



评述

帕金森病的细胞治疗研究进展

吴剑宇^{①②③}, 张愚^①, 陈志国^{①②③*}

① 首都医科大学宣武医院细胞治疗中心, 北京 100053;

② 北京脑重大疾病研究院神经损伤与修复研究所, 北京 100069;

③ 北京脑重大疾病研究院帕金森病研究所, 北京 100069

* 联系人, E-mail: chenzhiguo@gmail.com

收稿日期: 2014-12-31; 接受日期: 2015-02-13

国家重点基础研究发展计划(批准号: 2011CB965103, 2012CBA01307)、国家自然科学基金(批准号: 31340075, 31070946, 81141014, 81422014)和北京市自然科学基金(批准号: 5142005)资助项目

doi: 10.1360/N052014-00338

摘要 干细胞为治疗帕金森病提供了新的希望. 目前用于研究的干细胞主要有神经干细胞、胚胎干细胞、诱导多功能干细胞、间充质干细胞等. 本文回顾了上述细胞在移植治疗帕金森病研究中的进展, 并介绍了近期出现的将体细胞直接重编程为神经细胞或神经干细胞的新技术.

关键词
干细胞
帕金森病
移植

帕金森病(Parkinson's disease, PD)是一种常见的中枢神经系统(central nervous system, CNS)神经退行性疾病, 以中脑黑质致密部(substantia nigra pars compacta)多巴胺能(dopaminergic, DA)神经元的退行性死亡为标志性病理学特征之一^[1]. PD 主要呈散发性分布, 仅有少量环境因素被证明与 PD 有关, 老化被认为是 PD 的主要威胁因素^[2]. 此外, 少量 PD 病人为家系遗传. 目前发现的遗传型 PD 的疾病基因包括 *Parkin*, *PINK1*(PTEN-induced putative kinase 1), *Park7/DJ-1*(parkinson protein 7), *ATP13A2* (ATPase type 13A2), *α -synuclein*, *LRRK-2*(leucine rich repeat kinase 2)和 *GBA*(glucocerebrosidase)等^[3].

到目前为止, PD 仍是一个无法彻底治愈的疾病. 但是治疗可以帮助病人有效地恢复运动功能, 改善生活质量. 以左旋多巴(*L-dopa*)为代表的药物治疗是在 PD 治疗中使用最广泛的方法^[4]. 然而, 伴随 *L-dopa* 长期服用产生的“开关效果”影响 PD 病人的长期治疗效果^[5].

除药物治疗外, 目前 PD 的治疗手段还有以脑深部电刺激(deep brain stimulation, DBS)为代表的手术治疗^[6]等. 这些治疗手段能够改善患者的症状, 但是并不能从根本上干预患者的病程发展. 为了寻找治疗 PD 的新手段, 研究者做了大量尝试, 如利用各种脑内营养因子的治疗^[7,8]、以中医理论为基础的电针治疗^[9]、以移植胚胎腹侧中脑组织^[10]或各种干细胞^[11-15]为代表的细胞替代治疗等. 本文主要关注细胞治疗研究的发展.

1 移植胚胎腹侧中脑组织的手术治疗

移植胚胎腹侧中脑组织(human fetal ventral mesencephalic tissue, hfVM)用于 PD 病人的临床研究已经开展了近 30 年. 早在 1986 年, Lindvall 教授团队^[16]将不同胎龄的 hfVM 移植到经 6-羟基多巴胺(6-hydroxydopamine, 6-OH-DA)损伤的 PD 大鼠(*Rattus norvegicus*)模型后发现, 9 周龄 hfVM 移植大

引用格式: 吴剑宇, 张愚, 陈志国. 帕金森病的细胞治疗研究进展. 中国科学: 生命科学, 2015, 45: 340-346

Wu J Y, Zhang Y, Chen Z G. Progress in cell therapy for Parkinson's disease. SCIENTIA SINICA Vitae, 2015, 45: 340-346, doi: 10.1360/N052014-00338

