



电子、语音版

·综述·

基因修饰的神经干细胞与帕金森病

任安艳, 葛汝丽, 王洪财

滨州医学院附属医院神经内科, 山东 滨州 256603

摘要:神经干细胞具备自我更新能力,可在特定环境下定向分化为神经元和胶质细胞,通过分泌神经营养因子、调控神经炎症、增强神经元可塑性等机制修复帕金森病(PD)多巴胺神经元损伤。目前PD治疗主要是多巴胺替代治疗,但不能阻止PD病情进展,且不能彻底根治。干细胞在PD中具有较好的治疗前景,尤其神经干细胞优势引起较多关注。尽管神经干细胞移植在PD治疗中取得了一定的效果,但临床中的应用仍受到很多条件限制。本文就神经干细胞基因修饰在PD治疗中的研究进展进行综述,旨在探讨神经干细胞治疗PD的关键调控机制。

[国际神经病学神经外科学杂志, 2022, 49(1): 68-72.]

关键词:帕金森病;神经干细胞;基因修饰;多巴胺神经元

中图分类号:R742.5

DOI:10.16636/j.cnki.jinn.1673-2642.2022.01.015

Gene-modified neural stem cells and Parkinson's disease

REN An-Yan, GE Ru-Li, WANG Hong-Cai

Department of Neurology, Binzhou Medical University Hospital, Binzhou, Shandong 256603, China

Corresponding author: WANG Hong-Cai, Email: whc2891@126.com

Abstract: Neural stem cells can self-renew, differentiate into neurons and glial cells in a specific environment, and restore dopaminergic neuron damage in Parkinson's disease (PD) through the mechanisms such as secreting neurotrophic factors, regulating neuroinflammation, and enhancing neuronal plasticity. Currently, dopamine replacement therapy is the main treatment method for PD, but it cannot delay the progression of PD or achieve radical treatment. Stem cells have shown a good prospect in the treatment of PD, among which neural stem cells have attracted more and more attention. Although neural stem cell transplantation has achieved a certain effect in the treatment of PD, its clinical application is still limited by various conditions. This article reviews the research advances in neural stem cell gene modification in the treatment of PD, so as to explore the key regulatory mechanisms of neural stem cells in the treatment of PD

[Journal of International Neurology and Neurosurgery, 2022, 49(1): 68-72.]

Keywords: Parkinson's disease; neural stem cells; gene modification; dopaminergic neuron

帕金森病(Parkinson's disease, PD)是一种常见中枢神经系统退行性疾病,其病理改变主要是黑质多巴胺能神经元的选择性丢失,导致纹状体多巴胺水平下降,导致静止性震颤、运动迟缓、肌肉僵直、姿态不稳等运动功能障碍,且随着病情进展,可伴发多种并发症,严重影响患者生活质量。目前PD患者的治疗主要包括左旋多巴类药物为主的多巴胺替代治疗、脑深部电刺激术、肉毒素治

疗、运动疗法、心理干预、照料护理等,但均不能彻底根治及阻止疾病进展。近期干细胞治疗引起广泛关注,并在临床上取得一定疗效,但临床广泛应用及远期效果仍存在难以逾越的瓶颈,有待深入研究^[1]。

1 干细胞与PD

根据干细胞来源不同,干细胞移植治疗目前主要分为异体移植和自体移植。异体移植的常见细胞来源为人

基金项目:国家自然科学基金青年基金(81601108);山东省自然科学基金(ZR2016HQ14)

