

文章编号:1003-2754(2023)07-0636-05

doi:10.19845/j.cnki.zfysjhbzz.2023.0146

应用非标记定量蛋白组学研究帕金森病差异表达蛋白

龙云飞¹, 肖 飞², 李淑华¹, 苏 闻¹, 陈海波¹

摘 要: **目的** 寻找帕金森病(PD)患者血清中差异表达的蛋白,探索 PD 生物学标志物。**方法** 选择在北京医院临床确诊的 PD 患者 24 例,其中 12 例为仅有 PD 病史(P1 组),另 12 例合并有高血压病、糖尿病基础疾病(P2 组);筛选 24 例年龄、性别匹配的体检者(对照组 C1 和 C2 组),采集血清标本去除高丰度蛋白后,应用非标记定量蛋白组学技术检测各组血清中蛋白表达,采取双重对比将 P1 组与 C1 组、P2 组与 C2 组比较,分别筛选出差异常表达蛋白,再从中筛选出表达变化(上调或下调)一致的蛋白,确定为 PD 差异表达蛋白,并用生物信息学方法分析解释。**结果** 各组对比后,共鉴定出 4 种差异表达的蛋白为 PRG4、CFHR-3、ACTG1、HIST2H2BF,其中 PD 患者的血清中 PRG4、CFHR-3 表达上调,ACTG1、HIST2H2BF 表达下调且存在一定的相互作用。**结论** 应用非标记定量蛋白组学筛选出了帕金森差异表达的蛋白,可能对帕金森病的诊断具有一定的意义。

关键词: 帕金森病; 非标记定量; 蛋白组学; 差异表达蛋白

中图分类号:R742.5 **文献标识码:**A

A study of differentially expressed proteins in Parkinson disease based on label-free quantitative proteomics LONG Yunfei, XIAO Fei, LI Shuhua, et al. (Department of Neurology, Beijing Hospital; National Center of Gerontology; Institute of Geriatric Medicine, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100730, China)

Abstract: **Objective** To investigate the biomarkers for Parkinson disease (PD) by analyzing differentially expressed proteins in the serum of patients with PD. **Methods** A total of 24 patients with PD who were diagnosed in Beijing Hospital were enrolled, among whom 12 patients only had a medical history of PD (group P1) and the other 12 had underlying diseases such as hypertension and diabetes (group P2). A total of 24 individuals, matched for age and sex, who underwent physical examination were enrolled as control groups C1 and C2. Serum samples were collected, and after high-abundant proteins were removed, the label-free quantitative proteomics technique was used to measure the expression of proteins in serum. The double comparison method was used for comparison between groups P1 and C1 and between groups P2 and C2 to screen for differentially expressed proteins, and the proteins with a consistent changing trend (upregulation or downregulation) were identified as the differentially expressed proteins for PD, which were analyzed and interpreted by bioinformatics methods. **Results** Comparison between groups identified four differentially expressed proteins, i. e. PRG4, CFHR-3, ACTG1, and HIST2H2BF, among which PRG4 and CFHR-3 showed upregulated expression and ACTG1 and HIST2H2BF showed downregulated expression in the serum of PD patients, and a certain degree of interaction was observed. **Conclusion**

Label-free quantitative proteomics can be used to identify the differentially expressed proteins in PD, which may have a certain value in the diagnosis of PD.

Key words: Parkinson disease; Label-free quantitative technology; Proteomics; Differentially expressed proteins

随着人口老龄化进程,帕金森病(Parkinson disease, PD)的发病率也逐年升高,但临床上 PD 的诊断往往受限于临床医生的经验,目前还没有能很好诊断帕金森病的生物学标志物出现^[1]。PD 的发病机制尚未明确,可能与遗传、环境、年龄老化、异常蛋白沉积、氧化应激、线粒体功能障碍等相关,而蛋白质则是反映各个过程的最直接的物质。随着蛋白质组学的发展,非标记的定量蛋白质组学技术广泛应用于疾病研究,而血清差异蛋白的分析对疾病的生物学标志物研究十分有意义^[2]。

