

自体骨髓间充质神经干细胞移植治疗帕金森病的疗效观察

刘定华 顾鲁军 韩伯军 王庆广 洪珊珊 高恒 万美荣 叶英

【摘要】 目的 探讨自体骨髓间充质神经干细胞移植治疗帕金森病的疗效及安全性。**方法** 选取 2010 年 12 月至 2013 年 12 月期间在我院治疗的帕金森病患者 42 例,采用随机数字表法将其分为移植组及对照组,每组 21 例。2 组患者均给予常规药物治疗及康复干预,移植组在此基础上辅以自体骨髓间充质神经干细胞移植治疗,首先抽取患者骨髓并分离、培养骨髓间充质神经干细胞,待培养细胞达到治疗要求后进行神经干细胞移植,共进行 4 次细胞移植治疗,每次细胞移植间隔 5~10 d。于治疗前、治疗 4 周、治疗后 3 个月时分别采用帕金森病综合评分量表 (UPDRS) 对 2 组患者进行疗效评定;同时观察上述时间点 2 组患者外周血液中血管内皮生长因子 (VEGF) 及脑脊液中白细胞介素-10 (IL-10)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 表达情况。**结果** 经治疗 4 周及治疗后 3 个月时,发现移植组及对照组患者 UPDRS 评分 [治疗 4 周时分别为 (41.26 \pm 17.92) 分、(47.13 \pm 18.35) 分,治疗后 3 个月时分别为 (33.67 \pm 17.77) 分、(39.03 \pm 16.50) 分] 均较治疗前有一定程度下降,并且上述时间点移植组患者 UPDRS 评分均显著低于对照组水平,组间差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$);在整个治疗过程中未观察到移植组患者出现严重不良反应。另外移植组患者在治疗 4 周及治疗后 3 个月时,其外周血液中 VEGF 及脑脊液中 IL-10 表达均较治疗前明显增强,脑脊液中 TNF- α 表达则较治疗前明显降低。**结论** 自体骨髓间充质神经干细胞移植可促进帕金森病患者神经功能恢复,且治疗过程中未发生明显不良反应,安全性较好,该疗法值得临床进一步研究、推广。

【关键词】 骨髓间充质神经干细胞; 帕金森病; 自体移植

Transplanting autologous mesenchymal stem cells in the treatment of Parkinson's disease Liu Dinghua*, Gu Lujun, Han Bojun, Wang Qingguang, Hong Shanshan, Gao Heng, Wan Meirong, Ye Ying. * Department of Neurology, Jiangyin Hospital Affiliated to the Medical School of Southeast University, Jiangyin 214400, China

Corresponding author: Lin Dinghua, Email: Liudinghuacn@163.com

【Abstract】 Objective To explore the curative effect and safety of transplanting autologous mesenchymal stem cells to patients with Parkinson's disease. **Methods** Forty-two patients with Parkinson's disease were selected and randomly divided into a control group and a research group, each of 21. Both groups were given routine treatment and rehabilitation, but the research group was additionally provided with autologous bone marrow mesenchymal stem cell transplantation. Bone marrow mesenchymal stem cells were isolated from the patients, cultured and transplanted back into the patients totally 4 times at intervals of 5 to 10 days. Before the treatment and 4 weeks and 3 months later, the clinical functioning of both groups was evaluated using the Unified Parkinson's Disease Rating Scale (UPDRS). Four weeks and 3 months after the treatment, the peripheral blood expression of vascular endothelial growth factor (VEGF), the expression of interleukin 10 (IL-10) and the expression of CSF tumor necrosis factor alpha (TNF- α) in cerebrospinal fluid were compared between the 2 groups. **Results** The average UPDRS score of the research group decreased from (41.26 \pm 17.92) at four weeks to (33.67 \pm 17.77) at 3 months after the treatment, both significantly lower than before the treatment, and significantly lower than the scores of the control group at the same time points [(47.13 \pm 18.35) and (39.03 \pm 16.50)]. During the treatment, no severe adverse reactions were observed among the research group. Moreover, after the treatment the blood expression of VEGF and the expression of IL-10 in cerebrospinal fluid were significantly improved in the research group, while that of TNF- α was significantly reduced compared to before the treatment. **Conclusions** The transplantation of autologous mesenchy-

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2016.03.009

作者单位: 214400 江阴, 东南大学医学院附属江阴医院神经内科 (刘定华、韩伯军、王庆广、洪珊珊); 江阴市第五人民医院 (顾鲁军); 江苏省干细胞与生物医用材料重点实验室江阴临床干细胞研究室 (高恒); 徐州医学院附院中心实验室 (万美荣); 江苏省麻醉学重点实验室 (叶英)

通信作者: 刘定华, Email: Liudinghuacn@163.com

mal stem cells can safely promote nerve function in Parkinson's disease patients. It is worth applying in clinical practice.

