· 基础研究 ·

外源性硫化氢通过调控泛凋亡在帕金森病细胞模型中的作用

宋苗苗,马兰,李晨晔,杜洁瑜,李静*
(哈尔滨医科大学附属第二医院老年医学科,哈尔滨 150080)

【摘 要】 **目的** 探讨硫化氢对 6-羟基多巴胺(6-OHDA)诱导帕金森病细胞模型损伤的影响,以及泛凋亡(PANoptosis)在帕金森细胞模型中的作用。**方法** 以 6-OHDA 诱导 SH-SY5Y 细胞构建帕金森病细胞模型,并分为 4 组,其中对照组细胞株在没有任何处理试剂的培养基中正常培养;6-OHDA 组细胞株用含 100 μmol/L 6-OHDA 的培养基处理 24 h;NaHS 治疗组细胞株用含 200 μmol/L NaHS 的培养基预处理 30 min,再用含 100 μmol/L 6-OHDA 培养基处理 24 h;NaHS 组细胞株用含200 μmol/L NaHS 培养基培养。用 CCK-8 试剂盒检测 SH-SY5Y 细胞活力,通过倒置生物显微镜和透射电子显微镜观察SH-SY5Y细胞的形态和密度变化,采用 Western blotting 检测 RIPK3、MLKL 的表达情况。采用 SPSS 25.0 软件进行数据分析。根据数据类型,组间比较分别采用 t 检验及单因素方差分析。**结果** 与对照组相比,6-OHDA 降低 SH-SY5Y 细胞活力,导致细胞形态变化,对 SH-SY5Y细胞有损伤作用。结合 RIPK3 和 MLKL 蛋白水平的上调以及透射电子显微镜的观察,发现细胞凋亡、细胞焦亡、坏死性凋亡协同作用导致 SH-SY5Y 细胞损伤。NaHS(硫化氢供体)预处理后,减轻 6-OHDA 诱导的 SH-SY5Y 细胞损伤,下调 RIPK3 和 MLKL 蛋白水平,电镜下 PANoptosis 发生减少。**结论** PANoptosis 参与 6-OHDA 诱导的 SH-SY5Y 细胞损伤,硫化氢对帕金森病细胞模型有保护作用,这种保护作用可能通过抗 PANoptosis 发挥。

【关键词】 帕金森病;硫化氢;泛凋亡;受体相互作用蛋白激酶 3;混合谱系激酶结构域样蛋白
【中图分类号】 R742.5; R592 【文献标志码】 A 【DOI】 10.11915/j.issn.1671-5403.2025.11.181

Role of exogenous hydrogen sulfide in Parkinson′s disease cell model through regulating PANoptosis

Song Miaomiao, Ma Lan, Li Chenye, Du Jieyu, Li Jing*
(Department of Geriatrics, Harbin Medical University Second Affiliated Hospital, Harbin 150080, China)

【**Abstract**】 **Objective** To explore the effect of hydrogen sulfide on the damage of the Parkinson′s disease (PD) cell model induced by 6-hydroxydopamine (6-OHDA), and investigate the role of PANoptosis in the process. **Methods** A PD cell model was constructed by inducing SH-SY5Y cells with 100 μmol/L 6-OHDA for 24 h. The SH-SY5Y cells were divided into four groups, that is, control group, 6-OHDA group (PD cell model), NaHS pretreatment group (200 μmol/L NaHS treatment in 30 min before modeling), NaHS treatment group (SH-SY5Y cells cultured in the medium containing 200 μmol/L NaHS). CCK-8 assay was used to detect cell viability of the four groups. The morphology and density changes were observed with inverted biological microscopy and transmission electron microscopy (TEM). The expression levels of receptor-interacting protein kinase 3 (RIPK3) and mixed lineage kinase domain-like protein (MLKL) were detected by Western blotting. SPSS statistics 25.0 was used for statistical analysis. Student′s t test or one-way analysis of variance was employed for intergroup comparison depending on data type. **Results** Compared with the control group, the 6-OHDA group exhibited significantly reduced cell viability, morphological changes, indicating 6-OHDA causing damage to SH-SY5Y cells. Combining the upregulation of RIPK3 and MLKL protein levels and the findings by TEM, it was found that the synergistic effects of apoptosis, pyroptosis, and necroptosis lead to SH-SY5Y cell damage. After pretreatment with NaHS (H_2S donor), 6-OHDA induced SH-SY5Y cell damage was alleviated, RIPK3 and MLKL protein levels were downregulated, and PANoptosis was reduced under TEM. **Conclusion** PANoptosis is involved in 6-OHDA induced SH-SY5Y cell damage. Hydrogen sulfide exerts a protective effect on PD cell model, which may be through its anti-PANoptotic effect.

