

## 干细胞移植治疗帕金森病研究进展

钱忠明<sup>1</sup>, 李琳<sup>1</sup>, 王玮<sup>2</sup>, 郭试瑜<sup>3</sup>, 王夔<sup>4</sup>

(1. 香港理工大学应用生物及化学科技学系铁代谢实验室, 香港 九龙; 2. 美国内布拉斯加州立大学医学中心生理和生物物理系, 美国 奥马哈; 3. 日本昭和大学医学院第一生理系, 日本 东京; 4. 北京大学医学部药学院, 中国 北京)\*

[摘要] 帕金森病(Parkinson's disease, PD)是一种人类常见的中枢神经系统退行性疾病, 主要病理变化是黑质内多巴胺神经元损伤, 是干细胞治疗的最佳适应证之一。动物模型的研究证实, 干细胞移植可以替代丧失的神经元, 恢复脑功能和促进脑的自我修复。临床试验显示干细胞移植在 PD 病人脑部也可达到类似的结果。这些研究展示了干细胞移植临床应用治疗 PD 的良好前景。然而, 这样的治疗是否可以永久和完全恢复 PD 的脑功能仍是一个疑问。

[关键词] 干细胞移植; 帕金森病; 黑质多巴胺能神经元; 细胞替代; 脑铁代谢

## Stem cell transplantation therapies in Parkinson's disease

QIAN Zhong-ming<sup>1</sup>, LI Lin<sup>1</sup>, WANG Wei<sup>2</sup>, GUO Shi-yu<sup>3</sup>, WANG Kui<sup>4</sup>

(1. Department of Applied Biology & Chemical Technology, The Hong Kong Polytechnic University, Kowloon, Hong Kong; 2. Department of Physiology & Biophysics, University of Nebraska Medical Center, Omaha, NE, USA; 3. Department of the 1<sup>st</sup> Physiology, Showa University Medical School, Tokyo, Japan; 4. Peking University Medical Center Pharmacological School, Beijing, China)

[Abstract] After Alzheimer's disease, Parkinson's disease (PD) is the second most common neurodegenerative disorder characterized by gradual loss of nigrostriatal dopamine neurons. This disorder is particularly suitable for testing stem cell transplantation approaches. In animal models, it was demonstrated that stem cell implanted could develop and replace lost neurons and restore brain function. Clinical trials in PD suggest that similar approaches might also work in the diseased human brain. However, at present, it is unknown whether this treatment leads to recovery completely and permanently in PD. Further study is needed.

[Key words] stem cell transplantation; Parkinson's disease; nigrostriatal dopamine neurons; cell replacement; brain iron metabolism

毫无疑问, 干细胞的基础和应用研究是目前生物医学界一个最为热门的课题, 也是进展最为迅速的一个领域。干细胞体外培养技术的建立<sup>[16, 19, 32]</sup>, 成体干细胞横向分化能力的发现<sup>[9, 12, 20]</sup>, 以及脐血干细胞研究的进展<sup>[26, 28]</sup> 都是近年这一领域里取得的极其重

要的成就<sup>[20, 31]</sup>。这些新的发现已使人们较为清晰地看到干细胞技术临床应用的广阔前景。有足够的理由相信干细胞技术的广泛运用将对人类疾病的治疗产生极其深远的影响。然而, 应当指出, 如同所有的新技术和新方法一样, 干细胞技术绝不是万能的, 同样具有局

\* [文章编号] 1008-0872(2002)03-0634-05 [中图分类号] Q813.7; R742.5 [文献标识码] A [收稿日期] 2001-09-08

[基金项目] 香港特别行政区 UGC 和香港理工大学研究基金资助 [通讯作者] 钱忠明 [联系电话] (852)2766 6694

[作者简介] 钱忠明, 男, 江苏苏州人, 副教授, 从事脑铁代谢异常与神经变性疾病关系的研究。

限性。虽然理论上干细胞移植可用于治疗各种疾病,但实际上只有那些因各种原因引起的组织坏死或损伤性疾病,才是干细胞移植的最佳适应证。神经退行性疾病帕金森病是其中之一<sup>[7]</sup>。过去数年关于干细胞移植治疗帕金森病的基础和临床研究已取得了可喜的进展。