【Key words】 Bone marrow; Mesenchymal stem cells; Parkinson disease; Transplantation; Autologous transplantation

帕金森病(Parkinson disease, PD)是一种中老年人常见的慢性进行性中枢神经变性疾病,其主要病因为与年龄有关的动脉硬化或神经元退变等^[1]。PD患者主要临床表现包括震颤、肌肉僵直、运动迟缓及各种特殊姿势等,严重影响患者运动能力及日常生活活动能力,给其家庭及社会带来沉重负担。目前临床针对PD患者应用较广泛的是手术及药物治疗,通常药物治疗的期限仅为3~5年,一旦药物效果减弱,则会使病情更加难以控制,如出现异动症等,而手术治疗的创伤及副作用更是不容忽视;并且上述传统疗法也很难从根本上改善受损神经元功能,其临床治疗手段亟待改进。随着生物医学技术高速发展,干细胞移植为PD患者治疗提供了一种新的思路^[2-3]。骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)具有高度增殖、自我更新能力及多向分化潜能,在不同诱导条件下可分化为多种组织细胞(如神经元细胞),可作为细胞移植治疗理想的种子细胞来源^[1,4-5]。本研究通过使用自体BMSCs经诱导分化的神经干细胞治疗PD患者,发现临床疗效满意。

对象与方法

一、研究对象

共选取2010年12月至2013年12月期间在我院治疗的PD患者42例,患者入选标准包括:①均符合PD诊断标准^[6];②年龄55~75岁;③PD患者病情严重程度Hoehn-Yahr分级(H&Y分级)为2~5级;④患者均签署治疗方案知情同意书,同时本研究亦得到医院伦理委员会批准。患者剔除标准包括:①患有继发性帕金森综合征或帕金森叠加综合征;②患者心、肺、肝、肾等重要脏器功能不全;③合并有肺炎或严重全身感染;④过敏体质;⑤伴有其它脑部器质性病变(如脑卒中、脑肿瘤等);⑥血清HIV阳性或肿瘤指标阳性;⑦凝血功能障碍,如患有血友病等。采用随机数字表法将上述患者分为移植组及对照组,2组患者性别、年龄、病程资料等详见表1,表中数据经统计学比较,发现组间差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

表1 入选时2组患者一般资料情况比较

组别	例数	性别(例)		平均年龄 (岁, $\bar{x}\pm s$)	平均病程 (月, $\bar{x}\pm s$)
		男	女		
移植组	21	12	9	65.3±6.6	39.3±6.1
对照组	21	11	10	66.2±6.4	41.3±5.8

二、治疗方法

对照组患者给予常规药物治疗(包括抗胆碱能药、金刚烷胺、复方左旋多巴、多巴胺受体激动剂、改善血循环制剂等)及综合康复干预,综合康复干预包括呼吸锻炼、面部动作锻炼、头颈部练习、躯干腹肌练习、四肢关节锻炼、步态训练、平衡训练、物理因子治疗等。移植组患者签署知情同意书后,在对照组患者治疗基础上辅以自体BMSCs移植治疗。

