备等量蛋白样品,采用10% SDS-PAGE凝胶进行电泳, $0.45\ \mu\text{m}$ PVDF膜湿转120 min,5%脱脂奶粉(磷酸化蛋白用5% BSA)室温封闭1 h,加入 α -syn、PINK1、Parkin、Beclin-1、LC3一抗(1:1 000), 4°C 孵育过夜,次日加入HRP标记二抗(1:10 000),室温孵育1 h。ECL化学发光显影,ImageLab软件分析条带灰度值,以GAPDH为内参,计算目的蛋白相对表达量。

2.9 统计学分析

采用GraphPad Prism 9.0软件进行统计分析,计量资料以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示。先进行Shapiro-Wilk正态性检验及Levene方差齐性检验;数据符合正态分布且方差齐性者,采用单因素方差分析,组间多重比较采用Tukey法;不符合正态分布或方差齐性者,采用非参数检验,组间事后比较采用Dunn法并进行Bonferroni校正。以 $P\leq 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 丹星止颤方对PD小鼠行为学的影响

3.1.1 步态实验结果 与空白组相比,模型组小鼠通过特定距离的时间延长、最大速度变化率升高、平均运动速度降低、单位时间脚步数减少($P<0.05$);与模型组相比,美多芭组及丹星止颤方中、高剂量组通过特定距离的时间缩短、最大速度变化率降低、平均运动速度升高、单位时间脚步数增加($P<0.05$);与丹星止颤方低剂量组相比,丹星止颤方中剂量组通过特定距离的时间缩短、最大速度变化率降低、平均运动速度升高、单位时间脚步数增加($P<0.05$);与丹星止颤方中剂量组相比,丹星止颤方高剂量组通过特定距离的时间延长、最大速度变化率升高、平均运动速度降低、单位时间脚步数减少($P<0.05$)。详见表1。

表 1 各组小鼠步态实验指标比较($\bar{x}\pm s, n=8$)Table 1 Comparison of gait experimental parameters among different groups of mice ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	通过特定距离的时间/s	最大速度变化率/%	平均运动速度/(cm/s)	单位时间脚步数
空白组	1.26±0.23	25.86±4.57	15.33±1.56	11.13±1.25
模型组	2.65±0.25*	56.40±5.11*	8.41±0.90*	4.75±1.04*
美多芭组	1.57±0.23**	33.67±4.72**	13.41±1.88**	9.25±1.67**
丹星止颤方低剂量组	2.35±0.40**△□	54.26±4.52*△□	7.31±1.35*△□	5.25±1.04*△□
丹星止颤方中剂量组	1.67±0.24**▲	36.03±3.35**▲	13.20±1.50**▲	9.13±1.46**▲
丹星止颤方高剂量组	2.14±0.14**△□	44.94±5.02**△▲□	10.91±1.43**△▲□	7.25±1.39**△▲□

注:与空白组相比,* $P<0.05$;与模型组相比,** $P<0.05$;与丹星止颤方低剂量组相比,▲ $P<0.05$;与丹星止颤方中剂量组相比,□ $P<0.05$;与美多芭组相比,△ $P<0.05$ 。

表 2 各组小鼠旷场实验指标比较($\bar{x}\pm s, n=8$)Table 2 Comparison of open-field test indicators among different groups of mice ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	运动总距离/m	运动时间/s	平均速度/(cm/s)	穿过总分区/次
空白组	14.70±2.67	239.78±46.46	6.25±0.55	155.63±14.14
模型组	4.14±1.03*	100.90±20.51*	4.01±0.42*	87.13±9.13*
美多芭组	13.78±1.52 [#]	224.37±42.49 [#]	6.03±0.41 [#]	94.88±6.13*
丹星止颤方低剂量组	7.34±0.40**△□	112.48±9.07*△□	4.55±0.43**△□	134.88±13.02**△
丹星止颤方中剂量组	11.51±1.00**△▲	201.13±16.01**▲	6.10±0.25**▲	125.13±10.05**△
丹星止颤方高剂量组	9.67±1.25**△▲□	159.35±9.97**△▲□	5.33±0.41**△▲□	115.13±10.26**△▲

