林丽珍,范杰诚,郭培武,等. 神经退行性疾病动物模型嗅觉障碍的研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2021, 29(2): 268-274.
Lin LZ, Fan JC, Guo PW, et al. Research progress in animal models of olfactory dysfunction in neurodegenerative diseases [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2021, 29(2): 268-274.
Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2021.02.019

神经退行性疾病动物模型嗅觉障碍的研究进展

林丽珍¹, 范杰诚², 郭培武², 朱宗景², 丁晨英², 张淑云^{2*}

(1. 潍坊医学院康复医学院, 山东 潍坊 261053; 2. 潍坊市人民医院, 山东 潍坊 261000)

【摘要】 神经退行性疾病是由神经元结构或功能逐渐丧失导致认知及运动障碍的一类不可逆损伤性疾病。其病理改变主要表现为中枢神经的老年斑、神经元纤维缠结、神经元减少等。在神经退行性疾病中, 嗅觉障碍通常比经典的运动和认知障碍发生的更早, 故将嗅觉障碍作为神经退行性疾病的临床标志有助于此类疾病的早期发现, 而其病理过程、发病机制的研究以及治疗药物的筛选和评价都需要合适的动物模型。因此, 本文就不同神经退行性疾病嗅觉功能障碍的主要动物模型作一综述。

【关键词】 神经退行性疾病; 嗅觉障碍; 动物模型

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2021) 02-0268-07

Research progress in animal models of olfactory dysfunction in neurodegenerative diseases

LIN Lizhen¹, FAN Jiecheng², GUO Peiwu², ZHU Zongjing², DING Chenying², ZHANG Shuyun^{2*}

(1. Faculty of Rehabilitation Medicine, Weifang Medical University, Weifang 261053, China.
2. Department of Rehabilitation Medicine, Weifang People's Hospital, Weifang 261000)

Corresponding author: ZHANG Shuyun. E-mail: John-lw@sohu.com

【Abstract】 Neurodegenerative diseases are irreversible diseases caused by the gradual loss of neuronal structure or function, leading to cognitive or motor disorders. The pathological changes mainly include senile plaques in the central nervous system, neurofibrillary tangles and neuronal loss. In neurodegenerative diseases, olfactory dysfunction usually occurs earlier than classic motor and cognitive disorders. Using olfactory dysfunction as a clinical sign of neurodegenerative disease can help us to detect such diseases in the early stage. Investigation of the neuropathogenesis of the disease as well as screening and evaluation of therapeutic drugs require appropriate animal models. Therefore, in this paper, we review the main animal models of olfactory dysfunction in different neurodegenerative diseases.

【Keywords】 neurodegenerative diseases; olfactory disorders; animal models

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

神经退行性疾病是一类以特异性神经元大量丢失为主要特征的慢性进展性疾病, 它包括一大类常见的慢性病, 如阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD)、帕金森 (Parkinson's disease, PD)、运动神经元病、多系统萎缩和亨廷顿病 (Huntington

disease, HD) 等。在临床上, 神经退行性疾病的症状呈多样化, 几个系统损害的临床症状常互相叠加, 从而缺乏特异性的临床特征和生物学标记。多项研究表明, 在神经退行性疾病中, 嗅觉功能障碍的发生通常早于经典的运动和认知障碍症状^[1], 而动

[作者简介] 林丽珍(1995—), 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 神经退行性疾病康复。Email: 461383015@qq.com

[通信作者] 张淑云(1968—), 女, 医学硕士, 主任医师, 硕士生导师, 研究方向: 神经系统性疾病康复。Email: John-lw@sohu.com

物模型是研究此类疾病嗅觉减退病因和神经基础的有用工具。因此,本文就阿尔茨海默病、帕金森病、亨廷顿病嗅觉障碍的主要动物模型作简要综述,以期对神经退行性疾病的早期诊断和治疗提供支持。

1 阿尔茨海默病

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)的典型表现为进行性记忆力下降和逐渐加重的认知障碍,其病理特征主要为 β -淀粉样蛋白(amyloid- β protein, A β)在大脑皮层和海马区沉积形成老年斑、神经元细胞内神经纤维缠结及脑皮层和海马区神经细胞减少。A β 蛋白是一种含有 39 ~ 43 个氨基酸残基的多肽片段^[2]。多数学者认为 A β 蛋白的沉积可作为 AD 患者嗅觉受累的标志。