三、BMSCs的分离、培养与鉴别

首先于移植组患者髂前上棘部位抽取骨髓组织约40 ml,采用密度梯度离心法分离出骨髓单个核细胞,参照Dharmasaroja等^[5]介绍的方法分离、培养BMSCs。培养基采用DMEM(Dulbecco's modified eagle medium, DMEM)/F12,将细胞分装于75 ml培养瓶内,置于37℃饱和湿度、体积分数为5%的CO₂培养箱中培养4 d后,用生理盐水悬浮4 ml,取约 1×10^7 个培养细胞进行鉴定。采用流式细胞仪检测第5代培养细胞表面抗原表达为CD33(1.8%)、CD34(0.7%)、CD45(0.2%)、CD29(96.9%)、CD44(96.6%)、SH2(97.4%)、SH3(97.2%),并显示其具有向骨细胞、脂肪细胞及软骨细胞分化的能力,证明所培养细胞确为BMSCs。当培养的BMSCs数量达到治疗要求时(BMSCs移植注射标准为患者每千克体重需注射 1.0×10^7 个BMSCs)即可用于移植治疗。

四、自体BMSCs移植

治疗前嘱移植组患者侧卧于硬板床上,两手抱膝紧贴腹部,使躯干呈弓形,以髂后上棘连线与后中正线交汇处作为穿刺点,穿刺点皮肤经常规消毒后,采用2%利多卡因由皮肤至椎间韧带行局部浸润麻醉。术者以左手拇指、食指固定穿刺点皮肤,右手持穿刺针垂直于背部方向缓慢刺入,进针深度为4~6 cm,此时可见无色透明脑脊液流出。待脑脊液缓慢流出3 ml后,以0.5 ml/min速度注入BMSCs细胞悬液[患者每千克体重约注射 1.0×10^7 个BMSCs,细胞悬液BMSCs浓度为 $(4\sim 9)\times 10^8$ 个/ml]。注射完毕后伤口采用消毒纱布覆盖并用胶布固定,嘱患者去枕仰卧4~6 h,观察该期间患者有无异常反应。移植组每位患者均进行4次自体BMSCs移植治疗,每次移植间隔时间为5~10 d。

五、疗效评定标准及不良事件观察

于治疗前、治疗4周、治疗后3个月时分别采用帕

金森病综合评分量表(unified Parkinson's disease rating scale, UPDRS3.0 版)对 2 组患者进行疗效评定。UPDRS 共由六部分组成,本研究选用其中的 I、II、III、IV 部分。①UPDRS I 部分主要评定患者精神、行为和情绪;②UPDRS II 部分主要评估患者日常生活活动能力;③UPDRS III 部分主要评估患者运动功能检查情况;④UPDRS IV 部分主要评估药物治疗的运动并发症;⑤UPDRS 总分为以上 I~IV 部分得分总和。UPDRS 分值越高则表示患者神经功能缺损程度越严重^[7-9]。本研究同时采用 Hoehn-Yahr 分级(H&Y 分级)评估患者疾病严重程度。H&Y 分级标准如下:0 分表示无体征;1.0 分表示单侧患病;1.5 分表示单侧患病并影响到中轴肌肉功能;2.0 分表示双侧患病,但未损害机体平衡;2.5 分表示轻度双侧患病,姿势反射稍差,但能自己纠正;3.0 分表示双侧患病,伴有姿势平衡障碍,后拉试验阳性;4.0 分表示严重残疾,但患者能自己站立或行走;5.0 分表示患者不能起床或只能生活在轮椅上^[10]。

本研究同时监测治疗前、治疗 4 周及治疗后 3 个月时 2 组患者外周血液中血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factors, VEGF)、脑脊液中白细胞介素-10(interleukin 10, IL-10)及肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factors- α , TNF- α)表达。在整个研究期间密切观察并记录 2 组患者不良事件发生情况,要求患者如实反映治疗后病情变化,避免诱导性提问,无论不良事件是否与 BMSCs 移植有关均详细记录,包括不良反应出现时间、症状、体征、程度、持续时间、实验室检查指标、处理方法、经过、结果、随访时间等。另外本研究还监测入选患者治疗 4 周及治疗后 3 个月时血常规、生化全套、凝血五项、肿瘤标志物等数据,以全面评估 BMSCs 移植治疗的安全性。

六、统计学分析

本研究所得计量数据以($\bar{x} \pm s$)表示,采用 SPSS 16.0 版统计学软件包进行数据分析,组内均数比较采

用配对样本 t 检验,组间均数比较采用独立样本 t 检验, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