注:与空白组相比,* $P<0.05$;与模型组相比,** $P<0.05$;与丹星止颤方低剂量组相比,▲ $P<0.05$;与丹星止颤方中剂量组相比,□ $P<0.05$;与美多芭组相比,△ $P<0.05$ 。

3.1.2 旷场实验结果 与空白组相比,模型组小鼠运动总距离缩短、平均速度降低、运动时间及穿过总分区次数减少($P<0.05$);与模型组相比,美多芭组及丹星止颤方中、高剂量组运动总距离延长、运动时间增加、平均速度升高、穿过总分区次数增加($P<0.05$);与丹星止颤方低剂量组相比,丹星止颤方中剂量组运动总距离延长、运动时间增加、平均速度升高($P<0.05$);与丹星止颤方中剂量组相比,丹星止颤方高剂量组运动总距离缩短、运动时间减少、平均速度降低($P<0.05$)。详见表 2。

3.1.3 爬杆实验结果 与空白组相比,模型组小鼠转头时间和爬杆时间均延长($P<0.05$);与模型组相比,美多芭组及丹星止颤方中、高剂量组转头时间和爬杆时间均缩短($P<0.05$);与丹星止颤方低剂量组相比,丹星止颤方中剂量组转头时间和爬杆时间均缩短($P<0.05$);与丹星止颤方中剂量组相比,丹星止颤方高剂量组转头时间及爬杆时间均延长($P<0.05$)。详见表 3。

表 3 各组小鼠爬杆实验指标比较($\bar{x}\pm s, n=8$)Table 3 Comparison of pole-climbing test indicators among different groups of mice ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	转头时间	爬杆时间
空白组	3.86±0.42	18.63±1.95
模型组	13.57±1.52*	42.89±3.87*
美多芭组	5.21±0.58**	26.35±2.41**
丹星止颤方低剂量组	10.82±1.15**△□	36.74±3.26**△□
丹星止颤方中剂量组	5.68±0.63**▲	28.51±2.73**▲
丹星止颤方高剂量组	8.45±0.92**△▲□	32.17±3.05**△▲□

注:与空白组相比,* $P<0.05$;与模型组相比,** $P<0.05$;与丹星止颤方低剂量组相比,▲ $P<0.05$;与丹星止颤方中剂量组相比,□ $P<0.05$;与美多芭组相比,△ $P<0.05$ 。

3.2 丹星止颤方对 PD 小鼠中脑黑质区尼氏小体水平的影响

与空白组相比,模型组小鼠中脑黑质区尼氏阳性神经元数量减少、尼氏阳性神经元平均面积缩小、尼氏小体平均灰度值及 IOD 值降低($P<0.05$);与模型组相比,美多芭组及丹星止颤方中、高剂量组小鼠中脑黑质区尼氏阳性神经元数量增加、尼氏阳性神

神经元平均面积增大、尼氏小体平均灰度值及 IOD 值升高($P<0.05$);与丹星止颤方低剂量组相比,丹星止颤方中剂量组小鼠中脑黑质区尼氏阳性神经元数量增加、尼氏阳性神经元平均面积增大、尼氏小体平均灰度值及 IOD 值升高($P<0.05$);与丹星止颤方中剂量组相比,丹星止颤方高剂量组小鼠中脑黑质区尼氏阳性神经元数量减少、尼氏小体平均灰度值及 IOD 值降低($P<0.05$)。详见图 1、表 4。

3.3 丹星止颤方对 PD 小鼠中脑黑质区 α -syn 和 TH 表达水平的影响

与空白组相比,模型组小鼠中脑黑质区 α -syn 阳性表达面积占比升高($P<0.05$),TH 阳性细胞平均面积占比降低($P<0.05$);与模型组相比,美多芭组及丹星止颤方中、高剂量组小鼠中脑黑质区 α -syn 阳