本研究采用基于液相色谱质谱联用仪的非标记的定量蛋白质组学技术(label-free quantitative tech-

收稿日期:2023-05-11;修订日期:2023-06-20

基金项目:国家重大疾病多学科合作诊疗能力建设项目

作者单位:(1. 北京医院神经内科,国家老年医学中心,中国医学科学院老年医学研究院,北京 100730;2. 北京医院国家老年医学中心,国家卫生健康委北京老年医学研究所,国家卫生健康委老年医学重点实验室,中国医学科学院老年医学研究院,北京 100730)

通信作者:陈海波, E-mail: chenhbneuro@263.net

nology based on lipid chromatography tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)^[3], 通过对比 PD 患者和正常对照者血清中蛋白质表达, 寻找具有差异性的蛋白质, 探究它们在 PD 发病机制中可能的作用, 以期找到可以作为 PD 生物学标志物的血清蛋白质, 为帕金森病更加准确地诊断和发病机制的进一步阐述提供一个新的依据。

1 材料与方法

1.1 一般资料

1.1.1 对象 选取在北京医院经英国 PD 脑库诊断标准临床确诊为帕金森病的患者 24 例, 其中 12 例为仅有 PD 病史 (P1 组), 年龄 56 ~ 83 岁, 平均年龄 67.8 岁; 另 12 例为 PD 仅合并有高血压病、糖尿病基础疾病 (P2 组), 年龄 59 ~ 78 岁, 平均年龄 69.8 岁。对照组选择来源于北京医院的年龄、性别匹配的无 PD 症状及病史的体检人员 24 例, 其中 12 例为健康者 (C1 组), 年龄 59 ~ 80 岁, 平均年龄 70.6 岁; 12 例为非 PD 但有高血压病、糖尿病基础疾病的体检者 (C2 组), 年龄 58 ~ 78 岁, 平均年龄 70.0 岁。每组男女各 6 例。本研究均征得本人或家属同意。

1.1.2 主要实验仪器及实验试剂 Albumin Removal Column 和 IgG Removal Column 高丰度蛋白去除试剂盒 (德国 Maxi 公司)、色谱柱 Trap column 和 Analysis column (RP-C 18) (美国 Thermo 公司)、0.1% 甲酸乙腈水溶液、丙酮、尿素、硫脲、(美国 Sigma 公司)、超低温冰箱 (-80 °C)、酶标仪、Q-Exactive 液相色谱-质谱联用系统、Easy-nLC 1000 纳升级超高效液相色谱 (美国 Thermo Finnigan 公司)、Maxquant 软件 (version 1.3.0.5)、Perseus 软件 (version 1.2.0.17)。

1.2 研究方法

1.2.1 血液收集 红管采集外周静脉血, 凝血后以 3 500 r/min, 4 °C 离心 5 min 后, 血清 EP 管分装置于 -80 °C 冰箱保存待用, 整个过程在取血 6 h 内完成, 无反复冻融。

1.2.2 蛋白质的裂解、纯化、定量和酶解 每组 12 例样本, 每 4 份样本随机合并, 作为一个生物学重复, 每组 3 个生物学重复 (a、b、c)。分别应用试剂盒去除血浆中高丰度蛋白质, 并加入冰冷丙酮后打散沉淀, 离心纯化。以 BCA 蛋白定量法确定标准曲线, 根据标准曲线推导出检测蛋白的总量, 并计算相应浓度。取 50 μl 样品, 以 FASP 酶解法, 先后于 UA 缓冲液及 IAA 缓冲液中混匀, 离心, 再加入 NH₄HCO₃, 离心, 重复 2 次, 后加入 Trypsin 缓冲液

37 °C 下振荡 16 ~ 18 h, 离心后滤液以 OD280 肽段定量。

1.2.3 酶解产物的 LCMS/MS 分析 按照定量结果取 2 μg 酶解后产物进行 LCMS/MS 分析。采用纳升流速 HPLC 液相系统 EASY-nLC1000 进行分离。酶解产物经毛细管高效液相色谱分离后用 Q-Exactive 质谱仪进行质谱分析。

