

黄孔丽,苏世杰,王玉婷,等. 模式生物斑马鱼在神经退行性疾病中的研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2023, 33(10): 121-131.

Huang KL, Su SJ, Wang YT, et al. Research progress on the model organism zebrafish in neurodegenerative diseases [J]. Chin J Comp Med, 2023, 33(10): 121-131.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2023.10.016

# 模式生物斑马鱼在神经退行性疾病中的研究进展

黄孔丽<sup>1</sup>, 苏世杰<sup>1</sup>, 王玉婷<sup>1</sup>, 刘壮壮<sup>1</sup>, 曹丹丹<sup>1,2</sup>, 汪沛<sup>1</sup>, 陈冠林<sup>1,3</sup>, 王奇<sup>1\*</sup>

(1.广州中医药大学科技创新中心,广州 510405;2.广州中医药大学针灸康复临床医学院,广州 510006;  
3.广州中医药大学第三附属医院,广州 510378)

**【摘要】** 神经退行性疾病(neurodegenerative diseases, NDs)是一类慢性、进行性发展的神经疾病,以特异性神经元的大量丢失为主要特征,主要包括阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)、帕金森病(Parkinson's disease, PD)、亨廷顿病(Huntington's disease, HD)及肌萎缩性脊髓侧索硬化症(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)等。虽然不同类型神经退行性疾病的病变部位和病因各不相同,但大脑特定区域的迟发性神经细胞退行性病变、神经元或突触丢失是它们的共同特征,因此统称为神经退行性疾病。由于神经退行性疾病的复杂性、多基因调控性,导致其病因和发病机制尚不明确,因此这类疾病的治疗举步维艰。近年来,斑马鱼(zebrafish)作为一种新型的模式生物,因其神经传导系统、神经元和神经胶质细胞类型及疾病相关基因同源性与人类似,受到越来越多的关注。目前,斑马鱼已广泛应用于神经退行性疾病的研究,并在此领域研究中已取得一定的成果,提高了我们对神经退行性疾病的认识。本文通过查阅近几年国内外相关文献,综述斑马鱼作为模式生物近年来在神经退行性疾病研究中的研究进展。

**【关键词】** 斑马鱼;神经退行性疾病;模式生物;疾病模型;研究进展

**【中图分类号】** R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2023) 10-0121-11

## Research progress on the model organism zebrafish in neurodegenerative diseases

HUANG Kongli<sup>1</sup>, SU Shijie<sup>1</sup>, WANG Yuting<sup>1</sup>, LIU Zhuangzhuang<sup>1</sup>, CAO Dandan<sup>1,2</sup>, WANG Pei<sup>1</sup>, CHEN Guanlin<sup>1,3</sup>,  
WANG Qi<sup>1\*</sup>

(1. Science and Technology Innovation Center, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China.

2. Medical College of Acupuncture Moxibustion and Rehabilitation, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006.

3. the Third Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510378)

**【Abstract】** Neurodegenerative diseases are chronic and progressive neurological diseases characterized by loss of a large number of specific neurons. They mainly include Alzheimer's disease, Parkinson's disease, Huntington's disease, and amyotrophic lateral sclerosis. Although the lesions and etiologies of various types of neurodegenerative diseases are different, delayed neurodegenerative lesions and cell loss in specific brain areas are common characteristics. For this reason, they are collectively referred to as neurodegenerative diseases. In recent years, zebrafish have attracted increasing

**【基金项目】** 国家自然科学基金面上项目(82274616);广东省普通高校重点实验室项目(2019KSYS005);广东省科技计划国际科技合作项目(2020A0505100052)。

**【作者简介】** 黄孔丽(1995—),女,硕士,研究方向:中医药防治老年脑病。E-mail:20201110981@stu.gzucm.edu.cn

**【通信作者】** 王奇(1963—),男,教授,研究方向:中医药防治老年脑病。E-mail:Wangqi@gzucm.edu.cn

attention as a new type of model organism. Although some differences exist between zebrafish and human central nervous systems, zebrafish neural conduction systems, neuronal and glial cell types, and disease-related gene homology are very similar to those of humans. Zebrafish has been widely used to study neurodegenerative diseases, and some achievements have been made in this field to improve our understanding of these diseases. However, because of the complexity, multiple factors, and multi-gene regulation of neurodegenerative diseases, the etiology and pathogenesis of zebrafish are unclear. Therefore, treatment of this kind of disease has been difficult. By consulting the relevant literature from home and abroad in recent years, this article reviews recent advances in neurodegenerative diseases using zebrafish as a model organism.

**【Keywords】** zebrafish; neurodegenerative diseases; model organism; disease model; research progress

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

斑马鱼,因体侧有像斑马一样纵向的蓝色与银色相间的条纹而得名。斑马鱼作为一种脊椎动物模型,具有物种稳定、个体差异小、发育周期短、繁殖能力强、神经系统发育迅速等特点。大约 82% 的人类疾病基因在斑马鱼中有同源基因<sup>[1]</sup>,基因组信号调控也与人类有很高的相似性,可应用于高通量筛选<sup>[2]</sup>。斑马鱼的大脑拥有哺乳动物大脑中的所有主要结构,斑马鱼的主要神经递质系统,包括去甲肾上腺素能、5-羟色胺能、多巴胺能和组胺能系统,显示出与哺乳动物系统的许多相似性<sup>[3]</sup>。此外,斑马鱼具有与人类相似的血脑屏障功能<sup>[4]</sup>。这些都说明了斑马鱼与人类具有高度保守的大脑组织,可用于研究神经退行性疾病,这使得斑马鱼在神经退行性疾病研究中有独特的优势,是理想的模

式动物(图 1),应用前景广阔,弥补了啮齿动物的不足(表 1)。

### 1 斑马鱼在神经退行性疾病中的研究进展

#### 1.1 阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)

AD 是一种慢性进行性神经退化性疾病,以进行性记忆减退、认知障碍、人格改变为主要临床特征,是痴呆最常见的类型<sup>[5]</sup>。随着社会老龄化的加剧,AD 的发病率也迅速增长。大脑神经细胞外不溶性淀粉样蛋白  $\beta$  斑块(amyloid-beta,  $A\beta$ )、细胞内 Tau 蛋白过度磷酸化所致神经纤维缠结形成(neurofibrillary tangles, NFTs)<sup>[6]</sup>以及突触和神经元丢失是 AD 的主要病理特征<sup>[5]</sup>。AD 的发病机制复杂,至今尚无完全明确,关于其致病假说主要有  $A\beta$