【**Key words**】 Parkinson′s disease; hydrogen sulfide; PANoptosis; receptor-interacting protein kinase 3; mixed lineage kinase domain-like protein
This work was supported by the Natural Science Foundation of Heilongjiang Province (LH2022H029).
Corresponding author: Li Jing, E-mail: 15331886892@189.cn

收稿日期: 2025-01-21; **接受日期**: 2025-04-11
基金项目: 黑龙江省自然科学基金(LH2022H029)
通信作者: 李静, E-mail: 15331886892@189.cn

帕金森病(Parkinson's disease, PD)的具体发病机制尚不清楚,其主要病理特征是黑质中多巴胺能神经元的进行性丧失和纹状体中多巴胺释放的耗竭,从而导致运动障碍[1]。而目前的治疗药物主要基于多巴胺的补充和延缓疾病发展。但随着患者疾病的进展,药效会逐渐降低甚至消失,从而进一步加重临床症状。当前,随着全球人口老龄化的不断上升,PD给患者家庭及社会造成严重负担[2],因而寻找PD预防和治疗的有效方法愈发迫切。程序性细胞死亡(programmed cell death, PCD)主要通过处理不再需要或对机体构成潜在危险的细胞,维持机体的生长发育和细胞内环境的稳定。细胞凋亡、细胞焦亡、坏死性凋亡为PCD中机制较为明确的细胞死亡方式。近期研究发现,这些细胞死亡方式并非孤立存在,而是存在协同作用,一种死亡方式可灵活补偿另一种,这一现象被称为泛凋亡(pyroptosis-apoptosis-necroptosis, PANoptosis)[3]。已有研究表明,细胞凋亡、细胞焦亡、坏死性凋亡均参与了PD的发生发展,会进一步加剧细胞死亡和神经炎症,最终导致黑质多巴胺能神经元的丧失[4-6]。而细胞凋亡、细胞焦亡、坏死性凋亡这几种细胞死亡是否相互串扰,参与PD的发生发展具体机制不清。硫化氢被认为是继一氧化氮和一氧化碳之后的第三种内源性气体信号分子,在大脑及外周组织的广泛生理过程中发挥重要作用[7]。大量研究表明,硫化氢与PD的发病机制有关,在PD模型中具有保护神经元丢失的潜力[8]。本研究通过电镜观察PD细胞模型中细胞形态学变化及检测坏死性凋亡特异性蛋白因子的表达,来明确PANoptosis的参与,并阐明硫化氢对PD神经元保护作用的机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验细胞 人神经母细胞瘤SH-SY5Y细胞株[9]由哈尔滨医科大学刘鹏老师惠赠。

1.1.2 主要试剂 NaHS水合物购自上海阿拉丁生化科技有限公司;6-羟基多巴胺(6-hydroxydopamine, 6-OHDA)购自上海源叶生物科技有限公司;受体相互作用蛋白激酶3(receptor-interacting protein kinase 3, RIPK3)、混合谱系激酶结构域样蛋白(mixed lineage kinase domain-like protein, MLKL)、β-actin Antibody、Mouse Anti-GAPDH mAb一抗均购自武汉三鹰生物科技有限公司(Proteintech);山羊抗小鼠IgG(H+L)和山羊抗兔IgG(H+L)二抗均购自北京中杉金桥生物技术有限公司;CCK-8试剂盒、BCA蛋白浓度测定试剂盒均购自赛文创新(北京科技有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 实验分组及给药 对照(normol control, NC)组细胞株在没有任何处理试剂的培养基中正常培养;6-OHDA组细胞株用含100 μmol/L 6-OHDA的培养基处理24 h;NaHS治疗(sodium hydrosulfide treatment, NaHS-T)组细胞株用含200 μmol/L NaHS的培养基预处理30 min,再用含100 μmol/L 6-OHDA培养基处理24 h;NaHS组细胞株用含200 μmol/L NaHS培养基培养。

将SH-SY5Y细胞用含有10%胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)和1%青霉素-链霉素溶液的DMEM/F12培养基进行培养,并放置在37°C、5%CO_2的培养箱中。当细胞处于对数生长期时用胰酶消化下来,以5×10^5个/ml接种于6孔板,置于37°C、5%CO_2的培养箱中再孵育24 h。再按分组分别进行处理,上述实验重复3次。

1.2.2 CCK-8法检测细胞活力 将细胞悬液以4×10^4个/ml浓度,每孔100 μl接种到96孔板,每组5个复孔,置于37℃、5%CO_2培养箱孵育24 h。设置对照组及不同浓度(25、50、100、150、200 μmol/L)6-OHDA处理组培养24 h,再每孔加入10 μl CCK-8溶液,培养箱内继续孵育3 h,使用酶标仪测定450 nm处的吸光度($A_{450\,nm}$)。细胞活力(%)=[$A_{450\,nm}$(实验孔)-$A_{450\,nm}$(空白孔)]/[$A_{450\,nm}$(对照孔)-$A_{450\,nm}$(空白孔)]×100%。其中空白孔仅加入单纯培养基,未加入细胞。

