

## Nurr1 对小胶质细胞联合神经干细胞共培养促进神经干细胞向多巴胺神经元分化作用研究

徐蛟天,陈孝祥,王威,林海,杨智勇,宋晓斌,邓兴力

昆明医科大学第一附属医院神经外一科,云南省昆明市 650032

**摘要:**目的 探讨联合过表达核受体相关因子 1 (Nurr1) 基因的小胶质细胞 (MG) 和神经干细胞 (NSC) 共培养对神经干细胞向多巴胺神经元分化的影响。方法 原代培养 SD 大鼠神经干细胞和小胶质细胞,并过表达 Nurr1 基因。CCK-8 法检测 Nurr1 过表达对神经干细胞以及小胶质细胞活率的影响。Transwell 系统共培养神经干细胞和小胶质细胞,实验分为 NSC 组、NSC + MG 组和 N (NSC + MG) 组。ELISA 检测共培养后第 3 天、第 6 天和第 9 天各组脑源性神经营养因子 (BDNF)、血小板源性神经营养因子 (PDNF) 和胶质细胞源性神经营养因子 (GDNF) 表达变化;RT-PCR 和 Western Blot 检测各组第 9 天酪氨酸羟化酶 (TH)、多巴胺转运蛋白 (DAT) 和 Nurr1 的表达变化;细胞免疫荧光鉴定神经干细胞的分化,并对 TH 和 DAT 阳性细胞计数,计算各组神经干细胞向多巴胺神经元的分化效率。结果 原代培养小胶质细胞以及神经干细胞并成功过表达 Nurr1 基因。CCK-8 法检测结果表明,Nurr1 过表达对神经干细胞以及小胶质细胞活率无明显影响。ELISA 检测结果表明,N (NSC + MG) 组在不同时间点神经营养因子 (BDNF、PDNF 和 GDNF) 表达量明显高于其他各组 ( $P < 0.05$ )。RT-PCR 和 Western Blot 检测结果表明,N (NSC + MG) 组 TH、DAT 和 Nurr1 的表达水平明显高于其他各组 ( $P < 0.05$ )。细胞免疫荧光鉴定结果表明,N (NSC + MG) 组 TH 阳性细胞率明显高于其他各组 ( $P < 0.05$ )。结论 Nurr1 基因可促进神经干细胞和小胶质细胞共培养系统神经营养因子的分泌。过表达 Nurr1 基因的神经干细胞和小胶质细胞共培养可促进神经干细胞向多巴胺神经元的分化。

**关键词:**神经干细胞和小胶质细胞共培养;核受体相关因子 1 基因;多巴胺神经元;细胞分化;帕金森病;大鼠

DOI:10.16636/j.cnki.jinn.2018.01.013

## Effect of nuclear receptor-related factor 1 on differentiation of neural stem cells into dopaminergic neurons in the co-culture system of neural stem cells and microglial cells

XU Jiao-Tian, CHEN Xiao-Xiang, WANG Wei, LIN Hai, YANG Zhi-Yong, SONG Xiao-Bin, DENG Xing-Li. Department of Neurosurgery, First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032, China

Corresponding author: XU Jiao-Tian, E-mail: shxujiaotian@163.com

**Abstract: Objective** To investigate the effect of co-culture of microglial cells (MGs) and neural stem cells (NSCs) with overexpression of nuclear receptor-related factor 1 (Nurr1) gene on the differentiation of NSCs into dopaminergic neurons. **Methods** Primary NSCs and MGs were cultured, and the overexpression of Nurr1 gene was performed. Cell Counting Kit-8 (CCK-8) assay was used to investigate the influence of Nurr1 overexpression on the viability of NSCs and MGs. The Transwell co-culture system was used for the co-culture of NSCs and MGs, and the cells were divided into NSC group, NSC + MG group, and N (NSC + MG) group. ELISA was used to measure the expression of brain-derived neurotrophic factor (BDNF), platelet-derived neurotrophic factor (PDNF), and glial cell-derived neurotrophic factor (GDNF) on days 3, 6, and 9 of co-culture; RT-PCR and Western blot were used to measure the expression of tyrosine hydroxylase (TH), dopamine transporter (DAT), and Nurr1 on day 9; cell immunofluorescence was used to determine cell differentiation and the numbers of TH<sup>+</sup> and DAT<sup>+</sup> cells, and the efficiency of the differentiation of NSCs into dopaminergic neurons was calculated. **Results** Primary NSCs and MGs were successfully cultured, and the overexpression of Nurr1 gene was successfully performed. The CCK-8 assay showed that Nurr1 overexpression had no significant influence in the viability of NSCs and MGs.

