

中药联合骨髓间充质干细胞治疗缺血性脑卒中作用及机制研究进展

潘小龙, 孙世标, 魏智慧, 刘飞祥, 张运克*
(河南中医药大学, 郑州 450046)

[摘要] 脑卒中是威胁人类健康的主要疾病之一,其中缺血性脑卒中约占70%。缺血性脑卒中具有病理机制复杂、发病率高、致残率高和死亡率高的特点。目前,对缺血性卒中有效的临床治疗措施非常有限,迫切需要开发新的有效的治疗措施以改善患者预后。近年来,骨髓间充质干细胞(BMSCs)移植对包括缺血性脑卒中在内的多种疾病展现出巨大的治疗潜力,成为一个新的研究热点,但由于BMSCs移植后在人体中的归巢率和存活率低等问题,其对缺血性卒中的临床疗效有待进一步提升。中药具有多成分、多途径、多靶点等特点,其对缺血性脑卒中的良好疗效受到广泛关注。中药与BMSCs移植均具有良好的整体脑保护作用,二者联合对缺血性卒中的疗效明显优于单独应用,作用机制包括提高BMSCs移植效率、促进血管新生、增强神经可塑性、改善神经炎症、增强神经保护、调控血脑屏障及外泌体。这种中药与现代前沿细胞疗法相结合的治疗方法体现了中西医结合的优势所在,为缺血性脑卒中的防治和提高BMSCs移植疗效提供了新的模式和思路。

[关键词] 中药; 骨髓间充质干细胞; 缺血性脑卒中; 作用机制; 外泌体

[中图分类号] R2-0;R33;G353.11 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2022)15-0248-11

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20221340

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20220518.1023.002.html>

[网络出版日期] 2022-05-18 15:18

Effect and Mechanism of Chinese Medicine Combined with Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells in Treatment of Ischemic Stroke: A Review

PAN Xiaolong, SUN Shibiao, WEI Zhihui, LIU Feixiang, ZHANG Yunke*
(Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China)

[Abstract] Stroke is one of the major diseases threatening human health, with ischemic stroke accounting for about 70%. Ischemic stroke is characterized by complex pathological mechanism and high incidence, mobility and mortality. At present, the effective clinical treatment measures for ischemic stroke are limited, and it is urgent to develop new and effective treatment measures to improve the prognosis of patients. In recent years, bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs) transplantation has shown great therapeutic potential for a variety of diseases, including ischemic stroke, and has become a new research hotspot. However, due to the low homing and survival rate of BMSCs in human body after transplantation, their clinical effect on ischemic stroke needs to be further improved. With the characteristics of multi-components, multi-channels and multi-targets, Chinese medicine displays desirable curative effect on ischemic stroke, which has been widely concerned. Both Chinese medicine and BMSCs transplantation have good overall brain protection, and their combined effect on ischemic stroke is significantly better than that of single application. The mechanisms include improving the transplantation efficiency of BMSCs, promoting angiogenesis, enhancing neuroplasticity, ameliorating

[收稿日期] 2022-02-08

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81974564,82104730);中原英才计划—科技创新领军人才项目(224200510027)

[第一作者] 潘小龙,在读硕士,从事中医药防治脑血管疾病研究,E-mail:2909630489@qq.com

[通信作者] *张运克,教授,主任医师,博士生导师,博士后合作导师,从事中医药防治神经系统疾病研究,E-mail:henanzky@126.com

neuroinflammation, enhancing neuroprotection, and regulating the blood-brain barrier and exosomes. The combination of Chinese medicine and modern cutting-edge cell therapy reflects the advantages of integrative medicine, providing a new model and idea for preventing and treating ischemic stroke and improving the efficacy of BMSCs transplantation.