1.2.3 透射电子显微镜观察SH-SY5Y细胞形态 参照"1.2.1部分"分组处理细胞,胰酶消化收集细胞,加入2.5%戊二醛4℃固定2 h,磷酸盐缓冲液漂洗已固定细胞3次,100%的丙酮浸泡脱水3次,脱水后的细胞用环氧树脂浸透过夜,85℃聚合24 h,切片,用铅铀染色剂进行染色,最后将染色切片放入透射电子显微镜中观察。

1.2.4 Western blotting 将各组细胞用胰酶消化收集,细胞裂解液处理后,提取总蛋白,采用BCA法测定蛋白浓度。每孔上样20 μg,电泳,转膜,脱脂牛奶封闭,加入稀释好的一抗抗兔RIPK3(1∶2 000)、抗鼠MLKL(1∶1000),置于4℃冰箱孵育过夜。使用1×TBST洗涤,加入稀释的二抗(1∶10 000),室温下孵育1 h。ECL化学发光剂显影,近红外凝胶成像仪成像,成像结果进行灰度值分析,Image J软件计算蛋白表达的灰度值。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 25.0 统计软件进行数据分析。计量资料用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,两组间比较采用 t 检验,多组间差异比较采用单因素方差分析。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 6-OHDA 对 SH-SY5Y 细胞活力及形态的浓度依赖性损伤

不同浓度(25、50、100、150、200 μmol/L)6-OHDA处理 SH-SY5Y 细胞,SH-SY5Y 细胞活力分别为(94.25% ± 5.60%),(88.16% ± 2.38%),(62.37%±3.23%),(43.09%±3.65%),(26.02%±4.42%)。与 NC 组相比,随着 6-OHDA 浓度越高,细胞活力越低($P<0.05$)。浓度为 100 μmol/L 时,损伤适中,接近半数致死量(图 1)。

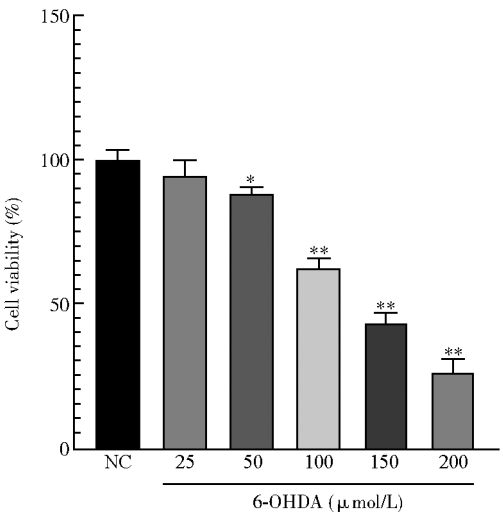


图 1 CCK-8 法检测不同浓度 6-OHDA 对 SH-SY5Y 细胞活力的影响

Figure 1 Effects of 6-OHDA at different concentrations on SH-SY5Y cell viability detected by CCK-8 assay ($n=3$)

NC: normol control; 6-OHDA: 6-hydroxydopamine. Compared with NC group, * $P<0.05$, ** $P<0.001$.

与 NC 组相比,25、50 μmol/L 6-OHDA 组大部分细胞形态无明显变化,细胞密度未明显降低,仅少数细胞出现短触角轻度回缩,个别细胞呈圆形或悬浮状态。当处理浓度为 100 μmol/L 时,部分细胞聚团成圆形或呈悬浮状态,正常贴壁细胞数量减少,且贴壁细胞短触角出现轻度回缩现象。而处理浓度为 150、200 μmol/L 时,细胞密度明显减少,大部分细胞聚团死亡,少部分细胞呈贴壁状态,但短触角回缩明显加重(图 2)。

2.2 透射电子显微镜下 6-OHDA 诱导 SH-SY5Y 细胞中多种细胞死亡方式的形态学特征

通过透射电子显微镜观察 NC 组及 6-OHDA 组 SH-SY5Y 细胞形态学变化,结果显示,与 NC 组相比,6-OHDA 组细胞间黏附力减弱、间距增大,正常细胞占比降低,且同时存在细胞凋亡、细胞焦亡及典型坏死等多种细胞死亡形态(图 3)。

2.3 NaHS 对 PD 细胞模型最佳预处理浓度筛选及影响

通过倒置生物显微镜,观察不同浓度(25、50、100、200、400 μmol/L)NaHS 预处理后SH-SY5Y 细胞的形态变化(图 4),与单用 100 μmol/L 6-羟基多巴胺处理相比,细胞密度明显增加,正常贴壁细胞数量逐渐增多,聚团死亡细胞逐渐减少,细胞形态逐渐趋于正常,且细胞短触角回缩程度得到改善。其中 200 μmol/L NaHS 预处理对细胞形态改善效果最佳(图 4E)。因此,后续实验选择 200 μmol/L NaHS 作为实验预处理浓度[10]。

与 NC 组相比,6-OHDA 组细胞密度变小,部分细胞变圆悬浮,神经突回缩。NaHS 预处理后,可减轻 SH-SY5Y 细胞上述变化。当单用 NaHS 处理时,细胞形态未见明显变化(图 5)。