鼠的行为学症状得到缓解甚至反转, 经组织学鉴定可发现来自 hfVM 的存活 DA 神经元。之后, 该团队将 hfVM 移植到 PD 病人脑内^[10,17,18], 并对接受手术的病人进行了长达 10 余年的跟踪研究^[19]。在此期间, 多个团队加入到 hfVM 移植治疗 PD 的临床研究中来^[20-22]。根据正电子发射层扫描术(positron emission tomography, PET)的功能学检测, hfVM 在患者纹状体内起到减轻症状的作用长达 16 年^[19]。这些结果初步说明, 以移植物替代宿主体内死亡的 DA 神经元为原理的细胞治疗可以在 PD 病人身上产生治疗作用。

然而, 少部分患者在 hfVM 移植后出现的“移植引发的运动障碍”(graft-induced dyskinesias, GIDs)引起了人们的关注^[20,23]。起初, 人们认为移植效果的多变性和停止服用免疫抑制剂导致的局部炎症或免疫排斥反应是引发 GIDs 的原因^[22,24]。随着研究的不断深入, 研究人员提出了移植物来源的 5-羟色胺能(5-hydroxy tryptamine, 5-HT)兴奋性神经支配是产生 GIDs 的另一种可能的原因, 在使用 5-HT 受体激动剂后, GIDs 的症状得到了明显缓解^[19,25]。这要求 hfVM 组织在移植前需要尽可能地去掉 5-HT 神经细胞。

鉴于 hfVM 在细胞来源的局限性, 研究者把目光投向了干细胞(stem cells)——一种既可以自我更新, 又可以分化为其他种类细胞的细胞。尽管如此, hfVM 移植为细胞替代治疗 PD 提供的理论依据和技术指导, 为干细胞治疗 PD 研究领域的发展做出了不可磨灭的贡献。

2 干细胞治疗帕金森病的研究进展

干细胞有 2 个基本特征: 自我更新(self-renewal)和分化(differentiation)。干细胞主要分成 2 个水平: 胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESCs)和成体干细胞(adult stem cells)。胚胎干细胞在理论上可以分化为成熟个体的任何一种体细胞(somatic cells), 而不同成体干细胞则因其处在发育的某个阶段能够分化为一种或者多种体细胞。

干细胞为治疗 PD 提供了新的希望。如果某种干细胞能够在体外自我更新, 并且能分化为 DA 神经元或 DA 神经元的前体细胞, 它就有可能成为干细胞治疗 PD 可供选择的细胞来源之一。到目前为止, 用于治疗 PD 研究的干细胞来源主要有神经干细胞(neural stem cells, NSCs)、胚胎干细胞(ESCs)、诱导多功能干

细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs)、间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)等。近期出现的诱导多巴胺能神经元(induced dopaminergic neurons, iDA)和诱导神经干细胞(induced neural stem cells, iNSCs)也有可能成为治疗 PD 的候选细胞来源。

2.1 神经干细胞

神经干细胞(NSCs)是一种多功能的成体干细胞, 它可以在体外自我更新, 并可以分化为神经元、星形胶质细胞和少突胶质细胞^[26]。NSCs 最早在 1965 年被 Altman 等人^[27]发现, 但直至 20 世纪 90 年代, 胚胎和成体脑组织的 NSCs 才被成功分离培养鉴定^[26,28,29]。不同的研究团队已经成功将啮齿类动物^[30,31]或人^[11,32,33]胚胎来源的 NSCs 成功移植到 PD 模型动物的脑中。NSCs 在体内能够生存, 分化为 DA 神经元, 并改善 PD 模型动物的行为学症状。这就实现了对干细胞移植能否治疗 PD 的理论证明(proof-of-principle)。更为重要的是, NSCs 是成体干细胞, 因此, 它在体内几乎不致瘤, 而且免疫排斥反应相对温和^[33], 体现了 NSCs 移植的安全性。但是, NSCs 在体外能够安全传代的次数及其能够分化成的神经元亚型都存在一定限制。Stem Cell Inc.公司正在开展用神经干细胞治疗脑疾病的临床研究, 其临床实验结果将对 NSCs 的应用提供指导和借鉴。