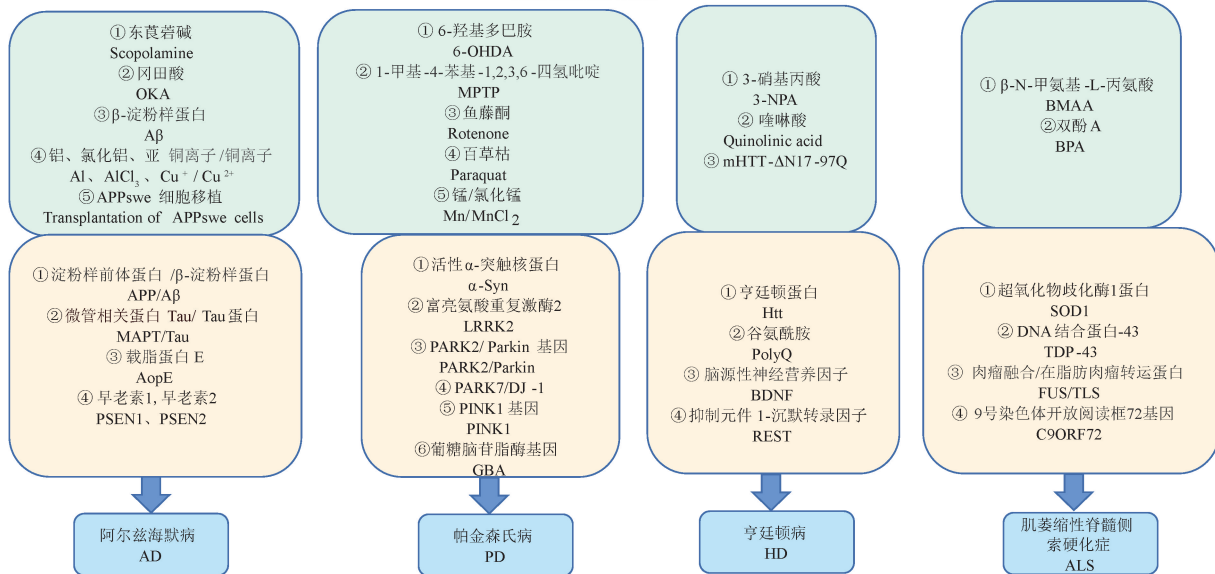
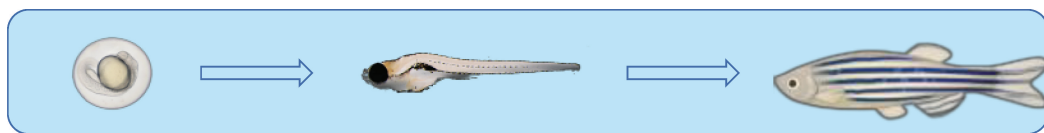


图 1 斑马鱼构建神经退行性疾病模型

Figure 1 Neurodegenerative disease models of zebrafish

表 1 模式生物斑马鱼与啮齿动物实验优势比较

Table 1 Comparison of experimental advantages between model zebrafish and rodents

比较项目 Compared items	啮齿动物 Rodent	斑马鱼 Zebrafish
实验周期短和繁殖力强 Short experiment period and strong fecundity	×	✓
试验费用低 Low test cost	×	✓
受试物用量少 Amount of subject matter is small	×	✓
体外受精和体外发育 <i>In vitro</i> fertilization and <i>in vitro</i> development	×	✓
产卵量大, 胚胎透明 Egg production is large and the embryo is transparent	×	✓
高通量筛选药物 High throughput screening drugs.	×	✓
研究多器官 Study multiple organs	✓	✓
评价代谢物的活性 Evaluate the activity of metabolites	✓	✓
评价药效和药动学 Pharmacodynamics and pharmacokinetics were evaluated	✓	✓
准确判断对药物的吸收和利用率 Accurately determine the absorption and utilization of drugs	✓	×
高级认知功能 Higher cognitive function	✓	×
行为丰富, 三维运动方式, 有典型社交行为 Rich behavior, three-dimensional movement, typical social behavior	×	✓
难做或无法做的疾病模型或毒性评价模型 Difficult or impossible disease models or toxicity evaluation models	×	✓
操作简单, 模型稳定, 影响因素较少 Operation is simple, the model is stable and the influencing factors are few	×	✓

毒性学说, 微管相关蛋白 Tau (microtubule-associated protein Tau, MAPT) 异常学说等<sup>[7]</sup>。

研究表明, 应用于研究 AD 的斑马鱼模型包括突变型 APP<sup>swE</sup>、突变型 PSEN1 或 PSEN2、Tau-P301L-Tg 斑马鱼, 东莨菪碱、蛋白磷酸酶 2A 抑制剂冈田酸 (okadaic acid, OKA)、 $A\beta_{1-42}$ 、铝 (Al)、氯化铝 (AlCl<sub>3</sub>) 和氯化铜 (CuCl<sub>2</sub>) 等物质诱导的 AD 模型等。研究者们基于此类模型探究了部分物质抗 AD 的药理作用。

通过斑马鱼细胞移植技术构建可调控突变型 APP<sup>swE</sup> 表达的 AD 动物模型, 探究  $A\beta$  沉积对脑血管系统的损伤及动物行为学的影响, 为研究 AD 的治疗构建一个具有时空可控性的动物模型, 这项研究建立的 APP<sup>swE</sup> 斑马鱼表现为脑内神经元数量减少<sup>[8]</sup>。编码基因 PSEN1 和 PSEN2 的突变在早发型家族性 AD 患者中被发现, 突变型 PSEN1 或 PSEN2 已被证实可增加大脑中长时间的高纤维原性  $A\beta$  形成, 从而诱发 AD 的发生<sup>[9]</sup>。斑马鱼 PSEN1 剪接干扰可诱导早发性 AD 表型, 如认知障碍、 $A\beta_{1-42}$  聚集和突触减少<sup>[10]</sup>。人类 Tau-P301 L 突变体已被广泛用于建立转基因动物模型<sup>[11-12]</sup>, 此类模型因仿效了 AD 患者 Tau 蛋白异常修饰而被广泛应用<sup>[13]</sup>。Tau-

P301 L 过表达会导致成年斑马鱼脑内 Tau 过度磷酸化<sup>[14]</sup>。Alavi Naini 等<sup>[15]</sup>在 Tau-P301 L-Tg 斑马鱼中使用硫酸肝素拮抗剂和草酰硫酸肝素拮抗剂可以减少 p-Tau, 减轻神经元丢失。Barbereau 等<sup>[14]</sup>利用 Tau-P301 L-Tg 斑马鱼研究了早期 Tau 诱导的神经毒性如何改变脑源性神经营养因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) 信号, 结果表明 Tau 神经毒性引起 BDNF 系统的改变。

东莨菪碱为胆碱能拮抗剂, 腹腔注射后可出现胆碱功能障碍和氧化应激, 此模型可以造成动物学习记忆障碍。Capatina 等<sup>[16]</sup>用东莨菪碱诱导的斑马鱼记忆损伤模型探讨百里香精油对胆碱能神经元的作用, 证实了百里香精油可以降低 AChE 活性和大脑抗氧化能力。Boiangiu 等<sup>[17]</sup>等用可替宁和 6-羟基-1-尼古丁治疗东莨菪碱诱导的 AD 斑马鱼模型, 发现二者均能减弱东莨菪碱诱导的焦虑样行为和记忆障碍, 并降低斑马鱼大脑中的 ROS 水平和 AChE 活性。研究报道, OKA 作为斑马鱼 AD 疾病模型的诱导物, 可以诱导斑马鱼氧化应激、胶质细胞激活、神经炎症、胆碱功能障碍、谷氨酸兴奋性毒性和线粒体功能障碍<sup>[18-19]</sup>, 表现出 AD 的大部分症状<sup>[20]</sup>。Koehler 等<sup>[21]</sup>利用 OKA 建立了斑马鱼 AD