性表达面积占比降低($P<0.05$),TH 阳性细胞平均面积占比升高($P<0.05$);与丹星止颤方低剂量组相比,丹星止颤方中剂量组小鼠中脑黑质区 α -syn 阳性表达面积占比降低($P<0.05$),TH 阳性细胞平均面积占比升高($P<0.05$);与丹星止颤方中剂量组相比,丹星止颤方高剂量组小鼠中脑黑质区 α -syn 阳性表达面积占比升高($P<0.05$),TH 阳性细胞平均面积占比降低($P<0.05$)。详见图 2—3、表 5。

3.4 丹星止颤方对 PD 小鼠中脑黑质区 α -syn 及自噬相关蛋白表达水平的影响

与空白组相比,模型组小鼠中脑黑质区 α -syn 蛋白表达水平升高($P<0.05$),Parkin、PINK1、Beclin-1 蛋白表达水平及 LC3-II/LC3-I 蛋白比值均降低($P<0.05$);与模型组相比,美多芭组及丹星止颤方

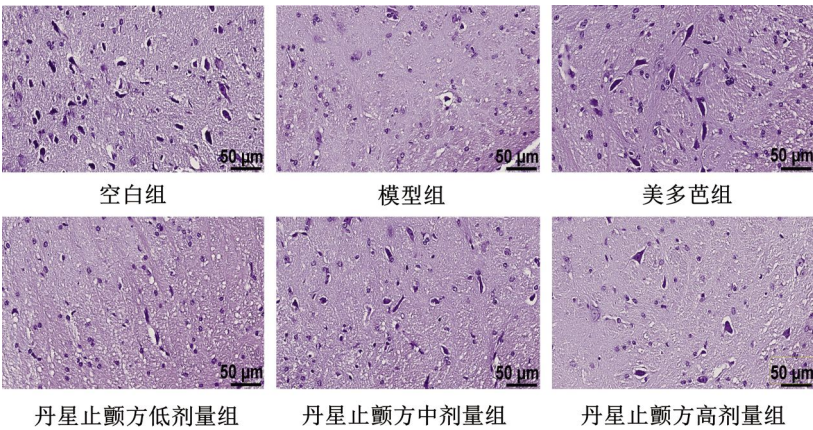


图 1 各组小鼠中脑黑质区尼氏小体染色代表图(尼氏染色,×30)

Fig.1 Representative images of Nissl body staining in the midbrain substantia nigra of mice in each group (Nissl staining, ×30)

表 4 各组小鼠中脑黑质区尼氏小体水平比较($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

Table 4 Comparison of Nissl body levels in the midbrain substantia nigra among different groups of mice ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

组别	尼氏阳性神经元数量/(个/视野)	尼氏阳性神经元平均面积/ μm^2	尼氏小体平均灰度值	IOD 值
空白组	363.33±4.04	131.31±0.78	254.94±0.11	334 30.13±283.82
模型组	120.33±2.52*	101.86±1.07*	116.97±1.62*	118 53.97±231.35*
美多芭组	251.00±4.00*#	142.05±1.16*#	149.04±1.40*#	206 81.84±314.70*#
丹星止颤方低剂量组	161.00±3.00*#△□	109.25±1.06*#△□	105.18±1.33*#△□	113 66.10±209.37*△□
丹星止颤方中剂量组	212.00±3.00*#△▲	126.49±1.16*#△▲	155.55±1.69*#△▲	194 40.32±315.70*#△▲
丹星止颤方高剂量组	160.00±3.00*#△□	128.24±1.09*#△▲	121.86±1.37*#△▲□	153 45.42±282.80*#△▲□

注:与空白组相比,* $P<0.05$;与模型组相比,# $P<0.05$;与丹星止颤方低剂量组相比,▲ $P<0.05$;与丹星止颤方中剂量组相比,□ $P<0.05$;与美多芭组相比,△ $P<0.05$ 。