研究表明,AD 患者早期可能存在嗅觉、听觉、视觉障碍,相关动物实验已经证明 AD 早期视觉、听觉减退^[3],但嗅觉障碍比听觉或视觉下降更加具备作为 AD 预警信号的能力^[4],动物以及临床研究表明,嗅觉障碍出现于 AD 患者早期,且出现时间早于记忆力下降等典型表现。Braak 病理分期显示,经内嗅区皮质和内嗅区皮质在 AD 的 I-II 期就已出现神经元纤维缠结,典型的认知损害出现在 V-VI 期^[5]。

1.1 β -淀粉样前体蛋白转基因模型

β -淀粉样前体蛋白(amyloid- β precursor protein, APP)转基因小鼠模型多用于 AD 嗅觉障碍机制的研究。APP 是一种广泛存在于全身组织细胞上的单次跨膜蛋白,经蛋白酶裂解后会产生具有毒性作用的 A β 蛋白。

将包含双重突变 Lys670-> Asn, Met671-> Leu 的人类 APP695 插入到小鼠 ion 蛋白粘粒载体,所得 APP 转基因小鼠与年龄匹配的 B6SJL/J 非转基因(野生型)小鼠作对照,选取 3 ~ 4 个月、6 ~ 7 个月、16 个月大、21 ~ 29 个月的 Tg2576 突变型和野生型小鼠。采用氨基甲酸乙酯麻醉后进行组织学采集。Wesson 等^[6]采用此模型首次将嗅觉系统中淀粉样蛋白与嗅觉感知损伤联系起来,发现过度表达人类 APP 的小鼠在 3 个月时嗅觉系统中有较多淀粉样蛋白和 A β 沉积,表现出进行性嗅觉缺陷,气味辨别能力下降。同时,小鼠嗅球中的肾小球层比

其他任何脑区更早地观察到了非纤维性 A β 的沉积,即人的嗅球比其他脑区受损更早且更严重。Saar 等^[7]在实验中发现,与对照组相比,嗅球体积显著减少,这与先前报道的小鼠嗅球结构改变一致。气味信息处理的第一步发生在嗅球肾小球层中,根据嗅球中是否有 A β 沉积,该模型可预测嗅觉筛查在 AD 中的指标作用,且在提供针对 APP 或 A β 对 AD 的治疗效果方面有很大优势。

1.2 APP/PS1 双转基因模型

APP/PS1 双转基因模型在症状和体征方面能较好地模拟 AD 的特点。采用两种质粒将小鼠/人淀粉样前体蛋白(mouse/human amyloid precursor protein, Mo/HuAPP695swe)和突变的人早老素 1(presenilin 1, PS1-d Δ 9)基因分别转入小鼠细胞,分别由各自的小鼠胚蛋白启动子元件控制其表达。选取 4 个不同年龄组(2、4、6、8 个月),每组有 4 个野生型(WT)和 4 个双转基因纯合(2xTG)雌性小鼠(N532)。该小鼠模型最早是由 David Borcheh 建立的,特征是随着月龄的增长,A β 水平增多,并且有报道指出,此模型中 A β 的表达是性别依赖的,且雌性小鼠 A β 水平高于雄性小鼠^[8]。Kurt 等^[9]发现 2 月龄的 APP/PS1 双转基因小鼠开始出现 A β 沉积,6 月龄后 A β 沉积逐渐增加。Gengler 等^[10]发现 APP/PS1 转基因小鼠在 2 月龄时脑皮质区出现脑淀粉样物质沉积,4 月龄时皮质和海马区域的细胞外 A β 沉积都显著增多,A β 斑块被小胶质细胞、星形胶质细胞包绕。Saiz 等^[8]采用此模型对嗅球、嗅前核和嗅结节内的生长抑素(omatostatin, SOM)、小白蛋白(parvalbumin, PV)和钙调蛋白(calretininexpressing, CR)细胞进行定量分析,发现 SOM 和 CR 的表达提前下降,而 PV 在疾病进展后期下降,表明嗅觉结构中 SOM 和 CR 细胞早期就已坏死。Li 等^[11]发现 3 ~ 4 月龄的小鼠开始出现嗅觉障碍,6 ~ 7 月龄的小鼠开始出现记忆、学习障碍且嗅觉障碍严重。该模型多用于研究 AD 嗅觉障碍中 A β 沉积随时间的变化,可为 AD 干预的时间段提供有效依据,但此模型外源基因表达不稳定、繁殖力差,费用高。

