

脐带间充质干细胞治疗帕金森病的应用

王艳¹, 赵新利², 张军艳¹, 谭军¹(¹新乡医学院第三附属医院神经内二科, 河南省新乡市 453003; ²新乡医学院第一附属医院神经外科, 河南省卫辉市 453100)

文章亮点:

1 文章的创新性在于应用人脐带间充质干细胞颈动脉穿刺移植治疗帕金森病, 结果显示脐带间充质干细胞移植可以在一定程度上改善帕金森病患者的神经功能, 提高生活质量。脐带间充质干细胞移植为这种神经变性疾病提供了新的治疗手段, 但针对这一类难治性神经变性疾病的治疗模式是否相同, 是否都有疗效还需深入分析。

2 脐带间充质干细胞移植, 在帕金森病以及神经损伤后的修复治疗方面显示出很强的潜力。同时脐带间充质干细胞移植又具有免疫调节, 移植后发生排斥反应的危险性较小等特点。

关键词:

干细胞; 脐带干细胞; 脐带间充质干细胞; 细胞移植; 帕金森病; 神经变性; 强直; 震颤

主题词:

干细胞; 脐血干细胞移植; 间质干细胞; 帕金森病; 神经变性

基金资助:

河南省教育厅资助项目(2010B320013)

摘要

背景: 动物实验中已多次验证, 脐带干细胞移植可有效改善帕金森大鼠的旋转行为, 且免疫排斥反应低。

目的: 以帕金森病统一评分量表作为观察指标, 评估人脐带间充质干细胞移植对帕金森病的治疗效果。

方法: 纳入帕金森病患者 15 例, 男 8 例, 女 7 例, 年龄 52-76 岁, 帕金森病 H&Y 分级 3-5 级。在产妇知情同意情况下, 通过医院伦理委员会批准, 获取足月妊娠产妇的脐带, 无菌收集脐带, 培养脐带间充质干细胞。所有患者均住院治疗, 自第 2 周起应用人脐带间充质干细胞进行颈动脉穿刺移植治疗。移植前及移植后 1 个月采用帕金森病综合评分量表对患者移植前后神经功能进行评定, 分值越高表示神经功能缺损越严重。

结果与结论: 15 例患者均进入结果分析。与移植前相比, 移植后 1 个月患者帕金森病综合评分量表分值均明显降低($P < 0.05$), 主要集中在对震颤、强直的改善, 而运动迟缓、姿势不稳等临床症状无明显改善。患者均未出现移植植物抗宿主病。提示脐带间充质干细胞移植治疗帕金森病效果显著, 可明显改善患者的神经功能。

王艳, 赵新利, 张军艳, 谭军. 脐带间充质干细胞治疗帕金森病的应用[J]. 中国组织工程研究, 2014, 18(6):932-937.

Therapeutic applications of umbilical cord mesenchymal stem cells in Parkinson's disease

Wang Yan¹, Zhao Xin-li², Zhang Jun-yan¹, Tan Jun¹ (¹Second Department of Neurology, Third Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Xinxiang 453003, Henan Province, China; ²Department of Neurosurgery, First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Weihui 453100, Henan Province, China)

Abstract

BACKGROUND: Animal experiments have repeatedly verified that umbilical cord stem cell transplantation can improve the rotational behavior of rats with Parkinson's disease, with lower immune rejection response.

OBJECTIVE: To evaluate the therapeutic effects of human umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation in the treatment of Parkinson's disease using the Unified Parkinson's Disease Rating Scale.

METHODS: Fifteen patients with Parkinson's disease were enrolled, including 8 males and 7 females, aged 52-76 years. Hoehn & Yahr staging was 3-5. After informed consent was obtained from puerperae and the procedure was approved by the hospital ethics committee, full-term maternal umbilical cord was aseptically collected, to culture umbilical cord mesenchymal stem cells. All patients were hospitalized, and treated with human umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation via carotid artery puncture. Neurological function of patients was assessed using a comprehensive rating scale for Parkinson's disease before and 1 month after cells transplantation. Higher score indicated more severe neurological deficits.