收稿日期:2021-06-03;修回日期:2021-12-20

作者简介:任安艳(1996—),女,硕士在读,主要从事帕金森病相关研究。Email:renanyan1109@126.com。

通信作者:王洪财(1982—),男,副主任医师,博士,主要从事帕金森病相关研究。Email:whc2891@126.com。

类胚胎中脑组织及人类胚胎干细胞,对人类胚胎中脑组织移植研究证实,在胚胎纹状体来源的多巴胺神经元移植到PD患者的大脑后能持续存活和生长,在功能整合后可重新支配失神经的纹状体,且恢复纹状体多巴胺(dopamine, DA)释放,明显缓解PD症状^[2-4]。另有研究发现,纹状体双侧移植胚胎中脑组织的2名PD患者,不但运动症状改善持续到移植后18年,且可停用多巴胺能药物10年以上^[4-5]。尽管上述研究为胚胎多巴胺异体移植提供了最有力证据,但移植后由于纹状体5-羟色胺能神经支配过度,有部分临床症状明显改善的患者出现中一重度的运动障碍,从而胚胎中脑组织异体移植的应用被质疑^[5-6]。鉴于胚胎中脑组织的获得量有限且难以标准化,这使它不可能成为大量移植的可靠来源。而人胚胎干细胞(human embryonic stem cells, hESCs)由于其增殖潜能,可提供大量的神经干细胞。此外hESCs能够在体外无限、未分化增殖,并保留分化为所有细胞类型的潜力^[7-8]。在PD大鼠模型中,胚胎干细胞移植到纹状体后分化为成熟的神经元,且移植物含有高达20%的多巴胺神经元,这与胚胎中脑组织移植相当^[9]。虽然利用人类胚胎干细胞作为细胞移植治疗得到认可,但人类胚胎科学研究的伦理问题限制了这一研究。此外,由于胚胎干细胞保留了分化为各种组织的能力,有在着床部位形成畸胎瘤的风险,且因其异体移植的免疫排斥反应而限制其应用^[10]。

自体移植在一定程度上避免了免疫排斥反应,最初在一些研究者的开创性工作中,将自体肾上腺髓质细胞植入4例PD患者的纹状体中,以提供局部儿茶酚胺来源,但治疗效果甚微^[11-12]。人诱导多功能干细胞(human induced pluripotent stem cells, hiPSCs)及人神经干细胞(neural stem cell, NSC)为常用细胞移植来源。过表达4种转录因子Oct3/4、Sox2、Klf4和c-Myc,可诱导人成纤维细胞分化为hiPSCs^[13-14]。这些细胞在形态、基因表达谱和分化潜能上与hESCs相似^[15-16]。当hiPSCs移植到6-羟多巴胺介导的PD大鼠模型中,hiPSCs在脑内分化为多巴胺神经元,显著改善PD运动行为,且无肿瘤形成^[17]。但大多数hiPSCs的诱导策略都是基于通过逆转录病毒或慢病毒载体的基因传递,这些载体被整合到宿主细胞的基因组中,导致基因突变和致癌转化风险显著增高。但由于hiPSCs特异性分化能力较差,使其移植后畸胎瘤形成的风险增加^[8, 18]。

神经干细胞与这些细胞相比具有的明显优势是具有定向分化能力,且神经干细胞易于体外培养^[19]。神经干细胞具有多种来源,位于成人脑组织中神经干细胞位于侧脑室的室下区和海马齿状回的亚颗粒区。神经干细胞在特定条件下可分化为神经元、星形胶质细胞和少突胶质细胞。由于这种特定的种系限制,肿瘤的形成风险下降,并且神经干细胞更容易被引导向神经元分化。移植

的神经干细胞持续存活及定向诱导分化是亟待解决的关键问题。近期的研究发现,神经干细胞的基因修饰能促进神经干细胞的存活及定向诱导分化。

2 神经干细胞的基因修饰与PD

虽然目前神经干细胞移植在PD治疗中引起较多关注,但一些研究表明,尽管少数移植成功的细胞具有定向分化能力,但在成人脑中移植的神经干细胞偏向于神经胶质细胞和少突胶质细胞分化。因此找到一种持续诱导神经干细胞向神经元分化的方法是PD移植治疗是否成功的关键。