1.3 P301 L-tau 转基因模型

在正常的神经元中,tau 蛋白主要富集于神经元轴突内,与微管结合,维持微管的稳定性,异常情况

下,tau 蛋白过度磷酸化。

将质粒 pR5 显微注射到 F1 雄性小鼠原核中,产生表达人类 tau 亚型 htau40 和致病性突变 P301 L 的 P301 L-tau 转基因小鼠(tau 小鼠)。该模型可用于研究小鼠嗅觉功能障碍与脑内一氧化氮含量的关系。免疫细胞化学实验证明,小鼠嗅球富含 NO 生成细胞^[12]。而 NO 与气味信息处理密切相关^[13]。AD 患者血液或鞘内 NO 水平均低于正常对照组^[14-15]。Hu 等^[16]采用此模型发现嗅觉功能障碍与 tau 小鼠大脑中 NO 生成减少有关,尤其是嗅球中 NO 的减少,NO 代谢产物硝酸盐/亚硝酸盐浓度降低,使得 tau 蛋白异常磷酸化增加,导致嗅觉受损。此外,在另一项研究中发现,6 个月大的 tau 小鼠嗅觉辨别能力受损,对其进行病理分析显示过度磷酸化的 tau 蛋白是 AD 成对螺旋丝的主要成分,tau 病变发生在内嗅区的早期^[17]。Liu 等^[18]研究发现,转基因 tau 蛋白在小鼠内侧内嗅皮层的表达可诱导内源性 tau 蛋白过度磷酸化,并在海马积聚,抑制神经元活性,从而导致海马依赖的非空间嗅觉记忆受损。此模型虽缺乏 AD 典型病理变化 A β 的沉积,但在嗅觉功能障碍原因方面的研究具有重要意义。

1.4 APP/PS1/tau 三转基因小鼠模型

三转基因小鼠模型(triple-transgenic murine model of Alzheimer's disease, 3xTg-AD)先由 PS1_{M46V} 单转基因雌雄小鼠交配得到纯合子小鼠,然后分别把两种突变基因 APP_{Swe} 和 TauP301 L 显微注射入纯合子的胚胎干细胞,得到的小鼠经筛选得到 3xTg-AD 小鼠,该模型表现出严重的气味记忆缺陷,在梨状核、眶额皮质以及海马中存在明显的免疫染色,而在气味主要加工区域嗅球中没有明显的 A β 和 tau 蛋白免疫反应性,但有严重的嗅觉缺陷^[19]。其中一种解释是 A β 在嗅觉系统的其他部位比在嗅球中出现得更早,这种解释也在后来的研究中证明是正确的^[20]。Zhang 等^[21]发现 4 月龄 3xTg-AD 小鼠饮用 6 μ g/mL 硒代蛋氨酸 12 周,嗅球层 A β 的表达和 A β 沉积有所下降,即硒代蛋氨酸对 AD 嗅觉功能障碍有潜在治疗作用。这种转基因小鼠更多模仿了人 AD 脑中区域性的病理改变,能较全面地复制 AD 病理症状与运动特征。

2 帕金森病动物模型

帕金森病(Parkinson's disease, PD)是一种常见

于中老年的神经系统变性疾病,其病理改变表现为中脑黑质纹状体内多巴胺能神经元的变性死亡,异常突触核蛋白聚集物在神经元内沉积。研究表明,PD 早期的非运动症状主要是嗅觉障碍和便秘,便秘在 PD 男性患者运动症状前 10 ~ 20 年出现,在女性患者出现的时间还有待研究^[22],28% ~ 80% 的 PD 患者早期存在便秘现象^[23],相关动物模型也已证明 PD 患者早期便秘的存在。PD 患者嗅觉障碍在运动症状数年之前出现,约 90% 的患者在 PD 早期即出现嗅觉障碍^[24],其灵敏度为 88%,特异度为 83%^[25]。PD 的 Braak 病理分期显示嗅球与嗅前核在 I 期就已受累,典型的运动症状出现在 III、IV 期^[26]。