2.4 NaHS 对 PD 细胞模型坏死性凋亡的影响

与 NC 组相比,6-OHDA 组坏死性凋亡蛋白 RIPK3 和 MLKL 的表达增加($P<0.05$);与 6-OHDA 组相比,NaHS-T 组 RIPK3 和 MLKL 的表达减少($P<0.05$),200 μmol/L NaHS 本身对 SH-SY5Y 细胞 RIPK3、MLKL 的蛋白水平无明显影响(图 6)。

2.5 NaHS 对 PD 细胞模型 PANoptosis 的影响

通过透射电子显微镜观察 NaHS-T 组 SH-SY5Y 细胞形态学变化,结果显示,正常细胞数量较 6-OHDA组增多,坏死性凋亡(蓝箭头所指)与细胞焦亡(黄箭头所指)发生数量较 6-OHDA 组减少,仅见部分细胞膜完整但细胞肿胀,且伴有少量胞浆空泡的坏死性凋亡早期表现,未观察到细胞凋亡的典型形态特征(图 7)。

3 讨 论

PD 是一种常见的中老年神经退行性疾病,其主要病理特征是黑质多巴胺能神经元进行性丧失和路易小体沉积,导致纹状体多巴胺显著减少。目前仍缺乏对因性治疗手段,严重降低患者的生活质量,同时带来巨大经济负担。大量的研究证明,PCD(坏死性凋亡、细胞焦亡、自噬、细胞凋亡)的过度激活参与 PD 的发生发展[11]。因此,以 PCD 相关通路为分子靶点,有望为改善 PD 病理损伤、缓解临床症状提供新的潜在治疗方向。

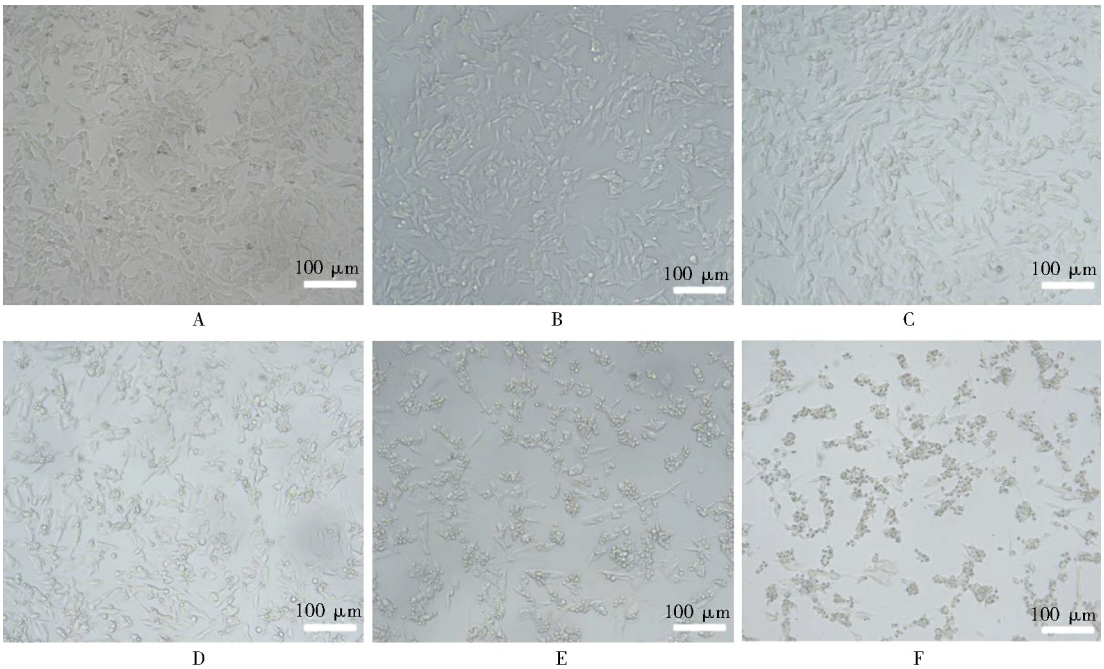


图 2 倒置生物显微镜下观察不同浓度 6-OHDA 对 SH-SY5Y 细胞的形态学变化

Figure 2 Morphological changes of SH-SY5Y cells induced by different concentrations of 6-OHDA observed under inverted biological microscope

A: NC; B: 25 μmol/L 6-OHDA; C: 50 μmol/L 6-OHDA; D: 100 μmol/L 6-OHDA; E: 150 μmol/L 6-OHDA; F: 200 μmol/L 6-OHDA. NC: normol control; 6-OHDA: 6-hydroxydopamine.