结 果

一、治疗前、后 2 组患者 UPDRS 评分及 H&Y 分级结果比较

治疗前、治疗 4 周、治疗后 3 个月时 2 组患者 UPDRS 评分及 H&Y 分级结果详见表 2,表中数据显示,治疗前移植组与对照组患者 UPDRS 各项指标评分及 H&Y 分级结果组间差异均无统计学意义($P > 0.05$);经治疗 4 周后,发现移植组患者除 H&Y 分级外,其余各项 UPDRS 指标均较治疗前明显改善($P < 0.05$),对照组此时仅有精神、行为和情绪评分、运动检查评分、并发症治疗评分及 UPDRS 总分较治疗前明显改善($P < 0.05$);通过组间比较发现,移植组患者 UPDRS 各项指标评分及总分(除了 H&Y 分级)均显著优于对照组水平,组间差异均具有统计学意义($P < 0.05$);治疗后 3 个月时,发现 2 组患者 UPDRS 各项指标评分及总分(除了 H&Y 分级)均较治疗前进一步改善($P < 0.05$),并且此时移植组患者上述各项指标评分(除了 H&Y 分级)亦显著优于对照组水平,组间差异均具有统计学意义($P < 0.05$)。

二、治疗前、后 2 组患者生化检查结果比较及治疗安全性分析

治疗前、治疗 4 周及治疗后 3 个月时 2 组患者相关生化指标检查结果详见表 3,表中数据显示,治疗前 2 组患者外周血液中 VEGF 及脑脊液中 IL-10、TNF- α 表达组间差异均无统计学意义($P > 0.05$);治疗 4 周及治疗后 3 个月时,发现移植组患者外周血液中 VEGF 及脑脊液中 IL-10 表达均较治疗前及对照组明显增强,而脑脊液中 TNF- α 表达则较治疗前及对照组明显减弱,其间差异均具有统计学意义($P < 0.05$)。治疗前、后对照组患者各项生化指标结果均无显著改变,其间差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

表 2 治疗前、后 2 组患者 UPDRS 评分及 H&Y 分级结果比较(分, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	精神、行为和情绪评分	日常生活活动评分	运动检查评分	治疗并发症评分	UPDRS 总分	H&Y 分级
移植组							
治疗前	21	1.88±1.56	13.70±6.11	34.31±13.87	4.56±1.87	53.91±19.02	2.22±1.01
治疗 4 周后	21	1.16±1.44 ^{ab}	11.72±5.34 ^{ab}	27.26±13.15 ^{ab}	2.53±1.63 ^{ab}	41.26±17.92 ^{ab}	2.17±1.08
治疗 3 个月后	21	1.01±1.32 ^{ab}	10.29±5.08 ^{ab}	22.31±12.52 ^{ab}	1.08±0.98 ^{ab}	33.67±17.77 ^{ab}	2.10±1.12
对照组							
治疗前	21	1.87±1.49	13.62±6.09	34.50±13.62	4.63±1.85	54.07±19.78	2.31±1.05
治疗 4 周后	21	1.37±1.48 ^a	12.42±6.03	29.65±13.09 ^a	3.53±1.70 ^a	47.13±18.35 ^a	2.20±1.26
治疗 3 个月后	21	1.13±1.29 ^a	11.21±5.26 ^a	24.09±12.94 ^a	2.38±1.17 ^a	39.03±16.50 ^a	2.18±1.05

注:与组内治疗前比较,^a $P < 0.05$;与相同时间点对照组比较,^b $P < 0.05$

表 3 治疗前、后 2 组患者相关生化指标检查结果比较($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	VEGF (pg/ml)	IL-10 (pg/ml)	TNF- α (pg/ml)
移植组				
治疗前	21	136.55 \pm 17.43	129.35 \pm 12.76	23.11 \pm 2.24
治疗 4 周后	21	352.65 \pm 22.62 ^{ab}	260.55 \pm 17.63 ^{ab}	12.35 \pm 1.21 ^{ab}
治疗后 3 个月	21	452.54 \pm 20.88 ^{ab}	324.05 \pm 18.76 ^{ab}	8.23 \pm 1.30 ^{ab}
对照组				
治疗前	21	141.76 \pm 21.56	129.36 \pm 12.77	22.96 \pm 2.20
治疗 4 周后	21	147.43 \pm 20.35	134.63 \pm 12.21	22.33 \pm 1.89
治疗后 3 个月	21	156.56 \pm 18.99	149.75 \pm 12.76	23.96 \pm 2.52