2.2 胚胎干细胞

胚胎干细胞(ESCs)是从胚胎发育囊胚期(blastocyst)的内细胞团(inner cell mass)分离获得的全能性细胞, 能够在体外长期扩增, 并分化为任何一种体细胞^[34-36]。与移植 NSCs 治疗研究中将 NSCs 直接移植到 PD 动物模型脑中不同, 使用 ESCs 进行 PD 治疗研究需要将 ESCs 在体外分化成多巴胺能神经前体细胞(dopaminergic neural progenitor cells, DA-NPCs)或 DA 神经元后再移植到 PD 动物模型。这些细胞在体内可以分化为成熟的 DA 神经元, 并显著改善 PD 动物的行为学症状^[37-39]。

从 ESCs 分化为 DA 神经元最经典的方法是 McKay 团队^[40]在 2000 年报道的“五步法”。同年, Kawasaki 等人^[41]报道了利用特别的滋养层细胞将 ESCs 分化为 DA 神经元的方法。近几年, 研究人员普遍采用在培养基中加入特定分子的方法, 如 Studer 团队分别在 2009 年和 2011 报道了使用 Noggin 和

ALK(activin receptor-like kinase, the TGF- β type I receptor)信号通路的抑制剂 SB431542^[42]或多种特定分子联用^[39]将 ESCs 分化为 DA 神经元的方法。

然而, ESCs 在 PD 治疗的研究中存在较大局限性。(i) ESCs 作为一种全能性细胞, 在体内仍然保留很强的增殖能力。所以如果在体外没有将未分化的 ESCs 去除掉, 一旦移植到体内, 存在成瘤风险^[12,38]; (ii) 因为 ESCs 需要从受精胚胎中获得, 人 ESCs 的研究一直伴随着极大的伦理学争议。

2.3 诱导多功能干细胞

2006 年, Yamanaka 团队^[43]通过转入 4 个外源因子, 成功把小鼠(*Mus musculus*)体细胞重编程为与 ESCs 形态与功能都类似的全能性细胞, 他们将这种细胞命名为诱导多功能干细胞(iPSCs)。这项发现一经问世就轰动了全世界, 因为困扰人 ESCs 应用的伦理学问题被 iPSCs 技术轻而易举地克服了。因此, 当 iPSCs 技术出现后, 很多研究团队都把研究的重心转移到 iPSCs 上来, 关于 iPSCs 技术的发展可以称得上是日新月异。人和非人灵长类动物 iPSCs 的获得^[44~46], 尤其是由病人体细胞获得的 iPSCs^[47~49]为自体移植治疗疾病提供了可能。iPSCs 技术的问世, 使移植病人自体细胞在理论上成为可能, 克服了异体移植停用免疫抑制剂后产生炎症反应或免疫排斥引发症状加重的不足。

诱导体细胞重编程所需的载体, 从最早的会整合到宿主基因组并且不可调控的病毒体系发展为可调控的慢病毒(lentivirus)体系^[50]和非整合病毒体系^[51]。基本不影响宿主基因组的非病毒体系的出现, 更好地保留了 iPSCs 供体的基因特征^[52,53]。

伴随 iPSCs 技术的发展, 利用 iPSCs 治疗 PD 的研究也在不断取得进展。Hargus 等人^[15]将从 PD 病人 iPSCs 分化获得的 DA 神经元移植到 PD 大鼠模型纹状体内, DA 神经元可以存活并明显提高改善 PD 大鼠的行为学方面的缺陷。Chung 等人^[54]利用 PD 家系病人 iPSCs 分化的神经元, 研究了 α -Synuclein 的毒性并使用这种神经元筛选治疗 PD 的药物。

与同为全能性细胞的 ESCs 一样, iPSCs 的移植应用也存在致瘤性风险^[43,44]。因此, 在利用 iPSCs 开展移植治疗 PD 的研究时, 同样需要注意用于移植实验的细胞中不能混有未分化的 iPSCs, 否则会产生严重后果。

2.4 间充质干细胞

间充质干细胞(MSCs)是一种多能成体干细胞, 最早从骨髓中被分离出来, 能够自我复制, 并分化为脂肪细胞(adipocytes)、软骨细胞(chondrocytes)或成骨细胞(osteoblasts)^[55,56]。

