

文章编号: 1004-0374(2013)01-0084-07

骨髓间充质干细胞向神经细胞的分化

安秀峰, 黄汉昌, 姜招峰*

(北京联合大学功能食品科学技术研究院, 生物活性物质与功能食品北京市重点实验室, 北京 100191)

摘要: 近年来, 骨髓间充质干细胞逐渐成为神经科学领域的研究热点, 广泛用于治疗神经退行性疾病, 其原因是; 骨髓间充质干细胞可在诱导物存在下定向分化为有功能的神经元细胞, 并能成功表达神经标志蛋白。结合近几年的研究进展, 主要从骨髓间充质干细胞的临床试验和应用; 激光辐射、氧气含量和神经细胞对骨髓间充质干细胞分化为神经细胞的影响; microRNA、Notch 信号通路和 Wnt 信号通路对骨髓间充质干细胞分化为神经细胞的调节作用等三方面进行阐述。

关键词: 骨髓间充质干细胞; 神经细胞; 影响因素

中图分类号: Q813; Q189; R392 **文献标志码:** A

Bone marrow mesenchymal stem cells differentiation into nerve cells

AN Xiu-Feng, HUANG Han-Chang, JIANG Zhao-Feng*

(Beijing Key Laboratory of Bioactive Substances and Functional Foods, Research Institute for Science and Technology of Functional Food, Beijing Union University, Beijing 100191, China)

Abstract: For the past few years, bone marrow mesenchymal stem cells have gradually become a research focus in the field of neuroscience, and have been widely used in the treatment of neurodegenerative diseases. It is just because that it can differentiate into functional neuron and express neural marker proteins successfully when inducer exists. Combined with the recent research progress, this paper will introduce the bone marrow mesenchymal stem cells from the following three aspects: firstly, the clinical trial and application of bone marrow mesenchymal stem cells; secondly, the effects of laser radiation, oxygen content and the nerve cells on the process of bone marrow mesenchymal stem cells differentiate into nerve cells; thirdly, microRNA, Notch signal pathway and Wnt signal pathway regulate the process of bone marrow mesenchymal stem cells differentiating into nerve cells.

Key words: bone marrow mesenchymal stem cells; nerve cells; factors

高度特化的神经细胞是神经系统的基本结构和功能单位。一旦大脑或脊髓中的神经细胞损伤或缺失便会引起一系列的神经系统疾病。近几年研究发现, 骨髓间充质干细胞 (bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs) 不仅可以产生营养因子, 具有免疫调节作用, 还有向多种细胞分化的潜能, 如可分化成间充质细胞、外胚层细胞和内胚层细胞, 包括脂肪细胞、心肌细胞、软骨细胞、神经细胞等, 这为临床治疗神经细胞损伤相关疾病带来了曙光。多项研究表明, 可将 BMSCs 用于临床治疗自身免疫性疾病、退化性疾病和缺氧缺血性脑损伤等疾病^[1-3]。因此, BMSCs 在组织工程学和再生医学中具有广

阔的应用前景。

1 BMSCs向神经细胞分化的发现历程及应用

目前研究发现骨髓中存在两种干细胞: 造血干细胞 (hematopoietic stem cells, HSCs) 和骨髓间充质干细胞 (BMSCs)。与 HSCs 相比, BMSCs 不仅具有多向分化的潜能, 还可以产生营养因子和具有免

收稿日期: 2012-07-09; 修回日期: 2012-09-10

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(31071512); 北京市属高等学校人才强教计划高层次人才资助项目 (PHR20090514)

*通信作者: E-mail: zhaofeng@buu.edu.cn

疫调节作用。

1.1 BMSCs向神经细胞分化的发现历程

早在2000年, Ramos等^[4]便成功对BMSCs进行体外诱导, 使其分化为神经细胞, 并成功表达了NeuN和tau等神经元标志蛋白。同时, Zhao等^[5]将BMSCs注入脑梗死9周的大鼠大脑后发现了BMSCs可在体内分化为神经细胞, 并有胶质细胞、少突胶质细胞和神经元的生成。Mezey等^[6]也将成人骨髓细胞移植到小鼠大脑中, 发现其分化成了可以表达特异性神经抗原的细胞, 并通过这一发现提出了用骨髓源细胞作为神经细胞来源来治疗神经退行性疾病或者中枢神经系统损伤的疾病。随后, Brazertton等^[7]和Mezey等^[8]又研究证实骨髓间充质干细胞不仅可以在脑内分化为神经细胞, 同时体外培养的骨髓间充质干细胞也可经骨髓移植、脑部直接注射等途径顺利通过血脑屏障进入脑内, 这又为临床应用骨髓间充质干细胞治疗神经退行性疾病和修复由创伤或梗塞引起的组织损伤提供了实验依据。

