

热养阴消愈^[16]。本实验发现,散结灵胶囊能明显改善急性血瘀模型大鼠全血低切变率,延长凝血酶原时间(PT),降低血浆中的纤维蛋白原(FIB)含量,体现出较好的活血化瘀作用。

综上所述,散结灵胶囊具有较好的改善子宫肌瘤病变、活血化瘀、镇痛作用,其中下调血清 E2、PRL 水平可能是其效应机制的关键环节,具体有待深入研究。

参考文献:

[1] 贾志玲,王娟,郭春燕,等.双模法建立子宫肌瘤动物模型的试验研究[J].内蒙古农业大学学报(自然科学版),2012,33(Z1):18-22.

[2] 王占利,李坤寅,赵颖,等.长期与短期双模法子子宫肌瘤大鼠模型制备的比较[J].中医研究,2012,25(5):54-57.

[3] 和岚,蒋文跃,毛腾敏.注射肾上腺素模拟“气滞”复制急、慢性血瘀模型初探[J].中国中西医结合杂志,2004,24(3):244-246.

[4] 徐淑云,卞如濂,陈修.药理实验方法学[M].北京:人民卫生出版社出版,2003:882-883.

[5] 莫蕙,许立,林倩雯,等.消瘤颗粒对子宫肌瘤模型大鼠影响的实验研究[J].中华中医药杂志,2010,25(8):1295-1298.

[6] 韩凤娟,滕杨,王秀霞.中医药治疗子宫肌瘤临床研究进展[J].中医药导报,2014,20(16):51-54.

[7] 杨晓乐,时燕萍.中医药干预子宫肌瘤实验的最新概况[J].中医药导报,2014,20(1):103-104.

[8] 孙宗庆.苍砂白芥汤治疗痰瘀互结型子宫肌瘤的临床研究[D].广州:广州中医药大学,2014.

[9] 陈妮妮.中药治疗子宫肌瘤的证治规律分析及疗效评价的循证研究[D].北京:北京中医药大学,2015.

[10] 李颖.丹七化癥胶囊治疗子宫肌瘤的临床观察及药效学研究[D].天津:天津中医学院,2003.

[11] 王运端,陈利社,张静,等.雌激素受体、孕激素受体与子宫肌瘤生长的关系[J].河北医药,2011,33(7):1051.

[12] 张桂香,赵学东,郑纪宁,等.子宫肌瘤雌激素受体亚型 mRNA 的表达[J].临床与实验病理学杂志,2005,21(1):77-80.

[13] 封全灵,刘弘扬.孕激素受体和线粒体 porin 蛋白在子宫肌瘤组织中的表达[J].现代妇产科进展,2013,22(11):897-899.

[14] 郑旭琴,孙敏,刘超.催乳素与人类肿瘤关系的新认识[J].国外医学内分泌学分册,2004,24(2):111-113.

[15] 王莉琳,时燕萍.子宫肌瘤的血液流变学应用探讨[J].中华中医药学刊,2010,28(11):2409-2411.

[16] 李莉,宋静慧.子宫肌瘤治疗研究进展[J].内蒙古医学杂志,2012,44(4):441-445.

龟龄帕安丸对帕金森病大鼠神经干细胞移植后中脑黑质 TH、GDNF、Ptx3 表达的影响

常学辉¹, 张良芝^{2*}, 黎民¹

(1. 河南中医药大学第二临床医学院, 河南 郑州 450002; 2. 河南中医药大学基础医学院, 河南 郑州 450008)

摘要: **目的** 观察龟龄帕安丸对帕金森病大鼠神经干细胞移植后中脑黑质 TH、GDNF、Ptx3 表达的影响。**方法** 6-羟基多巴注射法建立帕金森病模型后,60 只造模大鼠随机分为空白对照组,美多芭组,龟龄帕安丸高、中、低剂量组,神经干细胞移植组,各组灌胃给药 28 d。然后,免疫组化法检测大鼠中脑黑质 TH、GDNF、Ptx3 蛋白表达,原位杂交法检测 TH mRNA 表达。**结果** 与神经干细胞移植组比较,美多芭组、龟龄帕安丸组 TH、GDNF、Ptx3 蛋白及 TH mRNA 表达均显著增加 ($P < 0.01$)。**结论** 龟龄帕安丸可增加帕金森病大鼠中脑黑质 TH、GDNF、Ptx3 蛋白表达,可能是其治疗帕金森病的作用机制之一。