## 1 帕金森病是干细胞移植治疗的最佳适应证之一

1817年,内科医生 James Parkinson 报告了第一例帕金森病(Parkinson's disease, PD)。今天知道这种疾病是仅次于阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD),位于第二的最常见的神经退行性疾病(Neurodegenerative disease, ND)<sup>[3]</sup>。在美国,有100多万人口患有此种疾病,而且正以每年新增5万多新病例的速度增加。虽然PD最早可发生于30余岁的年龄,但主要多发于老年人。据统计,65岁以上的老人有1%患此病<sup>[3, 8]</sup>。随着社会人口渐趋老年化,PD的发病率将会提高。PD的主要病理变化是脑黑质(Substantia nigra, SN)多巴胺神经元退行性病变,接受黑质多巴胺神经元投射的纹状体多巴胺含量明显下降(或纹状体受体的退行性变)<sup>[23]</sup>。临床和实验研究显示这种神经退行性病变是多因素造成的,包括遗传、感染、外伤、药物<sup>[4, 23]</sup>。氧化应激可能是造成神经退行性病变过程中的一个重要环节。近期的研究提示脑铁代谢异常所造成的脑内铁过度积聚可能是造成氧化应激进而神经元死亡的重要原因之一<sup>[23~25]</sup>。

很长一段时期,PD的常规治疗主要依赖多巴胺替代类药物。虽然这类药物在多数初期病例试用有效,但并不能减缓黑质区神经元退行性变的进程。而且随着使用时间的延长效果逐渐下降且不良作用越来越强。利用肾上腺髓质能分泌多巴胺的特性,临床曾适用肾上腺髓质移植治疗PD。在动物模型取得一定疗效后,20世纪80年代有数百例PD病人接受了这一疗法。但由于移植治疗效果不理想且有严重的不良作用(易诱发肺炎、膀胱炎)及过高的死亡率,很快就被放弃<sup>[27]</sup>。自90年代初开始的胎儿脑组织移植治疗PD已取得了令人鼓舞的进展。然而,这一方法具有极大的局限性(见下节)。因此,无论病人还是医生渴望寻得一种能够有效控制PD病理变化进程,恢复受损的脑功能且无或较少不良作用的药物或者治疗方法。近年干细胞技术的研究和飞速发展及其取得的成果显示这种愿望将有可能实现。与许多其他的组织不同,脑或神经系统的自我修复能力较低。虽然已经证明成人脑内存在神经干细胞且其可塑性很强,但它们在神

经元损伤应答时再生新的神经元的能力是有限的。在较低程度或少量神经元损伤时,这些脑内现存神经干细胞可以起到自我修复的作用,但在PD脑内较大量神经元死亡时,仅依靠自身的神经干细胞将没有足够能力完成自我修复。因此必须移植入新的干细胞来代替那些因退行性疾病而丧失的神经元。这是PD病人需要干细胞移植的必要性。此外,PD是干细胞移植的最佳适应证之一。这是因为:①PD的发病机理比较清楚,因此,PD治疗有明确的目标——恢复多巴胺递质水平;②与PD发病相关神经核团,退行性变的黑质及其主要的靶组织纹状体解剖定位明确;③已建立了啮齿类及灵长类PD动物模型,可较好模拟人类PD症状,也可用于评价(预测)PD治疗效果;④胎儿脑移植治疗PD已经取得良好临床经验,为干细胞移植治疗PD奠定了坚实的基础<sup>[7, 16~17]</sup>。因此,PD有可能成为干细胞移植临床广泛应用最早最成功的疾病之一。