模型,研究 4-苄基-2-甲基-1,2,4-噻二唑烷-3,5-二酮(TDZD-8)对 AD 模型 GSK3 $\beta$  的抑制作用,发现注射 OKA 后能够重现与 AD 相关的大部分神经病理,降低 p-Tau、Pp2A 和 GSK-3 $\beta$  活性/失活比。研究发现,AD 患者脑组织内 A $\beta$  明显增多,并形成大量的老年斑<sup>[5]</sup>。人体内 A $\beta$  最常见的亚型是 A $\beta_{1-40}$  和 A $\beta_{1-42}$ 。其中 A $\beta_{1-42}$  更容易聚集且更强的毒性,从而形成 A $\beta$  沉淀的核心,引发神经毒性作用<sup>[5]</sup>。Reinhardt 等<sup>[22]</sup> 选用 A $\beta_{1-42}$  来诱导斑马鱼 AD 模型,发现细胞周期蛋白依赖性激酶 5(CDK5) 抑制剂 LDC8 在斑马鱼 AD 模型中起到保护神经元的作用。Sang 等<sup>[23]</sup> 研究发现阿魏酸衍生物 TM-10 对 A $\beta_{1-42}$  诱导的斑马鱼血管损伤具有有效的神经保护作用,可以抑制人类丁酰胆碱酯酶(butyrylcholinesterase, BuChE)、单胺氧化酶(monoamineoxidase, MAO) 活性,减少 A $\beta$  聚集。Al 是一种已知会导致大脑神经毒性的金属,它会促进神经退化,影响记忆和认知能力,诱发 AD 的发病<sup>[24]</sup>。Gao 等<sup>[25]</sup> 通过建立 Al 诱导的斑马鱼 AD 模型探讨其特异性坏死抑制剂 Necrostatin-1 是否能有效缓解斑马鱼 AD 模型的学习记忆障碍,结果表明 Necrostatin-1 可以逆转 Al 诱导的学习记忆损伤、提高 Ach 水平和神经细胞数量。钟绮媚等<sup>[26]</sup> 用 Al 诱导的斑马鱼 AD 模型来研究不同  $\omega$ -3 多不饱和脂肪酸二十碳五烯酸(eicosapentaenoic acid, EPA)、二十二碳五烯酸(docosapentaenoic acid, DPA)、二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA) 对斑马鱼 AD 模型记忆损伤和神经病理学变化影响,结果显示 Al 显著激活斑马鱼幼鱼脑内的小胶质细胞;EPA、DPA 和 DHA 均显著降低 A $\beta$  蛋白浓度和 GFAP 的 mRNA 表达。AlCl<sub>3</sub> 是一种用于诱导啮齿类 AD 模型的标准化学品<sup>[27]</sup>。Kaur 等<sup>[27]</sup> 用 AlCl<sub>3</sub> 处理斑马鱼,发现斑马鱼体内还原型谷胱甘肽和超氧化物歧化酶水平显著降低,而丙二醛水平升高。汪雪雁等<sup>[28]</sup> 利用 CRISPR/Cas9 技术敲除斑马鱼 *ucp2* 基因,研究 *ucp2* 基因在 AlCl<sub>3</sub> 致斑马鱼痴呆中的作用,研究发现鱼体内 ROS 水平显著升高;*psen1*、*psen2*、*tnf- $\alpha$*  和 *il-1 $\beta$*  mRNA 转录水平显著上调。夏乐旋<sup>[29]</sup> 用选用 AlCl<sub>3</sub> 诱导 AD 斑马鱼模型,研究生慧汤抗 AD 的作用机制,结果显示生慧汤能改善 AD 斑马鱼模型的学习记忆能力和认知功能障碍、减少 AD 斑马鱼模型脑部异常 A $\beta$  的积累,抑制 A $\beta$  的毒性损伤,促进神经元的修复和再生。用 AlCl<sub>3</sub> 诱导 6 月龄斑

鱼,发现补肾益智方<sup>[30]</sup> 能有效改善 AD 斑马鱼的学习记忆能力,减少 A $\beta$  生成,减轻 ROS。黄连解毒汤<sup>[31]</sup>、钩藤碱<sup>[32]</sup> 以及黄精多糖<sup>[33]</sup> 作用于 AlCl<sub>3</sub> 诱导的 AD 斑马鱼模型可以通过下调 p-P38/P38 的比值,上调 Ncadherin 蛋白水平,进而改善 AD 模型斑马鱼的学习记忆能力。Cu<sup>+</sup>/Cu<sup>2+</sup> 离子是人体必需的,严重的神经和代谢紊乱与 Cu<sup>+</sup>/Cu<sup>2+</sup> 稳态的异常相关,如 AD。Rakshit 等<sup>[34]</sup> 使用 CuCl<sub>2</sub> 处理斑马鱼模型来评估化合物 2c 和 3c 在体内的功效,实验表明,用 CuCl<sub>2</sub> 处理的野生型斑马鱼幼鱼表现出氧化应激增强。表 2 总结了近几年使用斑马鱼来构建 AD 模型的建立方式、治疗药物及其作用机制。

## 1.2 帕金森病(Parkinson's disease, PD)

PD 是一种伴有为震颤、肌强直、进行性运动迟缓及姿势异常等典型症状的神经退行性疾病。病理特征主要表现为中脑黑质纹状体多巴胺能(dopaminergic, DA) 神经元变性缺失和  $\alpha$ -突触核蛋白( $\alpha$ -synuclein,  $\alpha$ -Syn) 组成的路易小体(Lewy bodies, LBs) 形成<sup>[35]</sup>。PD 的确切病因至今未明。神经毒物和遗传因素均可能参与 PD 中 DA 神经元的变性死亡过程。斑马鱼具有腹侧间脑,这与哺乳动物的黑质是同源的<sup>[36]</sup>。一些神经毒素如 6-羟多巴胺(6-hydroxydopamine, 6-OHDA)、1-甲基-4-苄基-1,2,3,6-四氢吡啶(1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6 tetrahydropyridine, MPTP)、百草枯(Paraquat) 和鱼藤酮(Rotenone) 是现今常被用于复制 PD 的斑马鱼模型,均会不同程度地影响斑马鱼模型的多巴胺神经系统并出现 PD 的主要症状<sup>[37]</sup>。

6-OHDA 暴露于斑马鱼会导致 DA 神经元的丧失和运动活动的降低<sup>[36]</sup>。Abidar 等<sup>[38]</sup> 探究长角豆叶水提取物对 6-OHDA 诱导的斑马鱼 PD 模型的认知影响和抗氧化活性,结果表明,长角豆叶水提取物具有抗氧化和抗乙酰胆碱酯酶活性。Wu 等<sup>[39]</sup> 采用 6-OHDA 诱导的斑马鱼 PD 模型评价岩藻黄质的神经保护作用,发现岩藻黄质预处理显著增加了斑马鱼幼虫的总游动距离,改善了脑组织损伤。Kesh 等<sup>[40-41]</sup> 检测柚皮素和橙皮苷对 6-OHDA 毒性的神经保护作用,发现二者均降低了 ROS 水平,改善斑马鱼幼虫的运动能力。MPTP 是一种能够引起动物类 PD 症状和病理的神经毒素,可用作构建 PD 模型<sup>[42]</sup>。Selvaraj 等<sup>[43]</sup> 利用 MPTP 构建了斑马鱼的 PD 模型,发现其体内 DA 神经元及转运体显著减少,并表现出焦虑、运动迟缓、运动范围受限的症

状。Ren 等<sup>[44]</sup>用 MPTP 诱导斑马鱼幼鱼做 PD 模型评价甘草酸素对斑马鱼 PD 的治疗效果,结果证明甘草酸素可以缓解细胞凋亡和自噬,抑制炎症反应。Zhao 等<sup>[45]</sup>探讨迷迭香酸对 MPTP 诱导的斑马鱼胚胎多巴胺能神经毒性的影响,发现迷迭香酸具有神经保护作用。Duan 等<sup>[46]</sup>研究苦茶碱在 MPTP