关键词: 龟龄帕安丸;帕金森病;神经干细胞移植;中脑黑质;TH;GDNF;Ptx3

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2018)08-1681-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2018.08.003

收稿日期:2017-12-25

基金项目:河南省高等学校重点科研项目(16A360019)

作者简介:常学辉(1975—),男,博士,教授,从事常见脑病中医防治研究。Tel:13383865938, E-mail:13383865938@126.com

* 通信作者:张良芝(1975—),女,硕士,教授,从事中医杂病防治研究。Tel:13333865263, E-mail:zlx0721@163.com

Post neural stem cell transplantation use of Guiling Pa'an Pills on expressions of TH, GDNF and Ptx3 in midbrain substantia nigra of Parkinson's disease rats

CHANG Xue-hui¹, ZHANG Liang-zhi^{2*}, LI Min¹

(1. The Second Clinical Medical College of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450002, China; 2. Basic Medical College of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China)

ABSTRACT: **AIM** To observe the effects of post neural stem cell transplantation use of Guiling Pa'an Pills on expressions of TH, GDNF and Ptx3 in midbrain substantia nigra of Parkinson's disease rats. **METHODS** The sixty 6-hydroxydopamine injection-induced rat models of Parkinson's disease randomly divided into blank control group, Madopar group, high, medium, and low dose Guiling Pa'an Pills groups, and neural stem cell transplantation group were given 28 days intragastric administration, respectively, after which their expressions of TH, GDNF, Ptx3 proteins in midbrain substantia nigra were detected by immunohistochemistry, and their expression of TH mRNA was analyzed by *in situ* hybridization. **RESULTS** Compared with the neural stem cell transplantation group, Madopar group and Guiling Pa'an Pills groups shared more significantly increased expressions of TH, GDNF, Ptx3 proteins and TH mRNA ($P < 0.01$). **CONCLUSION** Guiling Pa'an Pills can treat Parkinson's disease due to its action mechanism in increasing the expressions of TH, GDNF, Ptx3 proteins in midbrain substantia nigra of Parkinson's disease rats.

KEY WORDS: Guiling Pa'an Pills; Parkinson's disease; neural stem cell transplantation; midbrain substantia nigra; TH; GDNF; Ptx3

帕金森病是一种多见于中老年人的神经系统变性疾病，其典型病理改变是黑质内多巴胺神经元缺失、变性、凋亡，降低了纹状体内其水平，破坏了正常基底节环路的功能^[1]。近年来，干细胞移植治疗逐渐引起了人们关注，目前认为潜力最大、临床应用前景最好的治疗策略是以神经干细胞为供体细胞的替代疗法^[2]。

龟龄帕安丸是由河南省中医院脑病科研制的用于治疗帕金森病的中药复方制剂，临床疗效较好，可抑制多巴胺能神经元凋亡，诱导神经干细胞分化为成熟多巴胺能神经元，并最终转化为神经递质多巴胺^[3-7]。本实验采用 6-羟基多巴注射法建立帕金森病大鼠模型象，观察龟龄帕安丸对其神经干细胞移植后中脑黑质 TH、GDNF、Ptx3 表达的影响，以期阐释其作用机制。

1 材料

1.1 动物 SPF 级 SD 大鼠，体质量 180 ~ 220 g，购于山西医科大学实验动物中心，合格证号 SCXK (晋) 20150001。

1.2 试药 龟龄帕安丸 (批号郑卫制剂 Z04010162，规格 60 g/瓶，河南省中医院院内制剂，由龟板、羚羊角、全蝎、威灵仙、厚朴组成)，临用时研末，筛取细粉状物质，生理盐水稀