RESULTS AND CONCLUSION: Fifteen patients entered the result analysis. Compared with before transplantation, 15 patients showed significantly lowered scores on the Unified Parkinson's Disease Rating Scale

王艳, 女, 1974 年生, 河南省原阳县人, 汉族, 2010 年新乡医学院毕业, 硕士, 医师, 主要从事脐血干细胞的基础研究与临床研究。

通讯作者: 谭军, 博士, 硕士生导师, 主任医师, 新乡医学院第三附属医院神经内二科, 河南省新乡市 453003

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2014.06.018
[http://www.crter.org]

中图分类号:R394.2

文献标识码:B

文章编号:2095-4344

(2014)06-00932-06

稿件接受: 2013-12-07

Wang Yan, Master, Physician, Second Department of Neurology, Third Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Xinxiang 453003, Henan Province, China

Corresponding author: Tan Jun, M.D., Master's supervisor, Chief physician, Second Department of Neurology, Third Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Xinxiang 453003, Henan Province, China

Accepted: 2013-12-07

at 1 month after transplantation ($P < 0.05$). The improvement was mainly concentrated in the tremor and rigidity, but bradykinesia and unstable position were not improved. Graft versus host disease did not occur in all 15 cases. These findings indicate that umbilical cord blood mesenchymal stem cell transplantation for treating Parkinson's disease has obvious curative effects and significantly improves neurological functions.

Subject headings: stem cells; cord blood stem cell transplantation; mesenchymal stem cells; Parkinson disease; nerve degeneration

Funding: the grant from Henan Provincial Educational Bureau, No. 2010B320013

Wang Y, Zhao XL, Zhang JY, Tan J. Therapeutic applications of umbilical cord mesenchymal stem cells in Parkinson's disease. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2014;18(6):932-937.

0 引言 Introduction

帕金森病是发病率比较高的一种中枢神经系统变性的慢性疾病,与中毒、感染以及药物、遗传等都有关系,但主要病因还是与年龄有关的脑动脉硬化和神经元的退化等^[1]。从而引起老年人震颤、肌肉僵直、运动迟缓和各种特殊姿势。目前应用广泛的是手术以及药物治疗,一般来说,药物治疗的期限仅仅为3-5年,而药物效果降低后,则会使病情更加难以控制,出现异动症等,而手术治疗更是一把双刃剑。因此如何能够从根本上改善神经元功能,从传统方法上入手是很困难的,此时脐带间充质干细胞治疗应运而生,多项动物实验如移植猪脐带间充质干细胞治疗小鼠模型等等^[2],都取得了很好的效果,为治疗帕金森带来了新的希望和巨大的潜力^[3]。

文章采取脐带间充质干细胞移植治疗15例帕金森病患者,以治疗前后帕金森病统一评分量表评分作为主要指标来评价其治疗效果。

1 对象和方法 Subjects and methods

设计: 对比观察试验。

时间及地点: 病例来自于2010年9月至2012年10月新乡医学院第三附属医院神经内二科。

对象: 以本院15例帕金森病患者为研究对象,男8例,女7例;年龄52-76岁,平均年龄63.4岁,均签署了干细胞治疗同意书和伦理同意书。帕金森病H&Y分级为3-5级。分级标准为:0=无体征;1.0=单侧患病;1.5=单侧患病,并影响到中轴肌肉;2.0=双侧患病,但未损害平衡;2.5=轻度双侧患病,姿势反射稍差,但是能自己纠正;3.0=双侧患病,有姿势平衡障碍,后拉试验阳性;4.0=严重的残疾,但是能自己站立或行走;5.0=不能起床,或生活在轮椅上。

纳入标准: ①原发性帕金森病患者。②帕金森病H&Y分级2-5级者。③对治疗及试验方案知情同意,且得到医院伦理委员会批准者。

排除标准: ①高度过敏体质或者有严重过敏史者。②合并恶性肿瘤者。③全身感染或局部严重感染者。④并发心、肺、肝、肾等重要脏器的功能障碍者。⑤凝血功能障碍,如血友病患者。⑥血清学检查阳性者,如艾滋病、乙肝、梅毒等。⑦患其他神经系统变性疾病,以及其他系统

重大疾病者。

脐带间充质干细胞移植15例帕金森病患者的基本资料:

病例	性别	年龄(岁)	帕金森病 H&Y 分级
1	男	58	3
2	男	62	5
3	男	66	5
4	男	76	4
5	男	53	5
6	女	52	3
7	女	73	4
8	女	63	5
9	女	59	5
10	女	56	4
11	女	63	5
12	女	71	3
13	男	69	4
14	男	75	3
15	男	56	5

方法:

脐带间充质干细胞制备及鉴定: ①在产妇知情同意情况下,通过医院伦理委员会批准,获取足月妊娠的产妇的脐带,无菌收集脐带,浸没于含1%双抗(青链霉素)的PBS中,玻璃容器密封送回实验室。②超净台上剪取约2 cm长的脐带,剖开动静脉,用PBS洗净血污。③将脐带剪碎成肉糜状,转移到离心管中,加入4 mL的消化液(每升PBS含0.25%胰酶,200-400 U胶原酶II),混匀,37 °C中消化4 h,每隔10 min振摇1次。④吸取消化上清,转移到25 cm²细胞培养瓶中,加入DMEM/F12培养基(含体积分数为10%-15%胎牛血清),37 °C、体积分数5%CO₂培养箱中培养。⑤约3 d能在显微镜下观察到贴壁细胞,半量换液后继续培养,3 d后换液,细胞已经能稳定生长。每3 d换液1次,至细胞生长铺满瓶底(约10 d),即可进行传代。⑥用流式细胞仪检测细胞表面标志物CD29, CD34, CD45, CD44, CD90, CD105的表达率。其中CD29, CD44, CD90, CD105的阳性率均在95%以上,

CD34, CD45表达阴性^[4]。

临床检查: 所有患者均住院治疗, 第1周进行常规检查, 8例患者血、尿、便常规、肝肾功能、多项肿瘤标记物、胸片等均正常。

脐带间充质干细胞移植: 自第2周起患者应用人脐带间充质干细胞进行颈动脉穿刺移植治疗。在进行穿刺时, 首先要帮患者选择好正确的体位, 一般采用平卧位, 将枕头垫于颈下(高8–10 cm), 头向后仰, 尽量暴露颈部(致使颈部皮肤绷紧以利于穿刺), 头略偏向于穿刺部位的对侧(以偏离正中线1.0–2.0 cm为宜), 术者站于患者的右侧进行操作。根据解剖位置(上平甲状软骨上缘, 下至甲状软骨下缘1 cm处)寻找正确的注射部位, 进行常规的皮肤消毒后, 用左手食指或食指、中指固定其搏动明显处的血管, 右手食指和拇指固定准针柄部位进行垂直进针, 见回血, 表明穿刺成功。进针时要注意进针方向, 其垂直角度以与颈动脉垂直方向为准, 而非与水平面垂直。缓慢注入(在10 min内)脐带间充质干细胞注射液20 mL(干细胞数 4×10^7), 1次/周, 1次为1个疗程, 视疗效共治疗1或2个疗程^[5]。

辅助治疗: 常规给予扩张血管、抗自由基、营养神经、稳定细胞膜等治疗。

治疗效果评价: 分别于移植前和移植后1个月, 采用帕金森病综合评分量表对患者进行评定, 主要从4个方面进行评价, 包括了42个项目: ①第1部分: 精神、行为和情绪。②第2部分: 日常活动。③第3部分: 运动功能。④第4部分: 治疗的并发症。分值越高表示神经功能缺损越严重。

主要观察指标: 运用帕金森病综合评分量表评估15例帕金森病患者脐带间充质干细胞移植治疗前后的神经功能。

统计学分析: 统计者为新乡医学院统计教研室张合喜, 使用SPSS 13.0软件进行统计学分析, 数据用 $\bar{x} \pm s$ 来表示, 采用配对 t 检验。 $P < 0.05$ 说明治疗前后的差异有显著性意义。

2 结果 Results

2.1 参与者数量分析 按意向性处理分析, 纳入15例帕金

森病患者, 均成功进行脐带间充质干细胞移植, 中途无脱落。

2.2 随访结果 脐带间充质干细胞移植后 1 个月对患者进行随访, 结果如下:

脐带间充质干细胞移植15例帕金森病患者的随访结果:

病例	随访时间 (月)	移植后 1 个月帕金森 综合评分量表评分	不良事件
1	1	74	轻度乏力
2	1	69	中度乏力
3	1	75	轻度乏力
4	1	68	轻度乏力
5	1	71	轻度乏力
6	1	68	中度乏力
7	1	79	轻度乏力, 低热, 体温不超过 38 °C
8	1	81	轻度乏力
9	1	74	轻度乏力
10	1	71	轻度乏力
11	1	63	中度乏力
12	1	58	轻度乏力
13	1	84	中度乏力
14	1	73	轻度乏力
15	1	78	中度乏力

2.3 脐带间充质干细胞移植后1个月患者帕金森综合评分量表评分的变化 15例患者移植前帕金森综合评分量表评分平均(89.38 ± 30.92)分, 移植后平均(75.63 ± 27.07)分, 差异有显著性意义($P < 0.05$, 表1)。主要集中在对肌强直、震颤的改善, 而运动迟缓、姿势不稳等临床症状无明显改善。

2.4 不良事件 脐带间充质干细胞移植移植过程中及移植后患者的生命体征均平稳, 移植后患者均有不同程度的乏力症状。

1例患者出现移植后低热, 体温不超过38 °C, 对症处理后均完全缓解。

免疫排斥发生率较低, 均未出现移植植物抗宿主病。

表 1 帕金森病患者脐带间充质干细胞移植 15 例帕金森病前与移植后 1 个月帕金森综合评分量表评分对比

Table 1 Comparison of scores on the Unified Parkinson's Disease Rating Scale before and 1 month after cell transplantation ($\bar{x} \pm s$, $n=15$, point)

项目	阶段中		阶段后	
	移植前	移植后1个月	移植前	移植后1个月
帕金森综合评分量表评分	90.23±31.03	86.00±24.12 ^a	75.96±26.98	72.62±27.06 ^a
日常生活活动	66.61±18.76	55.11±15.86 ^a	57.74±21.29	48.00±17.33 ^a
肌强直	10.61±7.91	7.74±7.19	9.00±7.51	6.49±7.12
震颤	14.74±7.41	10.61±5.72 ^a	12.12±5.53	8.86±5.07 ^a

表注: 与移植前比较, ^a $P < 0.05$ 。提示脐带间充质干细胞移植可明显改善帕金森病患者的神经功能。

3 讨论 Discussion

帕金森病是一种神经元变性的疾病,可致使分泌的多巴胺递质下降,使患者出现四肢僵硬、震颤以及运动迟缓等症状,截至目前为止,临床在治疗该病时,主要采用手术和药物进行治疗,但这两种方法都无法对脑内环境进行改善,同时也无法使多巴胺能神经元的数目得到增加,甚至还可能因电极刺激、神经毒性等作用致使神经细胞数量减少,故寻求一种能够有效提升神经系统细胞数目的治疗方法成为临床研究的重点。

3.1 干细胞治疗的优势 在传统观念中,中枢神经细胞属于终末细胞,中毒、创伤以及缺血缺氧等病理过程均是导致患者神经元丢失的主要原因,而帕金森疾病的治疗中,成体干细胞横向分化的多潜能性为其提供了新思路,采用间充质干细胞进行治疗,主要优势如下:多巴胺能神经元丢失是帕金森病的关键,故控制其丢失,促使其增加是治疗的核心,采用干细胞移植可有效避免引起帕金森病相同病程;同时,干细胞能够持续数年释放和产生大量的多巴胺,据了解,间充质干细胞在成功移植后,其存活时间在10年以上,尽管有报道表明,帕金森病患者的多巴胺系统在持续退化,但仍然有效控制病情,增加多巴胺的数目;除此之外,纹状体超过50%多巴胺能神经支配减少和50%黑质多巴胺能细胞损失,是帕金森患者出现临床症状的主要因素,故只有通过改善黑质纹状体系统,使其能够恢复至50%,才能够达到治疗效果。近几年来,在临床中干细胞移植成为该病治疗的主要方法,但成人神经干细胞的获取非常困难,胚胎的多巴胺能神经元移植可有效控制该病,却存在伦理学问题。

3.2 细胞来源的选择 间充质干细胞不仅具备上述优势,同时还具有以下特点:①取材非常方便,且具有非常充足的细胞来源,除脐带可取得间充质干细胞,同时脐血和骨髓等组织均可获取间充质干细胞。②培养条件非常简单,且短时间内即可大量培养。③能够穿透血脑屏障。④可避免出现伦理问题;从这里可以发现,脐带间充质干细胞具有非常高的优势,可将其视为帕金森病治疗的理想方法,同时该方法也是当前临床治疗的最成熟的方法。