[Keywords] traditional Chinese medicine; bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs); ischemic stroke; mechanism; exosomes

脑卒中是全球第二大致死原因和造成残疾负担最重的神经疾病,脑卒中的主要类型是缺血性卒中,约占所有脑卒中70%^[1-3]。由于缺血性卒中损伤涉及神经血管单位的所有组成部分,包括内皮细胞、周细胞、神经元、胶质细胞、髓鞘和细胞外基质蛋白等^[4],目前有效的治疗措施很少,静脉注射组织型纤溶酶原激活剂与机械取栓术虽然有效,但受严格的时间窗及再出血等风险的限制,只有极少数患者从再通治疗中获益^[5]。因此,开发治疗缺血性卒中的新方法迫在眉睫。

作为治疗缺血性卒中的一种新方法,越来越多的研究证明干细胞移植是一种有希望的疗法。骨髓间充质干细胞(BMSCs)具有培养相对简单、增殖速度快、遗传稳定性高、多向分化能力强和低免疫原性等特点,是目前研究最多的间充质干细胞^[6-7]。大量临床前研究证明,BMSCs移植可促进缺血性卒中后神经功能恢复,作用机制包括调节炎症和免疫反应、促进血管新生、调节血脑屏障、增强神经可塑性、增强神经保护和促进线粒体转移等^[8]。多项临床试验亦证明了BMSCs移植治疗缺血性卒中的安全性和有效性,但由于BMSCs移植后归巢率低、存活率低及分化能力差等问题,其临床疗效并不尽如人意^[9],进一步增强BMSCs移植疗效是必要的。

缺血性卒中属中医“中风”范畴,中药治疗缺血性卒中历史悠久,效果显著,具有多途径和多靶点的优势。大量研究证明中药联合BMSCs移植治疗缺血性卒中效果显著优于单独BMSCs移植或应用中药。现将近十年中药联合BMSCs移植治疗缺血性卒中的作用及机制进行综述,以期对缺血性卒中的防治及提高BMSCs移植疗效提供参考。

1 中药提高BMSCs移植效率

BMSCs移植后只有一小部分细胞到达受损区域,而且这些细胞往往很快消失,存活率低^[10],存活体内的BMSCs分化为神经细胞的比率也非常低^[11],这些因素严重降低了BMSCs对缺血性卒中的疗效。

1.1 促进BMSCs归巢

BMSCs归巢是从移植局部迁移定植至靶组织的过程^[12],目前,BMSCs归巢机制尚未完全阐明,研究发现BMSCs归巢受黏附分子、趋化因子、生长因子、细胞大小、培养条件、移植方法等多种因素的影响^[13]。

基质细胞衍生因子-1(SDF-1)/趋化因子受体4(CXCR4)信号轴对BMSCs归巢至关重要:SDF-1是一种趋化因子,由缺血周边区域的星形胶质细胞和内皮细胞分泌,可与BMSCs表面的CXCR4结合,引导BMSCs归巢。研究发现川芎嗪^[14]、黄芪皂苷IV^[15]、阿魏酸钠^[16]和清热化痰方^[17]均可提高脑缺血大鼠脑组织SDF-1表达,川芎嗪^[18]及黄芪皂苷IV亦可促进BMSCs表面CXCR4表达,通过增强SDF-1/CXCR4信号轴促进BMSCs归巢。扎里奴思方可抑制P-糖蛋白(P-gp)、水通道蛋白4(AQP4)、血管间细胞黏附分子-1(VCAM-1)mRNA及其受体整合素 $\alpha 4$ (Integrin $\alpha 4$) mRNA表达,促进闭合蛋白(Occludin)及紧密连接蛋白-5(Claudin-5)mRNA表达,通过调控缺血性卒中后血脑屏障通透性促进BMSCs迁移^[19]。丹红注射液及黄芪甲苷配伍三七总皂苷亦可促进BMSCs迁移、存活、增殖、分化^[20-21]。