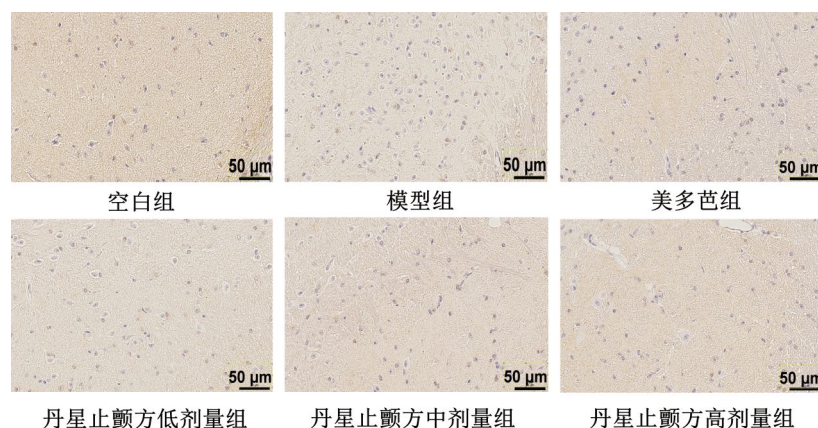


图 2 各组小鼠中脑黑质区 α -syn 阳性表达(免疫组织化学, $\times 30$)

Fig.2 Positive expression of α -syn in the midbrain substantia nigra of mice in each group (immunohistochemistry, $\times 30$)

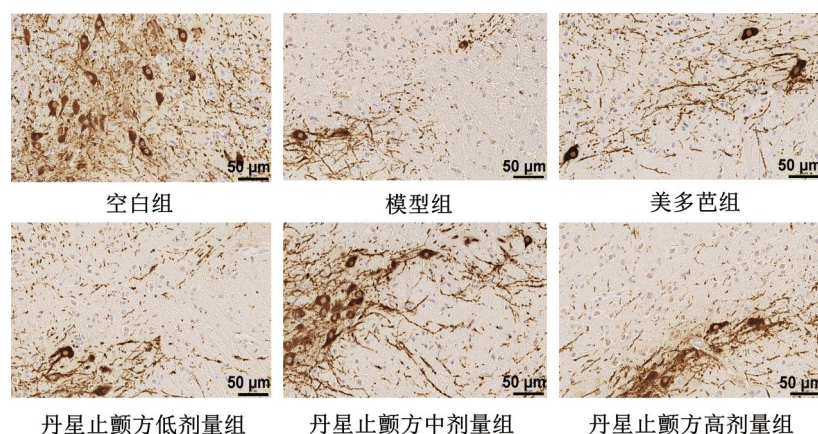


图 3 各组小鼠中脑黑质区 TH 阳性表达(免疫组织化学, $\times 30$)

Fig.3 Positive expression of TH in the midbrain substantia nigra of mice in each group (immunohistochemistry, $\times 30$)

表 5 各组小鼠中脑黑质区 α -syn 阳性表达面积占比及 TH 阳性细胞平均面积占比比较($\bar{x} \pm s$, %, $n=8$)

Table 5 Comparison of the proportion of α -synuclein positive expression area and the proportion of the average area of TH positive cells in the midbrain substantia nigra among different groups of mice ($\bar{x} \pm s$, %, $n=8$)

组别	α -syn 阳性表达面积占比	TH 阳性细胞平均面积占比
空白组	2.73 ± 0.05	26.15 ± 0.20
模型组	$5.91 \pm 0.05^*$	$7.64 \pm 0.13^*$
美多芭组	$3.34 \pm 0.05^{*#}$	$22.53 \pm 0.21^{*#}$
丹星止颤方低剂量组	$4.22 \pm 0.03^{*#\Delta\square}$	$14.48 \pm 0.17^{*#\Delta\square}$
丹星止颤方中剂量组	$3.35 \pm 0.04^{*#\Delta}$	$19.47 \pm 0.19^{*#\Delta\Delta}$
丹星止颤方高剂量组	$4.29 \pm 0.03^{*#\Delta\square}$	$16.42 \pm 0.15^{*#\Delta\Delta\square}$

注:与空白组相比, $^*P<0.05$;与模型组相比, $^{\#}P<0.05$;与丹星止颤方低剂量组相比, $^{\Delta}P<0.05$;与丹星止颤方中剂量组相比, $^{\square}P<0.05$;与美多芭组相比, $^{\Delta\Delta}P<0.05$ 。