## 2 胎儿脑细胞移植治疗PD研究现状及其局限性

胎儿中脑移植是将6~9周人胎儿黑质多巴胺神经元移植到纹状体,为黑质多巴胺神经元退化的PD病人提供一个比口服左旋多巴更持久、更接近生理条件的神经递质来源。用于移植的细胞取自发育期中脑腹侧(含黑质),此时黑质多巴胺神经尚具有未分化潜力。胎儿细胞移植到宿主纹状体后与其失去神经支配的纹状体神经元(正常靶神经元)建立突触联系。在猴及鼠的研究都证明,移植的神经元自然存活,并在它们新生出轴突所抵达部位合成多巴胺,恢复递质的运输、释放,并伴有行为学改善<sup>[15, 30]</sup>。移植能否成功地恢复丧失的功能取决于移植细胞与宿主纹状体靶器官间特殊联系的建立。黑质多巴胺神经元移植到基底神经节外或非多巴胺神经元移植到纹状体均无疗效。机能的有效恢复还取决于移植细胞的存活<sup>[6, 15]</sup>。在证明神经移植可重建PD动物纹状体多巴胺能神经传递功能的基础上,90年代初开始了临床试用胎儿间脑移植治疗PD。最成功的胎儿脑移植治疗PD报道来自瑞典科学家 Björklund 等<sup>[6]</sup>。他们利用立体定位技术将从妊娠8~9周人胚获取的间脑多巴胺神经元植入PD病人单侧壳核中,显著而且持久地改善了病人症状。其后的研究也证明移植的多巴胺神经元能够存活;纹状体神经分布恢复;突触联系重新建立<sup>[17]</sup>。利用6-L-[<sup>18</sup>F]荧光多巴的正电子辐射成像术进一步证明,植入的神经组织使移植区域多巴胺的合成与储存得到恢复,同时病人的严重强直和运动迟缓等症均明显好转,波动性发作也显著减少。这种改善在移植脑区的对侧肢

体更为明显,显示了胎儿间脑神经移植的可行性。Björklund等<sup>[6]</sup>选用了较细的导管以减轻对局部脑组织的损伤;贮存和分离移植组织的介质由盐水换成了pH值恒定的平衡盐溶液;移植组织贮存较短时间,将细胞装入导管的技术也得到改进,使移植组织得到充分利用,这些因素可能也与他们移植效果较为理想有关。

然而,由于缺乏对照,胎儿脑移植治疗PD的效果一直缺乏科学的评价体系,即无法建立脑内移植核心评价体系(Core assessment protocol for intracerebral transplantations, CAPIT)<sup>[10]</sup>。最近Freed<sup>[13]</sup>等报道了胎儿移植治疗PD双盲对照研究成果。40例PD病人分两组,20例病人经颅骨钻孔植入胎儿脑细胞。一年后,接受脑移植病人病情有所缓解,但出现对药物过于敏感不良作用。尽管是双盲对照研究,也由于以下原因难以应用CAPIT进行评价。首先不符合CAPIT的与其他研究可比性原则;即使进行评价也需一年以后,这将很难与安慰剂效果区别。多数研究是自身评价,其结果并不比对照病例更好<sup>[10]</sup>。总结成功的移植报告,尚存在疗效不确定、不良作用严重等弊端。此外,因为移植后短期内移植神经元的90%~95%死亡,因此需消耗大量的移植细胞。治疗一例PD约需6~10个6~9周胎儿脑。这显然是不可能广泛应用于临床的。其次,PD时黑质神经元受损伤,其纤维分布甚广,一般仅将神经元植入尾壳核,不能解决全部问题。加上由于伦理学和宗教等原因,目前许多国家仍限制或禁止胎儿细胞移植。因此大大限制了该技术的临床应用,乃至不可能成为治疗PD的常规治疗手段。

### 3 干细胞移植治疗PD及神经系统疾病

如前述及,PD的病理变化十分清楚,主要是黑质多巴胺神经元退行性变,这是PD适合于干细胞移植的最重要原因。另一个重要因素是PD已有很好的动物模型<sup>[3]</sup>。PD动物模型有两类:化学损伤黑质和转基因动物。最早使用的损伤黑质的化学毒素是6-羟基多巴胺(6-hydroxydopamine)<sup>[29]</sup>。最理想的化学毒素是1-甲基-4-苯-1,2,3,6-四氢吡啶(1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine, MPTP)<sup>[5]</sup>。MPTP经单氨氧化酶B作用,转化成1-甲基-4-苯吡啶盐(1-methyl-4-phenylpyridinium, MPP<sup>+</sup>)。MPP<sup>+</sup>在线粒体堆积,抑制电子传递链中的复合物1并产生自由基造成损伤。鱼藤酮也可诱发大鼠的各种PD生化变化和临床症状<sup>[4]</sup>。最近的研究发现 $\alpha$ -synuclein突变是PD的病因之一。这一发现导致 $\alpha$ -synuclein转基因小鼠<sup>[1]</sup>和果蝇<sup>[11]</sup>PD模型的建立。在小鼠 $\alpha$ -synuclein模型,纹状体