有报道显示, MSCs 在某种条件下可以分化为 DA 神经元^[57]。也有研究团队报道移植 MSCs 可以改善 PD 动物的行为学症状^[58]。但因为 MSCs 并非从脑组织中获得, 其移植到脑组织后安全有效性性到目前为止争议比较大。由于利用 MSCs 在自体移植方面存在巨大优势, 可以将 MSCs 作为自体基因治疗的细胞载体。如果将能够分泌保护 DA 神经元的神经营养因子的 MSCs 移植到脑内, 细胞存活并分泌神经营养因子, 也能够对 PD 产生保护作用。Ren 等人^[59]成功将神经胶质细胞源性神经营养因子(glia cell-line derived neurotrophic factor, GDNF)的基因转入食蟹猴(*Macaca fascicularis*) MSCs 并做自体移植。可分泌 GDNF 的 MSCs 在食蟹猴受到 1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶(1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine, MPTP)损伤后可保护其行为学功能。因此, MSCs 也可以作为干细胞治疗 PD 的一种候选细胞来源。

2.5 诱导多巴胺能神经元和诱导神经干细胞

iPSCs 技术证明通过转入某些外源因子, 能够改变体细胞的命运。这就为研究开辟了一片新天地: 能否将体细胞直接重编程为其他类型的细胞?

在将体细胞分别直接重编程为成熟的神经元^[60]、心肌细胞^[61]或造血干细胞^[62]之后, 包括本团队在内的多个研究团队先后将体细胞直接重编程为具有功能的 DA 神经元, 并将其命名为诱导多巴胺能神经元(iDA)^[63~67]。其中, Kim 等人^[65]成功将 iDA 移植到 PD 模型小鼠的纹状体中, 使 PD 小鼠的行为学症状得到了改善。但是, iDA 在治疗 PD 的应用前景可能比较有限。这是因为, 作为一种成熟的体细胞, iDA 的增殖能力极其有限, 移植后存活率低; 并且 iDA 的转分化效率目前还比较低, 需要使用大量初始细胞才能满足体内实验的需要。

为了获得更理想的细胞来源, 人们把改变细胞命运的方向转向了 NSCs。有研究者使用诱导产生 iPSCs 的因子, 将小鼠成纤维细胞重编程为类似于神

经干细胞的细胞^[68]。但是, 这种细胞的增殖能力很低, 而且因为在诱导时使用了 iPSCs 的因子, 其在临床应用的安全性需要进一步的验证。因此将体细胞直接重编程为神经干细胞的技术还需要进一步完善。

本研究团队通过使用 8 或 9 个因子, 在不经历全能性细胞阶段的前提下成功将小鼠的睾丸支持细胞和尾尖成纤维细胞直接重编程为形态和功能均类似于 NSCs 的细胞, 即诱导神经干细胞(iNSCs)^[66,69]。在此之后, 也有其他研究者采用相似的方法将体细胞直接重编程为神经干细胞^[70-73]。这充分证明, 将体细胞直接重编程为神经干细胞是可行的。其中, Wang 等人^[70]将人尿液中提取的上皮样细胞用非整合载体转染并添加小分子诱导的方法, 成功使其变成具有生物学功能的神经干细胞, 提示今后可以非常方便地获取患者细胞并将其转分化为神经干细胞。

成功获得 iNSCs 后, 下一个关注的焦点是这种细

胞是否能够应用于神经系统疾病的治疗。在 Hong 等人^[74]将小鼠 iNSCs 应用于脊髓损伤的动物模型治疗后, 本团队发现, 将 iNSCs 移植到 PD 模型小鼠纹状体后可以发现移植的 iNSCs 存活并分化为 DA 神经元。PD 小鼠的行为学成绩明显提高, 另外, 向 iNSCs 转入 *Lmx1a* 基因可以明显增强 iNSCs 对 PD 小鼠的治疗作用^[75]。

3 总结与展望

从被发现以来, 关于 PD 的研究已经走过了近 200 年的历程。通过细胞移植治疗 PD 近 30 年的研究, 可以从理论上证明通过移植能够分泌 DA 的细胞治疗 PD 的方法是可行的(图 1)。随着干细胞技术的不断发展, 用于移植治疗 PD 的候选细胞来源也在不断优化, 为实现治疗 PD 提供了希望。