1.2 提高BMSCs移植后存活率 BMSCs移植后在体内存活率很低,主要与两方面因素有关:①BMSCs的自身活性较低;②缺血性卒中造成的脑内恶劣微环境,如炎症、高氧化应激及营养缺乏等不利于移植后BMSCs的存活^[22]。研究发现^[23]川芎嗪预处理可通过提高BMSCs中B细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)蛋白、磷酸化蛋白激酶B(p-Akt)及磷酸化细胞外信号调节蛋白激酶1/2(p-ERK1/2)表达,降低BMSCs中Bcl-2相关X蛋白(Bax)表达,通过磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)/蛋白激酶B(Akt)和细胞外信号调节蛋白激酶1/2(ERK1/2)信号通路保护BMSCs免受过氧化氢(H₂O₂)诱导的凋亡。丹参提取物^[24]不仅可促进BMSCs的体外增殖,而且通过促进BMSCs表达Bcl-2蛋白,抑制Bax及胱天蛋白酶(Caspase)-3蛋白表达抑制BMSCs凋亡。人参皂苷Rg₁^[25]及黄芪甲苷配伍三七总皂苷^[26]均可改善缺血

性卒中后脑内恶劣微环境,促进移植后 BMSCs 存活,后者的作用机制可能为提高脑组织中脑源性神经营养因子(BDNF)和胶质细胞源性神经营养因子(GDNF)表达。补肾化痰生新方^[27]可下调缺氧微环境细胞体外模型中 miRNA-124a 及肿瘤坏死因子- α (TNF- α)表达,提高白细胞介素-10(IL-10)表达,改善炎性微环境,促进 BMSCs 存活、增殖及分化。

1.3 促进 BMSCs 向神经细胞分化 向神经样细胞分化的 BMSCs 呈典型神经细胞形态,并可表达神经细胞标志物,如神经元特异性烯醇化酶(NSE)、胶质纤维酸性蛋白(GFAP)及巢蛋白(Nestin)等。研究发现扎里奴思方^[19,28]可增强脑组织中 GDNF 及神经生长因子(NGF)表达,促进 BMSCs 向神经样细胞分化。阿魏酸钠^[29]不仅可上调骨形态发生蛋白 2/4(BMP2/4)表达,促进 BMSCs 向星形胶质细胞分化,还可下调 Notch 信号通路相关蛋白 Notch-1 及 HES 家族发状分裂相关增强子 1、5(Hes1、Hes5)表达,促进内源性干细胞和 BMSCs 向缺血边界区未成熟神经元分化。铁皮石斛多糖^[30]可抑制 Notch 通路,诱导 BMSCs 呈典型的神经元形态。木香炔内酯^[31]、黄芪注射液^[32]及补阳还五汤^[33]促进 BMSCs 表达 NSE 及 GFAP,木香炔内酯还可促进 BMSCs 分泌 Nestin。

2 促进血管新生

血管新生是指从现有的血管系统中萌发出新的微血管,可增强脑缺血后侧支循环。研究表明,血管新生与卒中患者存活率呈正相关^[34]。缺血性卒中后脑组织血管新生受多种促血管生成和抗血管生成因子严格调控^[35]。血管内皮生长因子(VEGF)在血管新生过程中具有重要作用,其大部分血管新生效应由血管内皮生长因子受体 2(VEGFR2)介导^[36]。VEGF 与 VEGFR2 结合后最少可以通过 3 条下游信号通路的激活促进血管新生:①激活丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)/细胞外调节蛋白激酶(ERK)通路促进内皮细胞的增殖;②激活 PI3K/Akt 通路抑制内皮细胞凋亡,同时促进其下游一氧化氮合酶(eNOS)形成和一氧化氮产生,导致血管扩张和通透性增加;③激活 PI3K/p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38 MAPK)通路,导致黏附分子,如钙黏蛋白及连接蛋白等与 VEGFR2 形成复合物,从而削弱细胞间链接,促进细胞迁移^[37]。