**基金项目:**国家自然科学基金(81241126, 81360197);云南省教育厅科学研究基金项目(2013C227)

**收稿日期:**2017-09-11;**修回日期:**2018-01-11

**作者简介:**徐蛟天(1991-),男,硕士在读,主要从事帕金森病的干预治疗研究。Email:shxujiaotian@163.com。

**通信作者:**邓兴力(1979-),男,博士,副教授,硕士生导师,主要从事帕金森病的干预治疗研究。Email:dxlkmnu@163.com。

The results of ELISA showed that the N(NSC + MG) group had significantly higher expression of BDNF, PDNF, and GDNF at different time points than the other two groups ( $P < 0.05$ ). RT-PCR and Western blot showed that the N(NSC + MG) group had significantly higher expression of TH, DAT, and Nurr1 than the other two groups ( $P < 0.05$ ). Cell immunofluorescence showed that the N(NSC + MG) group had a significantly higher percentage of TH + cells than the other two groups ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** Nurr1 can promote the secretion of neurotrophic factors in the co-culture system of NSCs and MGs, and overexpression of Nurr1 can promote the differentiation of NSCs into dopaminergic neurons in this co-culture system.

**Key words:** co-culture of neural stem cells and microglial cells; nuclear receptor-related factor 1; dopaminergic neuron; cell differentiation; Parkinson's disease; rat

帕金森病(Parkinson's Disease, PD)是一种年龄相关的神经退行性疾病<sup>[1]</sup>,其病理特点为黑质纹状体部位多巴胺神经元特异性的受损、缺失,从而导致多巴胺的分泌减少<sup>[2]</sup>。目前对于帕金森的治疗临床仍无有效手段。近年来的研究表明,细胞移植治疗,特别是神经干细胞移植治疗帕金森是目前最具潜力的手段之一<sup>[3]</sup>。然而目前的神经干细胞移植治疗帕金森仍面临细胞移植存活率低,向多巴胺神经元分化效率低等困境<sup>[3]</sup>。如何促进移植神经干细胞存活以及更高效向多巴胺神经元分化已成为干细胞移植治疗帕金森策略成败的关键。一系列的研究表明,核受体相关因子 1(nuclear receptor-related factor 1, Nurr1)作为核受体相关蛋白超家族中的一员,其参与了中脑神经干细胞向多巴胺神经元的分化,与多巴胺神经元的生长、发育以及神经功能的维持密切相关<sup>[4]</sup>。同时有研究报道,Nurr1 可通过促进神经营养因子分泌参与调控中枢神经系统微环境改变从而影响神经元的存活与发育<sup>[5]</sup>。因此,本研究拟通过 Transwell 系统,共培养同时过表达 Nurr1 的小胶质细胞与神经干细胞,探讨 Nurr1 对神经干细胞向多巴胺神经元分化的影响。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

1.1.1 动物及主要设备 SPF 级新生(SD)大鼠、孕 12.5(SD)大鼠(SCXK 湘 20130004);细胞培养箱(Thermo);荧光显微镜(Olympus);酶标仪(Bio-Tek);凝胶成像系统(Bio-rad)。

1.1.2 实验材料及试剂 细胞培养耗材(Corning);细胞培养基(hyclone);RIPA 裂解液(Beyotime);逆转录试剂盒(Fermentas);(nestin 和 TH) Antibody(Proteintech, Source; rabbit);Alex-Fluor 594-conjugated Goat Anti-Rabbit IgG(Proteintech);FBS(BI);二抗 Goat Anti-Rabbit IgG(Proteintech);DAPI(Beyotime)。