2.1 6-OHDA 模型

6-羟基多巴胺(6-hydroxidopamine, 6-OHDA)是一种儿茶酚胺类似物,亲水性,不能穿过血脑屏障,须通过特定的定位程序,将其直接注射到黑质、纹状体、内侧前脑束^[27]。6-OHDA 进入细胞就立即被氧化,导致活性氧物质和多巴胺醌形成,这些活性氧物质和多巴胺醌能抑制线粒体呼吸链复合体 I,从而诱导与氧化应激相关的细胞毒性。向不同部位注射 6-OHDA,会产生不同的嗅觉障碍。将 6-OHDA 直接注入大鼠嗅球,几天后发现大鼠黑质内多巴胺能神经元变性,且存在从黑质到嗅球的多巴胺能投射,使嗅球肾小球层的中间神经元多巴胺数量增加,进而抑制嗅觉感受器以产生嗅觉减退^[28-29]。向大鼠黑质双侧注入 6-OHDA,注射 7 d 后嗅球肾小球层周围神经元丢失,嗅觉识别能力下降^[29]。单侧和双侧向背侧纹状体注射 6-OHDA,很快伏隔核和嗅结节多巴胺能变性,小鼠表现出嗅觉辨别障碍^[30]。该模型小鼠经多巴胺替代疗法治疗后可明显改善其嗅觉,这为 PD 患者多巴胺调节嗅觉途径的治疗提供参考方向。

2.2 MPTP 模型

1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶(1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine, MPTP)是一种亲脂性的毒素,易穿过血脑屏障。在大脑中,MPTP 被单胺氧化酶 B 转化为有毒物质 1-甲基-4-苯基吡啶(1-methyl-4-phenylpyridinium, MPP⁺),MPP⁺ 被多巴胺转运蛋白摄取并在多巴胺能神经元内积累,通过抑制线粒体呼吸链复合体 I 引起线粒体损伤和氧

化应激^[31]。

MPTP 有三种模型:(1)急性模型,1 ~ 2 d 内单次或分次向动物腹腔或皮下每千克体重注射 10 ~ 96 mg MPTP。该类模型在小剂量时引起的神经损伤较轻,属于症状前模型,常用于代偿机制研究;大剂量时引起急性神经元变性坏死,常用于晚期 PD 的神经解剖、生化等研究。(2)亚急性模型,1 至数周内分次按每千克体重给予 100 ~ 200 mg 或更高剂量 MPTP,神经损伤呈进行性加重,常用于一些反应较慢的代偿机制研究,如受体表达等。(3)慢性模型,多见于猴模型制备。数月内给予一定剂量 MPTP 使猴子产生稳定的 PD 症状,一般每周静脉注射 MPTP 每千克体重 0.3 ~ 0.5 mg,直至产生典型 PD 运动障碍,历时半年至 2 年,总量约 20 ~ 40 mg。嗅觉研究应用较多的是亚急性模型。Prediger 等^[25]表明,鼻腔注射 MPTP 能显著降低大鼠嗅球和黑质酪氨酸羟化酶的表达,致嗅球、纹状体的多巴胺浓度在注射 7 ~ 14 d 后降低,大鼠出现嗅觉辨别障碍,相比之下,大鼠腹腔注射 MPTP 14 ~ 21 d 后出现嗅球和纹状体多巴胺浓度降低,继而显现嗅觉障碍,这可能是与大鼠在 MPTP 全身给药时相对不敏感有关。该模型的嗅觉、认知、运动能力损伤的时间进程与 PD 临床症状最为吻合,是研究 PD 发病机制常用模型。

2.3 鱼藤酮模型

鱼藤酮是一种除草剂、杀虫剂,天然存在于某些植物的根茎中,高亲脂性,很容易通过血脑屏障和细胞膜。鱼藤酮会阻断线粒体呼吸链复合体 I,增加活性氧物质并降低谷胱甘肽水平,导致氧化应激,加剧细胞氧化损伤^[32]。

皮下注射方法为:将 45 只健康大鼠随机分为 3 组,每组 15 只。正常组大鼠正常喂养,不予处理,假手术组大鼠颈背部注射葵花油溶剂(2 mg/kg,不含鱼藤酮),模型组大鼠注射同等体积鱼藤酮葵花油溶剂(2 mg/kg,鱼藤酮试剂与葵花油融合,两溶液配比为 2 mg/mL)。每日上午 9:00 注射,连续 28 d。李亚楠等^[33]在建模结束 1 d 后,对各组大鼠分别进行行为学评分,假手术组和正常组均未出现异常行为表现,模型组大鼠出现明显的异常行为。鱼藤酮所致的 PD 动物模型还有腹腔注射、口服给药、立体定位注射、静脉注射、吸入给药,环境接触给药。口