诱导的斑马鱼 PD 模型中的作用,苦茶碱被证明可以恢复 DA 神经元的损失和行为表现的损害。牟蕾等<sup>[47]</sup>用 MPTP 诱导斑马鱼 PD 模型,发现 MPTP 造模组的斑马鱼 DA 神经元出现不同程度的损伤,出现运动迟缓、焦虑、与 PD 相关的基因表达异常等。百草枯是一种能引起多巴胺能神经元死亡并影响

表 2 AD 模型斑马鱼建立方式、治疗药物及其作用机制  
Table 2 AD model zebrafish established, therapeutic drugs and their mechanism of action

建立方式 Mode of establishment	抗 AD 药物 Drugs against Alzheimer's disease	作用机制 Mechanism of action
瑞典突变型 APP APP <sub>swe</sub> 突变 APP <sub>swe</sub> mutation	/	损伤脑血管系统的、影响动物行为学 <sup>[8]</sup> Impairing the cerebrovascular system and affecting animal behavior
早老素 1、早老素 2 突变 PSEN1 and PSEN2 mutations	/	Aβ 形成、认知障碍、Aβ42 聚集和突触减少 <sup>[9-10]</sup> Aβ formation, cognitive impairment, Aβ42 aggregation, and synaptic reduction
P301L 突变 Tau 转基因 Tau-P301L-Tg	硫酸肝素拮抗剂和草酰硫酸肝素拮抗剂 Heparan sulfate antagonist and oxalyl heparin sulfate antagonist	减少 p-Tau、减轻神经元缺陷 <sup>[15]</sup> Reduce p-Tau and reduce neuronal defects
东莨菪碱 Scopolamine	① 百里香精油 ① Thymus vulgaris Essential Oil ② 可替宁和 6-羟基-1-尼古丁 ② Cotinine and 6-Hydroxy-L-Nicotine	① 降低 AChE 活性和大脑抗氧化能力 <sup>[16]</sup> ① Decreased AChE activity and brain antioxidant capacity ② 减弱焦虑样行为和记忆障碍,降低 ROS 和 AChE 活性 <sup>[17]</sup> ② Reduce anxiety-like behavior and memory impairment, decreased ROS and AChE activity
冈田酸 OKA	4-苄基-2-甲基-1,2,4-噻二唑烷-3,5-二酮 TDZD-8	降低 p-Tau、Pp2A 和 GSK-3β 活性 <sup>[21]</sup> Decreased p-Tau, Pp2A and GSK-3β activity
β-淀粉样肽(1-42) Aβ <sub>1-42</sub>	① 化合物 LDC8 ① Compound LDC8 ② 阿魏酸衍生物 TM-10 ② Ferulic acid derivative TM-10	① 减少 p-Tau;抑制 Gsk3β 和 CDK5 <sup>[22]</sup> ① Reduce p-Tau; Gsk3β and CDK5 were inhibited ② 抑制 BuChE、MAO 活性;减少 Aβ 聚集 <sup>[23]</sup> ② Inhibit the activity of BuChE and MAO
铝 Al	① 坏死抑素-1 ① Necrostatin-1 ② 不同 ω-3 多不饱和脂肪酸(二十碳五烯酸、二十二碳五烯酸、二十二碳六烯酸) ② Different fomega (ω)-3 polyunsaturated fatty acids (EPA, DPA, DHA)	① 抑制 Aβ <sub>42</sub> 积聚,逆转 BuChE 活性,抑制 MAOB 活性 <sup>[25]</sup> ① Inhibition of A beta 42 accumulation, reverse BuChE activity, inhibit MAOB activity ② 降低 Aβ、GFAP 的 mRNA 表达。降低 p-Tau、AChE 和 IL-1β、抑制 Hexb、上调 BDNF <sup>[26]</sup> ② mRNA expression of Aβ and GFAP was decreased. It decreased p-Tau, AChE and IL-1β, inhibited Hexb, and upregulated BDNF
氯化铝 AlCl <sub>3</sub>	① 生慧汤 ① Shenghui decoction ② 补肾益智方 ② Bushen Yizhi Formula ③ 黄连解毒汤 ③ HuangLian Jiedu Decocti ④ 钩藤碱 ④ Rhynchophylline ⑤ 黄精多糖 ⑤ Polygonatum polysaccharide	① 改善学习记忆能力和认知功能障碍、减少 Aβ 聚集,抑制 Aβ 的毒性损伤,促进神经元的修复和再生 <sup>[29]</sup> ① Improve learning and memory ability and cognitive impairment, reduce the aggregation of Aβ, inhibit the toxic damage of Aβ, and promote the repair and regeneration of neurons ② 改善学习记忆能力,减少 Aβ 生成,减轻 ROS <sup>[30]</sup> ② Improve learning and memory ability, reduce Aβ production, reduce ROS ③④⑤ 上调 Ncadherin,阻碍 p38 磷酸化,改善学习记忆能力 <sup>[33]</sup> ③④⑤ Up-regulating Ncadherin, blocking p38 phosphorylation and improving learning and memory ability
铜离子 Cu <sup>2+</sup>	化合物 2c/3c Compound 2c/3c	显著降低氧化应激水平 <sup>[34]</sup> Significantly reduce oxidative stress level

多巴胺生物合成的农药<sup>[48]</sup>。斑马鱼幼鱼暴露于百草枯会引起 DA 神经元的氧化损伤,导致行为障碍<sup>[49]</sup>。Mohamad Najib 等<sup>[50]</sup>研究人金属硫蛋白 2 肽(human metallothionein 2 peptide, hMT2)在百草枯诱导的斑马鱼脑损伤中的作用,结果发现百草枯处理导致 DA 神经元减少,而 hMT2 处理后 DA 神经元数量增加。鱼藤酮诱导斑马鱼可以产生 PD 症状,经过鱼藤酮处理的斑马鱼,表现出运动能力下降、焦虑、抑郁、记忆力下降等症状<sup>[51]</sup>。Santo 等<sup>[52]</sup>用鱼藤酮诱导的斑马鱼 PD 模型为实验模型,评价正己烷提取物对 PD 的神经保护作用。Yurtsever 等<sup>[53]</sup>评价利福平在鱼藤酮诱导斑马鱼 PD 实验模型中的作用,将成年斑马鱼暴露鱼藤酮和利福平 3 周,研究结果表明利福平有效地减轻神经炎症。氰戊菊酯是一种广谱、高效的杀虫剂,具有干扰人类神经功能的潜力。Zhu 等<sup>[54]</sup>利用氰戊菊酯(fenvalerate, FEN)来诱导斑马鱼 PD 模型,结果产生了典型的 PD 症状,并伴有泛素和路易体相关基因的增加,产生 PD 相关症状。斑马鱼也成为评估金属离子、纳米材料和污染物等对 PD 发病机制影响的比较流行的动物模型。过多接触锰(Mn)会损害精神,认知和运动功能。有报道称成年斑马鱼慢性暴露于氯化锰( $MnCl_2$ ) 21 d 会产生 PD 样症状,表现出运动功能的缺陷<sup>[55]</sup>。将斑马鱼胚胎暴露于石墨烯家族纳米材料中可诱导神经毒性并改变 PD 相关基因的表达<sup>[56]</sup>。用氧化锌纳米材料破坏斑马鱼的运动活动,可诱导细胞凋亡和神经元损失<sup>[57]</sup>。长期接触来自广泛污染物的杂环胺,会增加患 PD 的潜在风险<sup>[58]</sup>。