注:与组内治疗前比较,^a $P<0.05$;与相同时间点对照组比较,^b $P<0.05$

在本研究观察期间,移植组患者经 BMSCs 移植治疗后均未出现明显不良反应,通过监测治疗 4 周及治疗后 3 个月时血常规、生化全套、凝血五项、肿瘤标志物等指标亦未见明显异常,提示自体 BMSCs 移植治疗 PD 安全性较好。

讨 论

近年来 PD 发病率呈逐渐上升趋势,针对 PD 患者的治疗一直是神经康复领域研究的热点及难点,积极探寻治疗 PD 的有效方法具有重要的临床及社会意义。骨髓间充质干细胞(BMSCs)是一类具有独特表型及细胞化学特征且处于未分化状态的非定向干细胞,可表达、分泌多种神经生长因子(如脑源性神经营养因子、神经生长因子、VEGF 等),对神经元存活、局部微血管及神经轴突再生具有重要作用^[11],并且该细胞来源广泛、易于采集、制备及储存,能够自体移植从而避免了免疫排斥反应,且不涉及社会伦理及法律等问题,目前已逐渐在神经系统疾病研究及治疗领域得到广泛应用^[1,12]。

近年来相关文献报道,在成年人侧脑室壁的室管膜下区以及海马齿状回颗粒下区存在具有强大增殖分化潜能的神经干细胞;正常情况下这些神经干细胞处于相对静止或缓慢生长状态,在特定条件刺激下能被激活,并增殖分化为神经元、星形胶质细胞和少突胶质细胞,从而替代受损神经细胞、修复受损脑组织^[13]。但由于体内上述类型细胞数量较少,其修复效果有限,因此需要一种高效分离培养 BMSCs 的方法,使其迅速扩增并且仍保持未分化状态才可用于细胞移植。目前通常采用反复贴壁法、FICOLL 密度梯度离心法及免疫分选法来培养 BMSCs,本实验采用密度梯度离心法分离出骨髓单个核细胞,并参照 Dharmasaroja 等^[5]介绍的方法进行分离、培养,经检测后发现所培养细胞确为 BMSCs,当培养细胞数量达到治疗要求时(1.0×10^7 个/kg 体重)即可用于细胞移植治疗。

目前有大量研究指出,BMSCs 可自我更新、自我复

制并横向分化为神经细胞,在适宜条件下移植的 BMSCs 能够存活,并促进内源性神经干细胞(neural stem cells, NSCs)分化为成熟神经元,减少星形胶质细胞分化,具有确切的神经保护作用^[14]。既往研究表明大鼠经 BMSCs 移植治疗后,其脑梗死体积较对照组显著缩小,神经功能缺损程度明显改善^[15-16]。有研究将局灶性脑缺血大鼠脑缺血组织提取液与 BMSCs 共培养后,发现标本中脑源性神经营养因子、神经生长因子及 VEGF 表达均明显增强,同时还发现缺血性脑损伤能募集血循环中内皮祖细胞归巢至缺血区,并促其增殖参与血管生成^[15]。相关动物实验还发现,BMSCs 移植治疗能显著减轻帕金森模型大鼠脑黑质多巴胺能神经元损伤,改善大鼠帕金森症状^[17]。本研究也获得类似结果,入选 PD 患者在常规药物及康复干预基础上辅以自体 BMSCs 移植治疗,经治疗 4 周及治疗后 3 个月时发现该组患者 UPDRS 评分较治疗前及对照组均显著改善。关于 BMSCs 移植促进 PD 患者神经功能恢复的作用机制可能包括:①BMSCs 植入后通过与神经细胞相互作用,能促进自身或周围神经细胞分泌多种神经营养因子,加速血管发生或直接参与新生血管形成并改善内环境,有助于受损神经功能恢复;②BMSCs 可直接分化为神经元并参与坏死神经组织修复,从而建立新的神经突触联系、促进受损神经功能改善;③BMSCs 能通过分泌细胞因子加速神经干细胞活化,使处于休眠状态的受体细胞发挥功能,并启动相关再生基因表达,促进受损中枢神经组织修复^[18-19]。