释成 0.4、0.2、0.1 g/mL 混悬液备用；美多芭 (多巴丝肼片，批号 SH1652，规格 250 mg，上海罗氏制药有限公司产品)，临时用生理盐水稀释成 2.0 mg/mL；6-羟基多巴胺 (SLBF550 V)、阿扑吗啡 (SLBF6 369 V) 均购自美国 Sigma 公司。DMEM/F12 培养基、2% B27、25% 胰蛋白酶、bFGF、EGF、D-hanks 液、PBS 缓冲液 (中杉金桥生物技术有限公司，批号 ZM0013)；TH 一抗 (美国 Cell Signaling 公司，批号 #2792)；GDNF 一抗 (中杉金桥生物技术有限公司，批号 SC-328)；Ptx3 一抗 (美国 Proteintech 公司，批号 13797-1-AP)；TH、GDNF、Ptx3 二抗体 (北京中杉金桥生物有限公司，批号 PV9000)；TH-mRNA 原位杂交试剂盒、SABC 免疫组化染色试剂盒、DAB 显色试剂盒、PBS 缓冲液 (武汉博士德生物工程有限公司)。

1.3 仪器 大鼠脑立体定向仪 (美国 Stoelting 公司)；高速颅骨钻 (淮北正华生物仪器设备有限公司)；5 μ L 微量进样器 (上海安亭微量进样器厂)；Olympus 光学显微镜 (日本 Olympus 公司)。

2 方法

2.1 神经干细胞培养与鉴定^[8] SD 大鼠动情期按照雌：雄 (2：1) 合笼，第 2 天早晨检查阴道栓并结合阴道涂片，两者在显微镜下发现精子者记为 Ed

0.5, 常规饲养 15 d。孕 15 d 大鼠麻醉, 摘取胎鼠, 将其海马组织置于 D-hanks 液中冲洗, 眼科剪剪碎, 37 ℃ 下添加 25% 胰蛋白酶消化, 加 DMEM/F12 培养液 (含 10 % 胎牛血清) 停止消化, 移液枪吹打分离细胞, 通过不锈钢筛网 (先 80 目, 后 200 目) 筛选, 取通过筛网的细胞制备细胞悬液。离心后, 弃掉上清液, 加入 DMEM/F12 无血清培养液中, 加入适量 bFGF、EGF, 再加入 2% B27 添加剂, 使其含有量达到 20 μL/mL, 移液枪吹吸打散为单细胞悬液, 电脑软件计数, 将细胞密度调节为 1×10^5 /mL 后接种到培养瓶中, 置于培养箱中, 5% CO₂、37 ℃ 下静置培养。在细胞生长良好、细胞培养液由红色变微黄时, 每 2~3 d 半量换液 1 次, 将原代培养形成的神经细胞球离心 5 min (1 000 r/min), 倒掉上清液, 加入培养液使细胞重悬后继续上述过程, 接种培养, 约 7 d 传代 1 次。神经干细胞 Nestin 鉴定 Nestin 阳性表达, 提示为神经干细胞。

2.2 模型建立^[9] SD 大鼠腹腔注射阿扑吗啡 (0.5 mg/kg) 后, 选择无震颤、旋转行为者称定质量, 腹腔注射 4% 水合氯醛 (8 mL/kg) 麻醉。将大鼠俯卧位固定在脑立体定位仪上, 备皮消毒, 手术刀沿头皮正中纵线切 1~2 cm 切口, 分离皮下组织, 去除脑膜, 暴露前、后囟门, 对右侧中脑黑质致密部 (SNC) 坐标 A/P (距前囟中心后) -4.6 mm、L/R (距前囟中心左右) -1.7 mm、O/V (距脑膜表面深度) -7.6 mm 处进行定位标记, 牙科钻垂直钻透颅骨, 微量进样器按照分组情况抽取预先配好的 6-羟基多巴溶液或 0.02% 维生素 C 溶液, 将微量进样器垂直固定到定位仪上, 按 1 mm/min 速度进针, 到预定深度后缓慢推入 6-羟基多巴溶液 (1 μL/min), 留针 10 min 后缓慢退针 (1 mm/min), 常规缝合, 消毒, 腹腔注射 1×10^6 U 青霉素, 连续 7 d。术后 1 周, 腹腔注射阿扑吗啡 (0.5 mg/kg) 诱导旋转, 若大鼠出现以右侧肢体为支点、身体向右侧弯曲、首尾相接、原地转动、伴有颤抖等动作, 而且 30 min 内平均旋转圈数 > 7 r/min 时, 可

认为模型建立成功。

2.3 分组 60 只造模大鼠称定质量后, 按照随机数字表法分为 6 组, 每组 10 只, 分别为龟龄帕安丸高、中、低剂量组 (0.4、0.2、0.1 g/kg), 美多芭组 (0.002 g/kg), 神经干细胞移植组, 空白对照组 (生理盐水)。