中、高剂量组 α -syn 蛋白表达水平均降低($P<0.05$), Parkin、PINK1、Beclin-1 蛋白表达水平及 LC3- II/LC3- I 蛋白比值均升高($P<0.05$);与丹星止颤方低剂量组相比,丹星止颤方中剂量组 α -syn 蛋白表达水平降低($P<0.05$), Parkin、PINK1、Beclin-1 蛋白表

达水平及 LC3- II/LC3- I 蛋白比值均升高($P<0.05$);与丹星止颤方中剂量组相比,丹星止颤方高剂量组 α -syn 蛋白表达水平升高($P<0.05$), Parkin、PINK1 蛋白表达水平及 LC3- II/LC3- I 蛋白比值均降低($P<0.05$)。详见图 4、表 6。

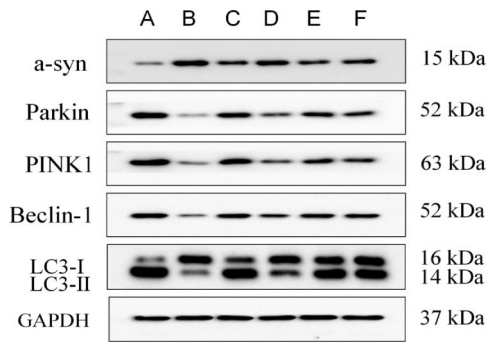


图 4 各组小鼠中脑黑质区 α -syn、PINK1、Parkin、Beclin-1、LC3- II、LC3- I 蛋白免疫印迹图

Fig.4 Western blot images of α -syn, PINK1, Parkin, Beclin-1, LC3- II, and LC3- I proteins in the midbrain substantia nigra of mice in each group

注:A.空白组;B.模型组;C.美多芭组;D.丹星止颤方低剂量组;E.丹星止颤方中剂量组;F.丹星止颤方高剂量组。

4 讨论

PD 是老年群体中仅次于阿尔茨海默病的第二大神经退行性疾病,核心病理特征为黑质致密部多巴胺能神经元进行性丧失及细胞内 α -syn 异常聚集^[26]。自噬作为细胞内关键的降解回收机制,可特异性清除异常折叠的毒性蛋白,维持细胞代谢稳态,为神经元正常功能运转提供重要保障^[12,27-28]。

PINK1/Parkin 通路是介导自噬发生的核心调控机制^[27],二者协同实现细胞内异常蛋白及受损成分的选择性降解:健康状态下,核基因编码的 PINK1 经蛋白酶体快速降解,当细胞出现蛋白聚集等异常时,其降解受阻并在胞内累积,通过自体磷酸化激活^[29]。激活的 PINK1 会进一步解除 Parkin 的活性抑制,使

其被招募至靶标位点,介导靶标蛋白泛素化并形成信号放大环路^[30]。而自噬标志物 LC3 会从细胞质中的 LC3- I 转化为定位于自噬小体膜的 LC3- II,与自噬受体协同识别泛素化靶标,最终启动选择性自噬^[31]。此外,Beclin-1 作为自噬启动的关键蛋白,可与其他自噬相关蛋白形成复合物,促进自噬小体形成,进一步参与自噬调控^[32]。自噬功能障碍是 PD 发病关键环节,PD 模型中自噬不足导致细胞内异常折叠蛋白等毒性成分在黑质、纹状体累积,破坏细胞稳态并促进 α -syn 错误折叠与聚集,而 α -syn 的异常聚集又会进一步加剧神经元损伤,形成恶性循环^[33]。因此,增强自噬以清除细胞内毒性蛋白及异常成分,是 PD 极具前景的治疗策略。

本研究从行为学、尼氏染色、免疫组织化学及 Western blot 等多个层面评价了丹星止颤方对 PD 小鼠的干预作用。行为学结果显示,与模型组比较,丹星止颤方干预后小鼠在步态实验中通过特定距离的时间缩短、最大速度变化率降低、平均运动速度升高、单位时间脚步数增加,在旷场实验中运动总距离延长、平均速度升高、运动时间及穿过总分区次数增加,在爬杆实验中转头时间和爬杆时间均缩短。上述结果表明,丹星止颤方能够在一定程度上改善 PD 小鼠运动迟缓、运动协调障碍及自主活动减少等行为学异常,提示其对 PD 小鼠整体运动功能具有一定改善作用。进一步对中脑黑质区尼氏小体水平进行分析发现,模型组小鼠尼氏阳性神经元数量减少、尼氏阳性神经元平均面积缩小、尼氏小体