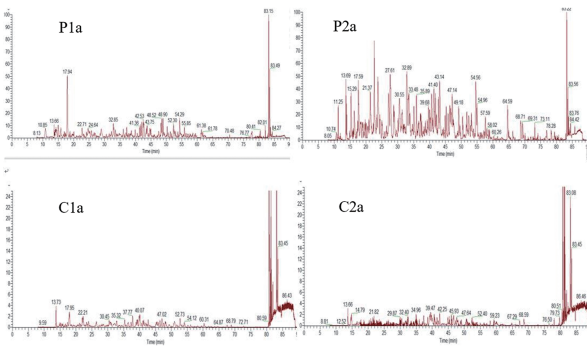
1.2.4 非标记定量分析 每个样品重复 3 次质谱分析, 原始文件导入 Maxquant 软件 (版本号 1.3.0.5) 进行查库, 进行非标记定量 (LFQ) 分析。搜索使用的数据库为 human, Maxquant 所得的查库文件使用 Perseus 软件 (版本号 1.2.0.17) 进行分析。

1.2.5 统计学分析 两组之间各血清蛋白质的平均丰度 (LFQ 的相对强度表示) 的比较, 在各样本中均有检测到蛋白时, 两组样本的蛋白 LFQ 强度采用了双样本 *t* 检验 (Perseus 软件内置), 以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义; 在各组中有标本未检测到蛋白时, 以差异表达倍数 > 2 或 < 0.5 为有表达差异, 二者均考虑为两组之间的差异表达蛋白。

1.2.6 生物信息学分析 根据筛选的蛋白质编号信息, 使用 DIVAD (2021 Update) 进行 GO 分析, KEGG 查询蛋白信号通路, STRING (版本号 10.5) 搜寻这蛋白质之间的相互作用。

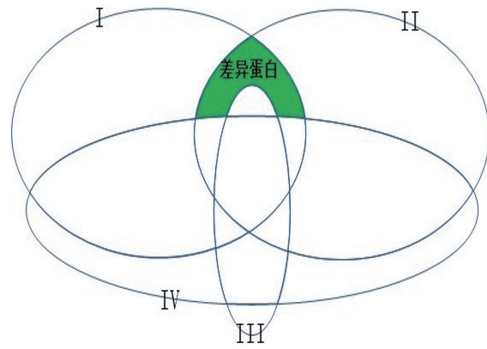
2 结果

2.1 PD 组和对照组的血清蛋白质谱分析及鉴定 在去除高丰度蛋白后, 各组样本进行质谱分析及鉴定 (见图 1), 共发现了 144 种蛋白质, 各组比较得到的有差异的蛋白质: P1 组和 C1 组间存在 45 个差异蛋白, 记为蛋白集合 I; P2 组和 C2 组间存在 47 个差异蛋白, 记为蛋白集合 II; C1 组与 C2 组间存在 20 个差异蛋白, 记为蛋白集合 III; P1 组与 P2 组间存在 80 个差异蛋白, 记为蛋白集合 IV。综合分析, 得到蛋白集合 I 与蛋白集合 II 中共同包含的蛋白有 9 个, 记为蛋白集合 V (见表 1); 将在蛋白集合 V 中, 除去包含在蛋白集合 III、蛋白集合 IV 范围内的蛋白, 且在 P1 和 P2 组中差异表达变化一致, 即同时上调或下调的蛋白, 确定为 PD 患者与对照组在血清中的有特异性差异表达的蛋白质 (见图 2), 共 4 个, 分别是 PRG4、CFHR-3、ACTG1、HIST2H2BF 蛋白, 其中 PD 组有 2 个蛋白质上调, 2 个蛋白质下调 (见表 2), 而 PRG4、CFHR-3 蛋白在对照组均表达极少, ACTG1 蛋白在 PD 组中表达极少。