### 1.2 方法

1.2.1 神经干细胞原代培养 取孕 12.5 ~ 14 d 的 SD 大鼠,处死,消毒,取胚胎,无菌条件下取胚胎中脑腹侧组织,剥除脑膜、血管,预冷培养基中剪碎并吹打混合液,70  $\mu\text{m}$  滤网过滤,1000 rpm/min 离心 5 min,弃上清,重悬,计数,  $1 \times 10^5/\text{ml}$  密度接种细胞培养瓶。37℃、5%  $\text{CO}_2$  培养箱培养,倒置显微镜每天观察细胞形态,1 ~ 2 d 半量加液。神经干细胞培养基:DMEM/F12、EGF(1 ng/ml)、bFGF(1 ng/ml)、1% L-谷氨酰胺、1% 青 - 链双抗和 2% B27。

1.2.2 小胶质细胞原代培养 取新生 1 ~ 2 d 的 SD 大鼠,冰冻麻醉,消毒,无菌条件下解剖取脑,剥除脑膜、血管,预冷培养基中剪碎并吹打,70  $\mu\text{m}$  滤网过滤,1000 rpm/min 离心 5 min,弃上清,接种培养,3 ~ 4 d 半量换液。10 ~ 14 d 后纯化鉴定。小胶质细胞培养基:DMEM/F12、10% FBS、1% L-谷氨酰胺和 1% 青 - 链双抗。

1.2.3 实验分组 实验分为单独神经干细胞移植组(NSC)、联合移植组(NSC + MG)以及联合转 Nurr1 基因移植组 N(NSC + MG),这里表示两种细胞共同转 Nurr1 基因组。

1.2.4 Nurr1 基因表达载体构建 取培养 5 ~ 7 d 神经球,通过慢病毒系统过表达带有绿色荧光基因的 Nurr1-GFP 基因;取纯化后的小胶质细胞,通过慢病毒系统过表达带有红色荧光基因的 Nurr1-RTP 基因。基因表达载体构建具体方法参考本课题前期研究<sup>[6,7]</sup>。

1.2.5 神经干细胞、小胶质细胞以及 Nurr1 表达载体构建的鉴定 分别取培养的神经干细胞、小胶质细胞以及转染 Nurr1 基因的神经干细胞和小胶质细胞,PBS 清洗,含 4% 多聚甲醛的磷酸缓冲液(PB)固定 20 min,0.1% 的 PBST(Triton X100 + PBS)透膜 15 min,5% 的 BSA 封闭,分别加兔抗 Nestin(1:250)、CD11b/c IgG(1:100),4℃ 孵育过夜,分别与 AlexFluor594 和 AlexFluor488 结合的山羊抗兔 IgG(1

:100) 室温孵育 30 min, DAPI (2  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) 避光复染 5 min, 倒置显微镜下观察并拍照。

**1.2.6 CCK-8 法检测 Nurr1 对神经干细胞以及小胶质细胞活性影响** 在细胞过表达 Nurr1 后第 1 天、第 3 天和第 5 天, 分别取神经干细胞和小胶质细胞, 每孔  $1 \times 10^4$  接种于 24 孔板。37℃、5%  $\text{CO}_2$  条件培养 1~2 d。严格按照 CCK-8 试剂盒 (DO-JINDO) 说明操作, 490 nm 波长, 在酶标仪上测各孔 OD 值, 并计算细胞活率。

**1.2.7 Transwell 共培养神经干细胞和小胶质细胞并用 ELISA 共培养系统神经营养因子表达变化** 取 Transwell 培养板, 培养小室下方, 接种神经球 (5~7 d), 分化培养基培养, 培养小室上方, 接种纯化后的小胶质细胞。按照神经干细胞与小胶质细胞 3:1 比例每个小室共加入  $4.5 \times 10^5$  个细胞。每 3~4 d 半量加新鲜培养基。分别在共培养第 3 天、第 6 天和第 9 天。收集细胞培养基, 检测培养基神经营养因子的表达量变化。