表 6 各组小鼠中脑黑质区 α -syn、PINK1、Parkin、Beclin-1 蛋白表达水平及 LC3- II/LC3- I 蛋白比值比较($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

Table 6 Comparison of protein expression levels of α -syn, PINK1, Parkin, Beclin-1, and the LC3- II/LC3- I protein ratio in the midbrain substantia nigra among different groups of mice ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

组别	α -syn	Parkin	PINK1	Beclin-1	LC3- II/LC3- I
空白组	0.21 $\pm$ 0.06	1.02 $\pm$ 0.03	1.12 $\pm$ 0.03	1.06 $\pm$ 0.04	2.75 $\pm$ 0.11
模型组	1.03 $\pm$ 0.11*	0.18 $\pm$ 0.04*	0.30 $\pm$ 0.04*	0.28 $\pm$ 0.01*	0.30 $\pm$ 0.02*
美多芭组	0.56 $\pm$ 0.02*#	0.81 $\pm$ 0.05*#	0.88 $\pm$ 0.11*#	0.88 $\pm$ 0.06*#	1.77 $\pm$ 0.02*#
丹星止颤方低剂量组	0.81 $\pm$ 0.03*# $\square$	0.38 $\pm$ 0.01*# $\square$	0.35 $\pm$ 0.01*# $\square$	0.53 $\pm$ 0.02*# $\square$	0.50 $\pm$ 0.04*# $\square$
丹星止颤方中剂量组	0.53 $\pm$ 0.04*# $\blacktriangle$	0.68 $\pm$ 0.03*# $\blacktriangle$	0.65 $\pm$ 0.07*# $\blacktriangle$	0.83 $\pm$ 0.03*# $\blacktriangle$	1.14 $\pm$ 0.02*# $\blacktriangle$
丹星止颤方高剂量组	0.66 $\pm$ 0.05*# $\blacktriangle\square$	0.54 $\pm$ 0.02*# $\blacktriangle\square$	0.51 $\pm$ 0.02*# $\blacktriangle\square$	0.82 $\pm$ 0.04*# $\blacktriangle$	1.00 $\pm$ 0.03*# $\blacktriangle\square$

注:与空白组相比,* $P<0.05$;与模型组相比,# $P<0.05$;与丹星止颤方低剂量组相比, $\blacktriangle P<0.05$;与丹星止颤方中剂量组相比, $\square P<0.05$;与美多芭组相比, $\blacktriangle P<0.05$ 。

平均灰度值及 IOD 值降低,而丹星止颤方干预后上述指标均有不同程度改善,说明丹星止颤方可在一定程度上改善 PD 小鼠中脑黑质区尼氏小体水平的异常。免疫组织化学结果显示,模型组小鼠中脑黑质区 α -syn 阳性表达面积占比升高、TH 阳性细胞平均面积占比降低,经丹星止颤方干预后, α -syn 阳性表达面积占比下降,TH 阳性细胞平均面积占比升高,表明丹星止颤方可在一定程度上调节 PD 小鼠中脑黑质区 α -syn 及 TH 的异常表达。鉴于 α -syn 异常表达增加及 TH 表达减少与 PD 相关病理改变密切相关,该结果提示丹星止颤方可能对 PD 相关病理过程具有一定干预作用。Western blot 结果进一步显示,模型组小鼠中脑黑质区 α -syn 蛋白表达水平升高,而 PINK1、Parkin、Beclin-1 蛋白表达水平及 LC3-II/LC3-I 蛋白比值表达水平降低;丹星止颤方干预后, α -syn 蛋白表达水平降低,PINK1、Parkin、Beclin-1 蛋白表达水平及 LC3-II/LC3-I 蛋白比值表达水平升高。基于上述结果,提示 PD 模型小鼠存在自噬相关过程受抑,而丹星止颤方干预后相关指标的逆转,说明其作用可能与调节 PINK1/Parkin 相关自噬过程、减少 α -syn 异常蓄积有关。此外,该方呈现剂量依赖性,低剂量药势不足,难以祛除脑脉痰瘀;中剂量能更好地发挥化痰祛瘀、息风止颤的配伍功效,使方证契合度达到最佳;高剂量疗效未升反降,可能与复方配伍协同失衡或机体代谢负担相关,均与中医“中病即止、辨证施量”原则相符。