2.4 神经干细胞移植 收集 F3 代神经干细胞, 置于 15 mL 无菌离心管中, 1 000 r/min 离心 5 min, 加入适量 PBS, 轻轻吹打成单细胞悬液, 调整细胞密度为 10^6 个/mL。按照模型定位方法, 取右侧纹状体 (A/P -0.5 mm、L/R -3.0 mm、O/V -5.0 mm), 微量进液器抽取预先制备好的 5 μL 细胞悬液进行注射, 其他操作步骤同“2.2”项。

2.5 TH、GDNF、Ptx3 蛋白表达, TH mRNA 表达检测 大鼠断头取脑, 冰盘上快速完整剥取脑组织, 4 ℃ 下于 4% 多聚甲醛 (含 0.1% 焦碳酸二乙酯) 中固定 4~6 h, 分离出中脑黑质, 常规石蜡包埋, 切片 (厚 5 μm)。免疫组化法检测 TH、GDNF、Ptx3 蛋白表达, 原位杂交法检测 TH mRNA 表达, 均按试剂盒方法操作。在光镜高倍视野 (×400) 下, 随机在每个切片上选择 5 个面积相同的视野, 目标蛋白表达数量即以 5 个视野的平均积分光密度表示。石蜡切片制作、相关指标检测均在郑州大学基础医学院进行。

2.6 统计学分析 采用 SPSS 18.0 软件进行处理, 计量资料结果采用 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 数据符合正态分布和方差齐性者, 采用单因素方差分析; 不符合正态分布和方差齐性者, 采用多个相关样本的非参数检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 中脑黑质 TH 蛋白及 mRNA 表达比较 表 1、图 1~2 显示, 与神经干细胞移植组比较, 美多芭组、龟龄帕安丸组 TH 蛋白及其 mRNA 表达均显著增加 ($P < 0.01$); 与美多芭组比较, 龟龄帕安丸组表达显著增加 ($P < 0.01$); 龟龄帕安丸各剂量组间比较, 中剂量组表达最高 ($P < 0.01$)。

表 1 各组 TH、TH mRNA 表达 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab. 1 Expressions of TH and TH mRNA in various groups ($\bar{x} \pm s, n = 10$)			
组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	TH 表达/积分光密度值	TH mRNA 表达/积分光密度值
龟龄帕安丸高剂量组	0.4	191.203 2 ± 10.521 2▲●★■	114.656 3 ± 7.626 7▲●★★■
龟龄帕安丸中剂量组	0.2	206.840 6 ± 9.732 6▲●★	128.688 3 ± 7.167 8▲●★★
龟龄帕安丸低剂量组	0.1	179.598 0 ± 11.727 2▲●	110.172 6 ± 5.588 8▲●
美多芭组	0.002	162.074 3 ± 7.368 3▲	94.482 5 ± 5.970 4▲
神经干细胞移植组	-	145.984 7 ± 8.384 0	76.145 6 ± 9.174 8
空白对照组	-	66.138 0 ± 7.378 6	47.869 2 ± 4.702 9

注: 与神经干细胞移植组比较, ▲ $P < 0.01$; 与美多芭组比较, ● $P < 0.01$; 与龟龄帕安丸低剂量组比较, ★ $P < 0.01$; 与龟龄帕安丸中剂量组比较, ■ $P < 0.01$