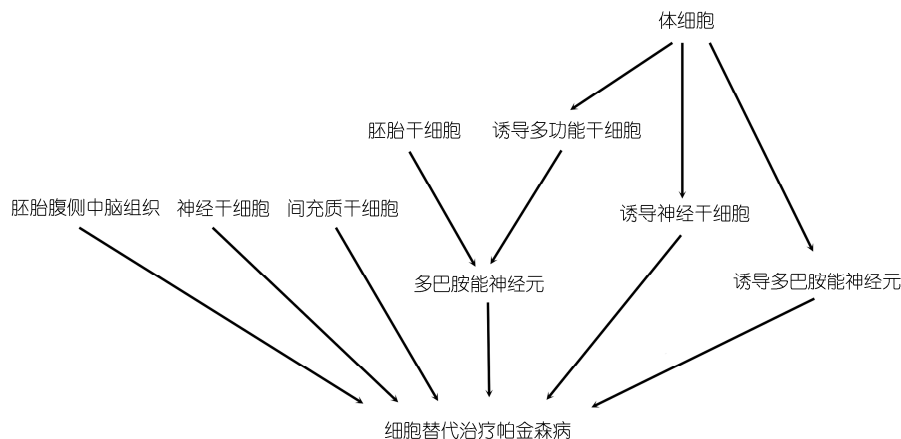


图 1 用于帕金森病细胞替代治疗的不同细胞类型

参考文献

- 1 Olanow C W. The scientific basis for the current treatment of Parkinson's disease. *Annu Rev Med*, 2004, 55: 41-60
- 2 Dick F D, De Palma G, Ahmadi A, et al. Environmental risk factors for Parkinson's disease and parkinsonism: the Geoparkinson study. *Occup Environ Med*, 2007, 64: 666-672
- 3 Lees A J, Hardy J, Revesz T. Parkinson's disease. *Lancet*, 2009, 373: 2055-2066
- 4 Fahn S, Oakes D, Shoulson I, et al. Levodopa and the progression of Parkinson's disease. *New Engl J Med*, 2004, 351: 2498-2508
- 5 Marsden C D, Parkes J D. "On-off" effects in patients with Parkinson's disease on chronic levodopa therapy. *Lancet*, 1976, 1: 292-296
- 6 Benabid A L, Chabardes S, Mitrofanis J, et al. Deep brain stimulation of the subthalamic nucleus for the treatment of Parkinson's disease. *Lancet Neurol*, 2009, 8: 67-81
- 7 Bensadoun J C, Deglon N, Tseng J L, et al. Lentiviral vectors as a gene delivery system in the mouse midbrain: cellular and behavioral improvements in a 6-OHDA model of Parkinson's disease using GDNF. *Exp Neurol*, 2000, 164: 15-24
- 8 Ren X, Zhang T, Gong X, et al. AAV2-mediated striatum delivery of human CDNF prevents the deterioration of midbrain dopamine