近年来,基于 PD 相关基因的斑马鱼 Tg 模型也得到了广泛的应用。研究表明,PD 的发病与  $\alpha$ -Syn、Parkin、DJ-1、PINK-1、LRRK2 等基因突变有关<sup>[59]</sup>,而 PD 的相关致病基因在斑马鱼中均有直系同源。对上述转基因或基因敲减斑马鱼模型的研究揭示了这些基因在 DA 神经元的发育和存活过程中具有保守功能<sup>[60]</sup>。 $\alpha$ -Syn 的积累和聚集是 PD 的一个重要特征,表达人类野生型或 A53T 突变体  $\alpha$ -Syn 的模型可用于研究  $\alpha$ -Syn 聚集动力学,研究控制可溶  $\alpha$ -Syn 和聚集  $\alpha$ -Syn 清除的机制和潜在的新靶点<sup>[61]</sup>。与人类 Parkin 相似,斑马鱼中 Parkin 活性降低会导致多巴胺能神经元数量显著减少, Parkin 活性增加可以保护转基因斑马鱼免受蛋白质毒性应激引起的细胞死亡<sup>[62]</sup>。DJ-1 由 Park7 编码,在保

护神经元免受氧化应激方面具有多重作用,斑马鱼敲除 Park7 会产生 PD 表型<sup>[63]</sup>。Pink1 是与早发性 PD 相关的线粒体相关基因,单独敲除 Pink1 会导致斑马鱼的 DA 神经元减少。LRRK2 基因突变与家族性和散发性 PD 病例有关, LRRK2-g2019 s 突变是最常见的<sup>[64]</sup>。斑马鱼中 LRRK2 的破坏会导致严重的发育缺陷和神经元丢失<sup>[65]</sup>。PARLA 基因的功能缺失使主要位于嗅球的 DA 神经元减少<sup>[66]</sup>。Vps41 基因敲除会导致溶酶体异常以及小胶质细胞和小脑功能障碍<sup>[67]</sup>。Nus1 基因的变异可能是 PD 发病机制的诱因。斑马鱼敲除 Nus1 基因会表现出运动障碍<sup>[68]</sup>。表 3 总结了化学诱导和基因编辑方式建立的 PD 斑马鱼模型。

### 1.3 亨廷顿病 (Huntington's disease, HD)

HD 是一种病变累及纹状体、大脑皮层为主的中枢神经系统退行性变性疾病,呈常染色体显性遗传,是由致病蛋白的异常积聚和细胞自身清除异常蛋白能力失调造成的<sup>[77]</sup>。HD 的发病机制主要是亨廷顿蛋白(huntingtin, HTT)上的多谷氨酰胺(PolyQ)束上的 CAG 三联体异常扩增<sup>[78]</sup>。有研究发现抑制元件 1-沉默转录因子(repressor element-1-silencing transcription factor, REST)是 HTT 调节 BDNF 表达的分子靶点,并且 HTT mRNA 和蛋白的可溶性突变形式是导致细胞死亡的有毒成分<sup>[79]</sup>。病理学上,HD 患者主要在纹状体和大脑皮层内出现大量神经元死亡,大脑皮层萎缩,脑室系统扩大。

化学物质 3-硝基丙酸(3-nitropropionic acid, 3-NPA)、喹啉酸(quinolinic acid)和 mHTT- $\Delta$ N17-97Q 过表达实验模型被用来探索 HD 确切的致病机制和寻找新的药物靶点,以开发新的治疗方法<sup>[78]</sup>。

3-NPA 是一种毒素,斑马鱼幼鱼暴露于 3-NPA 会导致形态和心率发生改变,对成年斑马鱼进行 3-NPA 腹腔注射,其体重、运动和攻击行为均有所下降,表现出长期厌恶记忆受损<sup>[80]</sup>。Kumar 等<sup>[81]</sup>用 3-NPA 处理成年斑马鱼,发现斑马鱼体重、认知和运动活动显著降低,并伴有渐进性神经元损伤。喹啉酸是一种兴奋毒素,已被用于诱发啮齿类动物的脑损伤,以建立 HD 模型。Skaggs 等<sup>[82]</sup>用喹啉酸损伤成年斑马鱼的端脑来研究神经修复过程。HTTN 末端 17 个氨基酸(N17)结构域在大脑纹状体区高度表达。Kumar 等<sup>[83]</sup>认为 HD 中的 N17 结构域可能是开发治疗亨廷顿病的新治疗策略的潜在治疗靶点。mHtt- $\Delta$ N17-97Q 转基因斑马鱼是第一个概括

表 3 化学诱导和基因编辑方式建立斑马鱼 PD 模型

Table 3 Establishment of zebrafish PD model by chemical induction and gene editing

化学诱导方式 Chemical induction way	对表型的影响或分子机制 Effects on phenotype or molecular mechanism	基因编辑方式 Methods of gene editing	对表型的影响或分子机制 Effects on phenotype or molecular mechanism
6-羟基多巴胺 6-OHDA	①抗氧化和抗乙酰胆碱酯酶活性 <sup>[38]</sup> ①Antioxidant and resist acetyl cholinesterase activity ②降低 ROS 水平 <sup>[39]</sup> ②Reduce ROS levels ③调节 PD 基因的表达 <sup>[40]</sup> ③Regulate the expression of PD gene ④改善运动能力;下调 PD 基因的表达 <sup>[41]</sup> ④Improve athletic ability; Down-regulated the expression of PD gene	$\alpha$ -突触核蛋白 $\alpha$ -Synuclein  PTEN 诱导激酶 1 PINK-1  帕金森病蛋白 2 Park2	运动减退和多巴胺水平降低 <sup>[69]</sup> Movement and dopamine levels drop  调节多种线粒体功能 <sup>[70,71]</sup> Regulate a variety of mitochondrial function  控制线粒体功能和吞噬有丝分裂,维持能量生成和减少,障碍线粒体的氧化损伤 <sup>[72]</sup> Control mitochondrial function and phagocytosis mitosis, maintain energy production and reduce, hinder oxidative damage of mitochondria
1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶 MPTP	①缓解细胞凋亡和自噬,并抑制炎症反应 <sup>[44]</sup> ①Relieve cell apoptosis and autophagy, and inhibiting the inflammatory response ②抑制 ROS 的增加 <sup>[45]</sup> ②Inhibit the increase of ROS ③恢复 DA 神经元的损失和行为表现的损害 <sup>[46]</sup> ③Recovery of loss of DA neurons and impairment of behavioral performance ④损伤 DA 神经元,出现运动迟缓、焦虑、PD 相关的基因表达异常 <sup>[47]</sup> ④DA neurons were damaged, and the expression of genes related to bradykinesia, anxiety and PD was abnormal	帕金森病蛋白 7 Park7 (DJ-1)	参与线粒体质量的调节,并在氧化应激反应中发挥保护作用 <sup>[63,73-75]</sup> It is involved in the regulation of mitochondrial mass and plays a protective role in the oxidative stress response
百草枯 Paraquat	①行为障碍 <sup>[49]</sup> ①Behavior disorder ②减少 DA 神经元 <sup>[50,76]</sup> ②Reduce the DA neurons	富亮氨酸重复激酶 2 Lrrk2	与许多细胞过程有关,包括细胞骨架动力学、轴突生长、囊泡运输、蛋白质翻译和自噬 <sup>[64,65]</sup> It is associated with a number of cellular processes, including cytoskeleton dynamics, axon growth, vesicle trafficking, protein translation, and autophagy.
鱼藤酮 Rotenone	①防止氧化应激 <sup>[52]</sup> ①Preventing oxidative stress ②抗炎 <sup>[53]</sup> ②Anti-inflammatory	液泡蛋白分选相关蛋白 41 Vps41	溶酶体异常以及小胶质细胞和小脑功能障碍 <sup>[67]</sup> Lysosomal abnormalities and microglia and cerebellar dysfunction
氰戊菊酯 FEN	激活自噬系统导致 TH 和 DA 水平下降,促使路易体生成 <sup>[54]</sup> Activation of the autophagic system leads to TH and DA levels drop, promote To produce Lewy bodies	NUS1 基因 Nus1	运动障碍 <sup>[68]</sup> Dyskinesia
锰/氯化锰 Mn/MnCl <sub>2</sub>	运动活动减少,运动功能的缺陷;表现出焦虑和抑郁样行为 <sup>[55]</sup> Sports activity decreases, functional defects; They showed anxiety and depression-like behaviors	/	/