研究发现川芎嗪^[14]、淫羊藿苷^[38]、黄芪皂苷 IV^[15]、脑脉 1 号^[39-40]及清热化痰方^[41-42]联合 BMSCs 移植均可促进脑缺血大鼠脑组织中 VEGF 表达,增强血管新生。阿魏酸钠和正丁基苯酞^[43-44]联合

BMSCs 移植相较于 BMSCs 移植可通过 Akt/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)通路激活增强星形胶质细胞表达 VEGF 和 BDNF,增强缺血半暗带血管生成与神经再生。银杏内酯 K^[45]联合 BMSCs 移植可增强脑组织中缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)及 VEGF 表达,增强血管新生。课题组前期研究发现补阳还五汤联合 BMSCs 移植相较于 BMSCs 移植增强脑缺血后血管新生作用更强,作用机制包括:①逆转抗 CD34 和 CD45 抗体引起的血管内皮细胞数量减少、整合素 α V β 3 及其下游信号分子表达下降^[46];②提高脑缺血大鼠脑组织中 VEGF 表达,激活 VEGF/VEGFR2 通路及 PI3K/Akt 通路^[47];③降低基质金属蛋白酶组织抑制物-1 干预后脑缺血大鼠脑组织中凝血因子 VIII(FVIII)数量,抑制血栓形成^[48]。

血管生成素(Ang)/酪氨酸激酶受体(Tie)通路是参与血管生成的特异性酪氨酸激酶通路。Ang 家族包括 Ang-(1-4),Ang-1 和 Ang-2 是研究重点,其活性通过 Tie-1 和 Tie-2 介导。Tie-2 是 Ang/Tie 通路中最突出的受体,具有强大的血管生成和血管稳定作用^[49]。在脑缺血后的血管新生过程中,Ang-2 会破坏血管稳定性,促使血管内皮细胞迁移,而 Ang-1 与 Tie-2 结合后使 Tie-2 发生磷酸化,激活其下游 PI3K/Akt 信号通路,一方面促使内皮细胞形成血管样结构,另一方面聚集内皮周围支持细胞,二者共同完成血管的重塑和成熟^[50]。研究发现^[51]当归提取物联合 BMSCs 移植可提高脑缺血大鼠脑组织中 Ang-1、Tie-2 和血管内皮生长因子-A(VEGF-A)的表达,诱导血管生成。黄芪甲苷配伍三七总皂苷^[52]联合 BMSCs 移植可提高脑组织中 Ang-1 和转化生长因子- β_1 (TGF- β_1)的表达,增强 BMSCs 向血管的定向分化。脉脉通^[53-54]联合 BMSCs 移植可增强 BMSCs 向血管内皮细胞分化和成血管样作用,减轻微血管基底膜层黏连蛋白(LN)和 IV 型胶原(ColIV)的降解,增强脑微血管保护作用。

3 增强神经可塑性

神经可塑性是治疗缺血性卒中的研究热点,人类具有多种形式的神经可塑性,如神经再生、突触重构和轴突生长^[55]等。在合适的条件下,BMSCs 可以分化为神经元,然而,研究发现尽管移植到梗死区周围皮质的 BMSCs 可以表达神经元特异性标记物,但分化出的神经元并不成熟,呈圆形,纤维突起少,更重要的是,其缺乏产生动作电位所需的电压门控离子通道,因此,神经替代可能不是 BMSCs 治疗缺血性卒中的主要机制。脑缺血的一个突出

延迟效应是成人内源性神经发生的强劲增长,但是由于内源性神经再生是有限的,且脑缺血造成的恶性微环境导致大多数新生细胞不能存活,人们对通过细胞治疗增强卒中后神经再生越来越感兴趣。

神经营养因子是一类多效性分子,可调节神经元发生、轴突生长及突触重构。研究发现,丹参酮Ⅱ^[56]联合 BMSCs 移植可促进梗死区 BDNF 表达,抑制勿动蛋白-A(Nogo-A)及勿动蛋白受体(NgR)表达,增强神经再生。川芎嗪^[14]及淫羊藿苷^[38]联合 BMSCs 相较于单纯 BMSCs 移植可促进脑组织中 BDNF 表达(后者可能与增强 PI3K 和 ERK1/2 通路的磷酸化相关),增强神经再生。