自此人们认为BMSCs作为细胞供体对临床治疗神经退行性疾病有着潜在的应用价值; 但BMSCs的分化机制及影响因素等问题尚不清楚, 如经BMSCs分化后的细胞是否能表现出成熟的神经细胞所特有的功能, 是否能真正地应用于临床治疗神经系统性疾病。Aleksandrova等^[9]认为成熟神经细胞所特有的功能主要表现为可以分泌神经递质和表达神经受体。Chai等^[10]发现BMSCs在体外条件下可分化成具有神经元形态特征的神经细胞, 并可以释放一定的神经递质, 证实了BMSCs可以分化为成熟的神经细胞。

1.2 BMSCs向神经细胞分化的应用

BMSCs可分化为神经细胞, 这让人们看到了治疗神经系统疾病的曙光, 大量关于BMSCs与神经系统疾病的相关实验均证实了骨髓间充质干细胞可以在适当条件下分化为神经元细胞和神经胶质细胞^[11-16]。Kim和Vellis^[17]指出, 大脑或脊髓中神经元和神经胶质细胞的缺失是引起人类神经系统疾病的一部分原因, 如帕金森病(Parkinson's disease, PD)、亨廷顿氏病(Huntington's disease, HD)、阿尔兹海默病(Alzheimer's disease, AD)。虽然在治疗临床疾病, 如脊髓损伤、帕金森病、阿尔兹海默症等神经系统疾病方面还没有确切有效的治疗方法, 但是有研究表明, 将可在适当条件下分化为神经细胞的BMSCs移植到大鼠体内, 可以促进大鼠神经细

胞的生成, 并表达神经细胞的一些标志性蛋白, 最终改善大鼠的功能障碍^[18-19]。Tfilin等^[20]通过体外实验证实BMSCs可以分泌神经营养因子, 并可在适当条件下促进新生神经前体细胞的生长和分化, 以及海马和齿状回的神经形成, 从而减轻抑郁症症状。此外Sugaya等^[21]还发现将间充质干细胞移植到年老动物上, 可改善其认知功能, 促进神经生成。Abrams等^[22]通过研究将BMSCs移植到脊髓受伤的大鼠体内, 观察其是否会引起类似触诱发痛的症状。结果发现移植BMSCs会减弱受伤动物对机械刺激的敏感性, 同时增加白质容积, 减小脊髓病变中囊肿的尺寸, 这些可解释为是由于BMSCs对细胞有免疫抑制作用和抗炎作用。同样, 脊髓严重受伤的动物移植BMSCs后发现在脊髓周围和白质表面均出现了反应性星形胶质细胞。除此之外, BMSCs对下肢感觉运动功能也有一定的作用, 可能是由于其具有降低星形胶质细胞反应力和小胶质细胞及巨噬细胞活力的能力。这些都表明, BMSCs在治疗脊髓外伤引起的炎症和星形胶质细胞聚集方面将有广阔的应用前景。

Trounson等^[23]指出, 在临床试验中尽管能直接证明骨髓间充质干细胞可在体内转化为神经细胞的实验很少, 但是用骨髓间充质干细胞治疗神经系统疾病却非常普遍, 在123例用骨髓间充质干细胞治疗疾病的病例中有23例是用来治疗神经相关性疾病的。例如, 治疗多发性硬化(multiple sclerosis, MS)和肌萎缩性侧索硬化症(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)便是通过鞘内注射将自身骨髓中的骨髓间充质干细胞注入脊髓脑脊液。

Dey等^[24]在实验中发现, 通过基因工程的方法使来源于小鼠股骨的MSCs过度表达脑源性神经营养因子和神经生长因子, 将其移植到HD YAC 128小鼠模型中, 发现可以减轻行为缺陷的症状。免疫组化检查结果发现, 与未移植MSCs的小鼠相比, 该移植了MSCs的小鼠的纹状体中神经元损失相对较小。该研究指出, 纹状体内移植可过度表达脑源性神经营养因子的MSCs, 可以在纹状体内创造一个有利环境从而延缓神经退化过程。