3.3 移植途径的选择 目前,临床对干细胞移植治疗帕金森病的研究报道非常多,同时也提出了不同的治疗途径,有经侧脑室移植、经静脉通道、经壳核移植等多种途径,其中侧脑室和壳核两种移植途径,更多地是用于人胚胎组织移植治疗中,而本文首次尝试经颈动脉穿刺移植,选择该途径主要是考虑到:①动脉移植可有效避免静脉移植出现的静脉窦处栓塞损失。②黑质纹状体区是由颈动脉供血。③经过动脉移植,可使干细胞的分布更加均匀,不会出现移植后“热点”问题,进而避免移植后并发症的出现。

3.4 颈动脉注射过程中的注意事项 在颈动脉注射时,

应注意以下事项:①在穿刺前,应尽可能地缓解患者的焦虑和紧张情绪,并叮嘱患者在完成穿刺后,控制吞咽和咳嗽动作。②在穿刺时,以快准为原则,尽量实现一次穿刺,防治出现多次穿刺给颈部造成不必要的损伤。③穿刺后应对穿刺点进行5-10 min的按压,按压位置一定要保持正确,以免出现因颈动脉小球和颈动脉窦受压出现不良反应。

3.5 干细胞替代疗法的可能作用机制 截至目前为止,间充质干细胞在帕金森病治疗的机制主要为:①间充质干细胞移植后,能够形成星形胶质细胞或神经元样细胞,这些细胞能够作用于受损部位,并游移至全脑。②间充质干细胞能够分泌各种营养因子,或对受损部位进行刺激,使其产生大量的内源性生长因子,对帮助组织修复有着积极作用。③间充质干细胞是新生血管的重要部分,可逐渐形成细胞外基质和血管内皮细胞,帮助血管新生,提高神经保护作用。④在脑内创造适宜的局部微环境,通过体外扩增或不同因子诱导分化的方法使间充质干细胞分化为神经细胞后进行移植,替代受损细胞重建神经功能区和传导通路。根据本文结果来看,脐带间充质干细胞移植治疗可在短时间内对帕金森患者的临床症状进行改善,但对体位不稳和运动迟缓等症状的改善效果不明显,这可能与本文观察时间较短有直接联系,为此,移植后仍需对患者进行长时间地跟踪,除帕金森综合评分量表评分外,可结合PET显像示氟多巴的摄取有无增加,对疗效进行客观评定。

3.6 帕金森病主要表现 帕金森病好发于老年人,起病隐匿^[4-5],初始表现:①静止性震颤,表现为不自主颤抖,经常从一侧的手指继而发生于上肢、下肢、下颌、口唇和头部。与下肢相比,上肢更加明显一些。②肌强直:即肌张力增高,从而使肌肉强直。有“铅管样及强直”和“齿轮样肌强直”,“路标现象”为诊断帕金森病的早期症状。③运动迟缓:患者出现“面具脸”即表情呆滞、眨眼次数以及眼睛转动次数明显减少,起床、系鞋带等变慢,写字出现“写字过小征”。④特殊姿势如屈曲体姿、慌张步态等等。

3.7 脐带间充质干细胞移植治疗帕金森病 在动物实验中建立动物模型得到多次验证^[6],将脐血干细胞移植对帕金森大鼠旋转行为具有良好的影响,且免疫排斥反应低。并且胎儿出生后的脐血可以有效的利用,并且对孕妇和胎儿没有不良的影响。脐血干细胞移植治疗帕金森病的可能机制:主要体现在以下方面,第一,脐血间充质干细胞移植后能够定向迁移到病变部位,表达替代缺损的神经元或神经胶质细胞,使其发挥正常的细胞功能,从而缓解帕金森病的病症。第二,不仅可以表达成为中枢神经系统所需要的细胞,同时干细胞可以“细胞卫士”的作用,分泌出营养脑部细胞和组织的因子或者刺激损伤部位自身产生修复因子,从而保护细胞,促进血管、神经等的再生。第三,