2.1 神经干细胞的定向诱导

2.1.1 核受体相关因子基因修饰定向诱导向多巴胺神经元分化 核受体相关因子(nuclear receptor related factor 1, Nurr1)是甲状腺激素/维甲酸核受体超家族的转录因子。有研究发现,鼠来源Nurr1在胚胎10.5 d即在中脑腹侧表达,并且持续表达于成年脑组织的中脑腹侧和黑质区^[20]。Nurr1被认为是中脑多巴胺神经元发育的重要因子^[21]。大量研究表明,Nurr1对多巴胺神经元发育、生存和功能维持起着重要的作用,在敲除小鼠Nurr1基因后发现,中脑多巴胺能神经元发育缺陷^[22]。因此,Nurr1基因修饰的神经干细胞更易向多巴胺神经元分化。有研究显示^[23],慢病毒载体(AD-NURR1)介导的Nurr1基因修饰,促进Nurr1蛋白表达。细胞移植治疗6-羟多巴胺介导的PD大鼠中,可直接或间接诱导神经干细胞向神经元分化。进一步发现,Nurr1基因修饰的神经干细胞分化的多巴胺能神经元具备成熟多巴胺神经元功能^[24]。上述研究显示,Nurr1基因修饰可促进神经干细胞向多巴胺神经元定向分化。

2.1.2 UTX介导的表观遗传修饰在增殖和分化中的作用 在神经发育中神经干细胞的增殖和分化是一个复杂过程,需要精确的内在和外在信号调控。

在皮质发育过程中,组蛋白甲基化酶和去甲基化酶对于神经干细胞的增殖和自我更新至关重要^[25]。X染色体上普遍转录的四肽重复序列(ubiquitously transcribed tetratricopeptide repeat on chromosome X, UTX)作为广泛表达的H3K27me3去甲基化酶,具有染色质调控功能,被证明在皮质及多种器官发育过程中必不可少^[26]。UTX突变导致H3K27去甲基化酶失去活性。UTX在10号染色体上缺失的磷酸和张力同源基因(gene of phosphate and tension homology deleted on chromosome ten, PTEN)启动子上去甲基化H3K27me3,促进PTEN的表达^[27-29],调控细胞的迁移、生长、存活及凋亡^[30]。近期研究表明,PTEN在神经系统中表达,调控神经干细胞的增殖以及神经元的分化、成熟以及凋亡^[31]。因此,PTEN在神经干细胞中特异性缺失将减少细胞凋亡,使细胞增殖和分化能力增强^[32-33]。Domanskyi等^[31]研究发现,胞核内PTEN堆积是

PD的发病机制之一。在PD小鼠模型中,发现PTEN基因缺失会减少多巴胺能神经元的丢失^[34]。

有研究证实,UTX可以改变PTEN启动子上H3K27三甲基化的水平,而敲除UTX后,PTEN在RNA和蛋白水平上的表达显著降低^[35]。UTX通过PTEN-AKT-mTOR通路调控神经发育,有研究通过Western blotting检测H3K27me3水平,发现在UTX敲除情况下,H3K27me3总水平增加。同时有研究显示,敲除UTX,可增强神经干细胞增殖,减少终期有丝分裂和神经元分化^[35]。因PTEN缺失可减少细胞凋亡,使细胞增殖和分化能力增强,而UTX基因缺失可使PTEN表达降低,从而使细胞增殖和分化能力增强。因此,敲除或抑制UTX表达都可促进神经干细胞的增殖和分化。

2.2 神经干细胞的长期存活

2.2.1 RNA的N6甲基腺苷修饰促进自我更新 内部N6甲基腺苷修饰(m6A)广泛存在于mRNA中,并由甲基转移酶样蛋白3(Mettl3)和甲基转移酶样蛋白14(Mettl14)异二聚体催化,Mettl3和Mettl14形成m6A甲基转移酶的核心成分异源二聚体^[36-40]。有研究表明,m6A调控的组蛋白修饰是神经干细胞基因表达和活性变化的基础,m6A修饰可增强神经干细胞的自我更新能力^[41]。有研究报道显示,在小鼠模型中敲除神经干细胞的Mettl14,引起神经干细胞增殖明显减少。因此RNA的m6A甲基腺苷修饰在神经干细胞自我更新中发挥关键调控作用。