基于干细胞疗法治疗亨廷顿病, Lin等^[25]研究指出, 来源于人骨的骨髓间充质干细胞可通过分化成神经细胞, 提供神经营养支持作用和抗凋亡作用来保护和修复神经。干细胞治疗10周后, 小鼠模型的运动功能障碍得到显著改善。移植后, 层黏连蛋白、血管性血友病因子、基质细胞衍生因子-1

及其受体 Cxcr4 的含量都有所提高,但是干细胞治疗 ALS 仍处于初步阶段,理想的细胞类型和最佳的解剖部位植入术将产生的临床结果尚未确定。神经退行性疾病的 4 种类型中,对 PD 和 ALS 的研究比 HD 和 AD 更多一些。然而,在临床应用干细胞治疗神经退行性疾病之前,移植成本、安全性、人力需求和移植后的监测等问题还有待解决^[26]。

BMSCs 除具有分化为神经细胞的潜力外, Kemp 等^[27]还发现在体外没有营养因子且暴露于 NO 环境下, BMSCs 可以保护啮齿动物小脑神经元细胞。实验第一次发现 BMSCs 可以分泌对神经有作用的 SOD3,也证实了 PI3K/Akt 途径在调节这一过程中的核心地位。SOD3 不仅可以增加小脑神经元细胞暴露于 NO 中的存活率,而且可以激活小脑神经元 PI3K/Akt 通路。由此,我们不仅看到了 BMSCs 可提高神经元存活率,同样也看到了 BMSCs 抗氧化的新机制,相信以 BMSCs 为基础的细胞疗法将会是治疗氧化应激引起的小脑退化的新途径。

2 影响 BMSCs 向神经细胞分化的因素

干细胞之所以具有自我更新和分化成多种细胞的特性,是遗传、转录、转录后修饰和外界影响共同作用的结果。

2.1 促进 BMSCs 向神经细胞分化的外部因素

2.1.1 激光辐射

激光辐射对 BMSCs 分化为神经细胞有一定的影响。Soleimani 等^[28]研究了不同能量密度的低剂量激光辐射对 BMSCs 分化为神经细胞和成骨细胞的影响,发现低剂量激光辐射与 BMSCs 的增殖分化呈剂量增加关系,指出低剂量激光辐射可改善体外 BMSCs 的分化效果。

2.1.2 氧气含量

Wei 等^[29]将成年大鼠事先经过 90 min 的大脑中动脉阻塞,然后将缺氧预处理过的和未处理过的 BMSCs 静脉注射进该大鼠体内,发现注射经缺氧预处理的 BMSCs 更能有效抑制大脑小神经胶质细胞的活性。同时,缺血部位和梗死周围区域有大量的 NeuN 阳性和 Glut-1 阳性的细胞,这些细胞均显示出了 eGFP 或 BrdU 免疫荧光活性,表明外源 BMSCs 分化成了神经元和血管内皮细胞。此外,对 BMSCs 进行缺氧预处理,不仅可以提高细胞移植后的存活率,而且可以增强细胞再生能力。通过缺氧预处理可以正向调节与 BMSCs 增殖再生相关基因的表达,如 HIF-1 α 和营养因子,这些营养因

子包括脑源性神经营养因子、神经胶质源性神经营养因子、血管内皮生长因子及其受体 FIK-1、红细胞生成素及其受体 EPOR 等。除此之外,缺氧预处理还可以抑制 BMSCs 免疫相关基因,如促炎细胞因子或趋化因子的表达,从而降低移植后的炎症反应。同时可以促进 BMSCs 分化为神经元和血管内皮细胞。因此,移植缺氧预处理的 BMSCs 可能是一种有效治疗缺血性中风的方法。

2.1.3 神经细胞的诱导作用

有很多体外研究实验证明, BMSCs 会在某些细胞的作用下诱导分化为神经细胞。Pedram 等^[30]将未分化的 BMSCs 和已分化为神经细胞的 BMSCs,以及未分化的 BMSCs 和已分化为神经细胞的 BMSCs 混合物分别移植到脊髓受伤的大鼠中观察。通过流式细胞仪和免疫分析证实 BMSCs 成功分化为了神经细胞, RT-PCR 分析证实神经元特异性基因成功表达,溴脱氧尿苷标记检测细胞成功导入受体。通过 SPSS 行为分析和组织学观察发现,含有已经分化成神经细胞的 BMSCs 的实验组和混合物组实验效果较为理想,表明由 BMSCs 分化成的神经细胞在实验中起到了非常重要的作用。同样 Gendebien 等^[31]的实验中通过将 BMSCs 与小脑颗粒神经元共同培养,以及通过 RT-PCR 分析、芯片分析、2D-DIGE 蛋白质组学分析、质谱分析法等发现 BMSCs 能在一定的培养条件下分化成有功能的神经细胞,并且也只能在适当的培养条件下才能真正分化成神经细胞(而不是通过细胞融合过程),并指出这可能是缘于 Wnt 信号通路被激活。