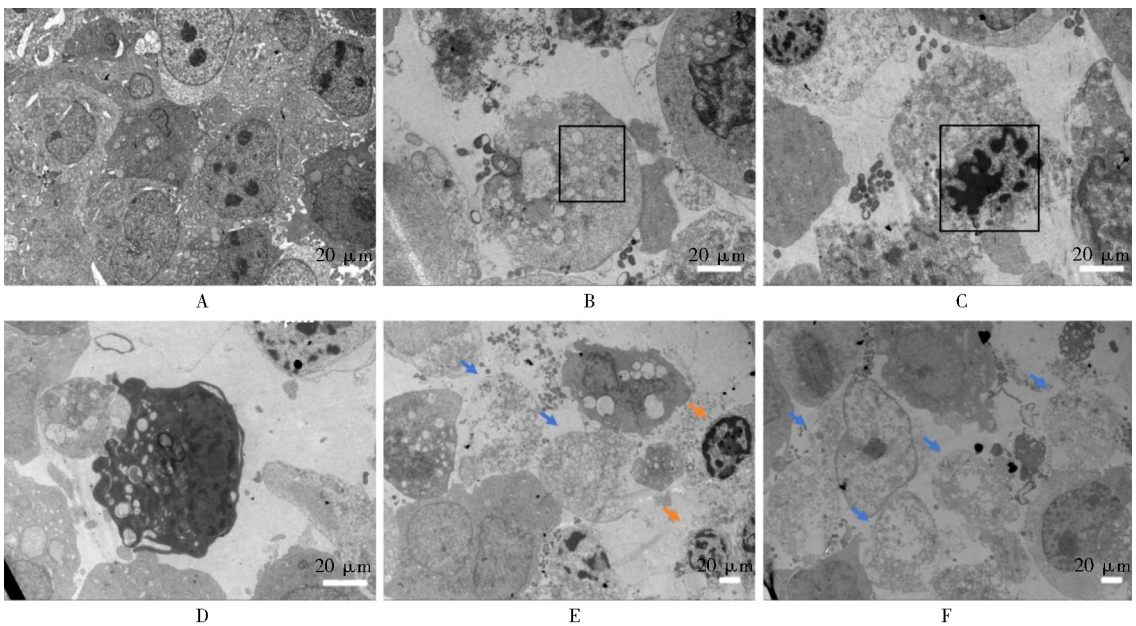


图 3 透射电子显微镜下观察 NC 组(A)和 6-OHDA 组(B~F)SH-SY5Y 细胞的形态学变化

Figure 3 Morphological changes of SH-SY5Y cells in NC group (A) and 6-OHDA group (B–F) observed under transmission electron microscope

A: the cells adhere tightly to each other with small gaps, display a variety of morphologies, and have large and prominent nuclei with multiple nucleoli; B: cells exhibit typical necrotic characteristics, cell swelling, disrupion of cell membrane integrity, and abundant vacuoles in the cytoplasm(as indicated by the black box), and the electron density of the cytoplasm is reduced, while no nuclear pyknosis is observed; C: the cells show marked swelling, with nuclear pyknosis accompanied by increased staining intensity(as indicated by the black box) and the formation of numerous intracellular vesicles, which are consistent with the morphological changes of pyroptosis; D: the cells show typical apoptotic features, being globally pyknotic with increased electron density, intact cell membranes, and chromatin margination; E: necrosis-like changes(as indicated by blue arrows) and pyroptotic cells/events (as indicated by yellow arrows) are observed to coexist; F: numerous necrosis-like changes are evident. NC: normol control; 6-OHDA:6-hydroxydopamine.