注: P1a、P2a、C1a、C2a 为各组 3 个生物学重复中的 1 个。

图 1 4 组上样所得质谱图



注: 绿色标注部分为本研究关注的差异蛋白。

图 2 各组间差异蛋白集合示意图

表 1 蛋白集合 V 中各个蛋白质对应信息及表达差异

UniProtKB	蛋白名称	基因	分子量 (kDa)	与各自对照组表达比较
Q92954	蛋白聚糖 4	PRG4	150.984	均上调
Q02985	补体 H 因子相关蛋白 3	CFHR3	37.299	均上调
P63261	肌动蛋白	ACTG1	41.766	均下调
Q5QNW6	组蛋白 H2B 家族成员 F-B 亚型	HIST2H2BF	14.832	均下调
P01591	免疫球蛋白 J 多肽	JCHAIN	18.087	上下调不一致
P08697	丝氨酸蛋白酶抑制剂家族成员 2	SERPINF2	54.531	上下调不一致
P02649	载脂蛋白 E	APOE	36.132	上下调不一致
P05452	纤溶酶原结合蛋白	CLEC3B	22.522	上下调不一致
P04070	维生素 K 依赖性蛋白 C	PROC	52.037	上下调不一致

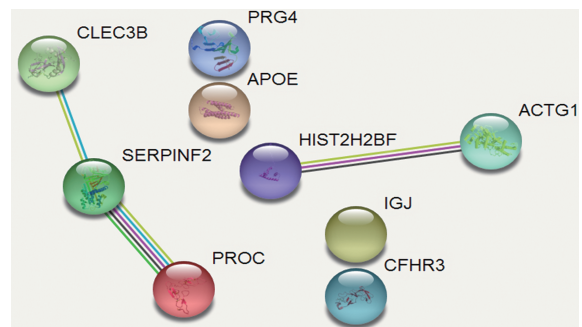
表 2 差异表达的蛋白质在各组表达情况

UniProtKB	蛋白质	P1 组	P2 组	C1 组	C2 组
Q92954	PRG4	4.90×10^6	3.53×10^7	0	0
Q02985	CFHR-3	5.30×10^6	3.64×10^7	0	0
P63261	ACTG1	0	0	1.87×10^7	1.95×10^7
Q5QNW6	HIST2H2BF [△]	8.00×10^6	5.00×10^6	3.47×10^7	3.50×10^7

注: 上述数据为相对定量检测值 (LFQ 的相对强度), 仅有相对意义; 0 表示蛋白表达极少未检测到; 表格中绿色部分为个检测值相对 5×10^7 的比例; Δ : P 组与 C 组的配对样本 t 检验 ($P=0.037, t=-17.182$)。

2.2 差异蛋白质生物信息学分析 将上述所有发现的蛋白 V 的编码基因使用 DIVAD (2021 Update) 分析, 进行 GO 细胞成分分类和分子功能注释可知, CFHR-3 主要存在于细胞外, 是补体调控蛋白 (CCP) 模块 (或 SCR、寿司结构域) 中的蛋白; PRG4 是分泌到细胞周围的蛋白质, 具有信号序列; HIST2H2BF 是核小体的组成成分, 分布于细胞核、细胞质、胞外体中, 在转录调控、DNA 修复、DNA 复制和染色体稳定性中发挥重要作用; 而 ACTG1 分布广泛, 主要分子功能是参与构成细胞骨架、与其他蛋白和 ATP 结合、与泛素蛋白连接酶结合。通过 GO 生物过程分类分析及 KEGG 查询蛋白信号通路可知,

HIST2H2BF 与 ACTG1 共同参与了中性粒细胞胞外诱捕网 (neutrophil extracellular traps, NETs) 的形成过程。使用 STRING (版本号 10.5) 搜寻这几种蛋白质之间的相互作用 (见图 3), 可知 HIST2H2BF 与 ACTG1 存在一定的相互作用关系的证据。