2.2.2 胶质细胞源性神经营养因子对增殖和分化的影响 以往研究表明,细胞因子、微环境及基因调控共同影响神经干细胞的体外生存、增殖及分化。有研究表明,胶质细胞源性神经营养因子(glial cell derived neurotrophic factor, GDNF)对神经干细胞存活、增殖及分化发挥重要作用^[42]。GDNF是由Lin等^[43]从鼠胶质细胞株B49的条件培养基中分离纯化获得的一种神经营养因子,并以GDNF氨基末端作为探针,成功克隆出人GDNF基因。GDNF受体是多成分的复合物,由受体酪氨酸激酶样ret受体家族及GDNF家族受体 α (GFR α)组成,GFR α 包含至少4种,即GFR α 1~4。其中GFR α 1、GFR α 2对GDNF具有一定特异性^[44]。GFR α 能特异性地结合GDNF家族成员,促使Ret磷酸化,磷酸化的Ret激活其下游的丝裂原活化蛋白激酶MAPK、PI3激酶等,导致一系列胞内途径的激活,从而发挥GDNF家族神经营养因子的生理功能。GDNF通过PI-3K信号途径促进多巴胺神经元生长和分化。

神经干细胞移植后的存活、增殖、迁移及分化都会受微环境、移植靶点周围胶质细胞介导的炎症反应以及血管微环境变化的影响。GDNF可维持神经元生长分化的良好微环境,并对多巴胺能神经元具有特异性的营养、支

持、保护和损伤修复作用^[45]。为了明确GDNF基因修饰对神经干细胞的影响,有研究者通过移植GDNF基因修饰后的神经干细胞来观察对PD大鼠模型的治疗作用,结果表明,过表达GDNF组的小鼠旋转行为学有明显改善,随时间推移转圈次数有递减趋势,说明GDNF基因修饰过的神经干细胞分泌的GDNF促进移植细胞存活及向多巴胺能神经元分化,削弱黑质—纹状体局部残存的多巴胺神经元的进一步死亡,在神经元生长、分化、再生及突触形成中发挥着积极作用^[46]。

2.2.3 酪氨酸羟化酶基因修饰的神经干细胞与PD 酪氨酸羟化酶(tyrosine hydroxylase, TH)是由TH基因编码的,催化氨基酸-L酪氨酸转变为DA前体二羟苯丙氨酸(多巴)的酶。PD患者黑质致密部多巴胺能神经元严重缺乏,导致黑质、纹状体DA递质减少,TH活性下降。酪氨酸羟化酶是DA合成过程中的限速酶,则诱导TH持续稳定表达是基因治疗帕金森病的关键^[47]。另一方面,若从源头补充TH,应能增加DA合成。有研究者将过表达TH的神经干细胞植入帕金森病大鼠纹状体内,单纯神经干细胞移植作为对照组,观察神经干细胞移植入脑后TH的表达情况、DA和3、4-二羟苯乙酸(3,4-dihydroxyphenylacetic acid, DOPAC)含量变化,TH基因修饰的神经干细胞移植2个月内,TH在纹状体内的表达增加,纹状体DA和DOPAC含量增高^[48]。因此,可使神经干细胞增强TH表达来治疗帕金森病^[49]。

2.2.4 生长素通过Wnt/ β -连环蛋白信号通路来促进神经干细胞向多巴胺能神经元分化 内源性神经干细胞和移植的神经干细胞的命运都受周围微环境的影响,如胶质细胞、生长因子、氧气、神经肽和小分子等^[50]。生长素是成人大脑中神经发生的重要化学物质,已被证明对神经干细胞增殖和神经元分化具有重要作用,也可保护黑质多巴胺能神经元不受神经毒素的影响,但其对中脑神经干细胞增殖和分化的潜在机制尚不明确^[51-52]。Wnt/ β -连环蛋白通路生长素诱导的多巴胺能神经元分化有关。生长素是生长激素分泌受体1a的内源性配体,在调节能量稳态中起着重要作用。它从胃的X/a细胞中释放出来,进入循环,穿过血脑屏障,参与神经保护、神经发生、记忆和认知^[53]。有研究表明,在经生长素治疗的多巴胺能神经元中,GSK-3的磷酸化增加,并且 β -连环蛋白含量上调,从而促进神经干细胞的增殖和分化^[54-55]。在适当的剂量,生长素通过改变NSCs的细胞周期和细胞分化类型,从而影响它们的增殖和分化。有研究表明,当生长素加入到NSCs生长培养基时,细胞S期和G2/M期的百分比增加,并且生长素明显促进了NSCs的迁移^[56]。因此,生长素可诱导多巴胺能神经元的再生,并阻止退化。