**1.2.8 RT-PCR 和 Western Blot 检测各组细胞培养第 9 天酪氨酸羟化酶、多巴胺转运蛋白和 Nurr1 的表达变化** 在细胞培养 9 d, 收集下层分化培养的神经干细胞: ①提取神经干细胞总 RNA, 逆转录成 cDNA; 设计酪氨酸羟化酶 (tyrosine hydroxylase, TH)、多巴胺转运蛋白 (dopamine transporter, DAT) 和 Nurr1 基因引物, 扩增目的基因, 1% 琼脂糖凝胶电泳, 收集并分析数据。②RAPI 裂解液提取细胞总蛋白, BCA 法测定蛋白浓度并定量, 8% 凝胶电泳, 收集并分析数据。

**1.2.9 细胞免疫荧光鉴定神经干细胞分化培养第 9 天, 多巴胺神经元的鉴定以及 TH 和 DAT 阳性细胞计数** Transwell 共培养系统细胞共培养第 9 天, 收集各组下层分化培养的神经干细胞, PBS 清洗, PB 固定 20 min, 0.1% 的 PBST 透膜 15 min, 5% 的 BSA 封闭, 分别加兔抗 TH (1:100) 和 DAT (1:100), 4℃ 孵育过夜, 分别与 AlexFluor594 和 AlexFluor488 结合的山羊抗兔 IgG (1:100) 室温孵育 30 min, DAPI (2  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) 避光复染 5 min, 倒置显微镜下观察并拍照。

## 2 结果

### 2.1 小胶质细胞以及神经干细胞的培养以及过表达基因载体的鉴定

混合小胶质细胞培养至第 11 天, 手拍法纯化后, 细胞呈梭形, 分枝状, 部分细胞呈圆形等形态 (图 1A1), 细胞免疫荧光鉴定, 荧光显微镜下 CD11b/c 阳性细胞率 >95% (图 1A2)。慢病毒过表达系统过表达 Nurr1-RTP 基因后, 细胞表达红色荧光蛋白 (图 1A3)。

神经干细胞培养至第 5 天, 细胞聚集呈神经球 (图 1B1), 细胞免疫荧光鉴定, 神经球 Nestin 阳性 (图 1B2)。慢病毒系统过表达 Nurr1-GFP 基因后, 细胞表达绿色荧光 (图 1B3)。细胞核染色为蓝色荧光。

分别在过表达 Nurr1 基因后第 1 天、第 3 天和第 5 天, CCK-8 法检测 Nurr1 对神经干细胞以及小胶质细胞活性影响, 结果表明, 过表达 Nurr1 基因对神经干细胞以及小胶质细胞活性无明显影响 (图 1C、图 1D)。

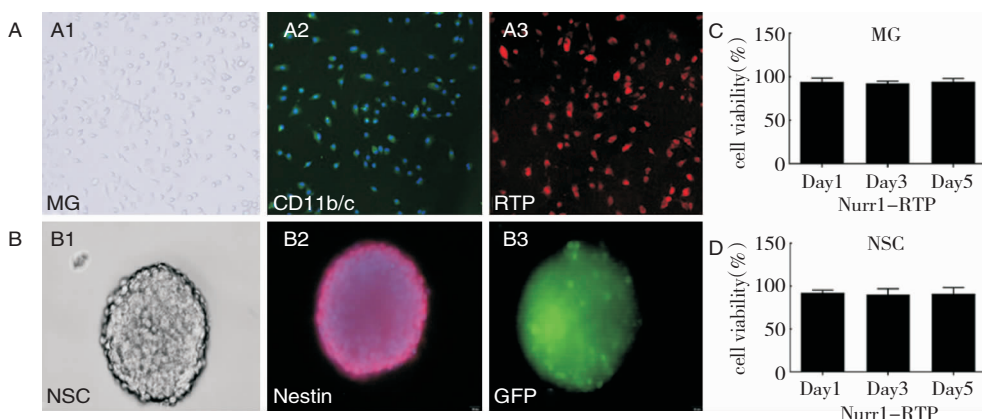


图1 SD大鼠小胶质细胞、神经干细胞的培养和鉴定并过表达 Nurr1 基因 ( $\times 100$ )