多巴胺神经元部分(18%)缺失,依赖多巴胺运动反应性减弱。这些动物模型为干细胞移植治疗PD的研究提供了基础。已有不少关于神经干细胞移植治疗上述PD动物模型成功的报道。Isacson等<sup>[16]</sup>用毒素破坏多巴胺神经元建立PD动物模型,然后,从小鼠胚胎提取干细胞并在试管里培养成组织块再植入已被毒素破坏了产多巴胺神经元的小鼠或大鼠脑,干细胞则发育成产多巴胺神经元,并与邻近脑细胞建立联系。我们使用高铁造成的PD大鼠模型的初步研究也获得了相似的结果。此外,产多巴胺干细胞体外培养方法已经很好地建立。已有多实验室分别报道了体外培养分泌多巴胺神经元干细胞的方法。Wagner<sup>[32]</sup>报告他们体外培养的产多巴胺干细胞80%的细胞表型与内源性多巴胺神经元极为相似。McKay<sup>[19]</sup>在低氧(3%±2%)条件下培养出产多巴胺干细胞。在含有白介素-1、白介素-11、胶质细胞系来源的神经营养因子及白血病抑制因子的培养基中,约1%的干细胞转化形成形态学与多巴胺神经元类似的细胞。它们的功能特性也与多巴胺神经元相同,而且这些细胞也有酪氨酸羟化酶的免疫反应性<sup>[16]</sup>。然而,最近的研究显示,干细胞移植治疗PD可能无需体外处理干细胞,受体脑包含了全部诱导移植的干细胞演化成多巴胺神经元的指令,移植到脑的干细胞能够在受体环境中自动发育成产多巴胺神经细胞。

干细胞移植治疗其他神经系统损伤性疾病动物模型也已取得了相当的进展。McDonald等<sup>[18]</sup>将大鼠源神经干细胞注射到因外伤瘫痪9d的大鼠脊髓,5周后用荧光抗体检测,证明植入的细胞大多已经成活,并扩散至整个损伤脊髓。应用特异抗体还进一步证明,移植的细胞已形成神经元及胶质细胞并进一步生成轴突的髓鞘。移植不到一个月,鼠的运动能力开始恢复<sup>[33]</sup>。从动物自体脑室边缘提取干细胞,体外培养增殖后再植入到猴脱髓鞘损伤模型的损伤脊髓附近,发现移植的干细胞可自动迁移到损伤部位,形成髓鞘,重新包绕损伤的轴突<sup>[2]</sup>。Rothstein等<sup>[14]</sup>用病毒感染小鼠和大鼠建立了类似人类侧索硬化症的动物模型,注射神经干细胞到脑脊液,干细胞自动转移到整个脊髓,修复损伤。移植8周后,一半动物恢复肢体运动功能。Tate等注射阿尔茨海默病毒性淀粉样蛋白到大鼠一侧脑,再注射干细胞到对侧脑室,干细胞跨越脑半球自动迁移到毒性蛋白区域<sup>[14]</sup>。在脑外伤动物模型,也已有干细胞移植可修复损伤,改善动物行为学的报道<sup>[2]</sup>。最近也已有报告<sup>[28]</sup>将脐血干细胞注射到脑卒中小鼠静脉内,脐血干细胞可自行转移入脑损伤部位,并发展成为正常的神经细胞,小鼠的活动能力恢复到脑卒中

前 50%~80%, 治愈率达 80%。这些干细胞移植成功治疗神经系统其他损伤性疾病动物模型的成功从另一角度说明干细胞移植应用于临床治疗 PD 是大有作为的。因为 PD 治疗的目标与这些损伤性疾病一样十分明确, 即恢复损伤的组织即多巴胺神经元。

#### 4 小结

虽然各国政府对胚胎干细胞的研究和应用的态度越来越开明, 但全面解禁尚需时日。然而, 大量新的有些甚至让人感到意外的研究成果包括“横向分化”和“脐血技术”等<sup>[26, 28, 31]</sup>已使得政治家的取态相对不那么重要了。随着研究的深入, 用于移植治疗 PD 的干细胞来源可以变得十分广泛, 并不一定局限于胚胎干细胞或从婴儿中脑分离的神经干细胞。从应用角度和多方面因素考虑, 从自身骨髓中分离的干细胞再扩增以后移植给 PD 病人, 可能是值得深入研究和十分可取的途径。脐血的研究显示, 脐血相对骨髓而言含干细胞数量较多, 是可以替代骨髓的一个很好的干细胞来源。而且脐血细胞免疫源性低, 即使 HLA 不相配, 也不易造成异体排斥反应。成功地使用脐血干细胞治疗 PD 的动物研究已有发表<sup>[26]</sup>。因此脐血技术和脐血干细胞治疗 PD 的应用性研究也是一个值得深入的课题。在干细胞移植治疗 PD 病人的技术研究中另一个重要问题是植入途径。直接移植入脑内还是注入血管内。后一途径是最理想的方法。已有一些研究显示这种方法兴许是可行的, 但相关研究仍待进行。