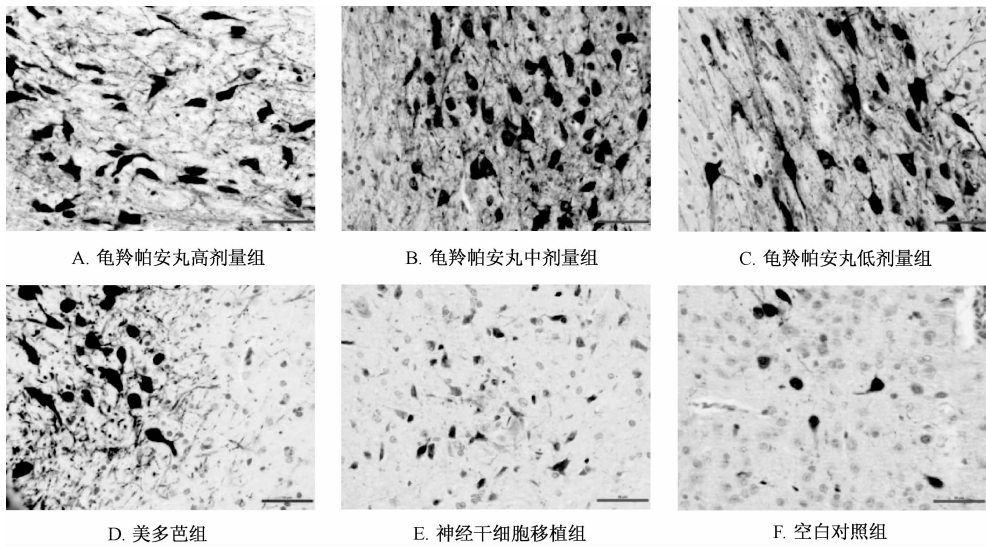


图 1 各组大鼠中脑黑质 TH 表达比较 (×400)
Fig. 1 Comparison of TH expressions in rat midbrain substantia nigra in various groups (×400)

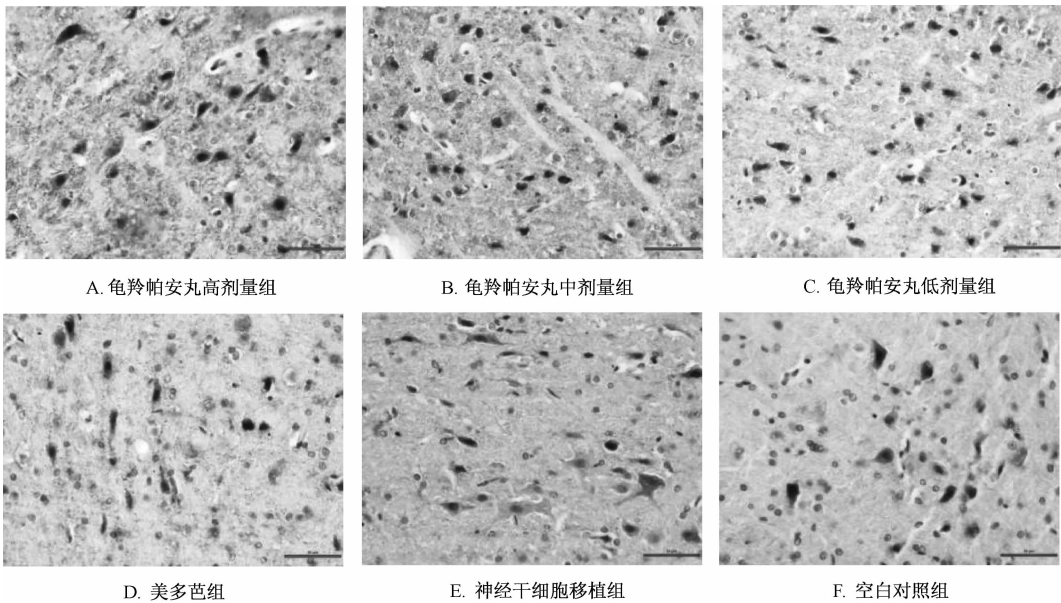


图 2 各组大鼠中脑黑质 TH mRNA 表达比较 (×400)
Fig. 2 Comparison of TH mRNA expressions in rat midbrain substantia nigra in various groups (×400)

3.2 各组大鼠中脑黑质 GDNF、Ptx3 蛋白表达的比较 表 2、图 3 ~4 显示,与神经干细胞移植组比较,美多巴组、龟龄帕安丸组 GDNF、Ptx3 蛋白表达均显著增加 ($P < 0.01$);与美多巴组比较,龟龄帕安丸组表达显著增加 ($P < 0.01$);龟龄帕安丸各剂量组间比较,中剂量组表达最高 ($P < 0.01$),而高、低剂量组之间无显著差异 ($P > 0.05$)。