注: A1: 纯化后小胶质细胞; A2: CD11b/c 鉴定阳性; A3: 过表达 Nurr1-RTP 基因, 表达红色荧光蛋白; B1: 神经干细胞培养成神经球; B2: Nestin 鉴定阳性; B3: 过表达 Nurr-GFP 基因, 表达绿色荧光基因; C、D: 过表达 Nurr1 基因对小胶质细胞以及神经干细胞活性无明显影响。

## 2.2 ELISA 检测 Transwell 共培养系统神经营养因子表达变化

分别在共培养第 3 天、第 6 天和第 9 天,收集细胞培养基,ELISA 检测结果表明,在细胞培养第 3 天,N ( NSC + MG ) 组神经营养因子脑源性神经营养因子 ( brain derived neurotrophic factor, BDNF )、胶质细胞源性神经营养因子 ( glia cell-line derived neurotrophic factor, GDNF ) 以及血小板源性神经营养因子 ( platelet derived neurotrophic factor, PDNF ) 表达量明显高于其他各组 (  $P < 0.05$  ),而 NSC 组与 NSC

+ MG 组上述三种神经营养因子表达量无显著差异 ( 图 2A ) ;细胞培养第 6 天,N ( NSC + MG ) 组神经营养因子 BDNF、PDNF 和 GDNF 表达量明显高于其他各组 (  $P < 0.05$  )。NSC + MG 组 PDNF 表达量明显高于 NSC 组 (  $P < 0.05$  ),而 BDNF 和 GDNF 表达变化无显著差异 ( 图 2B ) ;细胞培养至第 9 天,N ( NSC + MG ) 组神经营养因子 BDNF、PDNF 和 GDNF 表达量明显高于其他各组 (  $P < 0.05$  ),而 NSC + MG 组上述三种神经营养因子表达量明显高于 NSC 组 (  $P < 0.05$  ) ( 图 2C )。

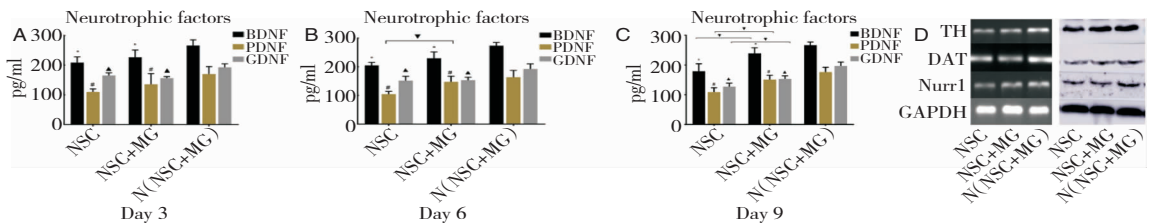


图 2 神经干细胞与小胶质细胞共培养,不同时间点各组神经营养因子的表达变化

注:A:细胞培养第 3 天;B:细胞培养第 6 天;C:细胞培养至第 9 天;D:细胞培养第 9 天,各组 TH、DAT 和 Nurr1 基因表达水平变化 ( D1:mRNA 转录水平,D2:蛋白表达水平 ); \*: 与 N ( NSC + MG ) BDNF 组比较,  $P < 0.05$  ; #: 与 N ( NSC + MG ) PDNF 组比较,  $P < 0.05$  ; ▲: 与 N ( NSC + MG ) GDNF 组比较,  $P < 0.05$  ; NNSC: NSC 过表达 Nurr1 基因组; N ( NSC + MG ): NSC 和 MG 共同过表达 Nurr1 基因组。

## 2.3 RT-PCR 和 Western Blot 检测各组 TH、DAT 和 Nurr1 基因表达水平变化

细胞共培养第 9 天,分别提取分化神经干细胞总 RNA 和细胞总蛋白,RT-PCR 分别检测 TH、DAT 和 Nurr1 mRNA 的表达,检测结果表明, N ( NSC + MG ) BDNF 组 TH、DAT 和 Nurr1 三种基因 mRNA 的