- neurons in a 6-hydroxydopamine induced parkinsonian rat model. *Exp Neurol*, 2013, 248: 148–156
- 9 Sun Z, Jia J, Gong X, et al. Inhibition of glutamate and acetylcholine release in behavioral improvement induced by electroacupuncture in parkinsonian rats. *Neurosci Lett*, 2012, 520: 32–37
- 10 Lindvall O, Rehncrona S, Brundin P, et al. Human fetal dopamine neurons grafted into the striatum in two patients with severe Parkinson's disease. A detailed account of methodology and a 6-month follow-up. *Arch Neurol*, 1989, 46: 615–631
- 11 Svendsen C N, Caldwell M A, Shen J, et al. Long-term survival of human central nervous system progenitor cells transplanted into a rat model of Parkinson's disease. *Exp Neurol*, 1997, 148: 135–146
- 12 Brederlau A, Correia A S, Anisimov S V, et al. Transplantation of human embryonic stem cell-derived cells to a rat model of Parkinson's disease: effect of *in vitro* differentiation on graft survival and teratoma formation. *Stem Cells*, 2006, 24: 1433–1440
- 13 Tabar V, Tomishima M, Panagiotakos G, et al. Therapeutic cloning in individual parkinsonian mice. *Nat Med*, 2008, 14: 379–381
- 14 Sanchez-Pernaute R, Lee H, Patterson M, et al. Parthenogenetic dopamine neurons from primate embryonic stem cells restore function in experimental Parkinson's disease. *Brain*, 2008, 131: 2127–2139
- 15 Hargus G, Cooper O, Deleidi M, et al. Differentiated Parkinson patient-derived induced pluripotent stem cells grow in the adult rodent brain and reduce motor asymmetry in Parkinsonian rats. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 15921–15926
- 16 Brundin P, Nilsson O G, Strecker R E, et al. Behavioural effects of human fetal dopamine neurons grafted in a rat model of Parkinson's disease. *Exp Brain Res*, 1986, 65: 235–240
- 17 Wenning G K, Odin P, Morrish P, et al. Short- and long-term survival and function of unilateral intrastriatal dopaminergic grafts in Parkinson's disease. *Ann Neurol*, 1997, 42: 95–107
- 18 Hagell P, Schrag A, Piccini P, et al. Sequential bilateral transplantation in Parkinson's disease: effects of the second graft. *Brain*, 1999, 122: 1121–1132
- 19 Politis M, Wu K, Loane C, et al. Serotonergic neurons mediate dyskinesia side effects in Parkinson's patients with neural transplants. *Sci Transl Med*, 2010, 2: 38ra46
- 20 Freed C R, Greene P E, Breeze R E, et al. Transplantation of embryonic dopamine neurons for severe Parkinson's disease. *New Engl J Med*, 2001, 344: 710–719
- 21 Olanow C W, Kordower J H, Freeman T B. Fetal nigral transplantation as a therapy for Parkinson's disease. *Trends Neurosci*, 1996, 19: 102–109
- 22 Olanow C W, Goetz C G, Kordower J H, et al. A double-blind controlled trial of bilateral fetal nigral transplantation in Parkinson's disease. *Ann Neurol*, 2003, 54: 403–414
- 23 Hagell P, Piccini P, Bjorklund A, et al. Dyskinesias following neural transplantation in Parkinson's disease. *Nat Neurosci*, 2002, 5: 627–628
- 24 Piccini P, Pavese N, Hagell P, et al. Factors affecting the clinical outcome after neural transplantation in Parkinson's disease. *Brain*, 2005, 128: 2977–2986
- 25 Politis M, Oertel W H, Wu K, et al. Graft-induced dyskinesias in Parkinson's disease: high striatal serotonin/dopamine transporter ratio. *Mov Disord*, 2011, 26: 1997–2003
- 26 Gage F H, Kempermann G, Palmer T D, et al. Multipotent progenitor cells in the adult dentate gyrus. *J Neurobiol*, 1998, 36: 249–266
- 27 Altman J, Das G D. Autoradiographic and histological evidence of postnatal hippocampal neurogenesis in rats. *J Comp Neurol*, 1965, 124: 319–335
- 28 McKay R. Stem cells in the central nervous system. *Science*, 1997, 276: 66–71
- 29 Alvarez-Buylla A, Temple S. Stem cells in the developing and adult nervous system. *J Neurobiol*, 1998, 36: 105–110
- 30 Nishino H, Hida H, Takei N, et al. Mesencephalic neural stem (progenitor) cells develop to dopaminergic neurons more strongly in dopamine-depleted striatum than in intact striatum. *Exp Neurol*, 2000, 164: 209–214
- 31 Parish C L, Castelo-Branco G, Rawal N, et al. Wnt5a-treated midbrain neural stem cells improve dopamine cell replacement therapy in parkinsonian mice. *J Clin Invest*, 2008, 118: 149–160
- 32 Fricker R A, Carpenter M K, Winkler C, et al. Site-specific migration and neuronal differentiation of human neural progenitor cells after transplantation in the adult rat brain. *J Neurosci*, 1999, 19: 5990–6005
- 33 Schwarz S C, Wittlinger J, Schober R, et al. Transplantation of human neural precursor cells in the 6-OHDA lesioned rats: effect of immunosuppression with cyclosporine A. *Parkinsonism Relat Disord*, 2006, 12: 302–308
- 34 Evans M J, Kaufman M H. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature*, 1981, 292: 154–156
- 35 Thomson J A, Kalishman J, Golos T G, et al. Isolation of a primate embryonic stem cell line. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92: 7844–7848
- 36 Thomson J A, Itskovitz-Eldor J, Shapiro S S, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*, 1998, 282:

1145–1147

- 37 Kim J H, Auerbach J M, Rodriguez-Gomez J A, et al. Dopamine neurons derived from embryonic stem cells function in an animal model of Parkinson's disease. *Nature*, 2002, 418: 50–56
- 38 Roy N S, Cleren C, Singh S K, et al. Functional engraftment of human ES cell-derived dopaminergic neurons enriched by coculture with telomerase-immortalized midbrain astrocytes. *Nat Med*, 2006, 12: 1259–1268
- 39 Kriks S, Shim J W, Piao J, et al. Dopamine neurons derived from human ES cells efficiently engraft in animal models of Parkinson's disease. *Nature*, 2011, 480: 547–551
- 40 Lee S H, Lumelsky N, Studer L, et al. Efficient generation of midbrain and hindbrain neurons from mouse embryonic stem cells. *Nat Biotechnol*, 2000, 18: 675–679
- 41 Kawasaki H, Mizuseki K, Nishikawa S, et al. Induction of midbrain dopaminergic neurons from ES cells by stromal cell-derived inducing activity. *Neuron*, 2000, 28: 31–40
- 42 Chambers S M, Fasano C A, Papapetrou E P, et al. Highly efficient neural conversion of human ES and iPS cells by dual inhibition of SMAD signaling. *Nat Biotechnol*, 2009, 27: 275–280
- 43 Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*, 2006, 126: 663–676
- 44 Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*, 2007, 131: 861–872
- 45 Yu J, Vodyanik M A, Smuga-Otto K, et al. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science*, 2007, 318: 1917–1920
- 46 Liu H, Zhu F, Yong J, et al. Generation of induced pluripotent stem cells from adult rhesus monkey fibroblasts. *Cell Stem Cell*, 2008, 3: 587–590
- 47 Soldner F, Hockemeyer D, Beard C, et al. Parkinson's disease patient-derived induced pluripotent stem cells free of viral reprogramming factors. *Cell*, 2009, 136: 964–977
- 48 Dimos J T, Rodolfa K T, Niakan K K, et al. Induced pluripotent stem cells generated from patients with ALS can be differentiated into motor neurons. *Science*, 2008, 321: 1218–1221
- 49 Israel M A, Yuan S H, Bardy C, et al. Probing sporadic and familial Alzheimer's disease using induced pluripotent stem cells. *Nature*, 2012, 482: 216–220
- 50 Wernig M, Lengner C J, Hanna J, et al. A drug-inducible transgenic system for direct reprogramming of multiple somatic cell types. *Nat Biotechnol*, 2008, 26: 916–924
- 51 Stadtfeld M, Nagaya M, Utikal J, et al. Induced pluripotent stem cells generated without viral integration. *Science*, 2008, 322: 945–949
- 52 Yu J, Hu K, Smuga-Otto K, et al. Human induced pluripotent stem cells free of vector and transgene sequences. *Science*, 2009, 324: 797–801
- 53 Cheng L, Hansen N F, Zhao L, et al. Low incidence of DNA sequence variation in human induced pluripotent stem cells generated by nonintegrating plasmid expression. *Cell Stem Cell*, 2012, 10: 337–344
- 54 Chung C Y, Khurana V, Auluck P K, et al. Identification and rescue of alpha-synuclein toxicity in Parkinson patient-derived neurons. *Science*, 2013, 342: 983–987
- 55 Bianco P, Riminucci M, Gronthos S, et al. Bone marrow stromal stem cells: nature, biology, and potential applications. *Stem Cells*, 2001, 19: 180–192
- 56 Zipori D. Mesenchymal stem cells: harnessing cell plasticity to tissue and organ repair. *Blood Cells Mol Dis*, 2004, 33: 211–215
- 57 Trzaska K A, Rameshwar P. Dopaminergic neuronal differentiation protocol for human mesenchymal stem cells. *Methods Mol Biol*, 2011, 698: 295–303
- 58 Dezawa M, Kanno H, Hoshino M, et al. Specific induction of neuronal cells from bone marrow stromal cells and application for autologous transplantation. *J Clin Invest*, 2004, 113: 1701–1710
- 59 Ren Z, Wang J, Wang S, et al. Autologous transplantation of GDNF-expressing mesenchymal stem cells protects against MPTP-induced damage in cynomolgus monkeys. *Sci Rep*, 2013, 3: 2786
- 60 Vierbuchen T, Ostermeier A, Pang Z P, et al. Direct conversion of fibroblasts to functional neurons by defined factors. *Nature*, 2010, 463: 1035–1041
- 61 Ieda M, Fu J D, Delgado-Olguin P, et al. Direct reprogramming of fibroblasts into functional cardiomyocytes by defined factors. *Cell*, 2010, 142: 375–386
- 62 Szabo E, Rampalli S, Risueno R M, et al. Direct conversion of human fibroblasts to multilineage blood progenitors. *Nature*, 2010, 468: 521–526