表 2 各组 GDNF、Ptx3 蛋白表达 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab. 2 Expressions of GDNF, Ptx3 proteins in various groups ($\bar{x} \pm s, n = 10$)			
组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	GDNF 表达/积分光密度	Ptx3 表达/积分光密度
龟龄帕安丸高剂量组	0.4	122.280 6 ± 9.093 5 ▲●■	125.921 9 ± 5.465 1 ▲●■
龟龄帕安丸中剂量组	0.2	138.376 8 ± 7.033 4 ▲●★	138.694 5 ± 9.499 2 ▲●★
龟龄帕安丸低剂量组	0.1	117.071 1 ± 9.065 3 ▲●	120.822 6 ± 6.354 6 ▲●
美多巴组	0.002	92.589 0 ± 8.609 6 ▲	101.596 9 ± 7.675 5 ▲
神经干细胞移植组	—	59.913 0 ± 4.884 4	77.417 9 ± 8.050 3
空白对照组	—	47.014 7 ± 5.492 2	39.805 9 ± 5.119 2

注:与神经干细胞移植组比较,▲ $P < 0.01$;与美多巴组比较,● $P < 0.01$;与龟龄帕安丸低剂量组比较,★ $P < 0.01$;与龟龄帕安丸中剂量组比较,■ $P < 0.0.01$

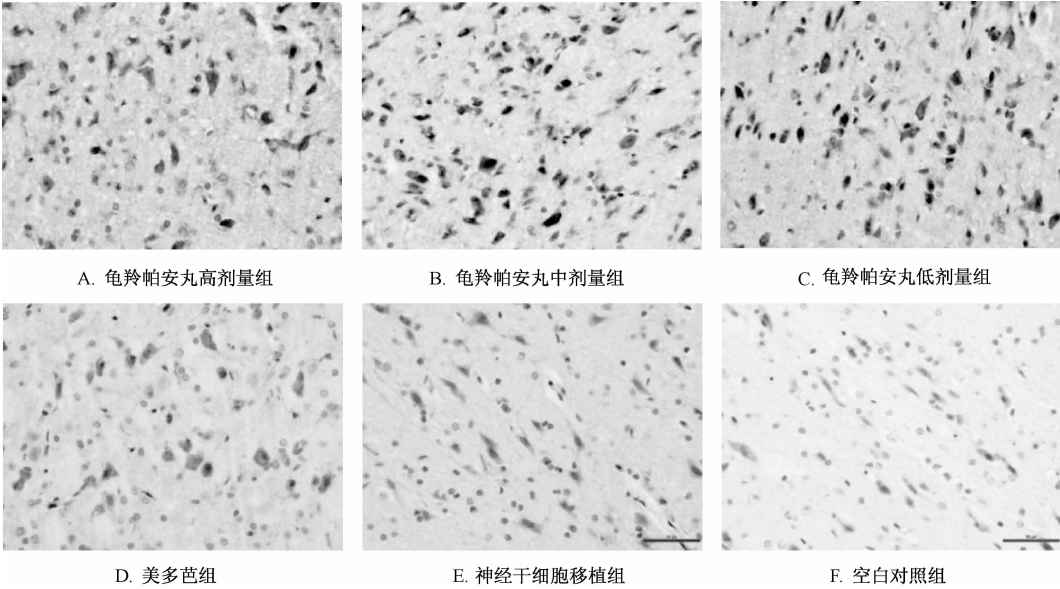


图 3 各组大鼠中脑黑质 GDNF 表达比较 (×400)
Fig. 3 Comparison of GDNF expressions in rat midbrain substantia nigra in various groups (×400)