服给药 7 d 后,小鼠嗅球中 α -突触核蛋白聚集并开始出现嗅觉辨别障碍^[34]。鼻腔注射鱼藤酮还会引起嗅球的线粒体应激和电生理改变,并增强 α -突触核蛋白磷酸化和聚集^[34-35]。小鼠每天在鱼藤酮环境中暴露 2 h,连续 2 周,在埋藏食物试验中 α -突触核蛋白在嗅前核积聚,显示嗅觉缺陷^[36]。该模型几乎复制了啮齿类动物的所有帕金森病特征,使用广泛,操作简单,成本低,但该物质引发的死亡率高,PD 典型症状不明显。

2.4 转基因模型

用于研究 PD 的转基因动物模型主要有 α -突触核蛋白模型、Parkin 模型、PINK1 模型、DJ-1 模型。其中,嗅觉障碍研究较多的是 α -突触核蛋白模型。将人类 α -突触核蛋白 A53T 突变基因插入到神经特异性启动子 PDGF 的下游,构建 α -突触核蛋白 A53T 表达载体。用显微注射法将载体注射到小鼠中,制备转基因小鼠。Taguchi 等^[37]发现 9 月龄小鼠出现的嗅觉减退与嗅球中磷酸化突触核蛋白的显著积聚一致。过度表达 α -突触核蛋白 A53T 的转基因小鼠气味辨别缺陷^[38]。Taguchi 等^[39]在另一项研究中指出,磷酸化的 α -突触核蛋白首先出现在嗅球,3 个月后扩散到海马和杏仁核,12 个月后传递到黑质和蓝斑。此模型与以上模型相比操作复杂,技术要求高,在 AD 的嗅觉障碍研究中应用较少。

3 亨廷顿病动物模型

亨廷顿病(Huntington disease, HD)是一种常染色体显性遗传性神经退行性疾病。病理改变特点是纹状体和大脑皮质的神经细胞脱失。临床证据表明,嗅觉功能障碍可能在明显的运动或认知障碍之前出现。除嗅觉障碍外,HD 是否还有其它早期表现还有待进一步研究。

3.1 N-端 R6/2 转基因模型

R6/2 模型表达突变的人类亨廷顿基因的外显子 1,含有约 150 个 CAG 重复序列含有约 150 个 CAG 重复序列^[40]。将大小为 1×10^3 的人类 5'端 HTT 基因作为启动子,插入小鼠基因组中,获得 R6/2 转基因雄性小鼠,将携带 R6/2 的转基因雄性小鼠与野生雌性小鼠杂交。5 ~ 6 周显示 HD 病理症状,通常 13 周以上不能存活^[41]。Kohl 等^[42]通过上述

方法,发现 R6/2 转基因小鼠纹状体受到严重损害时不能为神经元的成熟提供足够的信号,且嗅球内的相关微环境干扰了新成熟神经元的存活和整合,使神经母细胞发育受到影响。Kandasamy 等^[43]在得出以上结论的同时,转基因小鼠嗅球细胞增值减少,出现嗅觉障碍。该模型是目前用于研究 HD 使用最广泛的,小鼠发病早,病情进展快,其大量 CAG 重复序列符合青少年 HD 的发病特征,适用于研究表型剧烈的青少年 HD。

3.2 N-端 R6/1 转基因模型

R6/1 模型表达突变的人类亨廷顿基因的外显子 1,具有 115 个 CAG 重复序列^[44]。将携带 R6/1 转基因的雄性小鼠与野生雌性小鼠杂交,所生小鼠每天光照 12 h,食物和水自由获取。饲养 4 周后,取小鼠尾部组织进行 PCR 基因分型。在催眠诱导全身麻醉下皮下植入芯片进行鉴定。在 R6/1 转基因小鼠模型中,神经元可塑性降低。Mo 等^[45]认为梨状皮质神经元和可塑性标记物的减少可能是导致 R6/1 小鼠嗅觉功能障碍的原因,与野生型小鼠相比,在运动障碍开始之前,R6/1 小鼠 8 周龄时已出现嗅觉功能障碍。梨状皮质通过外侧嗅束接受嗅球的直接投射,并投射到大脑区域,在气味辨别和气味记忆中起着重要作用。Lazic 等^[46]等在研究中表明,梨状皮质可塑性降低与气味辨别选择性损害有关,在 HD 早期阶段,气味辨别和气味识别能力均受损,且气味辨别受损更严重。该模型小鼠发病年龄较晚,病情进展缓慢,更有利于观察 HD 典型症状前的表现。