脐血干细胞进入脑部后, 可以诱导分化并且替代受损细胞恢复神经系统的功能和传导通路, 为脑内营造一个良好的局部微环境^[7-8]。

3.8 可以作为治疗帕金森的脐带间充质干细胞的要求简而言之就是要孕妇和胎儿正常且足月妊娠, 即胎儿发育和营养正常, 并且母婴没有传染病、肿瘤、遗传病等等。这样获取的脐带间充质干细胞具有许多优点: 比如增殖分化能力强、免疫排斥性低、分化能力强、来源广泛、收集方便、对孕妇和胎儿没有危害且不受伦理的限制, 在临床上的应用前景非常宽广^[9]。

3.9 脐带间充质干细胞治疗帕金森病时移植途径的分析移植途径有多种, 常见的为经局部经侧脑室或者壳核移植、腰穿、经静脉移植等。各种方法均有其优点和长处, 本次应用的方法为经静脉移植。考虑到帕金森病的本质为黑质纹状区病变, 而此区则是由颈静脉提供血液。因此选择了此种移植方式。

脐带间充质干细胞移植时的注意事项: 术前要对患者的身体条件等作出诊断: 即体检, 包括手术禁忌症的各项检查(血、尿常规, 肝、肾代谢状况, 凝血是否障碍, 体液是否平衡等等)和防止手术中的胃肠道反应(移植前12 h内注意使胃排空, 以及尿便排空); 采用的方法为颈动脉注射法。首先要做好患者的心理工作, 减少其紧张和忧虑的负面情绪, 并且配合医生减少颈部的运动, 如吞咽、咳嗽等等。其次, 仔细了解颈部解剖学, 找准颈动脉位置, 避免伤及颈动脉窦以及神经等引起的一系列负面反应; 最后, 术后应嘱患者平卧去枕休息6 h, 注意监控心电图等以及是否存在并发症^[10-45]。

本次关于脐带间充质干细胞移植治疗帕金森病的研究中, 15例患者均有明显的改善, 主要表现在肌肉震颤、姿势障碍等等。通过统计学 t 检验分析得出, $P < 0.05$, 说明了治疗前后的差异有显著性意义, 再次证明了与传统的疗法相比, 脐带间充质干细胞治疗帕金森病是一种新型且有效的治疗方法, 具有广阔的前景, 为帕金森的治疗提供了新的希望。为了得到长期的临床疗效和安全性的研究结果, 还应进行大样本和长期的观察。

与目前手术治疗帕金森病相比, 干细胞移植疗法代表一种进步的治疗方案, 已成为临床上具有竞争力的新疗法, 现有研究表明其能促使长期持久地、大幅改善运动障碍, 阻断疾病进程。

致谢: 感谢新乡医学院第三附属医院妇产科、新乡医学院统计教研室对于文章的帮助。

作者贡献: 项目主持人王艳、谭军; 参与者赵新利、张军艳, 实验采用盲法评估。

利益冲突: 文章及内容不涉及相关利益冲突。

伦理要求:

知情同意: 参与试验的患病个体及其家属自愿参加, 对试验

过程完全知情同意, 在充分了解治疗方案的前提下签署“知情同意书”; 干预及治疗方案获新乡医学院附属第三医院伦理委员会批准。

医院资质: 新乡医学院附属第三医院具有干细胞移植的资质。

医生资质: 谭军为主任医师, 赵新利为副主任医师, 张军艳为主治医师, 王艳为医师, 均具有从事干细胞领域工作的经验。

学术术语: 帕金森病综合评分量表-主要从4个方面对帕金森病患者神经功能进行评价: 第1部分: 精神、行为和情绪; 第2部分: 日常活动; 第3部分: 运动功能; 第4部分: 治疗的并发症。分值越高表示神经功能缺损越严重。