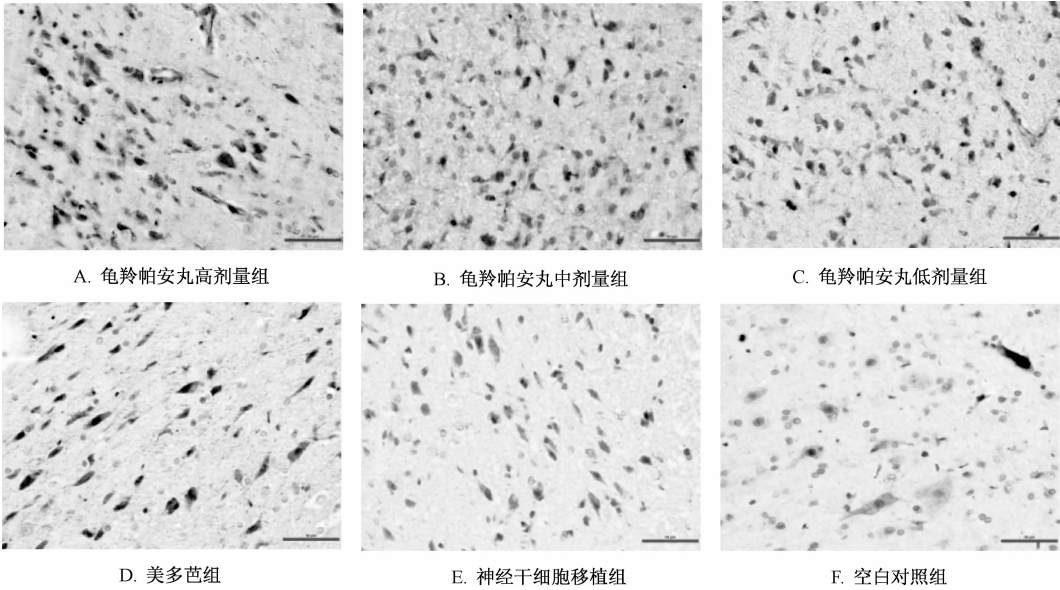


图 4 各组大鼠中脑黑质 Pt看3 表达比较 (×400)
Fig. 4 Comparison of Pt看3 expressions in rat midbrain substantia nigra in various groups (×400)

3.3 相关性分析 表 3 显示，TH 与 GDN、Pt看3 均呈正相关。

表 3 各指标相关性分析结果

Tab.3 Results of correlation analysis for various indices		
指标	<i>r</i>	<i>P</i>
GDNF	0. 879	0. 000
Pt看3	0. 943	0. 000

4 讨论

帕金森病根据其临床表现，属于中医“颤证”“振颤”等范畴。课题组应用中医“肾脑相关”理

论，参阅历代文献并结合多年临床体会及现代研究成果，认为帕金森病病位在脑，基本病机为肾精亏虚、脑髓受损、瘀血阻络，病理性质总属本虚标实，肝肾阴虚为其本，“瘀”“风”互结为其标，蕴塞脑窍，故治疗当以滋补肝肾、熄风活血为主。

龟羚帕安丸是河南省中医院脑病科研制的治疗帕金森病的中药复方制剂，由龟板、羚羊角、厚朴、全蝎、威灵仙等药材组成。方中龟板胶味甘性平，入肝肾经，滋阴潜阳，补肾益血，为君药；羚羊角粉味咸性寒，入肝经，为臣药；全蝎味咸性

平，入肝经，祛风止痉通络，佐羚羊角活血以熄风；威灵仙味辛咸性温，入膀胱经，搜风通络，改善经脉拘挛；厚朴味苦辛性温，入脾、胃经，温中燥湿消痰，诸药共奏滋补肝肾、养血活血、通络熄风之功。

研究表明，TH 作用于酪氨酸时，可使其转化为左旋多巴，再经多巴胺脱羧酶催化转化为多巴胺，之后又在单胺氧化酶、儿茶酚甲基转移酶共同催化下生成高香草酸，最后经多巴胺-β-羟化酶催化生成去甲肾上腺素。TH 被普遍认为是包含多巴胺在内的儿茶酚胺类神经递质合成有重要影响的第一限速酶，细胞表达 TH 是判断神经元为多巴胺能神经元的金标准^[10-11]。本实验结果显示，龟龄帕安丸组大鼠中脑黑质致密部 TH 及其 mRNA 表达均显著高于神经干细胞移植组，即多巴胺能神经元数量更多，表明龟龄帕安丸可提高 TH 及其 mRNA 的活性和表达，从而提高脑内多巴胺含量，改善帕金森病症状。

GDNF 是迄今为止对中脑多巴胺能神经元神经营养作用最强大的营养因子之一，不但能使多巴胺能神经元突起明显延长，胞体明显增大，显著促进其成熟，还能特异性抑制其凋亡，促进其存活和分泌 TH，进而改善帕金森病症状^[12-13]。本实验发现，龟龄帕安丸组大鼠中脑黑质致密部 GDNF 表达显著高于神经干细胞移植组，即能提高 GDNF 表达，进而间接抑制多巴胺能神经元凋亡，促进其存活。同时，TH 与 GDNF 成正相关性，说明后者能促进前者表达，与上述结果一致。