表达水平明显高于其他各组; NSC + MG 组 DAT 基因 mRNA 的表达水平明显高于 NSC 组,而 TH 和 Nurr1 的表达水平无显著差异 ( 图 3A1 - C1 )。Western Blot 检测结果表明,TH、DAT 和 Nurr1 蛋白的表达量与 RT-PCR 检测结果有相同趋势 ( 图 3A2 - C2 )。

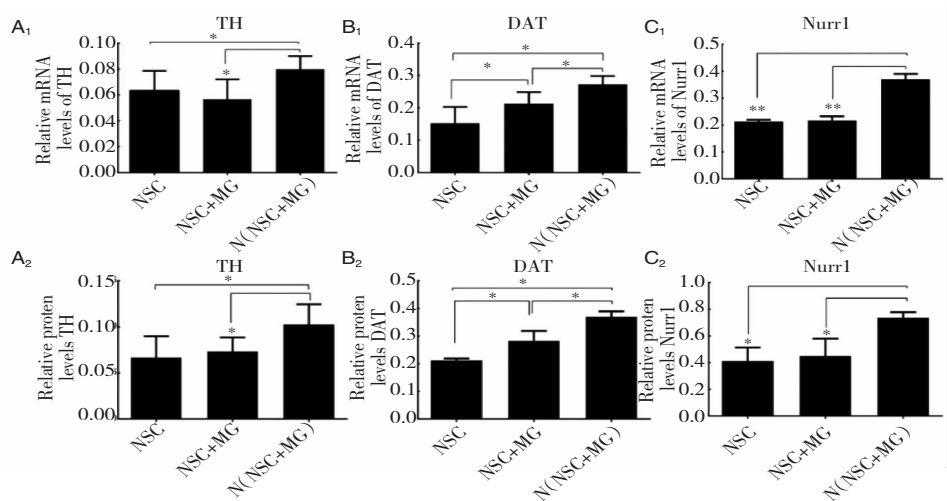


图 3 细胞培养第 9 天,各组 TH、DAT 和 Nurr1 基因表达水平变化以及蛋白表达变化

注:图 3A1 - C1: RT-PCR 检测结果;图 3A2 - C2: Western Blot 检测结果; \*: 与 N ( NSC + MG ) BDNF 组比较,  $P < 0.05$  ; \*\*: 与 NSC + MG 组,  $P < 0.01$ 。

## 2.4 细胞免疫荧光多巴胺神经元的鉴定以及 TH 和 DAT 阳性细胞计数

细胞免疫荧光鉴定神经干细胞分化培养第 9 天,细胞免疫荧光鉴定结果表明,神经干细胞可分

化为 TH 和 DAT 阳性细胞(图 4A);免疫阳性细胞计数结果显示,N(NSC + MG)组 TH 和 DAT 细胞阳性率明显高于其他各组,NSC + MG 组 TH 和 DAT 细胞阳性率明显高于 NSC 组(图 4B、图 4C)。