血管内皮生长因子(VEGF)不仅能调控血管生长,还可直接作用于神经细胞,参与其生长、存活、轴突发生及神经退行性变等过程,具有刺激神经发生、保护及营养神经组织等多种作用。如有动物实验表明,VEGF 能延缓大鼠运动神经元变性,对多巴胺细胞损伤也具有明显防护作用^[20]。本研究发现入选 PD 患者经 BMSCs 移植治疗后,其外周血液中 VEGF 表达较治疗前及对照组明显增强,提示 BMSC 移植能促进 PD 患者分泌神经营养因子,进而促进受损神经功能恢复。IL-10 是具有抗炎作用的细胞因子,对 TNF- α 等炎性细胞因子具有抑制作用,在宿主防御及对抗炎性反应中发挥重要作用^[21]。正常机体脑组织中仅有少量 TNF- α 表达,它对维持神经组织分化、发育及信息传递具有重要作用,其含量增高可导致白细胞聚集、脑血管功能紊乱,引起兴奋性氨基酸释放及氧自由基生成增多^[21]。本研究结果发现自体移植 BMSCs 可提高 PD 患者脑脊液中 IL-10 含量,降低 TNF- α 水平。推测自体移植 BMSCs 可能通过提高脑脊液中抗炎因子水平,降低脑脊液中凋亡因子表达,促进内源性神经干细胞激活并增殖分化为神经元、星形胶质细胞和少突胶质细胞,从

而替代受损神经细胞并促进 PD 患者神经功能恢复^[22]。另外由于 BMSCs 免疫原性较弱,自体移植时可避免使用免疫抑制剂,故移植部位不易形成肿瘤,因此 BMSCs 细胞移植治疗安全性相对较好。本研究所有移植组患者在治疗观察期间均未出现明显不良反应,且随访过程中患者各项血液学指标均未见明显异常,进一步表明自体 BMSCs 移植治疗 PD 的安全性较好。

综上所述,本研究结果表明,自体 BMSCs 移植可通过提高脑脊液中抗炎因子、神经营养因子表达,促进 PD 患者神经功能恢复,且治疗过程中未发现明显不良反应、安全性较好;然而目前自体 BMSCs 移植治疗 PD 在临床上还处于起步阶段,其确切治疗机制、长期有效性及安全性还有待进一步探讨。