此外,有研究指出:将由 BMSCs 分化成的神经细胞移入受伤的脊髓中,这些细胞会和体内自身神经细胞突触连接,并有神经元分化、突触形成和电生理连接等现象的产生。除此之外,来源于这些转化细胞所分泌的神经营养因子,如转化生长因子- α 和脑神经营养因子也对功能恢复有着重要的贡献^[32-33]。

2.2 BMSCs 向神经细胞分化的内部因素

骨髓间充质干细胞可以促进中枢神经系统和周围神经系统神经组织的修复和再生,使细胞发生替换^[34-35],更多的可能是由于 BMSCs 向神经细胞的分化,那么 BMSCs 究竟是怎样向神经细胞分化的,下面将从 microRNAs 的表达、Notch 信号通路和 Wnt 信号通路等方面进行介绍。

2.2.1 microRNAs 的表达

随着 microRNA 的深入研究,其在神经系统发

育中的重要调控作用逐渐被人们认识, 成为神经科学研究的热点之一。microRNA 是一小段具有调控功能的非编码 RNA, 可通过转录水平、转录后水平和表观遗传学水平等方式调控基因的表达, 使得蛋白质特异性表达, 从而在神经分化和神经系统疾病中发挥重要作用。除此之外, microRNA 在干细胞自我复制和分化过程中起着重要的调节作用。通过对胚胎干细胞、生殖系干细胞和各种体组织干细胞的研究, 发现 microRNA 可能是从基因水平上调节 BMSCs 的特异性分化。microRNA 在转录后水平上通过与目标 mRNA 的 3' 端结合控制基因的表达, 从而调节干细胞生长分化和功能表达所需蛋白质的含量^[36]。

目前研究的与神经系统有关的 microRNA 主要有 microRNA-124 (miR-124) 和 miR-9。miR-124 是脑中含量最丰富的一类 microRNA, 对维持神经系统的正常发育有着非常重要的作用。Eph 受体和 ephrins 在胚胎发育过程中拥有非常复杂和充满活力的表达模式, 一旦在成体内的表达水平发生改变便会引起一系列疾病。Arvanitis 等^[37] 研究发现, ephrin-B1 是由一个涉及转录后调节机制的反馈回路所控制的, 且和 miR-124 有相互抑制作用, miR-124 是 Eph/ephrins 信号的感受器, 调节 ephrin-B1 的表达和功能, 从而在神经元分化过程中发挥着重要的作用。

Chen 等^[38] 发现 miR-124 和 Notch 信号之间的反馈作用参与调节表皮外围神经系统的发育。在表皮中线细胞中, notch 信号可以沉默 miR-124, 而在外围中线细胞的外周神经系统中, miR-124 可以沉默 notch 信号, 而且 miR-124 的异常表达可以通过调节 notch 信号促使表皮中线细胞转化为外周神经元细胞。Ambasudhan 等^[39] 也发现 miR-124 可以促使人成纤维细胞转化为有功能的神经元细胞, 并有典型的神经元细胞形态和标志基因的表达。这些都说明, miR-124 在神经元发育过程中有着重要的作用。

与此同时, 除了 miR-124 对神经元发育有着重要的调节作用外, Jing 等^[40] 发现 miR-9 可以促进 MSCs 向神经细胞的分化。经过免疫组化、蛋白质印迹和 RT-PCR 检测分析发现, 在 MSCs 向神经细胞分化过程中, 神经细胞特异性标志物和微管相关蛋白 2 的表达含量增加, 而 Notch-1 蛋白表达下降, 这就表明, miR-9 可能是通过调节 Notch 信号通路而促进 MSCs 神经元分化的。这一发现从新层次上揭示了基因调控对干细胞增殖分化的影响, 可以通过提高 BMSCs 分化效率, 改善运用 BMSCs 分化