综上,丹星止颤方可在一定程度上改善 PD 小鼠运动功能障碍,调节中脑黑质区 α -syn 与 TH 的异常表达,并改善尼氏小体水平,提示其具有一定的神经保护作用,其机制可能与激活 PINK1/Parkin 介导的自噬有关,其中以中剂量的丹星止颤方整体干预效果最优。

参考文献

[1] YE H, ROBAK L A, YU M G, et al. Genetics and pathogenesis of Parkinson's syndrome[J]. Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease, 2023, 18: 95–121.

[2] COHEN J, MATHEW A, DOURVETAKIS K D, et al. Recent research trends in neuroinflammatory and neurodegenerative disorders[J]. Cells, 2024, 13(6): 511.

[3] LINDSAY H G, HENDRIX C J, GONZALEZ MURCIA J D, et al. The role of atypical chemokine receptors in neuroinflammation and neurodegenerative disorders[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(22): 16493.

[4] TOFARIS G K. Initiation and progression of α -synuclein pathology in Parkinson's disease[J]. Cellular and Molecular Life Sciences, 2022, 79(4): 210.

[5] COSTA H N, ESTEVES A R, EMPADINHAS N, et al. Parkinson's disease: A multisystem disorder[J]. Neuroscience Bulletin, 2023, 39(1): 113–124.

[6] JELLINGER K A. Morphological basis of Parkinson disease-associated cognitive impairment: An update[J]. Journal of Neural Transmission, 2022, 129(8): 977–999.

[7] 王 刚, 徐 刚, 谢心怡, 等. 中国帕金森病报告 2025[J]. 神经病学与神经康复学杂志, 2025, 21(2): 63–98.

[8] ZHU J Q, CUI Y S, ZHANG J J, et al. Temporal trends in the prevalence of Parkinson's disease from 1980 to 2023: A systematic review and meta-analysis[J]. The Lancet Healthy Longevity, 2024, 5(7): e464–e479.

[9] DELIZ J R, TANNER C M, GONZALEZ-LATAPI P. Epidemiology of Parkinson's disease: An update[J]. Current Neurology and Neuroscience Reports, 2024, 24(6): 163–179.

[10] ZHENG Z K, LV Y L, RONG S, et al. Physical frailty, genetic predisposition, and incident Parkinson disease[J]. JAMA Neurology, 2023, 80(5): 455–461.

[11] ZHANG Z J, SHI M, LI Z M, et al. A dual GLP-1/GIP receptor agonist is more effective than liraglutide in the A53T mouse model of Parkinson's disease[J]. Parkinson's Disease, 2023, 2023: 7427136.

[12] 姜诚诚, 李洋洋, 段可欣, 等. Parkin 通过介导 PINK1/Parkin 线粒体自噬信号通路加速小鼠帕金森病发展及加剧神经炎症发生[J]. 南方医科大学学报, 2024, 44(12): 2359–2366.

[13] ELDEEB M A, ESMAILI M, HASSAN M, et al. The role of PTEN-L in modulating PINK1-parkin-mediated mitophagy[J]. Neurotoxicity Research, 2022, 40(4): 1103–1114.

[14] 付新钰, 刘源香. 中西医治疗帕金森病研究进展[J]. 中国中医药现代远程教育, 2025, 23(2): 157–159.

[15] 黄少东, 梁健芬, 陈月桥. 中药复方联合复方左旋多巴治疗帕金森病的临床研究进展[J]. 湖南中医药大学学报, 2018, 38(12): 1471–1475.

[16] 王 楠. 丹星止颤方治疗帕金森病(痰瘀互结证)的随机对照临床及转录组学研究[D]. 咸阳: 陕西中医药大学, 2024.