影响突触可塑性和轴突生长的蛋白有很多种。生长相关蛋白-43(GAP-43)分布于突触前膜,是神经元特异性磷蛋白,调控由 G 蛋白介导的细胞内信号转导,是轴突生长和突触重构的标志物之一^[57]。脑脉通^[58-61]联合 BMSCs 移植相较于单独 BMSCs 移植不仅可上调脑组织中 GDNF、NGF 及 NSE 的表达,促进神经再生,还可促进脑组织中 GAP-43、突触素-38(SYN-38)及突触后致密物质-95(PSD-95)的表达,增强突触重构。扎里奴思方^[62-64]联合 BMSCs 移植相较单纯 BMSCs 移植不仅可调控脑内 VCAM-1 和 Integrin α 4 的动态表达,提高脑缺血后脑组织神经元核抗原(NeuN)含量,增强神经再生,还可促进脑组织中 GAP-43 和神经微丝蛋白-200(NF-200)表达,降低髓磷脂相关糖蛋白(MAG)及 Nogo-A 含量,调节 SYN 及 PSD-95 的动态表达,增强轴突再生和突触重构。

4 改善神经炎症

神经炎症在脑缺血的病理生理中具有重要作用,一方面炎症是组织修复所必需的,另一方面炎症是卒中后继发性脑损伤的重要因素。脑梗死后小胶质细胞和内皮细胞被激活,导致细胞因子和趋化因子的产生,随后外周白细胞浸润受累区域导致组织损伤^[65]。小胶质细胞作为中枢神经系统的常驻免疫细胞在中风后迅速激活分化为 M1 或 M2 表型。M1 极化小胶质细胞释放促炎因子和细胞毒性物质导致神经元丢失和血脑屏障破坏。M2 极化小胶质细胞产生抗炎因子和神经保护介质在中风后发挥有益作用^[66]。内皮细胞激活增加选择素和黏附分子表达,这是从外周血中招募白细胞的关键步骤,随后,浸润的白细胞(主要是中性粒细胞)进一步释放细胞因子及趋化因子,最重要的是释放过量的活性氧物质,促进基质金属蛋白酶的产生,进一

步加剧炎症反应,导致血脑屏障破坏、脑水肿和神经元死亡^[67]。

铁皮石斛多糖^[68]与 BMBCs 共培养所得的神经样细胞经侧脑室注射后相较于单纯 BMBCs 可进一步降低脑缺血大鼠脑组织中 TNF- α 、白细胞介素(IL)-1 β 和 IL-6 水平,减轻神经炎症,减小脑梗死体积。扎里努思方^[19,62]联合 BMSCs 与单纯 BMSCs 移植相比可显著降低脑缺血大鼠脑组织中 VCAM-1 及 Integrin α 4 mRNA 表达,改善神经炎症。

5 增强神经保护

脑缺血发生后,脑组织形成缺血灶,分为中心缺血区和周围缺血半暗带,大部分细胞在缺血中心死亡,缺血半暗带的结构发生改变,但神经元仍然存活,随着缺血时间延长,缺氧和低糖导致缺血半暗带神经元三磷酸腺苷生成减少和细胞死亡,此外,来自缺血核心的高水平谷氨酸可以诱导缺血半暗带内一氧化氮和氧自由基等凋亡介质的产生,导致神经元凋亡^[69]。缺血半暗带神经元保护是治疗缺血性卒中的关键。

神经营养因子不仅可增强神经可塑性,亦具有强大的神经保护作用。研究发现^[70]疏血通胶囊联合 BMSCs 移植相较于单纯 BMSCs 移植能进一步增强脑缺血大鼠脑组织中 BDNF 和 VEGF 表达,减少神经元凋亡。补阳还五汤^[71]联合 BMSCs 移植相较于单纯 BMSCs 移植能显著增加脑缺血大鼠脑组织中碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)mRNA 表达,更好地减轻脑组织损伤。