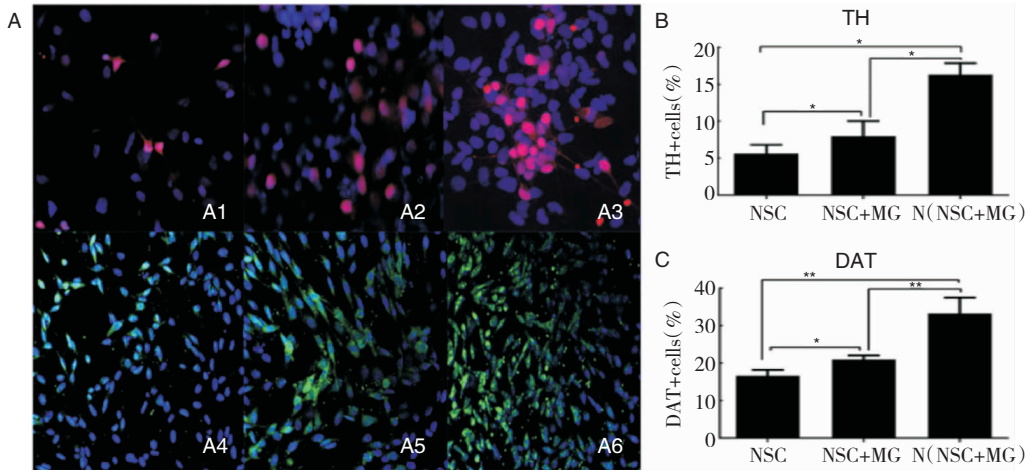


图 4 细胞免疫荧光多巴胺神经元的鉴定以及 TH 和 DAT 阳性细胞计数( $\times 100$ )

注:A1: NSC 组 TH 阳性细胞;A2: NSC + MG 组 TH 阳性细胞;A3: N( NSC + MG) 组 TH 阳性细胞;A4: NSC 组 DAT 阳性细胞;A5: NSC + MG 组 DAT 阳性细胞;A6: N( NSC + MG) 组 DAT 阳性细胞;B: TH 阳性细胞计数;C: DAT 阳性细胞计数; \*: 与 N( NSC + MG) BDNF 组比较,  $P < 0.05$ ; \*\*: 与 NSC + MG 组,  $P < 0.01$ 。

## 3 讨论

帕金森病(PD)也称震颤麻痹,是仅次于阿尔兹海默病的第二大神经退行性疾病<sup>[2]</sup>。帕金森病的主要病理表现为黑质纹状体多巴胺神经元的特异性减少以及路易(Lewy)小体形成<sup>[8,9]</sup>。临床特征主要表现为运动迟缓、静止性震颤以及一些精神认知功能障碍。现在的研究观点认为细胞移植治疗帕金森是目前最具有潜力的手段之一<sup>[10]</sup>。关于干细胞移植治疗帕金森研究,虽然目前各研究取得的结果不尽相同,但是神经干细胞作为一种可再生细胞,仍具有巨大的应用潜力<sup>[11]</sup>。然而,如何改善干细胞移植后的微环境,使移植后的细胞更易存活,提高其向多巴胺神经元的分化效率已成为影响干细胞移植治疗帕金森效果的关键因素。

Nurr1 也称为核受体亚家族 4A 组第 2 个成员,主要表达于中脑黑质与腹侧被盖区<sup>[12]</sup>。最新的研究结果表明,Nurr1 可通过促进神经营养因子的分泌从而发挥神经保护作用<sup>[13]</sup>,其作用机制是通过下调 CCL2 基因表达实现的<sup>[14]</sup>。另有研究表明,Nurr1 的表达上调可促进神经干细胞的增殖分化,并且可促进多巴胺神经元的成熟,这也为干细胞移

植治疗帕金森带来巨大的应用前景<sup>[15,16]</sup>。

本研究结果表明,Nurr1 基因可在小胶质细胞以及神经干细胞稳定过表达,且过表达 Nurr1 基因对细胞活性无明显影响。ELISA 检测 Transwell 共培养神经干细胞以及小胶质细胞神经营养因子的结果表明,过表达 Nurr1 基因可有效促进 BDNF、GDNF 以及 PDNF 的分泌。RT-PCR 和 Western Blot 检测结果显示,在共培养第 9 天,联合过表达 Nurr1 基因组 TH、DAT 和 Nurr1 基因的转录以及表达水平明显高于其他各组,这表明过表达的 Nurr1 基因在细胞内稳定表达,同时也表明,过表达 Nurr1 基因组的多巴胺神经元数量明显高于对照组。细胞免疫荧光对 TH 和 DAT 阳性细胞计数表明,过表达 Nurr1 组的 TH 和 DAT 阳性细胞计数明显多于其他各组,这与上述结论一致。本研究联合共培养小胶质细胞和神经干细胞,并同时过表达 Nurr1 基因,一方面可促进小胶质细胞分泌神经营养因子,另一方面可促进神经干细胞的增殖与分化,这两者结合更有利于提高神经干细胞向多巴胺神经元的分化效率。