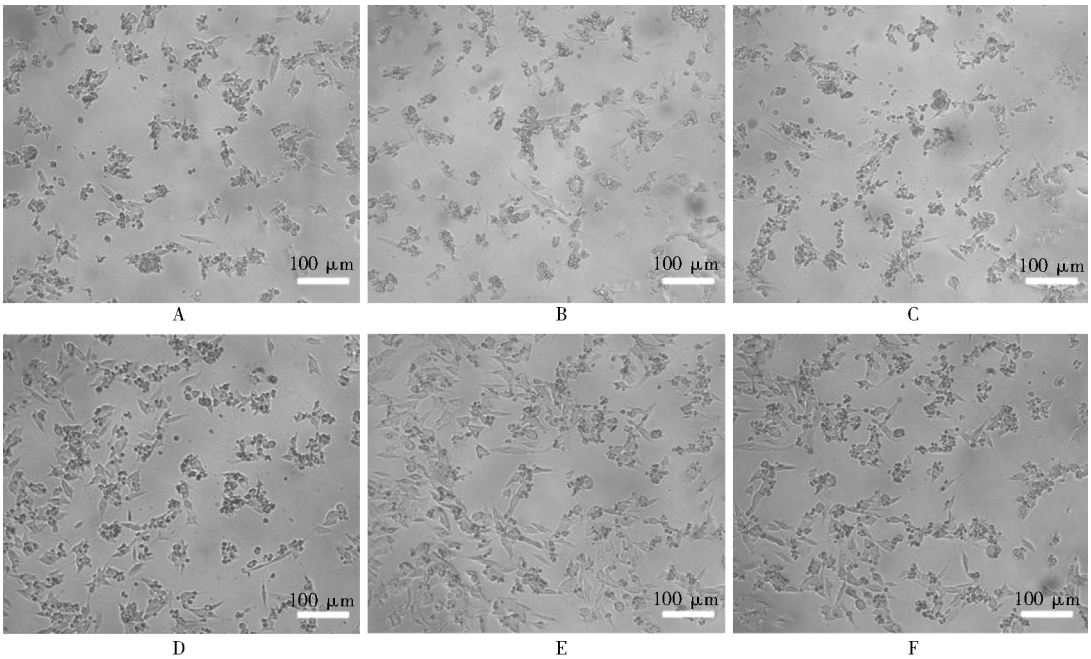


图 4 倒置生物显微镜观察不同浓度 NaHS 处理后 SH-SY5Y 细胞的形态学变化

Figure 4 Morphological changes of SH-SY5Y cells after treatment with different concentrations of NaHS observed under inverted biological microscope

A: 100 μmol/L 6-OHDA; B: 25 μmol/L NaHS+100 μmol/L 6-OHDA; C: 50 μmol/L NaHS+100 μmol/L 6-OHDA; D: 100 μmol/L NaHS+100 μmol/L 6-OHDA; E: 200 μmol/L NaHS+100 μmol/L 6-OHDA; F: 400 μmol/L NaHS+100 μmol/L 6-OHDA. 6-OHDA: 6-hydroxydopamine.

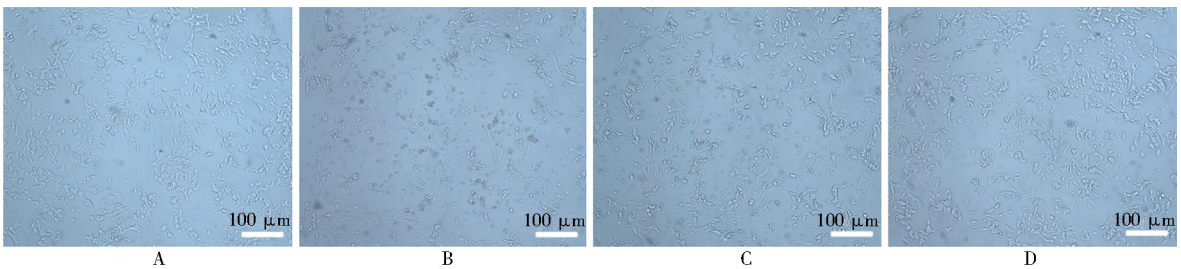


图 5 倒置生物显微镜观察不同分组的 SH-SY5Y 细胞形态学变化

Figure 5 Morphological changes of SH-SY5Y cells with different treatment under inverted biological microscope

A: NC; B: 6-OHDA; C: NaHS-T; D: NaHS. NC: normol control; 6-OHDA: 6-hydroxydopamine; NaHS-T: sodium hydrosulfide treatment.

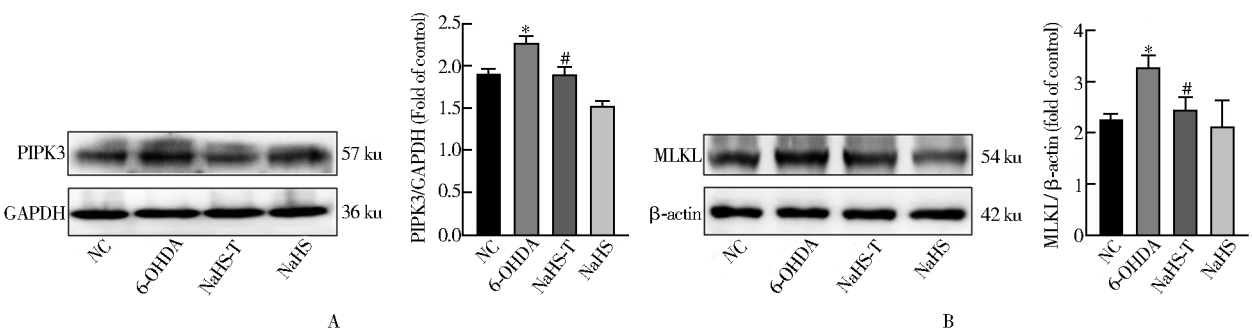


图 6 蛋白印迹检测不同条件下 SH-SY5Y 细胞坏死性凋亡相关蛋白的表达

Figure 6 Levels of necroptosis related proteins in SH-SY5Y cells under different conditions evaluated by Western blotting ($n=3$)

A: RIPK3; B: MLKL. NC: normol control; 6-OHDA: 6-hydroxydopamine; NaHS-T: sodium hydrosulfide treatment; NaHS: sodium hydrosulfide. Compared with NC group, $^{*}P<0.05$; compared with 6-OHDA group, $^{\#}P<0.05$.