潜能治疗疾病的效果。

在研究胚胎干细胞分化为神经细胞的实验中, Kamiya 等^[41] 发现, 作为早期神经核蛋白的锌指蛋白 521 在胚胎干细胞分化为神经细胞的过程中发挥着重要的激活和促进作用。由此推断, 在骨髓间充质干细胞分化为神经细胞的过程中, 锌指蛋白 521 是否表达, 是否发挥作用也有着一定的指导意义。Han 等^[42] 随后又发现, miR-9 可能是以锌指蛋白 521 为靶目标来促进 BMSCs 向神经细胞的分化。miR-9 具有促进神经细胞分化的功能, 在 BMSCs 向神经细胞分化的过程中, 锌指蛋白 521 的表达下降。锌指蛋白 521 是一种在未成熟细胞中含量较丰富而在已经分化了的细胞中含量相对较低的蛋白。因此, 推测 miR-9 是以锌指蛋白 521 为靶目标来促进 BMSCs 向神经细胞的分化。总之, 研究 BMSCs 分化过程中 miRNAs 的表达变化规律, 有助于我们更深入理解 BMSCs 向神经细胞分化的机制。

2.2.2 Notch信号通路

Notch 信号通路参与调节 MSCs 的分化过程。实验发现 mNotch-1shRNA 可以有效阻止 Notch-1 在 BMSCs 中的表达。免疫组化、RT-PCR、蛋白质印迹检测神经特异性标志物, 如神经元特异性烯醇化酶和神经丝蛋白 200, 发现其在引入 mNotch-1shRNA 的组别中的含量比对照组高, 而胶质纤维酸性蛋白的含量变化却相反, 且细胞凋亡的百分比也明显高于对照组。这些数据都表明, Notch 信号通路在 BMSCs 神经元分化过程中发挥着重要的作用。运用药物或基因干扰 Notch 信号通路也许会成为获得神经元细胞的一种新方法^[43]。

2.2.3 Wnt信号通路

Wnt 蛋白是一类分泌型蛋白生长因子, 可与细胞膜上受体相结合从而激活胞内信号通路, 参与干细胞的增殖、分化、迁移过程, 在神经发育的过程中有着重要的作用^[44]。有许多研究表明: Wnt 信号通路同样也控制着神经干细胞的增殖分化, 在神经发育中发挥重要的作用, 并能够通过促进神经前体细胞的增殖和抑制神经干细胞分化为神经元两条途径来增加大脑皮层体积^[45-46]。

Wnt3a 和 Wnt5a 作为 Wnt 家族的一份子, 同样对干细胞神经分化有着重要的调控作用。Baksh 等^[47] 研究发现, Wnt3a 可以诱导 BMSCs 分化为神经细胞。低密度脂蛋白相关蛋白 5 和 T-细胞因子可介导经典 Wnt 信号通路调控 BMSCs 的增殖, 且 Wnt3a 对此有增强作用。而 Wnt5a 则会促进 BMSCs 的骨生

成, 与 Wnt3a 互相抑制彼此对 BMSCs 的作用。表明 Wnt 信号可以通过以低密度脂蛋白相关蛋白 5 为共受体的拮抗作用来调节 MSCs 的增殖和分化过程。

Pokora 等^[48] 研究发现 Wnt1 不但能够促进神经干细胞的增殖, 而且还可以帮助神经元分化。同样 Gendebien 等^[31] 在实验中通过将 BMSCs 与小脑颗粒神经元共同培养, 发现 BMSCs 分化成有功能的神经细胞, 并指出这可能是由于 Wnt 信号通路被激活。

WNT/ β -catenin 信号可以通过激活神经系统中特异性神经元转录因子, 如神经原质蛋白 1、NeuroD、Brn3a 来促进神经细胞分化。Kondo 等^[49] 研究发现, Wnt1 可以诱导上述因子的表达, 并首次证实 Wnt1 可以上调 Tlx3 表达。染色质免疫沉淀实验表明, T-细胞因子 3/4 和 Wnt 信号激活的 DNA 结合蛋白与经神经诱导的 MSCs 的 Tlx3 的调控区有相互作用。研究还发现, 经神经元诱导后, MSCs 中被迫表达的 Tlx3 可以诱导产生谷氨酸能神经元标志物。因此, 认为 Tlx3 是经典 Wnt 信号的一个靶目标。综上所述, 深入研究 Wnt 信号通路将更有助于掌控 BMSCs 神经分化的机理, 对细胞疗法运用 BMSCs 治疗各种疾病有十分重要的意义。