HD 病理特征之一的转基因斑马鱼<sup>[84]</sup>,其显示出快速进展的运动障碍<sup>[79]</sup>。

#### 1.4 肌萎缩性脊髓侧索硬化症 (amyotrophic lateral sclerosis, ALS)

ALS 是一种在脊髓、脑干和运动皮层中运动神

经元选择性丢失的神经退行性疾病。ALS 的病理学特征是运动神经损伤,但运动神经元缺失的机制尚不清楚。 $\beta$ -N-甲氨基-L-丙氨酸 ( $\beta$ -N-methylamino-L-alanine, BMAA) 和双酚 A (bisphenol A, BPA) 等环境因素已被证实与 ALS 的病因有

关<sup>[85-87]</sup>。但绝大多数家族性 ALS 病例与基因改变有关,基因改变主要与 SOD1、TDP-43、FUS 和 C9ORF72 有关<sup>[87]</sup>,通过研究 ALS 相关致病基因,构建了 ALS 斑马鱼模型,研究疾病发生的分子机制,并最终开发出具有治疗前景的方案。

ALS 疾病多是由 SOD1 突变引起的,Soll 等<sup>[88]</sup>使用 SOD1-G93R 突变斑马鱼 ALS 模型来评估 1-Fe 是否在体内显示治疗优点,结果表明 1-Fe 通过特异性靶向 SOD1 ALS 机制提高了幼鱼的运动能力。在斑马鱼中敲除 TDP43 直系同源物 TDP-43 会导致运动表型的早期缺陷和 NMJ 的分解,降低 AChE 的表<sup>[89]</sup>。FUS 是 FUS 相关的 ALS 和额颞叶痴呆的标志,Salam 等<sup>[90]</sup>证明了过表达突变 FUS 改变了原始神经元和斑马鱼模型的突触数量和神经元复杂性。C9orf72 基因内的六核苷酸重复扩张是 ALS 最常见的遗传原因。Fortier 等<sup>[91]</sup>总结了斑马鱼模型已被用于研究 C9orf72 相关 ALS 的病理,探讨它们在提供机制方面的价值和它们在药物发现方面的潜在用途。

### 1.5 其他神经退行性病

多发性硬化(multiple sclerosis, MS)是一种慢性自身免疫性疾病,其组织学特征是中枢神经系统中出现脱髓鞘和再髓鞘斑块。Neely 等<sup>[92]</sup>为了确定成熟少突胶质细胞是否参与髓鞘再生,利用转基因品系 Tg(mbp:TRPV1-tagRFPt)和成年斑马鱼的视神经髓鞘再生模型,通过在成年斑马鱼中的实时体内成像研究了成熟少突胶质细胞增殖。

脊髓性肌萎缩症(spinal Musclar Atrophy, SMA)是儿童最常见的遗传性疾病,由生存运动神经元(survival Motor Neuron, SMN)蛋白缺失导致运动神经元丢失。Koh 等<sup>[93]</sup>在转基因 hb9:mCherry-linker-Smn 斑马鱼胚胎中使用了一种体内荧光相关光谱方法来评估 SMN 在运动神经元细胞体和轴突中的细胞动力学。

## 2 斑马鱼作为神经退行性疾病模型的局限性

动物模型与人类神经退行性疾病症状相似,但目前尚没有一种模型能够完全模拟人类神经退行性疾病的发病机制。尽管但斑马鱼的神经传导系统、神经元和神经胶质细胞类型及疾病相关基因同源性与人类都十分相似,但斑马鱼对人类来说仍然是一种不同的脊椎动物,所以斑马鱼神经退行性疾病模型存在一些局限性:第一,目前对斑马鱼脑组

织的研究报道甚少<sup>[94]</sup>。斑马鱼的端脑区功能与人类动物的海马区功能相似,与学习记忆等行为有关,但由于斑马鱼体形较小,取材定位和制样较困难。此外,星形胶质细胞的一些生理、细胞和分子方面可能在斑马鱼和人类之间有所不同<sup>[95]</sup>。第二,斑马鱼模型需要克服的重要的问题之一是控制和量化药物暴露的挑战,很难预测药物吸收率<sup>[96]</sup>。第三,作为模式动物,斑马鱼缺乏详细的解剖和组织学参考。斑马鱼除了能提供无特定病原体动物外,与机体重要组织脏器相关的形态标准亟需建立,斑马鱼的神经系统及其组织形态结构特征与人类相比,组织细胞学数据的匮乏,阻滞了斑马鱼作为模式动物的进一步应用<sup>[97]</sup>。

## 3 总结与展望

神经退行性疾病大部分是不可治愈的疾病,这给全世界造成了巨大的健康和社会负担。基于该现状,在世界范围内的掌握神经退行性疾病的发病机制及治疗方法迫在眉睫。近年来在神经退行性病研究领域,斑马鱼的关注度越来越高,斑马鱼模型虽然与人类中枢神经系统有区别,但是斑马鱼在基本的神经传导系统、神经元和神经胶质细胞类型以及与疾病相关基因同源性上与人类都很相似,所以目前斑马鱼模型在神经退行性疾病生理、病理以及相关药物的研究中发挥着重要作用,并且选用斑马鱼可进行多方面的实验,包括活体检测、多靶点研究、药物的代谢过程、药物前期检测、高通量筛选、行为检测等,这些优点都可以为人类深入研究神经退行性疾病提供一个极具研究意义的方向。随着未来科技的不断发展,相信其不足之处将被人类妥善解决,并能发挥更为重要的作用。

### 参考文献:

- [1] Howe K, Clark MD, Torroja CF, et al. The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome [J]. Nature, 2013, 496(7446): 498-503.
- [2] 许大平,张在军,李铭源. 斑马鱼:构建神经退行性疾病模型的新型模式生物 [J]. 四川生理科学杂志, 2012, 34(3): 119-123.
- [3] Pitchai A, Rajaretinam RK, Freeman JL. Zebrafish as an emerging model for bioassay-guided natural product drug discovery for neurological disorders [J]. Medicines, 2019, 6(2): 61.
- [4] Basnet RM, Zizioli D, Taweedet S, et al. Zebrafish larvae as a behavioral model in neuropharmacology [J]. Biomedicines,