注: 圆圈代表蛋白质, 其三维结构已知或已被预测; 直线代表存在相互作用关系的证据。

图 3 STRING 数据库中蛋白集合 V 中蛋白相互作用

3 讨论

由于 PD 的发病机制尚未明确, 而 α 突触核蛋白的发现, 让越来越多的关注点投向了关于 PD 蛋白标

志物的研究^[3]。Thibaud 等^[4]首先应用结肠组织活检发现,在 29 例 PD 患者中有 21 例有磷酸化的 α 突触核蛋白沉积,而 10 例正常对照中都没有发现该蛋白;另外也有在大腿皮肤活检中发现,PD 患者的 α 突触核蛋白沉积量明显增高^[5];也有在 PD 患者的唾液中发现 α 突触核蛋白水平显著降低,寡聚 α 突触核蛋白占总 α -突触核蛋白的比例显著增加^[6]。此外,在脑脊液中检测到的 α 突触核蛋白、DJ-1 蛋白、tau 蛋白和 A β 42 等在 PD 的诊断和鉴别方面也有一定的意义^[7,8]。也有研究称 PD 患者血清中的 α 突触核蛋白、DJ-1 蛋白表达与正常人群有差异^[9,10],不过由于外周血的 α 突触核蛋白、DJ-1 蛋白主要分布在细胞中,血清中含量少,使得检测精确度相对较低^[7]。至今我们还没有一个公认的生物学标志物来诊断 PD^[11],所以各种关于 PD 生物学标志物的研究和尝试,都是十分有意义的。

本研究采用了非标记的定量蛋白质组学技术(LC-MS/MS),采用的最新一代的 orbitrap 质谱(Q-exactive)采集 LCMSMS 数据,Q-exactive 能够达到定量和定性的完美结合,基于蛋白肽段的质谱来获取信息。该方法具有耗费低、可重复性好,样本处理程序少、样品量需求少等优点^[11]。另外,本研究中采取了双重对比筛选更具有统计学意义的蛋白,即通过科学的分组,将 P1 组与 C1 组、P2 组与 C2 组分别比较,分别筛查出差异常表达蛋白,再从中选择出共同存在且调节变化一致的蛋白,即 PRG4、CFHR-3、ACTG1、HIST2H2BF。这就相当于重复了两次实验,找出了具有共同特点的蛋白质,这不仅缩小了蛋白质筛选范围,还验证了实验的重复性。

其中,HIST2H2BF 是组蛋白 H2B 家族成员之一,与组蛋白 H2B、H3 和 H4 一起构成核小体八聚体。DNA 可通过组蛋白的一组复杂的翻译后修饰和核小体重构而调节^[12],而常见的组蛋白修饰有磷酸化、乙酰化、甲基化、泛素化、糖基化、碳基化等,进而影响染色体的结构与功能。ACTG1 是一种与泛素蛋白连接酶结合的蛋白,泛素蛋白酶体系统是生物体内选择性降解蛋白质的重要途径之一,在 PD 可能的发病机制中,该系统出现障碍可能造成细胞内异常折叠蛋白降解障碍,从而造成 α 突触核蛋白沉积,引

起神经细胞凋亡^[13]。另外也有研究表明下调 PD 大鼠模型的 ACTG1 表达可以减少细胞凋亡,并认为 ACTG1 可能是缓解 PD 进展的治疗靶点^[14]。本研究中发现 HIST2H2BF 和 ACTG1 在 PD 组的血清中表达相对正常对照组明显减少,且它们共同参与了 NETs 的形成,而在蛋白功能方面均涉及了泛素化过程,故可以猜测这两种蛋白可能对 PD 的发病起到保护作用。