4 总结

神经退行性疾病作为不可逆损伤性疾病,典型表现出现时大多处于疾病中晚期,已错过最佳治疗时间,因此,嗅觉障碍对此类疾病的早期诊断具有重大意义。综上所述,在神经退行性疾病中,目前已成功构建的动物模型主要有转基因模型和神经毒素模型两大类。AD 嗅觉障碍动物模型多采用转基因模型,虽技术要求高,花费较大,但其能较好地模拟 AD 临床行为和病理特征。PD 嗅觉障碍动物模型以神经毒素类模型使用最多,其操作简单,重复性好。HD 嗅觉障碍的动物模型相对较少,可重复性差,还需进一步研究。

嗅觉障碍动物模型有助于研究神经退行性疾病的病理过程、发病机制以及对治疗药物进行筛选和评价,对疾病的早期诊断和治疗有重大意义,有可能成为人类攻克此类疾病的重要手段。但在 AD、PD、HD 动物模型中观察到的嗅觉障碍因自身选择性不足,因此,未来的研究应着眼于探讨三大类神经退行性疾病早期嗅觉障碍间的差异,从而为疾病早期诊断、鉴别诊断以及治疗提供有力证据。

参 考 文 献 (References)

- [1] Prediger RD, Schamne MG, Sampaio TB, et al. Animal models of olfactory dysfunction in neurodegenerative diseases [J]. *Handb Clin Neurol*, 2019, 164: 431-452.
- [2] 姚钱, 郑红云, 李艳. 阿尔兹海默症发病机制研究进展 [J]. *职业与健康*, 2019, 35(15): 2153-2156.
Yao Q, Zheng HY, Li Y. Research progress on the pathogenesis of Alzheimer's disease [J]. *J Occup Health*, 2019, 35(15): 2153-2156.
- [3] Fischer ME, Cruickshanks KJ, Schubert CR, et al. Age-related sensory impairments and risk of cognitive impairment [J]. *J Am Geriatr Soc*, 2016, 64: 1981-1987.
- [4] Murphy C. Olfactory and other sensory impairments in Alzheimer disease [J]. *Nat Rev Neurol*, 2019, 15(1): 11-24.
- [5] 陈超, 肖世富. 嗅觉障碍与阿尔茨海默病 [J]. *中国现代神经疾病杂志*, 2010, 10(2): 191-196.
Chen C, Xiao SF. Olfactory disorders and Alzheimer's disease [J]. *Chin J Contemp Neurol Neurosurg*, 2010, 10(2): 191-196.
- [6] Wesson DW, Levy E, Nixon RA, et al. Olfactory dysfunction correlates with amyloid-burden in an Alzheimer's disease mouse model [J]. *J Neurosci*, 2010, 30(2): 505-514.
- [7] Saar G, Cheng N, Belluscio L, et al. Laminar specific detection of APP induced neurodegeneration and recovery using MEMRI in an olfactory based Alzheimer's disease mouse model [J]. *Neuroimage*, 2015, 118: 183-192.
- [8] Saiz SD, de La Rosa PC, Ubeda BI, et al. Interneurons and beta-amyloid in the olfactory bulb, anterior olfactory nucleus and olfactory tubercle in APPxPS1 transgenic mice model of Alzheimer's disease [J]. *Anat Rec (Hoboken)*, 2013, 296: 1413-1423.
- [9] Kurt MA, Davies DC, Kidd M, et al. Neurodegenerative changes associated with beta-amyloid deposition in the brains of mice carrying mutant amyloid precursor protein and mutant presenilin-1 transgenes [J]. *Exp Neurol*, 2001, 171(1): 59-71.
- [10] Gengler S, Hamilton A, Hölscher C. Synaptic plasticity in the hippocampus of a APP/PS1 mouse model of Alzheimer's disease is impaired in old but not young mice [J]. *PLoS One*, 2010, 5