综观文献和已取得的研究结果, 干细胞移植治疗 PD 极有希望成功。临床试验性研究(Clinical trials)应当及早开始。在所有相关的基础方面的问题全部搞清楚及足够的 PD 动物模型研究之后才开始临床研究当然是最理想的。然而, 除了科学方面的考虑(Scientific considerations)以外, 严重患病者的迫切需要也是一个重要因素。因此, 直到所有有关干细胞移植治疗 PD 的细节全部理解后才开始临床试验的看法不一定是完全合理和理性的。虽然根据现有的知识, 有足够的理由相信, 干细胞移植治疗 PD 的临床试验将会取得成功。然而, 应该清醒地认识到这一技术或治疗方法的局限性。移植入的干细胞可替代损害的神经元导致脑功能一定程度的恢复, 因此症状减轻甚至消失。但是, 这一技术并不能消除 PD 病人脑多巴胺神经元死亡的起始原因, 尤其在那些被认为是遗传因素导致的 PD 病人。在治疗后数年, 新一轮的神经元死亡很可能再次发生。因此, 干细胞移植配以基因技术在治疗 PD 方面的应用可能是必需的。总之, 新的研究成果使我们对干细胞移植治疗 PD 在临床成功推行充满信心。

然而, 也必须明白, 许多相关的问题仍待研究。正如 Björklund 和 Lindvall<sup>[7]</sup>所言“不要承诺得太太多太早 (Not to promise too much too early)”。

#### [参考文献]

- [1] Abeliovich A, Schmitz Y, Farinas I, *et al.* Mice lacking  $\alpha$ -synuclein display functional deficits in the nigrostriatal dopamine system [J]. *Neuron*, 2000, 25: 239-252.
- [2] Akiyama Y, Honmou O, Kato T, *et al.* Transplantation of clonal neural precursor cells derived from adult human brain establishes functional peripheral myelin in the rat spinal cord [J]. *Exp Neurol*, 2001, 167: 27-39.
- [3] Beal MF. Experimental models of Parkinson's disease [J]. *Nature Rev Neurosci*, 2001, 2: 325-334.
- [4] Betarbet R, Sherer TB, Mackenzie G, *et al.* Chronic systemic pesticide exposure reproduces features of Parkinson's disease [J]. *Nature Neurosci*, 2000, 3: 1301-1306.
- [5] Bezard E, Gross CE, Fournier MC, *et al.* Absence of MPTP-induced neuronal death in mice lacking the dopamine transporter [J]. *Exp Neurol*, 1999, 155: 268-273.
- [6] Björklund A. Dopaminergic transplants in experimental parkinsonism: Cellular mechanisms of graft-induced functional recovery [J]. *Curr Opin Neurobiol*, 1992, 2: 683-689.
- [7] Björklund A, Lindvall O. Cell replacement therapies for central nervous system disorders [J]. *Nature Neurosci*, 2000, 3: 537-544.
- [8] Björklund A, Lindvall O. Parkinson disease gene therapy moves toward the clinic [J]. *Nature Med*, 2000, 6: 1207-1208.
- [9] Björkman CR, Rietze RL, Reynolds BA, *et al.* Tumorigenic brain into blood: a hematopoietic fate adopted by adult neural stem cells *in vivo* [J]. *Science*, 1999, 283: 534-537.
- [10] Dunnett SB, Björklund A, Lindvall O. Cell therapy in Parkinson's disease: stop or go? [J]. *Nature Rev Neurosci*, 2001, 2: 365-369.
- [11] Feany MB, Bender WW. A drosophila model of Parkinson's disease [J]. *Nature*, 2000, 404: 394-398.
- [12] Ferrari G, Cusella G, Angelis D, *et al.* Muscle regeneration by bone marrow-derived myogenic progenitors [J]. *Science*, 1998, 279: 1528-1530.
- [13] Freed CR. Transplantation of embryonic dopamine neurons for severe Parkinson's disease [J]. *New Engl J Med*, 2001, 334: 710-719.
- [14] Helmhuth L. Stem cells hear call of injured tissue [J]. *Science*, 2001, 290: 1479-1480.
- [15] Herman JP, Abood ND. Dopaminergic neural grafts after fifteen years: Result and perspectives [J]. *Perspect Prog Neurobiol*, 1994, 44: 1-35.
- [16] Isacson O, Costantini L, Schumacher JM, *et al.* Cell implantation therapies for Parkinson's disease using neural stem, transgenic or xenogeneic donor cells [J]. *Parkinson R Disord*, 2001, 7: 205-212.
- [17] Kordower JH, Freeman TB, Chen EY, *et al.* Fetal nigral grafts