作者声明: 文章为原创作品, 无抄袭剽窃, 无泄密及署名和专利争议, 内容及数据真实, 文责自负。

4 参考文献 References

- [1] Smith GA, Isacson O, Dunnett SB. The search for genetic mouse models of prodromal Parkinson's disease. *Exp Neurol*. 2012;237(2):267-273.
- [2] Eun-Ju K, Young-Hyuk L, Min-Jeong K, et al. Transplantation of porcine umbilical cord matrix mesenchymal stem cells in a mouse model of Parkinson's disease. *J Tissue Eng Regen Med*. 2013;7(3):169-182.
- [3] Kordower JH. Stem cells and gene therapy in PD: future directions. *Parkinsonism Relat Disord*. 2012;18:10.
- [4] Moore CG, Schenkman M, Kohrt WM, et al. Study in Parkinson Disease of Exercise (SPARX): Translating high-intensity exercise from animals to humans. *Contemp Clin Trials*. 2013;36(1):90-98.
- [5] Smith GA, Isacson O, Dunnett SB. The search for genetic mouse models of prodromal Parkinson's disease. *Exp Neurol*. 2012;237(2):267-273.
- [6] Wang F, Kameda M, Yasuhara T, et al. GDNF-pretreatment enhances the survival of neural stem cells following transplantation in a rat model of Parkinson's disease. *Neurosci Res*. 2011;71(1):92-98.
- [7] Nishimura K, Takahashi J. Therapeutic application of stem cell technology toward the treatment of Parkinson's disease. *Biol Pharm Bull*. 2013;36(2):171-175.
- [8] Yan M, Sun M, Zhou Y, et al. Conversion of human umbilical cord mesenchymal stem cells in Wharton's jelly to dopamine neurons mediated by the Lmx1a and neurturin in vitro: potential therapeutic application for Parkinson's disease in a rhesus monkey model. *PLoS One*. 2013; 8(5): e64000.
- [9] Arenas E. Towards stem cell replacement therapies for Parkinson's disease. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010; 396(1):152-156.
- [10] Luo Y, Kuang SY, Hoffer B. How useful are stem cells in PD therapy. *Parkinsonism Relat Disord*. 2009;15 Suppl 3:S171-175.
- [11] Zeng X, Couture LA. Pluripotent stem cells for Parkinson's disease: progress and challenges. *Stem Cell Res Ther*. 2013; 4(2):25.
- [12] 袁源, 杨树源, 韩忠朝, 等. 人脐带间充质干细胞分离纯化及基本生物学特性研究[J]. *中华实验外科杂志*, 2006, 5(3): 230-236.
- [13] 胡静波, 周燕, 蒋丹丹, 等. 体外扩增过程中人骨髓间充质干细胞的增殖与分化规律[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2006, 22(1): 7-10.
- [14] 高国栋, 张华, 王学廉, 等. 帕金森病的定向手术适应症[J]. *中华神经外科杂志*, 2002, 18(1): 12-16.