- (3): e9764.
- [11] Li W, Li S, Shen L, et al. Impairment of dendrodendritic inhibition in the olfactory bulb of APP/PS1 mice [J]. *Front Aging Neurosci*, 2019, 11: 2.
- [12] Kosaka T, Kosaka K. Heterogeneity of nitric oxide synthase-containing neurons in the mouse main olfactory bulb [J]. *Neurosci Res*, 2007, 57(2): 165-178.
- [13] Kishimoto J, Keverne EB, Hardwick J, et al. Localization of nitric oxide synthase in the mouse olfactory and vomeronasal system; a histochemical, immunological and in situ hybridization study [J]. *Eur J Neurosci*, 1993, 5(12): 1684-1694.
- [14] Corzo L, Zas R, Rodríguez S, et al. Decreased levels of serum nitric oxide in different forms of dementia [J]. *Neurosci Lett*, 2007, 420(3): 263-267.
- [15] Tarkowski E, Ringqvist A, Blennow K, et al. Intrathecal release of nitric oxide in Alzheimer's disease and vascular dementia [J]. *Dement Geriatr Cogn Disord*, 2000, 11(6): 322-326.
- [16] Hu Y, Ding W, Zhu X, et al. Olfactory dysfunctions and decreased nitric oxide production in the brain of human P301L tau transgenic mice [J]. *Neurochem Res*, 2016, 41(4): 722-730.
- [17] Greenberg SG, Davies P. A preparation of Alzheimer paired helical filaments that displays distinct tau proteins by polyacrylamide gel electrophoresis [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1990, 87(15): 5827-5831.
- [18] Liu X, Zeng K, Li M, et al. Expression of P301L-hTau in mouse MEC induces hippocampus-dependent memory deficit [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 3914.
- [19] Cassano T, Romano A, Macheda T, et al. Olfactory memory is impaired in a triple transgenic model of Alzheimer disease [J]. *Behav Brain Res*, 2011, 224(2): 408-412.
- [20] 罗超群, 文安, 杨赟, 等. 阿尔茨海默病相关嗅觉障碍研究进展 [J]. *中国神经免疫学和神经病学杂志*, 2016, 23(6): 434-437.
- Luo CQ, Wen A, Yang B, et al. Research progress of olfactory disorders related to Alzheimer's disease [J]. *Chin J Neuroimmunol Neurol*, 2016, 23(6): 434-437.
- [21] Zhang ZH, Chen C, Wu QY, et al. Selenomethionine ameliorates neuropathology in the olfactory bulb of a triple transgenic mouse model of Alzheimer's disease [J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(10): 1595.
- [22] Chen H, Burton EA, Ross GW, et al. Research on the premotor symptoms of Parkinson's disease: clinical and etiological implications [J]. *Environ Health Perspect*, 2013, 121(11-12): 1245-1252.
- [23] Klingelhofer L, Reichmann H. Pathogenesis of Parkinson disease-the gut-brain axis and environmental factors [J]. *Nat Rev Neurol*, 2015, 11(11): 625-636.
- [24] Doty RL. Olfactory dysfunction in Parkinson disease [J]. *Nat Rev Neurol*, 2012, 8(6): 329-339.
- [25] Prediger RD, Batista LC, Medeiros R, et al. The risk is in the air; Intranasal administration of MPTP to rats reproducing clinical features of Parkinson's disease [J]. *Exp Neurol*, 2006, 202(2): 391-403.
- [26] 王黎萍, 桂小红. 帕金森病早期标志物及诊断价值 [J]. *实用老年医学*, 2019, 33(12): 1236-1238, 1242.
- Wang LP, Gui XH. Early markers and diagnostic value of Parkinson's disease [J]. *Prac Geriatr*, 2019, 33(12): 1236-1238, 1242.
- [27] 杨东明, 杨利峰, 赵德明, 等. 帕金森病动物模型的研究进展 [J]. *中国实验动物学报*, 2020, 28(3): 397-404.
- Yang DM, Yang LF, Zhao DM, et al. Research progress on animal models of Parkinson's disease [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2020, 28(3): 397-404.
- [28] Höglinger GU, Alvarez FD, Arias CO, et al. A new dopaminergic nigro-olfactory projection [J]. *Acta Neuropathol*, 2015, 130(3): 333-348.
- [29] Ilkiv JL, Kmita LC, Targa ADS, et al. Dopaminergic lesion in the olfactory bulb restores olfaction and induces depressive-like behaviors in a 6-OHDA model of Parkinson's disease [J]. *Mol Neurobiol*, 2015, 56(2): 1082-1095.
- [30] Valle LP, Drucker CR. Unilateral olfactory deficit in a hemiparkinson's disease mouse model [J]. *Neuroreport*, 2014, 25(12): 948-953.
- [31] Bezaud E, Dovero S, Prunier C, et al. Relationship between the appearance of symptoms and the level of nigrostriatal degeneration in a progressive 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-lesioned macaque model of Parkinson's disease [J]. *J Neurosci*, 2001, 21(17): 6853-6861.
- [32] Cicchetti F, Drouin OJ, Gross RE. Environmental toxins and Parkinson's disease: what have we learned from pesticide-induced animal models? [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2009, 30(9): 475-483.
- [33] 李亚楠, 马骏, 余沛豪, 等. 鱼藤酮帕金森病模型的建立与评价 [J]. *中华中医药学刊*, 2020, 38(3): 175-179, 272-273.
- Li YN, Ma J, Yu PH, et al. Establishment and evaluation of rotenone Parkinson's disease model [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med*, 2020, 38(3): 175-179, 272-273.
- [34] Morais LH, Hara DB, Bicca MA, et al. Early signs of colonic inflammation, intestinal dysfunction, and olfactory impairments in the rotenone-induced mouse model of Parkinson's disease [J]. *Behav Pharmacol*, 2018, 29(2-3): 199-210.
- [35] Sasajima H, Miyazono S, Noguchi T, et al. Intranasal administration of rotenone in mice attenuated olfactory functions through the lesion of dopaminergic neurons in the olfactory bulb