- survive and mediate clinical benefit in a patient with Parkinson's disease[ J ]. *Mov Disord*, 1998, 13: 383-393.
- [ 18 ] McDonald JW, Liu XZ, Qu Y, *et al*. Transplanted embryonic stem cells survive, differentiate and promote recovery in injured rat spinal cord[ J ]. *Nature Med*, 1999, 5: 1 410-1 412.
- [ 19 ] McKay R. Enhanced proliferation, survival and dopaminergic differentiation of CNS precursors in lowered oxygen[ J ]. *J Neurosci*, 2000, 20: 7 377-7 383.
- [ 20 ] McKay R. Stem cells-hype and hope[ J ]. *Nature*, 2001, 406: 361-364.
- [ 21 ] Philips MF, Mattiasson G, Shapiro SS, *et al*. Neuroprotective and behavioral efficacy of nerve growth factor-transfected hippocampal progenitor cells transplants after experimental traumatic brain injury[ J ]. *J Neurosurg*, 2001, 94: 765-774.
- [ 22 ] Qian ZM, Wang Q, Pu YM. Brain iron and neurodegenerative disorders[ J ]. *Chin Med J*, 1997, 110(6): 455-458.
- [ 23 ] Qian ZM, Wang Q. Expression of iron transport proteins and excessive iron accumulation in the brain in neurodegenerative disorders[ J ]. *Brain Res Rev*, 1998, 27: 257-267.
- [ 24 ] Qian ZM, Ke Y. Rethinking the role of ceruloplasmin in brain iron metabolism[ J ]. *Brain Res Rev* 2001, 35: 287-294.
- [ 25 ] Qian ZM, Shen L. Brain iron transport and neurodegeneration [ J ]. *Trend Mol Med*, 2001, 7(3): 103-108.
- [ 26 ] Qian ZM, Guo TH, Wang W, *et al*. Basic study and clinical application of umbilical cord blood: An uptake[ J ]. *Chin J Int Med* (submitted)
- [ 27 ] Quinn NP. The clinical application of cell grafting techniques in patients with Parkinson's disease[ J ]. *Prog Brain Res*, 1990, 82: 619-625.
- [ 28 ] Sanchez-Ramos JR, Song S, Kamath SG, *et al*. Expression of neural markers in human umbilical cord blood[ J ]. *Exp Neurol*, 2001, 171(1): 109-115.
- [ 29 ] Sauer H, Oertel WH. Progressive degeneration of nigrostriatal dopamine neurons following intrastriatal terminal lesions with 6-hydroxydopamine: a combined retrograde tracing and immunocytochemical study in the rat[ J ]. *Neuroscience*, 1994, 59: 401-415.
- [ 30 ] Studer L, Tabar V, McKay RDG. Transplantation of expanded mesencephalic precursors leads to recovery in parkinsonian rats [ J ]. *Nature Neurosci*, 1998, 1(4): 290-295.
- [ 31 ] Temple S. Stem cell plasticity building the brain of our dreams[ J ]. *Nature Rev Neurosci*, 2001, 2: 513-520.
- [ 32 ] Wagner J, Akerud P, Castro DS, *et al*. Induction of a midbrain dopaminergic phenotype in Nurr1-overexpressing neural stem cells by type 1 astrocytes[ J ]. *Nature Biotech*, 1999, 17: 653-659.
- [ 33 ] Wichelgren I. Rat spinal cord function partially restored[ J ]. *Science*, 1999, 286: 1 826-1 827.