Mohanty 等^[50] 体外培养人骨髓间充质干细胞时, 首次发现当细胞蛋白 (PrP) 表达降低时, 人骨髓间充质干细胞相应的增殖和分化能力也明显降低。PrP 具有促进造血干细胞和神经干细胞的增殖和自我更新的功能。由此推断, PrP 在骨髓间充质干细胞向神经细胞分化的过程中也可能发挥一定的作用。

3 小结

BMSCs 可在诱导剂的作用下定向分化为神经细胞, 并成功表达神经元特异性标志物, 被广泛应用于临床前期研究和临床试验, 并在治疗神经系统损伤和退行性病变方面已经显示出了极好的治疗效果。帕金森病、亨廷顿病、阿尔兹海默症和肌萎缩侧索硬化症, 这些疾病共同的原因都是部分神经元结构功能的丧失或是死亡, 而骨髓间充质干细胞可定向分化为神经细胞无道德伦理问题和自身免疫排斥问题, 是治疗这些疾病理想的细胞来源。Xue 等^[51] 也认为自体骨髓间质干细胞可以作为支持细胞的来源应用于神经组织工程中; 但是 BMSCs 分化为神经细胞的低比例也限制了其广泛应用, 如何调控和提高 BMSCs 的分化率也是我们亟需要解决的大问

题。尽管有报告指出, 在背部脊髓手术植入 MSC 耐受性良好, 在后来为期 9 年的追踪观察里没有发现并发症, 但是其长期临床疗效和安全性有待继续考察追踪^[52]。只有真正认识到 BMSCs 分化为神经细胞的具体作用机制和所分化的神经细胞的表型, 尤其是其合成神经递质的能力, 才能更深入有效地将其运用到细胞疗法中来治疗各种神经系统疾病, 我们也坚信 BMSCs 将为临床治疗多种神经系统疾病做出巨大贡献。

[参 考 文 献]

- [1] Uccelli A, Laroni A, Freedman MS. Mesenchymal stem cells for the treatment of multiple sclerosis and other neurological disease. *Lancet Neurol*, 2011, 10(7): 649-56
- [2] Jia YJ, Sun JP, Zhou Y, et al. Effects of Notch-1 signalling pathway on differentiation of marrow mesenchymal stem cells into neurons *in vitro*. *Neuroreport*, 2007, 18(14): 1443-7
- [3] Ren GW, Chen XD, Dong FP, et al. Mesenchymal stem cells and translational medicine: Emerging issues. *Stem Cell Trans Med*, 2012, 1(1): 51-8
- [4] Ramos SJ, Song S, Pelaez FC, et al. Adult bone marrow stromal cells differentiate into neural cells *in vitro*. *Exp Neurol*, 2000, 164(2): 247-56
- [5] Zhao LR, Duan WM, Reyes M, et al. Human bone marrow stem cells exhibit neural phenotypes and ameliorate neurological deficits after grafting into the ischemic brain of rats. *Exp Neurol*, 2002, 174(1): 11-20
- [6] Mezey E, Chandross KJ, Harta G, et al. Turning blood into brain: cells bearing neuronal antigens generated *in vitro* from bone marrow. *Science*, 2000, 290(5497): 1779-82
- [7] Brazelton TR, Rossi FM, Keshet GI, et al. From marrow to brain: expression of neuronal phenotype in adult mice. *Science*, 2000, 290(5497): 1775-9
- [8] Mezey E, Key S, Vogelsang G, et al. Transplanted bone marrow generates new neurons in human brains. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(3): 1364-9
- [9] Aleksandrova MA, Sukhikh GT, CHailakhyan RK, et al. Comparative analysis of differentiation and behavior of human neural and mesenchymal stem cells *in vitro* and *in vivo*. *Bull Exp Biol Med*, 2006, 141(1): 152-60
- [10] Chai LH, Wu SX, Chen ZD, et al. Structural and functional characteristics of human bone marrow mesenchymal stem cells-derived dopaminergic neurons. *J Clin Rehab Tissue Eng Res*, 2008, 12(29): 5793-6
- [11] Thomas MG, Stone L, Evill L, et al. Bone marrow stromal cells as replacement cells for Parkinson's disease: generation of an anatomical but not functional neuronal phenotype. *Transl Res*, 2011, 157(2): 56-63
- [12] Bao XJ, Wei JI, Feng M, et al. Transplantation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells promotes behavioral recovery and endogenous neurogenesis after cerebral ischemia in rats. *Brain Res*, 2011, 1367: 103-13