3 展望

神经干细胞作为较成熟的干细胞,具有免疫原性小,

定向分化能力强,且取材容易的优点,特别是人源性神经干细胞在PD中具有较好的治疗前景,但因存在定向分化、远期存活等问题,限制了其广泛应用。神经干细胞基因修饰为干细胞治疗多种疾病提供理论参考,为干细胞应用打下较好的理论基础。

参 考 文 献

- [1] JENNER P. Treatment of the later stages of Parkinson's disease - pharmacological approaches now and in the future[J]. *Transl Neurodegener*, 2015, 4: 3.
- [2] KEFALOPOULOU Z, POLITIS M, PICCINI P, et al. Long-term clinical outcome of fetal cell transplantation for Parkinson disease: two case reports[J]. *JAMA Neurol*, 2014, 71(1): 83-87.
- [3] PETIT GH, OLSSON TT, BRUNDIN P. The future of cell therapies and brain repair: Parkinson's disease leads the way[J]. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 2014, 40(1): 60-70.
- [4] PICCINI P, BROOKS DJ, BJÖRKLUND A, et al. Dopamine release from nigral transplants visualized in vivo in a Parkinson's patient[J]. *Nat Neurosci*, 1999, 2(12): 1137-1140.
- [5] POLITIS M, WU K, LOANE C, et al. Serotonergic neurons mediate dyskinesia side effects in Parkinson's patients with neural transplants[J]. *Sci Transl Med*, 2010, 2(38): 38ra46.
- [6] POLITIS M, OERTEL WH, WU K, et al. Graft-induced dyskinesias in Parkinson's disease: high striatal serotonin/dopamine transporter ratio[J]. *Mov Disord*, 2011, 26(11): 1997-2003.
- [7] THOMSON JA, ITSKOVITZ-ELDOR J, SHAPIRO SS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts[J]. *Science*, 1998, 282(5391): 1145-1147.
- [8] HOFFMAN LM, CARPENTER MK. Characterization and culture of human embryonic stem cells[J]. *Nat Biotechnol*, 2005, 23(6): 699-708.
- [9] BJÖRKLUND LM, SÁNCHEZ-PERNAUTE R, CHUNG S, et al. Embryonic stem cells develop into functional dopaminergic neurons after transplantation in a Parkinson rat model[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002, 99(4): 2344-2349.
- [10] DEACON T, DINSMORE J, COSTANTINI LC, et al. Blastula-stage stem cells can differentiate into dopaminergic and serotonergic neurons after transplantation[J]. *Exp Neurol*, 1998, 149(1): 28-41.
- [11] BACKLUND EO, GRANBERG PO, HAMBERGER B, et al. Transplantation of adrenal medullary tissue to striatum in Parkinsonism. First clinical trials[J]. *J Neurosurg*, 1985, 62(2): 169-173.
- [12] LINDVALL O, BACKLUND EO, FARDE L, et al. Transplantation in Parkinson's disease: two cases of adrenal medullary grafts to the putamen[J]. *Ann Neurol*, 1987, 22(4): 457-468.
- [13] TAKAHASHI K, TANABE K, OHNUKI M, et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors[J]. *Cell*, 2007, 131(5): 861-872.
- [14] YU JY, VODYANIK MA, SMUGA-OTTO K, et al. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells[J]. *Science*, 2007, 318(5858): 1917-1920.
- [15] MARTÍNEZ-MORALES PL, LISTE I. Stem cells as in vitro model of Parkinson's disease[J]. *Stem Cells Int*, 2012, 2012: 980941.