- 2019, 7(1): 23.
- [ 5 ] 2022 Alzheimer's disease facts and figures [ J ]. *Alzheimers Dement*, 2022, 18(4): 700-789.
- [ 6 ] Hanseeuw BJ, Betensky RA, Jacobs HIL, et al. Association of amyloid and tau with cognition in preclinical alzheimer disease: a longitudinal study [ J ]. *JAMA Neurol*, 2019, 76(8): 915-924.
- [ 7 ] Uddin MS, Kabir MT, Rahman MS, et al. Revisiting the amyloid cascade hypothesis: from anti-a $\beta$  therapeutics to auspicious new ways for Alzheimer's disease [ J ]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(16): 5858.
- [ 8 ] 郭双磊, 张悠然, 董军成, 等. 利用斑马鱼细胞移植技术构建可调控突变型 APP<sub>swe</sub> 表达的阿尔茨海默病动物模型 [ J ]. *河南大学学报(医学版)*, 2020, 39(2): 102-107.
- [ 9 ] Kabir MT, Uddin MS, Setu JR, et al. Exploring the role of PSEN mutations in the pathogenesis of Alzheimer's disease [ J ]. *Neurotox Res*, 2020, 38(4): 833-849.
- [ 10 ] Nery LR, Silva NE, Fonseca R, et al. Presenilin-1 targeted morpholino induces cognitive deficits, increased brain A $\beta$ <sub>1-42</sub> and decreased synaptic marker PSD-95 in zebrafish larvae [ J ]. *Neurochem Res*, 2017, 42(10): 2959-2967.
- [ 11 ] Bai Q, Burton EA. Zebrafish models of tauopathy [ J ]. *Biochim Biophys Acta*, 2011, 1812(3): 353-363.
- [ 12 ] Götz J, Lim YA, Ke YD, et al. Dissecting toxicity of tau and  $\beta$ -amyloid [ J ]. *Neurodegener Dis*, 2010, 7(1-3): 10-12.
- [ 13 ] 李少创, 韩诚, 秦亚莉, 等. 阿尔茨海默病实验动物模型评述 [ J ]. *中国实验动物学报*, 2022, 30(1): 131-145.
- [ 14 ] Barbereau C, Yehya A, Silhol M, et al. Neuroprotective brain-derived neurotrophic factor signaling in the TAU-P301L tauopathy zebrafish model [ J ]. *Pharmacol Res*, 2020, 158: 104865.
- [ 15 ] Alavi Naini SM, Yanicostas C, Hassan-Abdi R, et al. Surfen and oxalyl surfen decrease tau hyperphosphorylation and mitigate neuron deficits *in vivo* in a zebrafish model of tauopathy [ J ]. *Transl Neurodegener*, 2018, 7: 6.
- [ 16 ] Capatina L, Todirascu-Ciornea E, Napoli EM, et al. *Thymus vulgaris* essential oil protects zebrafish against cognitive dysfunction by regulating cholinergic and antioxidants systems [ J ]. *Antioxidants (Basel)*, 2020, 9(11): 1083.
- [ 17 ] Boiangiu RS, Mihasan M, Gorgan DL, et al. Anxiolytic, promnesic, anti-acetylcholinesterase and antioxidant effects of cotinine and 6-hydroxy-L-nicotine in scopolamine-induced zebrafish (*Danio rerio*) model of Alzheimer's disease [ J ]. *Antioxidants (Basel)*, 2021, 10(2): 212.
- [ 18 ] Kamat PK, Rai S, Nath C. Okadaic acid induced neurotoxicity: an emerging tool to study Alzheimer's disease pathology [ J ]. *Neurotoxicology*, 2013, 37: 163-172.
- [ 19 ] Kamat PK, Rai S, Swarnkar S, et al. Molecular and cellular mechanism of okadaic acid (OKA)-induced neurotoxicity: a novel tool for Alzheimer's disease therapeutic application [ J ]. *Mol Neurobiol*, 2014, 50(3): 852-865.
- [ 20 ] Thawkar BS, Kaur G. Zebrafish as a promising tool for modeling neurotoxin-induced Alzheimer's disease [ J ]. *Neurotox Res*, 2021, 39(3): 949-965.
- [ 21 ] Koehler D, Shah ZA, Williams FE. The GSK3 $\beta$  inhibitor, TDZD-8, rescues cognition in a zebrafish model of okadaic acid-induced Alzheimer's disease [ J ]. *Neurochem Int*, 2019, 122: 31-37.
- [ 22 ] Reinhardt L, Kordes S, Reinhardt P, et al. Dual inhibition of GSK3 $\beta$  and CDK5 protects the cytoskeleton of neurons from neuroinflammatory-mediated degeneration *in vitro* and *in vivo* [ J ]. *Stem Cell Rep*, 2019, 12(3): 502-517.
- [ 23 ] Sang Z, Wang K, Han X, et al. Design, synthesis, and evaluation of novel ferulic acid derivatives as multi-target-directed ligands for the treatment of Alzheimer's disease [ J ]. *ACS Chem Neurosci*, 2019, 10(2): 1008-1024.
- [ 24 ] Wang L, Yin YL, Liu XZ, et al. Current understanding of metal ions in the pathogenesis of Alzheimer's disease [ J ]. *Transl Neurodegener*, 2020, 9: 10.
- [ 25 ] Gao X, Zhang P, Chen J, et al. Necrostatin-1 relieves learning and memory deficits in a zebrafish model of Alzheimer's disease induced by aluminum [ J ]. *Neurotox Res*, 2022, 40(1): 198-214.
- [ 26 ] 钟绮媚, 张晶晶, 杨志友, 等. 不同  $\omega$ -3 多不饱和脂肪酸对斑马鱼阿尔茨海默病模型记忆损伤和神经病理学变化影响 [ J ]. *广东海洋大学学报*, 2022, 42(4): 118-128.
- [ 27 ] Kaur K, Narang RK, Singh S. AlCl<sub>3</sub> induced learning and memory deficit in zebrafish [ J ]. *Neurotoxicology*, 2022, 92: 67-76.
- [ 28 ] 汪雪雁, 谈勇, 张芳, 等. ucp2 基因敲除斑马鱼的模型建立及其铝暴露神经毒性相关研究 [ J ]. *安徽农业大学学报*, 2021, 48(3): 397-402.
- [ 29 ] 夏乐旋. 安神益智法对 AD 斑马鱼模型行为学和 A $\beta$  表达的影响 [ D ]. 武汉: 湖北中医药大学, 2022.
- [ 30 ] 顾晓群, 余黎, 武相, 等. 补肾益智方治疗阿尔茨海默病斑马鱼模型的作用及机制研究 [ J ]. *南京中医药大学学报*, 2020, 36(1): 56-62.
- [ 31 ] 黄瑶, 刘凯菲, 美国凯, 等. 黄连解毒汤对阿尔茨海默病模型斑马鱼认知功能障碍的影响 [ J ]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2021, 35(10): 786.
- [ 32 ] 刘凯菲, 吴世敏, 李讯怡, 等. 钩藤碱对阿尔茨海默病模型斑马鱼 p38 MAPK/N-cadherin 的影响 [ J ]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2021, 35(10): 789.
- [ 33 ] 陈毅飞, 刘凯菲, 吴世敏, 等. 黄精多糖对阿尔茨海默病模型斑马鱼 p38MAPK/N-cadherin 的影响 [ J ]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2021, 35(9): 659-660.
- [ 34 ] Rakshit A, Khatua K, Shanbhag V, et al. Cu<sup>2+</sup> selective chelators relieve copper-induced oxidative stress *in vivo* [ J ]. *Chem Sci*, 2018, 9(41): 7916-7930.
- [ 35 ] Armstrong MJ, Okun MS. Diagnosis and treatment of parkinson disease: a review [ J ]. *JAMA*, 2020, 323(6): 548-560.
- [ 36 ] Najib NHM, Nies YH, Abd Halim SAS, et al. Modeling Parkinson's disease in zebrafish [ J ]. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 2020, 19(5): 386-399.
- [ 37 ] Chia SJ, Tan EK, Chao YX. Historical perspective: models of