[17] SANTORO M, FADDA P, KLEPHAN K J, et al. Neurochemical, histological, and behavioral profiling of the acute, sub-a-

- cute, and chronic MPTP mouse model of Parkinson's disease[J]. *Journal of Neurochemistry*, 2023, 164(2): 121–142.
- [18] PATEL R, KOMPOLITI K. Sex and gender differences in Parkinson's disease[J]. *Neurologic Clinics*, 2023, 41(2): 371–379.
- [19] THADATHIL N, XIAO J F, HORI R, et al. Brain selective estrogen treatment protects dopaminergic neurons and preserves behavioral function in MPTP-induced mouse model of Parkinson's disease[J]. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*, 2021, 16(3): 667–678.
- [20] 崔拓拓, 曹俊岭, 欧阳竞锋, 等. 大定风珠对帕金森病模型小鼠脑黑质小胶质细胞活化及 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路的影响[J]. *中医杂志*, 2023, 64(9): 930–938.
- [21] PEREZ-PARDO P, DODIYA H B, ENGEN P A, et al. Role of TLR4 in the gut-brain axis in Parkinson's disease: A translational study from men to mice[J]. *Gut*, 2019, 68(5): 829–843.
- [22] 冯琬迪, 王媛媛, 盖 聪, 等. 针刺联合美多芭对帕金森病小鼠脑多巴胺神经元及蛋白激酶 B 表达的影响[J]. *北京中医药大学学报*, 2017, 40(3): 241–246.
- [23] LIU L, ZHAO Y, YANG W X, et al. Rotenone induces Parkinsonism with constipation symptoms in mice by disrupting the gut microecosystem, inhibiting the PI3K-AKT signaling pathway and gastrointestinal motility[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2025, 26(5): 2079.
- [24] 常晓丽, 张丽丽, 徐子铭, 等. 基于 Ghrelin-UCP2 通路探讨电针合谷、太冲穴改善帕金森病小鼠运动及非运动功能障碍的作用机制[J]. *中华中医药杂志*, 2024, 39(5): 2406–2410.
- [25] 胡毅龙, 赵怡楠, 苗晋鑫, 等. 大小鼠帕金森病行为学评价方法概述及常用动物模型特点分析[J]. *中国实验动物学报*, 2024, 32(7): 942–954.
- [26] JANKOVIC J, TAN E K. Parkinson's disease: Etiopathogenesis and treatment[J]. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 2020, 91(8): 795–808.
- [27] KATAURA T, WILSON N, MA G L, et al. Mitophagy as a guardian against cellular aging[J]. *Autophagy*, 2025, 21(1): 249–251.
- [28] PICCA A, FAITG J, AUWERX J, et al. Mitophagy in human health, ageing and disease[J]. *Nature Metabolism*, 2023, 5(12): 2047–2061.
- [29] THAYER J A, PETERSEN J D, HUANG X P, et al. A unified mechanism for mitochondrial damage sensing in PINK1-Parkin-mediated mitophagy[J]. *The EMBO Journal*, 2026, 45(1): 64–105.
- [30] WANG S Y, WUNIQIEMU T, TANG W F, et al. Luteolin inhibits autophagy in allergic asthma by activating PI3K/Akt/mTOR signaling and inhibiting Beclin-1-PI3KC3 complex[J]. *International Immunopharmacology*, 2021, 94: 107460.
- [31] NORTH B J, FRACCHIOLLA D, RAGUSA M J, et al. The rapidly expanding role of LC3-interacting regions in autophagy[J]. *Journal of Cell Biology*, 2025, 224(8): e202504076.
- [32] QUILES J M, NAJOR R H, GONZALEZ E, et al. Deciphering functional roles and interplay between Beclin1 and Beclin2 in autophagosome formation and mitophagy[J]. *Science Signaling*, 2023, 16(770): eabo4457.
- [33] BASAK B, HOLZBAUR E L F. Mitochondrial damage triggers the concerted degradation of negative regulators of neuronal autophagy[J]. *Nature Communications*, 2025, 16(1): 7367.

(本文编辑 陈 晨)