- [16] PHANSTIEL DH, BRUMBAUGH J, WENGER CD, et al. Proteomic and phosphoproteomic comparison of human ES and iPS cells[J]. *Nat Methods*, 2011, 8(10): 821-827.
- [17] DOI D, SAMATA B, KATSUKAWA M, et al. Isolation of human induced pluripotent stem cell-derived dopaminergic progenitors by cell sorting for successful transplantation[J]. *Stem Cell Reports*, 2014, 2(3): 337-350.
- [18] BEN-DAVID U, BENVENISTY N. The tumorigenicity of human embryonic and induced pluripotent stem cells[J]. *Nat Rev Cancer*, 2011, 11(4): 268-277.
- [19] AHLUND-RICHTER L, DE LUCA M, MARSHAK DR, et al. Isolation and production of cells suitable for human therapy: challenges ahead[J]. *Cell Stem Cell*, 2009, 4(1): 20-26.
- [20] SPATHIS AD, ASVOS X, ZIAVRA D, et al. Nurr1: RXR α heterodimer activation as monotherapy for Parkinson's disease[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017, 114(15): 3999-4004.
- [21] DECRESSAC M, VOLAKAKIS N, BJÖRKLUND A, et al. NURR1 in Parkinson disease--from pathogenesis to therapeutic potential[J]. *Nat Rev Neurol*, 2013, 9(11): 629-636.
- [22] SAUCEDO-CARDENAS O, QUINTANA-HAU JD, LE WD, et al. Nurr1 is essential for the induction of the dopaminergic phenotype and the survival of ventral mesencephalic late dopaminergic precursor neurons[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1998, 95(7): 4013-4018.
- [23] LI QJ, TANG YM, LIU J, et al. Treatment of Parkinson disease with C17.2 neural stem cells overexpressing NURR1 with a recombinant replicon-deficient adenovirus containing the NURR1 gene[J]. *Synapse*, 2007, 61(12): 971-977.
- [24] LUO Y. The function and mechanisms of Nurr1 action in mid-brain dopaminergic neurons, from development and maintenance to survival[J]. *Int Rev Neurobiol*, 2012, 102: 1-22.
- [25] IMAYOSHI I, KAGEYAMA R. bHLH factors in self-renewal, multipotency, and fate choice of neural progenitor cells[J]. *Neuron*, 2014, 82(1): 9-23.
- [26] HONG S, CHO YW, YU LR, et al. Identification of JmjC domain-containing UTX and JMJD3 as histone H3 lysine 27 demethylases[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104(47): 18439-18444.
- [27] LUI NC, TAM WY, GAO CJ, et al. Lhx1/5 control dendritogenesis and spine morphogenesis of Purkinje cells via regulation of Espin[J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 15079.
- [28] SHPARGEL KB, STARMER J, YEE D, et al. KDM6 demethylase independent loss of histone H3 lysine 27 trimethylation during early embryonic development[J]. *PLoS Genet*, 2014, 10(8): e1004507.
- [29] YOO KH, OH S, KANG K, et al. Histone demethylase KDM6A controls the mammary luminal lineage through enzyme-indepen-