- [13] Zhou J, Tian GP, Wang JE, et al. *In vitro* differentiation of adipose-derived stem cells and bone marrow-derived stromal stem cells into neuronal-like cells. *Neural Regen Res*, 2011, 6(19): 1467-72
- [14] Wang XS, Li HF, Zhao Y, et al. Radix astragalus-induced differentiation of rat bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Neural Regen Res*, 2009, 4(7): 497-502
- [15] Tondreau T, Dejenefte M, Meuleman N, et al. Gene expression pattern of functional neuronal cells derived from human bone marrow mesenchymal stromal cells. *BMC Genomics*, 2008, 9: 116
- [16] Matsuda R, Yoshikawa M, Kimura H, et al. Cotransplantation of mouse embryonic stem cells and bone marrow stromal cells following spinal cord injury suppresses tumor development. *Cell Transplant*, 2009, 18(1): 39-54
- [17] Kim SU, Vellis JD. Stem cell-based cell therapy in neurological diseases. *J Neurosci Res*, 2009, 87(10): 2183-200
- [18] Peng Y, Zhang QM, You H, et al. Growth-associated protein 43 and neural cell adhesion molecule expression following bone marrow-derived mesenchymal stem cell transplantation in a rat model of ischemic brain injury. *Neural Regen Res*, 2010, 5(13): 975-80
- [19] Li Q, Geng YJ, Lu L, et al. Platelet-rich fibrin-induced bone marrow mesenchymal stem cell differentiation into osteoblast-like cells and neural cells. *Neural Regen Res*, 2011, 6(31): 2419-23
- [20] Tfilin M, Sudai E, Merenlender A, et al. Mesenchymal stem cells increase hippocampal neurogenesis and counteract depressive-like behavior. *Mol Psych*, 2010, 15: 1164-75
- [21] Sugaya K, Kwak YD, Ohmitsu O, et al. Practical issues in stem cell therapy for Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res*, 2007, 4(4): 370-7
- [22] Abrams MB, Dominguez C, Pernold K, et al. Multipotent mesenchymal stromal cells attenuate chronic inflammation and injury-induced sensitivity to mechanical stimuli in experimental spinal cord injury. *Restor Neurol Neurosci*, 2009, 27(4): 307-21
- [23] Trounson A, Thakar RG, Lomax G, et al. Clinical trials for stem cell therapies. *BMC Med*, 2011, 9: 52
- [24] Dey ND, Bombard MC, Roland BP, et al. Genetically engineered mesenchymal stem cells reduce behavioral deficits in the YAC 128 mouse model of Huntington's disease. *Behav Brain Res*, 2010, 214(2):193-200
- [25] Lin YT, Chern Y, Shen CKJ, et al. Human mesenchymal stem cells prolong survival and ameliorate motor deficit through trophic support in Huntington's disease mouse models. *PLoS One*, 2011, 6(8): e22924
- [26] Sakthiswary R, Raymond AA. Stem cell therapy in neurodegenerative diseases. *Neural Regen Res*, 2012, 7(23): 1822-31
- [27] Kemp K, Hares K, Mallam E, et al. Mesenchymal stem cell-secreted superoxide dismutase promotes cerebellar neuronal survival. *J Neurochem*, 2010, 114(6): 1569-80
- [28] Soleimani M, Abbasnia E, Fathi M, et al. The effects of low-level laser irradiation on differentiation and proliferation of human bone marrow mesenchymal stem cells into neurons and osteoblasts—an *in vitro* study. *Lasers Med Sci*, 2012, 27(2): 423-30
- [29] Wei L, Fraser JL, Lu ZY, et al. Transplantation of hypoxia preconditioned bone marrow mesenchymal stem cells enhance angiogenesis and neurogenesis after cerebral ischemia in rats. *Neurobiol Dis*, 2012, 46(3): 635-45
- [30] Pedram MS, Dehghan MM, Soleimani M, et al. Transplantation of a combination of autologous neural differentiated and undifferentiated mesenchymal stem cells into injured spinal cord of rats. *Spinal Cord*, 2010, 48: 457-63
- [31] Gendebien SW, Laudet E, Neirinckx V, et al. Mesenchymal stem cells and neural crest stem cells from adult bone marrow: characterization of their surprising similarities and difference. *Cell Mol Life Sci*, 2012, 69(15): 2593-608
- [32] Lepore AC, Neuhuber B, Connors TM, et al. Long-term fate of neural precursor cells following transplantation into developing and adult CNS. *Neuro Sci*, 2006, 142(1): 287-304
- [33] Auerbach JM, Eiden MV, McKay RD. Transplanted CNS stem cells form functional synapses *in vivo*. *Eur J Neurosci*, 2000, 12(5): 1696-704
- [34] Alexanian AR, Maiman DJ, Kurpad SN, et al. *In vitro* and *in vivo* characterization of neurally modified mesenchymal stem cells induced by epigenetic modifiers and neural stem cell environment. *Stem Cells Dev*, 2008, 17(6): 1123-30
- [35] Bae JS, Han HS, Youn DH, et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells promote neuronal networks with functional synaptic transmission after transplantation into mice with neurodegeneration. *Stem Cells*, 2007, 25(5): 1307-16
- [36] Yi R, Fuchs E. MicroRNAs and their roles in mammalian stem cells. *J Cell Sci*, 2011, 124: 1775-83
- [37] Arvanitis DN, Jungas T, Behar A, et al. Ephrin-B1 reverse signaling controls a posttranscriptional feedback mechanism via miR-124. *Mol Cell Biol*, 2010, 30(10): 2508-17
- [38] Chen JS, Pedro MS, Zeller RW. miR-124 function during ciona intestinalis neuronal development includes extensive interaction with the notch signaling pathway. *Development*, 2011, 138: 4943-53
- [39] Ambasadhan R, Talantova M, Coleman R, et al. Direct reprogramming of adult human fibroblasts to functional neurons under defined conditions. *Cell Stem Cell*, 2011, 9(2): 113-8
- [40] Jing LJ, Jia YL, Lu JJ, et al. MicroRNA-9 promotes differentiation of mouse bone mesenchymal stem cells into neurons by notch signaling. *Neuroreport*, 2011, 22(5): 206-11
- [41] Kamiya D, Banno S, Sasai N, et al. Intrinsic transition of embryonic stem cell differentiation into neural progenitors. *Nature*, 2011, 470: 503-9
- [42] Han R, Kan QC, Sun YP, et al. MiR-9 promotes the neural differentiation of mouse bone marrow mesenchymal stem