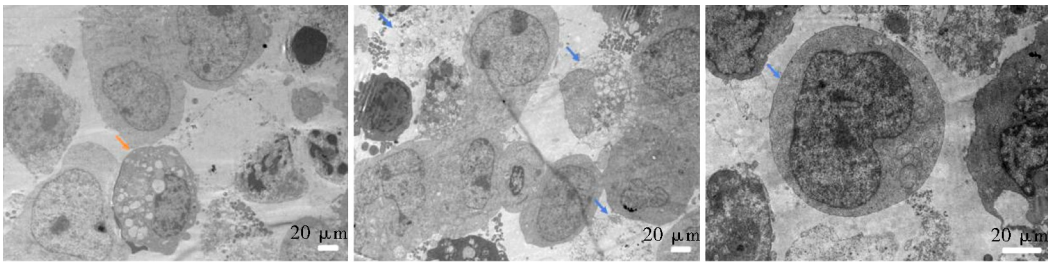


图 7 透射电子显微镜下观察 SH-SY5Y 细胞的形态学变化

Figure 7 Morphological changes of SH-SY5Y cells observed under transmission electron microscope

A: the number of normal cells increase, while pyroptosis is still observable; B: a certain number of necroptotic cells are still observed, but their quantity decrease; C: the cell indicated by the blue arrow exhibits the early manifestations of necroptosis. 6-OHDA: 6-hydroxydopamine; NaHS-T: sodium hydrosulfide treatment; necroptotic: the blue arrow; pyroptosis: the yellow arrow.

PANoptosis 是一种具有细胞凋亡、坏死性凋亡、细胞焦亡特征的新型细胞死亡方式[3]。具体来说,坏死性凋亡是一种类似于细胞坏死的 PCD,在绝对缺乏 caspase-8 活性的情况下发生,随即激活 RIP1-RIP3-MLKL 信号通路引起细胞膜的破裂,导致细胞死亡,并表现出典型的坏死样形态[12]。而 caspase-8 又是细胞凋亡的关键上游分子之一,表明坏死性凋亡与细胞凋亡之间密不可分的联系。其次,参与细胞凋亡和细胞焦亡的各种启动分子和效应分子也可以互换以确保细胞发生死亡。比如,TNFR1 刺激不能激活下游的核因子信号时,调节细胞凋亡的 caspase 8 可以介导 GSDMD 裂解,从而诱导细胞焦亡的发生[13]。它们之间的相互联系构成了单一而又协调的细胞死亡系统,其中一个途径可以灵活地补偿另一个途径,以抵抗病原体逃避宿主细胞的清除。本研究通过对 PD 细胞模型进行形态学观察,发现同时存在细胞凋亡、细胞焦亡及典型坏死样形态,为明确坏死样形态的类型,进一步采用免疫印迹检测坏死性凋亡关键调控蛋白 RIPK3 和 MLKL,结果显示其表达水平较 NC 组升高,由此证实该坏死样形态为坏死性凋亡。表明,PANoptosis 参与 6-OHDA 诱导的 SH-SY5Y 细胞损伤。

硫化氢被公认为是继一氧化碳和一氧化氮的第三大气体信号分子或气体递质,而与一氧化碳和一氧化氮不同,硫化氢的研究还处于起步阶段。但近年来,硫化氢被认为是一种有效的神经保护剂[14-16]。相关研究显示,它可以通过抗氧化、抗炎症反应,以及上调细胞自噬、抗凋亡减轻神经元损伤,达到保护 PD 模型神经元丢失[10,17]的作用。在本实验中用硫化氢的外源性供体 NaHS 预处理 PD 细胞模型,并观察 SH-SY5Y 细胞的细胞密度以及形态学变化,发现硫化氢减轻 6-OHDA 诱导的 SH-SY5Y 细胞密度的减少和细胞损伤,SH-SY5Y 细胞形态逐渐趋于正常,正常贴壁细胞逐渐增多,细胞短触角回缩情况逐渐改善。验证了硫化氢对 PD 细胞模型的保护作用。

此外,本研究发现 NaHS-T 组 RIPK3 及 MLKL 蛋白表达较 6-OHDA 组减少($P<0.05$),提示外源性硫化氢可抑制坏死性凋亡特异性蛋白因子的表达。结合电镜观察 SH-SY5Y 细胞形态显示,与 6-OHDA 组相比,NaHS-T 组正常的 SH-SY5Y 细胞数量增多,细胞焦亡和坏死性凋亡减少,且无细胞凋亡现象。以上结果表明,硫化氢通过抗 PANoptosis 对 PD 细胞模型发挥保护作用,但其具体机制仍待进一步研究。但本研究仍存在一些不足之处:(1)本实验只通过细胞形态学及坏死性凋亡特异性蛋白因子(RIPK3、MLKL)表达来证实硫化氢可能通过抑制 PANoptosis 发挥保护 PD 细胞模型的作用,未进行其他相关指标检测;(2)尚未在动物实验中得到验证。

综上,PANoptosis 参与 PD 细胞模型的发生发展,并导致 SH-SY5Y 细胞损伤;而外源性硫化氢对 PD 细胞模型具有保护作用,其机制可能是通过抑制细胞凋亡、细胞焦亡、坏死性凋亡的协同效应实现的。这提示,以 PANoptosis 为分子靶点可能成为防治 PD 的新方向。

【参考文献】

[1] Bloem BR, Okun MS, Klein C. Parkinson's disease[J]. Lancet, 2021, 397(10291): 2284-2303. DOI: 10.1016/S0140-6736(21)00218-X.