综上所述,本研究得出以下结论:过表达 Nurr1

基因可有效促进神经干细胞和小胶质细胞共培养系统神经营养因子的分泌;Nurr1 基因可促进神经干细胞向多巴胺神经元的分化;Transwell 共培养系统联合培养小胶质细胞与神经干细胞并过表达 Nurr 基因可显著提高神经干细胞向多巴胺神经元的分化效率。

### 参 考 文 献

- [1] 杨勤,田田,卢宏,等. 帕金森病运动分型研究进展[J]. 国际神经病学神经外科学杂志, 2017, 44(4): 327-332.
- [2] Poewe W, Seppi K, Tanner CM, et al. Parkinson disease[J]. Nat Rev Dis Primers, 2017, 3: 17013.
- [3] Barker RA, Drouin-Ouellet J, Parmar M. Cell-based therapies for Parkinson disease-past insights and future potential[J]. Nat Rev Neurol, 2015, 11(9): 492-503.
- [4] Decressac M, Volakakis N, Bjorklund A, et al. NURR1 in Parkinson disease--from pathogenesis to therapeutic potential[J]. Nat Rev Neurol, 2013, 9(11): 629-636.
- [5] Lei Z, Jiang Y, Li T, et al. Signaling of glial cell line-derived neurotrophic factor and its receptor GFRalpha1 induce Nurr1 and Pitx3 to promote survival of grafted midbrain-derived neural stem cells in a rat model of Parkinson disease[J]. J Neuropathol Exp Neurol, 2011, 70(9): 736-747.
- [6] 徐蛟天,王向鹏,陈孝祥,等. Nurr-1 对小胶质细胞微环境的影响[J]. 神经解剖学杂志, 2017, 33(2): 160-166.
- [7] 陈孝祥,徐蛟天,邓兴力,等. GFP-Nurr1 基因修饰神经干细胞的建立及过表达 Nurr1 对神经干细胞向多巴胺神经元分化的影响[J]. 中风与神经疾病杂志, 2017, 34(5): 388-392.
- [8] Zhang J, Wang X, Li J, et al. The Preclinical Research Progress of Stem Cells Therapy in Parkinson's Disease[J]. Biomed Res Int, 2016, 2016: 5683097.
- [9] Koprich JB, Kalia LV, Brotchie JM. Animal models of alpha-synucleinopathy for Parkinson disease drug development[J]. Nat Rev Neurosci, 2017.
- [10] Zhu B, Caldwell M, Song B. Development of stem cell-based therapies for Parkinson's disease[J]. Int J Neurosci, 2016, 126(11): 955-962.
- [11] Brockmann K, Berg D. New therapy approaches for Parkinson's disease[J]. Nervenarzt, 2017.
- [12] Spathis AD, Asvos X, Ziavra D, et al. Nurr1: RXRalpha heterodimer activation as monotherapy for Parkinson's disease[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2017, 114(15): 3999-4004.
- [13] Espadas-Alvarez AJ, Bannon MJ, Orozco-Barrios CE, et al. Regulation of human GDNF gene expression in nigral dopaminergic neurons using a new doxycycline-regulated NTS-polyplex nanoparticle system[J]. Nanomedicine, 2017, 13(4): 1363-1375.
- [14] Liu W, Gao Y, Chang N. Nurr1 overexpression exerts neuroprotective and anti-inflammatory roles via down-regulating CCL2 expression in both in vivo and in vitro Parkinson's disease models[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2017, 482(4): 1312-1319.
- [15] Kim JI, Jeon SG, Kim KA, et al. The pharmacological stimulation of Nurr1 improves cognitive functions via enhancement of adult hippocampal neurogenesis[J]. Stem Cell Res, 2016, 17(3): 534-543.
- [16] Dong J, Li S, Mo JL, et al. Nurr1-Based Therapies for Parkinson's Disease[J]. CNS Neurosci Ther, 2016, 22(5): 351-359.