另外,PRG4 是一种蛋白聚糖,有研究证明其在关节连接中起到边界润滑的作用,可以通过控制附着依赖的滑膜生长和抑制滑膜细胞对软骨表面的黏附,防止蛋白从滑膜液沉积到软骨上^[15],也有发现其在干眼症中起到了免疫调节特性^[16]。目前尚无 PRG4 与帕金森病有关联的报道,暂无法解释其在 PD 患者的血清中表达增加的意义。CFHR-3 是补体 H 因子相关蛋白 3,它是产生于肝脏,分泌在血液中的一种新型的补体调节因子,可能参与补体调节过程^[17],还与补体 H 因子存在一种竞争性结合 C3 的关系。有研究称 CFHR-3 的缺失对老年黄斑变性有保护作用^[18]。还有研究表明,PD 患者的黄斑厚度普遍变薄,体积变小^[19,20],而使用左旋多巴治疗的患者可以延缓老年性黄斑变性的发病^[21],从这个角度来看,CFHR-3 可能参与老年黄斑变性和帕金森病的发病,虽然目前 PD 的免疫机制尚未明确,但补体 C3 可以参与免疫应答的各个环节,而 CFHR-3 与其有直接的关系,本研究中也发现 CFHR-3 在两组 PD 患者血清表达明显高于对照组,可以推测 CFHR-3 可能作为一种因子参与 PD 的发生及发展过程。

另外,虽然有许多研究表明 APOE 与帕金森病有密切关系,特别是与帕金森病伴认知障碍相关^[22,23]。但在本研究中单个 PD 组和对照组对比中,APOE 的确是差异蛋白,但其在不同 PD 组表达上下调不一致,故本研究不考虑 APOE 为最终的差异蛋白质。本研究未对参与测试人员进行表型的进一步亚组分析,且样本相对较小,都造成了一定的局限。

综上所述,血液标本与组织活检、脑脊液等样本相比,收集更加方便、创伤小、患者容易配合,更加适用于临床研究。本研究选择血液标本,通过去除高

丰度蛋白,检测低丰度蛋白,用以筛查可能的 PD 生物学标志物。本研究结果证明了用非标记定量蛋白质组学技术探寻 PD 生物学标志物是可行的。后续的研究可扩大样本量,检测这 4 个 PD 差异蛋白在其他的 PD 患者和正常人血清中的表达情况,找到可以作为 PD 生物学标志物的血清蛋白质,为 PD 的早期发现或实验室诊断提供基础。

伦理学声明:本研究方案经由北京医院伦理委员会审批(批号:2018BJYYEC-034-02),在中国临床试验注册中心注册(注册号:ChiCTR1800016949),患者均签署知情同意书(或符合实验室动物管理与使用准则)。

利益冲突声明:所有作者均声明不存在利益冲突。

作者贡献声明:龙云飞负责设计论文框架、起草论文;肖飞负责实验操作、研究过程的实施;李淑华负责数据收集、统计学分析、绘制图表;苏闻、陈海波负责拟定写作思路、论文修改并最后定稿。

[参考文献]