- cells via targeting zinc finger protein 521. *Neurosci Lett*, 2012, 515(2): 147-52
- [43] Jia YJ, Sun JP, Zhou Y, et al. Effects of Notch-1 signaling pathway on differentiation of marrow mesenchymal stem cells into neurons *in vitro*. *Neuroreport*, 2007, 18(14): 1443-7
- [44] Miller JR. The Wnts. *Genome Biol*, 2002, 3(1): 1-15
- [45] Ling L, Nurcombe V, Cool SM. Wnt signaling controls the fate of mesenchymal stem cells. *Gene*, 2009, 433(1-2): 1-7
- [46] Hirabayashi Y, Itoh Y, Tabata H, et al. The Wnt/ β -catenin pathway directs neuronal differentiation of cortical neural precursor cells. *Development*, 2004, 131(12): 2791-801
- [47] Baksh D, Boland GM, Tuan RS. Cross-talk between Wnt signaling pathways in human mesenchymal stem cells leads to functional antagonism during osteogenic differentiation. *J Cell Biochem*, 2007, 101(5): 1109-24
- [48] Pokora BR, Bush M, Beier M, et al. Wilms tumor cells with WT1 mutations have characteristic features of mesenchymal stem cells and express molecular markers of paraxial mesoderm. *Hum Mol Genet*, 2010, 19(9): 1651-68
- [49] Kondo T, Matsuoka AJ, Shimomura A, et al. Wnt signaling promotes neuronal differentiation from mesenchymal stem cells through activation of Tlx3. *Stem Cells*, 2011, 29(5): 836-46
- [50] Mohanty ST, Cairney CJ, Chantry AD, et al. A small molecule modulator of protein increases human mesenchymal stem cell lifespan, *ex vivo* expansion, and engraftment to bone marrow in NOD/SCID mice. *Stem Cells*, 2012, 30(6): 1134-43
- [51] Xue CB, Hu N, Gu Y, et al. Joint use of a chitosan/PLGA scaffold and MSCs to bridge an extra large gap in dog sciatic nerve. *Neurorehabil Neural Repair*, 2012, 26(1): 96-106
- [52] Mazzini L, Mareschi K, Ferrero I, et al. Mesenchymal stromal cell transplantation in amyotrophic lateral sclerosis: a long-term safety study. *Cytotherapy*, 2012, 14(1): 56-60