- [15] 赵彬,徐海龙,潘雷,等. 辛伐他汀减少三磷酸甘油醛脱氢酶的聚集及神经元凋亡[J]. 卒中与神经疾病, 2013,20(1): 23-26,49.
- [16] 王云甫,杨超,孙延鹏,等. 肌萎缩侧索硬化患者脑脊液对间充质干细胞增殖分化的影响[J]. 卒中与神经疾病, 2012,19(6): 328-331.
- [17] 李秀丽,张兆辉,张振涛. 帕金森病患者伴发精神症状的发生率及危险因素研究[J]. 卒中与神经疾病, 2012,19(5):308-310.
- [18] 杨明健. 艾司西酞普兰治疗帕金森病抑郁患者的疗效观察[J]. 卒中与神经疾病, 2012,19(4):243-244.
- [19] 宋金辉,罗韵文,谭晓东,等. 帕金森病患者血清中铜、铁、锰、锌和维生素E、维生素B12的测定[J]. 卒中与神经疾病, 2012,19(4): 219-221.
- [20] 陈涛,贾佳,叶飞,等. PEP-1介导铜锌超氧化物歧化酶对帕金森病小鼠氧化应激损伤的保护作用[J]. 卒中与神经疾病, 2012, 19(4): 199-201,206.
- [21] 黄杰,张振涛,陈春暖,等. CDK5在鱼藤酮诱导的多巴胺能神经元凋亡中的作用[J]. 卒中与神经疾病, 2012,19(3):134-137.
- [22] 胡丹,汪宁,张振涛,等. 姜黄素对多巴胺能细胞的保护作用研究[J]. 卒中与神经疾病, 2011,18(6):326-328,347.
- [23] 宋艳玲,赖天宝,李嫚,等. VEGF基因修饰MSCs移植对脑梗死大鼠血管源性机制的实验研究[J]. 卒中与神经疾病, 2011,18(6): 323-325,370.
- [24] 胡智伟,邹小冬. 具有帕金森样症状患者的相关疾病探讨[J]. 卒中与神经疾病, 2011,18(4):237-238.
- [25] Lees AJ, Hardy J, Revesz T. Parkinson's disease. Lancet. 2009;96(8):638-642.
- [26] Kupsch A, Oertel WH, Earl CD, et al. Neuronal transplantation and neurotrophic factors in the treatment of Parkinson's disease-update February 1995. J Neural Transm Suppl. 1995;46:193-207.
- [27] Bjorklund LM, Sánchez-Pernaute R, Chung S, et al. Embryonic stem cells develop into functional dopaminergic neurons after transplantation in a Parkinson rat model. Proc Natl Acad Sci U S A. 2002;99(4):2344-2349.
- [28] Carvey PM, Ling ZD, Sortwell CE, et al. A clonal line of mesencephalic progenitor cells converted to dopamine neurons by hematopoietic cytokines: a source of cells for transplantation. Exp Neurol. 2001;171(1):98-108.
- [29] Jin GZ, Cho SJ, Choi EG, et al. Rat mesenchymal stem cells increase tyrosine hydroxylase expression and dopamine content in ventral mesencephalic cells in vitro. Cell Biol Int. 2008;32(11):1433-1438.
- [30] 张儒有,郑永日,胡韶山. 神经干细胞移植治疗脑卒中后遗症50例临床效果分析[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2006, 13(9):514-517.
- [31] Sortwell CE, Collier TJ, Sladek JR Jr. Co-grafted embryonic striatum increases the survival of grafted embryonic dopamine neurons. J Comp Neurol. 1998;399(4):530-540.
- [32] During MJ, Kaplitt MG, Stern MB. Subthalamic GAD gene transfer in Parkinson disease patients who are candidates for deep brain stimulation. Human Gene Ther. 2001;12(12): 1589-1591.
- [33] Taylor H, Minger SL. Regenerative medicine in Parkinson's disease: generation of mesencephalic dopaminergic cells from embryonic stem cells. Curr Opin Biotechnol. 2005; 16(5): 487-492.
- [34] Greene R. Cell-based therapies in Parkinson's disease. Curr Neurol Neurosci Rep. 2009;9(4):292-297.
- [35] 王有为,韩之波,严淑琳,等. 人脐带间充质干细胞冻存复苏后的生物学特征[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010,14(10):1729-1733.
- [36] 杨兴肖. 间充质干细胞对移植抗宿主病的免疫调节作用[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2011,16(3):842-843.
- [37] 徐昊. 细胞移植治疗帕金森病移植细胞的选择与调控[J]. 中国微侵袭神经外科杂志, 2011,16(12):570-573.
- [38] 武晓华,陈乃耀. 脐带间充质干细胞治疗帕金森病的研究进展[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2011,9(1):101-103.
- [39] 张国柱,盛守权. 帕金森病的治疗研究进展[J]. 基层医学论坛, 2011,17(10):794-796.
- [40] 冯建勋,腊晓林,马艳. 两步法分离和培养人羊水来源胚胎间充质干细胞的生物学特征[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010,13(45):8854-8860.
- [41] Liao W, Xie J, Zhong J, et al. Therapeutic effect of human umbilical cord multipotent mesenchymal stromal cells in a rat model of stroke. Transplantation. 2009;87(3):350-359.
- [42] 李加美,朱华,刘颖. IL-10在人骨髓间充质干细胞移植治疗食蟹猴脑缺血中的作用[J]. 中国比较医学杂志, 2009,19(12):1-4.
- [43] Ball LM, Bernardo ME, Roelofs H. Cotransplantation of ex vivo expanded mesenchymal stem cells accelerates lymphocyte recovery and may reduce the risk of graft failure in haploidentical hematopoietic stem-cell transplantation. Blood. 2007;110(7):2764-2767.
- [44] 池颖,王有为,韩之波. 不同供者来源及不同传代次数人脂肪间充质干细胞端粒酶的活性检测[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009,13(45):8825-8828.
- [45] Dominici M, Le Blanc K, Mueller I. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. Cytotherapy. 2006;8(4):315-317.