- Parkinson's disease [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(7): 2464.
- [38] Abidar S, Boiangiu RS, Dumitru G, et al. The aqueous extract from *Ceratonia siliqua* leaves protects against 6-hydroxydopamine in zebrafish: understanding the underlying mechanism [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2020, 9(4): 304.
- [39] Wu W, Han H, Liu J, et al. Fucoxanthin prevents 6-OHDA-induced neurotoxicity by targeting Keap1 [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 6688708.
- [40] Kesh S, Kannan RR, Balakrishnan A. Naringenin alleviates 6-hydroxydopamine induced Parkinsonism in SHSY<sub>5</sub>Y cells and zebrafish model [J]. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*, 2021, 239: 108893.
- [41] Kesh S, Kannan RR, Sivaji K, et al. Hesperidin downregulates kinases *lrrk2* and *gsk3 $\beta$*  in a 6-OHDA induced Parkinson's disease model [J]. *Neurosci Lett*, 2021, 740: 135426.
- [42] Nonnekes J, Post B, Tetrud JW, et al. MPTP-induced Parkinsonism: an historical case series [J]. *Lancet Neurol*, 2018, 17(4): 300-301.
- [43] Selvaraj V, Venkatasubramanian H, Ilango K, et al. A simple method to study motor and non-motor behaviors in adult zebrafish [J]. *J Neurosci Methods*, 2019, 320: 16-25.
- [44] Ren Q, Jiang X, Paudel YN, et al. Co-treatment with natural HMGB1 inhibitor Glycyrrhizin exerts neuroprotection and reverses Parkinson's disease like pathology in Zebrafish [J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 292: 115234.
- [45] Zhao Y, Han Y, Wang Z, et al. Rosmarinic acid protects against 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine-induced dopaminergic neurotoxicity in zebrafish embryos [J]. *Toxicol In Vitro*, 2020, 65: 104823.
- [46] Duan WJ, Liang L, Pan MH, et al. Theacrine, a purine alkaloid from *kucha*, protects against Parkinson's disease through SIRT3 activation [J]. *Phytomedicine*, 2020, 77: 153281.
- [47] 牟蕾, 高代丽, 王利振, 等. 小檗碱衍生物 9-OH 小檗碱的抗帕金森病活性和作用机制研究 [J]. *中国医院药学杂志*, 2022, 42(9): 884-888.
- [48] Boyd WA, Blain RB, Skuce CR, et al. Research report on the scoping review of paraquat dichloride exposure and Parkinson's disease; research report 16 [R]. NTP, 2020.
- [49] Kim SS, Hwang KS, Kan H, et al. Neurotoxicological profiling of paraquat in zebrafish model [J]. *Neurochem Res*, 2022, 47(8): 2294-2306.
- [50] Mohamad Najib NH, Yahaya MF, Das S, et al. The effects of metallothionein in paraquat-induced Parkinson disease model of zebrafish [J]. *Int J Neurosci*, 2023, 133(8): 822-833.
- [51] Lv DJ, Li LX, Chen J, et al. Sleep deprivation caused a memory defects and emotional changes in a rotenone-based zebrafish model of Parkinson's disease [J]. *Behav Brain Res*, 2019, 372: 112031.
- [52] Santo GD, de Veras BO, Rico E, et al. Hexane extract from *SpoSndias mombin* L. (*Anacardiaceae*) prevents behavioral and oxidative status changes on model of Parkinson's disease in zebrafish [J]. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*, 2021, 241: 108953.
- [53] Yurtsever İ, Üstündağ ÜV, Ünal İ, et al. Rifampicin decreases neuroinflammation to maintain mitochondrial function and calcium homeostasis in rotenone-treated zebrafish [J]. *Drug Chem Toxicol*, 2022, 45(4): 1544-1551.
- [54] Zhu J, Xia R, Liu Z, et al. Fenvalerate triggers Parkinson-like symptom during zebrafish development through initiation of autophagy and p38 MAPK/mTOR signaling pathway [J]. *Chemosphere*, 2020, 243: 125336.
- [55] Nadig APR, Huwaimel B, Alobaida A, et al. Manganese chloride (MnCl<sub>2</sub>) induced novel model of Parkinson's disease in adult Zebrafish; Involvement of oxidative stress, neuroinflammation and apoptosis pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 155: 113697.
- [56] Cao Z, Su M, Wang H, et al. Carboxyl graphene oxide nanoparticles induce neurodevelopmental defects and locomotor disorders in zebrafish larvae [J]. *Chemosphere*, 2021, 270: 128611.
- [57] Jin M, Li N, Sheng W, et al. Toxicity of different zinc oxide nanomaterials and dose-dependent onset and development of Parkinson's disease-like symptoms induced by zinc oxide nanorods [J]. *Environ Int*, 2021, 146: 106179.
- [58] Li Z, Cao P, Meng H, et al. Long-term exposure to 2-amino-3-methylimidazo[4, 5-*f*]quinoline can trigger a potential risk of Parkinson's disease [J]. *J Hazard Mater*, 2021, 412: 125230.
- [59] Bloem BR, Okun MS, Klein C. Parkinson's disease [J]. *Lancet*, 2021, 397(10291): 2284-2303.
- [60] 袁亦娇, 陈实. 动物模型在神经退行性疾病中的应用 [J]. *中国细胞生物学学报*, 2018, 40(9): 1612-1620.
- [61] Lopez A, Gorb A, Palha N, et al. A new zebrafish model to measure neuronal  $\alpha$ -synuclein clearance *in vivo* [J]. *Genes (Basel)*, 2022, 13(5): 868.
- [62] Fett ME, Pilsil A, Paquet D, et al. Parkin is protective against proteotoxic stress in a transgenic zebrafish model [J]. *PLoS One*, 2010, 5(7): e11783.
- [63] Hughes GL, Lones MA, Bedder M, et al. Machine learning discriminates a movement disorder in a zebrafish model of Parkinson's disease [J]. *Dis Model Mech*, 2020, 13(10): dmm045815.
- [64] Blauwendraat C, Nalls MA, Singleton AB. The genetic architecture of Parkinson's disease [J]. *Lancet Neurol*, 2020, 19(2): 170-178.
- [65] Prabhudesai S, Bensabeur FZ, Abdullah R, et al. LRRK2 knockdown in zebrafish causes developmental defects, neuronal loss, and synuclein aggregation [J]. *J Neurosci Res*, 2016, 94(8): 717-735.
- [66] Merhi R, Kalyn M, Zhu-Pawlosky A, et al. Loss of *parla* function results in inactivity, olfactory impairment, and dopamine neuron loss in zebrafish [J]. *Biomedicine*, 2021, 9(2): 205.
- [67] Sanderson LE, Lanko K, Alsagob M, et al. Bi-allelic variants in HOPS complex subunit VPS41 cause cerebellar ataxia and