Bcl-2 蛋白家族密切调控线粒体凋亡,该家族按凋亡表型分为促生存蛋白和促凋亡蛋白。Bcl-2 相关 k 蛋白(Bak)和 Bax 是凋亡途径的参与者,其构象变化和对凋亡应激源的寡聚反应促进线粒体外膜通透性(MOMP),从而导致细胞色素 C 从线粒体渗漏到胞浆中与凋亡蛋白酶激活因子-1 结合,促进凋亡体的形成并刺激启动子 Caspase-9 的二聚化, Caspase-9 进而裂解并激活原 Caspase-(3、6 和 7),最终启动 Caspase 级联反应和细胞死亡,而 Bcl-2 蛋白可隔离 Bax 和 Bak,维持 MOMP 发挥抗凋亡作用^[72-74]。研究发现川芎嗪^[75]、人参皂苷 Rg₁^[76-77]及黄芪皂苷 IV^[78]联合 BMSCs 移植均可通过促进脑组织 Bcl-2 蛋白表达和下调脑组织 Bax 蛋白表达抑制神经细胞凋亡。淫羊藿苷^[38]和丹红注射液^[79]联合 BMSCs 均可促进脑组织 Bcl-2 蛋白表达,抑制神经元凋亡(前者可能与增强 PI3K 和 ERK1/2 通路的磷酸化相关)。清热化痰方^[17,80-81]联合缺氧预处理骨

髓间充质干细胞(HP-BMSCs)移植相较于单纯HP-BMSCs移植能进一步促进缺血脑组织SDF-1、CXCR4、PI3K、Akt及eNOS表达,通过激活SDF-1/CXCR4/PI3K/Akt/eNOS信号轴抑制神经细胞凋亡。

6 调控血脑屏障

脑水肿是缺血性卒中死亡的主要因素^[82]。脑水肿的形成与血脑屏障破坏和淋巴系统激活密切相关。血脑屏障由一层细胞间连接紧密结合的脑微血管内皮细胞、嵌入基底膜的周细胞和星形胶质细胞组成^[83],作为一个动态的代谢界面,通过双向调节液体和溶质的运输及代谢潜在的神经毒性化合物来维持大脑脆弱的动态平衡^[84]。紧密连接(TJ)由Claudins、Occludin和连接黏附分子3种跨膜蛋白组成,其稳定性需要细胞质的辅助分子闭锁小带蛋白维持。卒中后进行性TJ功能障碍会破坏血脑屏障通透性并促进脑水肿的形成。基质金属蛋白酶-2、9(MMP-2、MMP-9)可裂解TJ组成蛋白Claudins及Occludin,是破坏血脑屏障完整性的关键因子。淋巴系统在卒中后脑水肿过程中起双重作用,AQP4是淋巴系统功能的重要支持者,在脑水肿的早期阶段(细胞毒性和离子性水肿),AQP4的上调可能会加剧脑水肿的形成,而在血管源性水肿阶段,AQP4对脑水肿的清除起关键作用^[85]。

补阳还五汤联合BMSCs移植相较于单纯BMSCs移植能更好的减轻脑缺血后脑水肿,作用机制可能为上调缺血脑组织中Occludin、Claudin、连接黏附分子-A(JAM-A)及闭锁小带蛋白-1(ZO-1)^[86]表达,降低MMP-9、MMP-2^[87]及AQP4^[88]表达,改善血脑屏障通透性。扎里奴思方^[89-91]联合BMSCs移植相较单纯BMSCs移植可通过上调缺血脑组织中Occludin及Claudin-5 mRNA转录水平、调节AQP4动态表达及下调P-gp表达保护血脑屏障通透性,减轻脑水肿与神经元损伤。