Ptx3 是中枢神经系统中脑黑质神经元特异表达的基因，在鼠和成人体内维持表达，其转录产物可能通过与 TH 启动子结合来发挥功能^[14]。本实验研究表明，TH 与 Ptx3 呈正相关，即后者能促进前者表达，与上述结果一致；龟龄帕安丸组大鼠中脑黑质致密部 Ptx3 表达显著高于神经干细胞移植组，即能提高 Ptx3 表达，促进 TH 表达。

综上所述，龟龄帕安丸可诱导外源性神经干细胞向多巴胺能神经元分化，改善帕金森病大鼠运动症状，其作用机制可能为龟龄帕安丸一方面通过促进外源性神经干细胞的存活，直接促进其分化为更多的多巴胺能神经元；另一方面，它通过提高 GDNF、Ptx3 表达增强对多巴胺能神经元的营养作用，间接抑制其凋亡，促进其存活。

参考文献：

[1] 刘疏影, 陈 彪. 帕金森病流行现状[J]. 中国现代神经疾病杂志, 2016, 16(2): 98-101.

[2] Le Grand J N, Gonzalez-Cano L, Pavlou M A, *et al.* Neural stem cells in Parkinson’ s disease: a role for neurogenesis defects in onset and progression[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2015, 72(4): 773-797.

[3] 常学辉, 张良芝, 李彦杰. 龟龄帕安丸配合美多巴片治疗帕金森病 30 例疗效观察[J]. 新中医, 2008, 40(6): 62-63.

[4] 常学辉, 张良芝, 宁亚红. 龟龄帕安丸对 PD 大鼠中脑黑质 IL-1β、iNOS、IL-6、IFN-γ 表达的影响[J]. 时珍国医国药, 2017, 28(1): 86-88.

[5] 张良芝, 常学辉, 宁亚红. 龟龄帕安丸对 PD 大鼠中脑黑质 Caspase-3、SYN 表达及行为学的影响[J]. 中华中医药学刊, 2016, 34(11): 2673-2675.

[6] 张良芝, 常学辉, 宁亚红. 龟龄帕安丸对帕金森病大鼠行为学及中脑黑质 Nurr1、TH、Nurr1mRNA、TH mRNA 的影响[J]. 中药药理与临床, 2014, 30(5): 116-118.

[7] 张良芝, 常学辉, 宁亚红. 龟龄帕安丸对帕金森病大鼠模型中脑黑质细胞 Nestin 蛋白, Nestin mRNA 及 DAT 蛋白的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(4): 115-118.

[8] 刘 磊, 刘恒方, 张 敏, 等. 胎鼠脑神经干细胞的分离、培养和鉴定[J]. 江苏医药, 2015, 41(7): 753-755.

[9] Qureshi A A, Cheng J J, Sunshine A N, *et al.* Postoperative symptoms of psychosis after deep brain stimulation in patients with Parkinson’ s disease [J]. *Neurosurg Focus*, 2015, 38(6): E5.

[10] Ding Y X, Zhang Z X, Ma J B, *et al.* Directed differentiation of postnatal hippocampal neural stem cells generates nuclear receptor related-1 protein- and tyrosine hydroxylase-expressing cells[J]. *Mol Med Rep*, 2016, 14(3): 1993-1999.

[11] Johnson M E, Lim Y, Senthilkumaran M, *et al.* Investigation of tyrosine hydroxylase and BDNF in a low-dose rotenone model of Parkinson’ s disease [J]. *J Chem Neuroanat*, 2015, 70(6): 33-41.

[12] Zhu W, Li J, Liu Y G, *et al.* Mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor attenuates inflammatory responses in lipopolysaccharide-induced neural stem cells by regulating NF-κB and phosphorylation of p38-MAPKs pathways [J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2016, 38(3): 205-213.

[13] 段奎甲, 王向鹏, 杨智勇, 等. GDNF 基因修饰神经干细胞移植治疗大鼠帕金森病[J]. 南方医科大学学报, 2016, 36(1): 32-38.

[14] Lee H W, Choi J, Suk K. Increases of pentraxin 3 plasma levels in patients with Parkinson’ s disease [J]. *Mov Disord*, 2011, 26(13): 2364-2370.