- [J]. *Neurotoxicology*, 2015, 51: 106–115.
- [36] Liu Y, Sun JD, Song LK, et al. Environment-contact administration of rotenone: A new rodent model of Parkinson's disease [J]. *Behav Brain Res*, 2015, 294: 149–161.
- [37] Taguchi T, Ikuno M, Hondo M, et al. α -Synuclein BAC transgenic mice exhibit RBD-like behaviour and hyposmia: a prodromal Parkinson's disease model [J]. *Brain*, 2020, 143(1): 249–265.
- [38] Hansen C, Björklund T, Petit GH, et al. A novel α -synuclein-GFP mouse model displays progressive motor impairment, olfactory dysfunction and accumulation of α -synuclein-GFP [J]. *Neurobiol Dis*, 2013, 56: 145–55.
- [39] Taguchi T, Ikuno M, Yamakado H, et al. Animal model for prodromal Parkinson's disease [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(6): 1961.
- [40] Smail S, Bahga D, McDole B, et al. Increased olfactory bulb BDNF expression does not rescue deficits in olfactory neurogenesis in the Huntington's disease R6/2 mouse [J]. *Chem Senses*, 2016, 41(3): 221–232.
- [41] 张雪艳, 李军, 闫森. 亨廷顿病模型进展及展望 [J]. *重庆医科大学学报*, 2019, 44(4): 526–530.
Zhang XY, Li J, Yan S. Progress and prospect of Huntington's disease mode [J]. *J Chongqing Med Univ*, 2019, 44(4): 526–530.
- [42] Kohl Z, Regensburger M, Aigner R, et al. Impaired adult olfactory bulb neurogenesis in the R6/2 mouse model of Huntington's disease [J]. *BMC Neurosci*, 2010, 11: 114.
- [43] Kandasamy M, Rosskopf M, Wagner K, et al. Reduction in subventricular zone-derived olfactory bulb neurogenesis in a rat model of Huntington's disease is accompanied by striatal invasion of neuroblasts [J]. *PLoS One*, 2015, 10(2): e0116069.
- [44] Nicnocaill B, Haraldsson B, Hansson O, et al. Altered striatal amino acid neurotransmitter release monitored using microdialysis in R6/1 Huntington transgenic mice [J]. *Eur J Neurosci*, 2001, 13(1): 206–210.
- [45] Mo C, Renoir T, Hannan AJ. Novel ethological endophenotypes in a transgenic mouse model of Huntington's disease [J]. *Behav Brain Res*, 2015, 276: 17–27.
- [46] Lazic SE, Goodman AO, Grote HE, et al. Olfactory abnormalities in Huntington's disease: decreased plasticity in the primary olfactory cortex of R6/1 transgenic mice and reduced olfactory discrimination in patients [J]. *Brain Res*, 2007, 1151: 219–226.

[收稿日期] 2020-08-14