[2] Deuschl G, Beghi E, Fazekas F, *et al*. The burden of neurological diseases in Europe: an analysis for the Global Burden of Disease Study 2017[J]. Lancet Public Health, 2020, 5(10): e551-e567. DOI: 10.1016/S2468-2667(20)30190-0.

[3] Wang Y, Kanneganti TD. From pyroptosis, apoptosis and necroptosis to PANoptosis: amechanistic compendium of programmed cell death pathways[J]. Comput Struct Biotechnol, 2021, 19: 4641-4657. DOI: 10.1016/j.csbj.2021.07.038.

[4] Abeliovich A. Parkinson's disease: pro-survival effects of PINK1[J]. Nature, 2007, 448(7155): 759-760. DOI: 10.1038/448759a.

[5] Zhang Y, Liu J, Yu D, *et al*. The MLKL kinase-like domain dimerization is an indispensable step of mammalian MLKL activation in necroptosis signaling[J]. Cell Death Dis, 2021, 12(7): 638.

[6] Anderson FL, von Herrmann KM, Andrew AS, *et al*. Plasma-borne indicators of inflammasome activity in Parkinson's disease patients[J]. NPJ Parkinsons Dis, 2021, 7(1): 2. DOI: 10.1038/s41531-020-00147-6.

[7] Wang R. Gasotransmitters: growing pains and joys[J]. Trends Biochem Sci, 2014, 39(5): 227-232. DOI: 10.1016/j.tibs.2014.03.003.

[8] Jiang W, Zou W, Hu M, *et al*. Hydrogen sulphide attenuates neuronal apoptosis of substantia nigra by re-establishing autophagic flux *via* promoting leptin signalling in a 6-hydroxydopamine rat model of Parkinson's disease[J]. Clin Exp Pharmacol P, 2022, 49(1): 122-133. DOI: 10.1111/1440-1681.13587.

[9] 张扬, 张文超, 刘鑫苗. 山栀苷对 6-羟基多巴胺损伤的 SH-SY5Y细胞的保护作用及其机制[J]. 中国病理生理杂志, 2022, 38(5): 845-851. DOI: 10.3969/j.issn.1000-4718.2022.05.010.

[10] Liu L, Wang J, Wang H. Hydrogen sulfide alleviates oxidative stress injury and reduces apoptosis induced by MPP^+ in Parkinson's disease cell model[J]. Mol Cell Biochem, 2020, 472(1-2): 231-240. DOI: 10.1007/s11010-020-03801-y.

[11] Malireddi RKS, Kesavardhana S, Kanneganti TD. ZBP1 and TAK1: master regulators of NLRP3 inflammasome/pyroptosis, apoptosis, and necroptosis (PAN-optosis)[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2019, 9: 406. DOI: 10.3389/fcimb.2019.00406.

[12] Galluzzi L, Vitale I, Aaronson SA, *et al*. Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018[J]. Cell Death Differ, 2018, 25(3): 486-541. DOI: 10.1038/s41418-017-0012-4.

[13] Karin M, Wang Y, Kanneganti TD. From pyroptosis, apoptosis and necroptosis to PANoptosis: a mechanistic compendium of programmed cell death pathways[J]. Comput Struct Biotechnol, 2021, 19: 4641-4657. DOI: 10.1016/j.csbj.2021.07.038.

[14] Bose A, Beal MF. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in induced pluripotent stem cell models of Parkinson's disease[J]. Eur J Neurosci, 2019, 49(4): 525-532. DOI: 10.1111/ejn.14264.

[15] Lin QS, Chen P, Wang WX, *et al*. RIP1/RIP3/MLKL mediates dopaminergic neuron necroptosis in a mouse model of Parkinson disease[J]. Lab Invest, 2020, 100(3): 503-511. DOI: 10.1038/s41374-019-0319-5.

[16] Xie L, Wu H, He QP, *et al*. A slow-releasing donor of hydrogen sulfide inhibits neuronal cell death *via* anti-PANoptosis in rats with spinal cord ischemia — reperfusion injury[J]. Cell Commun Signal, 2024, 22(1): 33. DOI: 10.1186/s12964-023-01457-x.

[17] Wang M, Tang JJ, Wang LX, *et al*. Hydrogen sulfide enhances adult neurogenesis in a mouse model of Parkinson's disease[J]. Neural Regen Res, 2021, 16(7): 1353. DOI: 10.1007/s11010-020-03801-y.

(编辑: 温玲玲)