- 63 Pfisterer U, Kirkeby A, Torper O, et al. Direct conversion of human fibroblasts to dopaminergic neurons. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 10343–10348
- 64 Caiazzo M, Dell'anno M T, Dvoretzkova E, et al. Direct generation of functional dopaminergic neurons from mouse and human fibroblasts. *Nature*, 2011, 476: 224–227
- 65 Kim J, Su S C, Wang H, et al. Functional integration of dopaminergic neurons directly converted from mouse fibroblasts. *Cell Stem Cell*, 2011, 9: 413–419
- 66 Sheng C, Zheng Q, Wu J, et al. Generation of dopaminergic neurons directly from mouse fibroblasts and fibroblast-derived neural progenitors. *Cell Res*, 2012, 22: 769–772
- 67 Liu X, Li F, Stubblefield E A, et al. Direct reprogramming of human fibroblasts into dopaminergic neuron-like cells. *Cell Res*, 2012, 22: 321–332
- 68 Kim J, Efe J A, Zhu S, et al. Direct reprogramming of mouse fibroblasts to neural progenitors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 7838–7843
- 69 Sheng C, Zheng Q, Wu J, et al. Direct reprogramming of Sertoli cells into multipotent neural stem cells by defined factors. *Cell Res*, 2012, 22: 208–218
- 70 Wang L, Huang W, Su H, et al. Generation of integration-free neural progenitor cells from cells in human urine. *Nat Methods*, 2013, 10: 84–89
- 71 Zou Q, Yan Q, Zhong J, et al. Direct conversion of human fibroblasts into neuronal restricted progenitors. *J Biol Chem*, 2014, 289: 5250–5260
- 72 Kim S M, Flasskamp H, Hermann A, et al. Direct conversion of mouse fibroblasts into induced neural stem cells. *Nat Protoc*, 2014, 9: 871–881
- 73 Cheng L, Hu W, Qiu B, et al. Generation of neural progenitor cells by chemical cocktails and hypoxia. *Cell Res*, 2014, 24: 665–679
- 74 Hong J Y, Lee S H, Lee S C, et al. Therapeutic potential of induced neural stem cells for spinal cord injury. *J Biol Chem*, 2014, 289: 32512–32525
- 75 Wu J, Sheng C, Liu Z, et al. Lmx1a enhances the effect of iNSCs in a PD model. *Stem Cell Res*, 2015, 14: 1–9

Progress in Cell Therapy for Parkinson's Disease

WU JianYu^{1,2,3}, ZHANG Yu¹ & CHEN ZhiGuo^{1,2,3}

1 Cell Therapy Center, Xuanwu Hospital, Capital Medical University, Beijing 100053, China;

2 Center of Neural Injury and Repair, Beijing Institute for Brain Disorders, Beijing 100069, China;

3 Center of Parkinson's Disease, Beijing Institute for Brain Disorders, Beijing 100069, China

Stem cells hold great promise for treatment of Parkinson's disease (PD). Currently, stem cells used for PD research mainly include neural stem cells, embryonic stem cells, induced pluripotent stem cells and mesenchymal stem cells. In this article, we review recent progress in cell therapy using the above stem cells for PD, and present new technologies for reprogramming of somatic cells into neurons or neural stem cells.

stem cells, Parkinson's disease, transplantation

doi: 10.1360/N052014-00338