- dent mechanisms[J]. *Mol Cell Biol*, 2016, 36(16): 2108-2120.
- [30] SULIS ML, PARSONS R. PTEN: from pathology to biology[J]. *Trends Cell Biol*, 2003, 13(9): 478-483.
- [31] DOMANSKYI A, GEISLER C, VINNIKOV IA, et al. Pten ablation in adult dopaminergic neurons is neuroprotective in Parkinson's disease models[J]. *FASEB J*, 2011, 25(9): 2898-2910.
- [32] OHTAKE Y, HAYAT U, LI SX. Pten inhibition and axon regeneration and neural repair[J]. *Neural Regener Res*, 2015, 10(9): 1363-1368.
- [33] DUAN SL, YUAN GH, LIU XM, et al. PTEN deficiency reprograms human neural stem cells towards a glioblastoma stem cell-like phenotype[J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 10068.
- [34] KYRYLENKO S, ROSCHIER M, KORHONEN P, et al. Regulation of Pten expression in neuronal apoptosis[J]. *Brain Res Mol Brain Res*, 1999, 73(1/2): 198-202.
- [35] LEI XP, JIAO JW. UTX affects neural stem cell proliferation and differentiation through Pten signaling[J]. *Stem Cell Reports*, 2018, 10(4): 1193-1207.
- [36] LIU JZ, YUE YN, HAN DL, et al. A METTL3-METTL14 complex mediates mammalian nuclear RNA N⁶-adenosine methylation[J]. *Nat Chem Biol*, 2014, 10(2): 93-95.
- [37] WANG Y, LI Y, TOTH JJ, et al. N⁶-methyladenosine modification destabilizes developmental regulators in embryonic stem cells[J]. *Nat Cell Biol*, 2014, 16(2): 191-198.
- [38] ŚLEDŹ P, JINEK M. Structural insights into the molecular mechanism of the m⁶A writer complex[J]. *Elife*, 2016, 5: e18434.
- [39] WANG X, FENG J, XUE Y, et al. Structural basis of N⁶-adenosine methylation by the METTL3-METTL14 complex[J]. *Nature*, 2016, 534(7608): 575-578.
- [40] WANG P, DOXTADER KA, NAM Y. Structural basis for cooperative function of Mettl3 and Mettl14 methyltransferases[J]. *Mol Cell*, 2016, 63(2): 306-317.
- [41] WANG Y, LI Y, YUE MH, et al. Publisher correction: N⁶-methyladenosine RNA modification regulates embryonic neural stem cell self-renewal through histone modifications[J]. *Nat Neurosci*, 2018, 21(8): 1139.
- [42] 王思,刘菲,李秀华. 胶质细胞源性神经营养因子治疗帕金森病研究进展[J]. *国际神经病学神经外科学杂志*, 2015, 42(1): 89-92.
- [43] LIN LF, DOHERTY DH, LILE JD, et al. GDNF: a glial cell line-derived neurotrophic factor for midbrain dopaminergic neurons[J]. *Science*, 1993, 260(5111): 1130-1132.
- [44] BALOH RH, ENOMOTO H, JOHNSON EM Jr, et al. The GDNF family ligands and receptors - implications for neural development[J]. *Curr Opin Neurobiol*, 2000, 10(1): 103-110.
- [45] 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[J]. *Neurosci Res*, 2011, 71(1): 92-98.
- [46] PARK HJ, BOLTON EC. Glial cell line-derived neurotrophic factor induces cell proliferation in the mouse urogenital sinus[J]. *Mol Endocrinol*, 2015, 29(2): 289-306.
- [47] KRAMER BC, MYTILINEOU C. Alterations in the cellular distribution of bcl-2, bcl-x and bax in the adult rat substantia nigra following striatal 6-hydroxydopamine lesions[J]. *J Neurocytol*, 2004, 33(2): 213-223.
- [48] RAYMON HK, THODE S, GAGE FH. Application of ex vivo gene therapy in the treatment of Parkinson's disease[J]. *Exp Neurol*, 1997, 144(1): 82-91.
- [49] KIM SU. Genetically engineered human neural stem cells for brain repair in neurological diseases[J]. *Brain Dev*, 2007, 29(4): 193-201.
- [50] SILVA-VARGAS V, MALDONADO-SOTO AR, MIZRAK D, et al. Age-dependent niche signals from the choroid plexus regulate adult neural stem cells[J]. *Cell Stem Cell*, 2016, 19(5): 643-652.
- [51] JIAO Q, DU XX, LI Y, et al. The neurological effects of ghrelin in brain diseases: beyond metabolic functions[J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2017, 73: 98-111.
- [52] LI ED, KIM Y, KIM S, et al. Ghrelin stimulates proliferation, migration and differentiation of neural progenitors from the subventricular zone in the adult mice[J]. *Exp Neurol*, 2014, 252: 75-84.
- [53] BEYNON AL, BROWN MR, WRIGHT R, et al. Ghrelin inhibits LPS-induced release of IL-6 from mouse dopaminergic neurones[J]. *J Neuroinflammation*, 2013, 10: 40.
- [54] KIRKEBY A, GREALISH S, WOLF DA, et al. Generation of regionally specified neural progenitors and functional neurons from human embryonic stem cells under defined conditions[J]. *Cell Rep*, 2012, 1(6): 703-714.
- [55] DENHAM M, BYE C, LEUNG J, et al. Glycogen synthase kinase 3 β and activin/nodal inhibition in human embryonic stem cells induces a pre-neuroepithelial state that is required for specification to a floor plate cell lineage[J]. *Stem Cells*, 2012, 30(11): 2400-2411.
- [56] GONG B, JIAO LL, DU XX, et al. Ghrelin promotes midbrain neural stem cells differentiation to dopaminergic neurons through Wnt/ β -catenin pathway[J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(11): 8558-8570.

责任编辑:龚学民