- [1] Parnetti L, Gaetani L, Eusebi P, et al. CSF and blood biomarkers for Parkinson's disease[J]. *Lancet Neurology*, 2019, 18(6): 573-586.
- [2] Titova N, Qamar MA, Chaudhuri KR. Biomarkers of Parkinson's disease: an introduction[J]. *Int Rev Neurobiol*, 2017, 132: 183-196.
- [3] Raghunathan R, Turajane K, Wong LC. Biomarkers in neurodegenerative diseases: proteomics spotlight on ALS and Parkinson's disease[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(16): 9299.
- [4] Lebouvier T, Neunlist M, Bruley Des Varannes S, et al. Colonic biopsies to assess the neuropathology of Parkinson disease and its relationship with symptoms[J]. *PLoS One*, 2010, 5(9): e12728.
- [5] Wang N, Gibbons CH, Lafo J, et al. Alpha-Synuclein in cutaneous autonomic nerves[J]. *Neurology*, 2013, 81(18): 1604-1610.
- [6] Wolgin M, Zobernig M, Dvornyk V, et al. Systematic review on saliva biomarkers in patients diagnosed with morbus Alzheimer and Morbus Parkinson[J]. *Biomedicines*, 2022, 10(7): 1702.
- [7] 董昉奕. 帕金森病体液生物学标志物的研究进展[J]. *中华神经科杂志*, 2014, 12(47): 471-476.
- [8] 刘亘梁. α -突触核蛋白作为帕金森病生物学标志物的研究进展[J]. *中华神经科杂志*, 2017, 10(50): 797-800.
- [9] Zubelzu M, Morera-Herreras T, Irastorza G, et al. Plasma and serum alpha-synuclein as a biomarker in Parkinson disease: A meta-analysis[J]. *Parkinsonism Relat Disord*, 2022, 99(6): 107-115.
- [10] Repici M, Giorgini F. DJ-1 in Parkinson disease: clinical insights and therapeutic perspectives[J]. *J Clin Med*, 2019, 8(9): 1377.
- [11] Zhu W, Smith J, Huang CM. Mass spectrometry-based label-free quantitative proteomics[J]. *J Biomed Biotechnol*, 2010, 2010: 840518.
- [12] Baxevanis AD, Arents G, Moudrianakis EN, et al. A variety of DNA-binding and multimeric proteins contain the histone fold motif[J]. *Nucleic Acids Res*, 1995, 23(14): 2685-2691.
- [13] Sherman MY, Goldberg AL. Cellular defenses against unfolded proteins: a cell biologist thinks about neurodegenerative diseases[J]. *Neuron*, 2001, 29(1): 15-32.
- [14] Liu J, Liu H, Zhao Z, et al. Regulation of Actg1 and Gsta2 is possible mechanism by which capsaicin alleviates apoptosis in cell model of 6-OHDA-induced Parkinson disease[J]. *Bioscience Reports*, 2020, 40(6): BSR20191796.
- [15] Takahata Y, Hagino H, Kimura A, et al. Regulatory mechanisms of Prg4 and Gdf5 expression in articular cartilage and functions in osteoarthritis[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(9): 4672.
- [16] Menon NG, Goyal R, Lema C, et al. Proteoglycan 4 (PRG4) expression and function in dry eye associated inflammation[J]. *Exp Eye Res*, 2021, 208(7): 108628.
- [17] Hellwege J, Jokiranta TS, Koistinen V, et al. Functional properties of complement factor H-related proteins FHR-3 and FHR-4: binding to the C3d region of C3b and differential regulation by heparin[J]. *FEBS Lett*, 1999, 462(3): 345-352.
- [18] Fritsche LG, Lauer N, Hartmann A, et al. An imbalance of human complement regulatory proteins CFHR1, CFHR3 and factor H influences risk for age-related macular degeneration (AMD)[J]. *Human Mol Genet*, 2010, 19(23): 4694-4704.
- [19] Stemplewitz B, Keseru M, Bittersohl D, et al. Scanning laser polarimetry and spectral domain optical coherence tomography for the detection of retinal changes in Parkinson disease[J]. *Acta Ophthalmologica*, 2015, 93(8): e672-e677.
- [20] Satue M, Rodrigo MJ, Obis J, et al. Evaluation of progressive visual dysfunction and retinal degeneration in patients with Parkinson disease[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2017, 58(2): 1151-1157.
- [21] Brilliant MH, Vaziri K, Connor TB, et al. Mining retrospective data for virtual prospective drug repurposing: L-DOPA and age-related macular degeneration[J]. *Am J Med*, 2016, 129(3): 292-298.
- [22] Szwedo AA, Dalen I, Pedersen KF, et al. GBA and APOE impact cognitive decline in Parkinson disease: A 10-year population-based study[J]. *Mov Disord*, 2022, 37(5): 1016-1027.
- [23] Davis AA, Inman CE, Wargel ZM, et al. APOE genotype regulates pathology and disease progression in synucleinopathy[J]. *Sci Transl Med*, 2020, 12(529): eaay3069.

引证本文: 龙云飞, 肖飞, 李淑华, 等. 应用非标记定量蛋白质组学研究帕金森病差异表达蛋白[J]. *中风与神经疾病杂志*, 2023, 40(7): 636-640.