参 考 文 献

- [1] Einstein O, Ben-Hur T. The changing face of neural stem cell therapy in neurologic diseases[J]. Arch Neurol, 2008, 65(4): 452-456. DOI: 10.1001/archneur.65.4.452.
- [2] Langston JW. The promise of stem cells in Parkinson disease[J]. J Clin Invest, 2005, 115(1): 23-25. DOI: 10.1172/JCI24012.
- [3] Lo B, Parham L. Resolving ethical issues in stem cell clinical trials: the example of Parkinson disease[J]. J Law Med Ethics, 2010, 38(2): 257-266. DOI: 10.1111/j.1748-720X.2010.00486.x.
- [4] 叶英, 万美荣, 戴如飞, 等. 脑脊液诱导人间充质干细胞定向分化为神经干细胞神经前体细胞的研究[J]. 国际麻醉学与复苏杂志, 2009, 30(5): 394-398. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4378.2009.05.004.
- [5] Dharmasaroja P. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells for the treatment of ischemic stroke[J]. J Clin Neurosci, 2009, 16(1): 12-20. DOI: 10.1016/j.jocn.2008.05.006.
- [6] Gibb WR, Lees AJ. The relevance of the Lewy body to the pathogenesis of idiopathic Parkinson's disease[J]. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 1988, 51(6): 745-752.
- [7] Martinez-Martin P, Forjaz MJ. Metric attributes of the unified Parkinson's disease rating scale 3.0 battery: Part I. feasibility, scaling assumptions, reliability, and precision[J]. Mov Disord, 2006, 21(8): 1182-1188. DOI: 10.1002/mds.20916.
- [8] Forjaz MJ, Martinez-Martin P. Metric attributes of the unified Parkinson's disease rating scale 3.0 battery: part II. construct and content validity [J]. Mov Disord, 2006, 21(11): 1892-1898. DOI: 10.1002/mds.21071.
- [9] Grill S, Weuve J, Weisskopf MG. Predicting outcomes in Parkinson's disease: comparison of simple motor performance measures and The Unified Parkinson's Disease Rating Scale-III [J]. J Parkinsons Dis, 2011, 1(3): 287-298. DOI: 10.3233/JPD-2011-11016.
- [10] Tsanas A, Little MA, McSharry PE, et al. Statistical analysis and mapping of the Unified Parkinson's Disease Rating Scale to Hoehn and Yahr staging [J]. Parkinsonism Relat Disord, 2012, 18(5): 697-699. DOI: 10.1016/j.parkreldis.2012.01.011.
- [11] Shen LH, Li Y, Chen J, et al. Therapeutic benefit of bone marrow stromal cells administered 1 month after stroke [J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2007, 27(1): 6-13. DOI: 10.1038/sj.jcbfm.9600311.
- [12] Chinta SJ, Andersen JK. Prospects and challenges for the use of stem cell technologies to develop novel therapies for Parkinson disease [J]. Cell Cycle, 2011, 10(24): 4179-4180. DOI: 10.4161/cc.10.24.18835.
- [13] Osanai T, Kuroda S, Yasuda H, et al. Noninvasive transplantation of bone marrow stromal cells for ischemic stroke: preliminary study with a thermoreversible gelation polymer hydrogel [J]. Neurosurgery, 2010, 66(6): 1140-1147. DOI: 10.1227/01.NEU.0000369610.76181.
- [14] Kamei N, Tanaka N, Oishi Y, et al. Bone marrow stromal cells promoting corticospinal axon growth through the release of humoral factors in organotypic cocultures in neonatal rats [J]. J Neurosurg Spine, 2007, 6(5): 412-419. DOI: 10.3171/spi.2007.6.5.412.
- [15] Kurozumi K, Nakamura K, Tamiya T, et al. BDNF gene-modified mesenchymal stem cells promote functional recovery and reduce infarct size in the rat middle cerebral artery occlusion model [J]. Mol Ther, 2004, 9(2): 189-197. DOI: 10.1016/j.ymt.2003.10.012.
- [16] Zacharek A, Shehadah A, Chen J, et al. Comparison of bone marrow stromal cells derived from stroke and normal rats for stroke treatment [J]. Stroke, 2010, 41(3): 524-530. DOI: 10.1161/STROKEAHA.109.568881.
- [17] 蒋明, 陈新成, 吴旻, 等. 鼠神经干细胞移植对帕金森模型大鼠的治疗作用 [J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(49): 9178-9181. DOI: 10.3969/j.issn.1673-8225.2011.49.013.
- [18] Liu N, Deguchi K, Yamashita T, et al. Intracerebral transplantation of bone marrow stromal cells ameliorates tissue plasminogen activator-induced brain damage after cerebral ischemia in mice detected by in vivo and ex vivo optical imaging [J]. J Neurosci Res, 2012, 90(11): 2086-2093. DOI: 10.1002/jnr.23104.
- [19] Sun B, Feng M, Tian X, et al. DL-3-n-Butylphthalide protects rat bone marrow stem cells against hydrogen peroxide-induced cell death through antioxidation and activation of PI3K-Akt pathway [J]. Neurosci Lett, 2012, 516(2): 247-252. DOI: 10.1016/j.neulet.2012.04.003.
- [20] 张伟三, 徐晏. 血管内皮生长因子及其受体对缺血性脑卒中的保护作用 [J]. 医学综述, 2009, 15(8): 1130-1132. DOI: 10.3969/j.issn.1006-2084.2009.08.004.
- [21] 吕丽霞, 张玲, 韩媛, 等. 脑外伤患者脑脊液 IL-1 β 、IL-6、IL-8、TNF- α 、IL-10 水平变化及临床意义 [J]. 山东医药, 2013, 53(13): 8-10. DOI: 10.3969/j.issn.1009-153X.2006.01.006.
- [22] Danielyan L, Schäfer R, von AA, et al. Therapeutic efficacy of intranasally delivered mesenchymal stem cells in a rat model of Parkinson disease [J]. Rejuvenation Res, 2011, 14(1): 3-16. DOI: 10.1089/rej.2010.1130.

(修回日期:2016-02-20)

(本文编辑:易浩)