7 调控外泌体

外泌体(Eosomes)是直径约40~100 nm的细胞外囊泡,通过内吞途径从多种细胞中释放出来,将含有的核酸、脂质和蛋白质等转移到靶细胞,在生理和病理生理条件下引起细胞活动和功能改变^[92-93]。在外泌体携带的物质中,miRNA非常重要,是外泌体功能的核心^[94]。目前,治疗缺血性卒中最有效的细胞来源的外泌体类型尚未确定^[95],但BMSCs源性外泌体(BMSCs-Exo)可通过促进血管新生、减轻神经炎症、调控血脑屏障、增强神经可塑性及抗凋亡促进缺血性卒中的神经功能恢复^[96-97]。

研究发现,与BMSCs比较,BMSCs-Exo在具有相媲美的促进神经功能恢复作用的同时^[98]还具有BMSCs所不具备的优点:①易于保存,更容易临床大量应用^[99];②低致瘤性及低栓子形成风险^[100];③分子量小,容易通过血脑屏障;④作为药物载体,可根据脑组织修复需要进行工程设计,携带特定的治疗分子,实现精准化治疗^[101-102]。

补阳还五汤^[103]共培养的BMSCs分泌的外泌体相较于未共培养的BMSCs分泌的外泌体,诱导内皮细胞分泌VEGF的作用更强,提高脑缺血大鼠脑组织中血管密度的作用更强,作用机制可能为补阳还五汤促进BMSCs-Exo中miRNA-126的表达,降低miRNA-221和miRNA-222的表达。芎归方^[104-107]与BMSCs-Exo联用相较于单纯BMSCs-Exo能更好地改善脑缺血大鼠神经功能,作用机制包括:①减少大鼠缺血性脑损伤后半暗带M1型小胶质细胞表面标志物TNF- α 及诱导型一氧化氮合酶(iNOS)mRNA表达,降低促炎因子IL-1 β 及IL-6 mRNA表达,增加M2型小胶质细胞表面标志物转化生长因子- β (TGF- β)及Ang-1 mRNA表达,促进抗炎因子IL-13 mRNA表达,改善神经炎症;②上调信号蛋白3G(Sema3G)、神经毡蛋白2(Nrp2)、神经丛素A4(PlexinA4)、PSD-95及SYN表达,通过Sema3G/Nrp2/PlexinA4通路提高突触密度及树突棘生长,增强海马区突触重构;③增强神经发生及轴突再生;④促进磷酸化磷脂酰肌醇3-激酶(p-PI3K)、p-Akt、磷酸化哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(p-mTOR)、磷酸化p70核糖体蛋白S6激酶(p-p70S6K)及VEGF蛋白表达,通过PI3K/Akt/mTOR/p70S6K通路增强血管新生。中药有效成分联合BMSCs治疗缺血性脑卒中作用机制总结见表1。中药复方及中成药联合BMSCs治疗缺血性脑卒中作用机制总结见表2。

8 总结与展望

通过综述可以发现中药联合BMSCs移植相较于单纯BMSCs移植或应用中药可以更好的促进缺血性卒中神经功能恢复,作用机制包括促进移植的BMSCs归巢、存活、增殖及向神经细胞分化、促进血管新生、增强神经可塑性、改善神经炎症、增强神经保护、调控血脑屏障及外泌体。

BMSCs于1976年首次在骨髓中被发现,是目前研究最多的间充质干细胞亚型,但由于BMSCs移植后归巢率低、存活率低及分化能力差,其促进缺血性卒中神经功能恢复的效果并不尽如人意。用不同策略提高BMSCs移植效率成为研究热点,目前

表 1 中药有效成分联合 BMSCs 治疗缺血性脑卒中作用机制

Table 1 Mechanism of effective components of traditional Chinese medicine combined with BMSCs in treating ischemic stroke

中药有效成分	作用机制	药理作用
丹参酮 II	促进 BDNF 表达;抑制 Nogo-A 和 NgR 表达	促进神经再生
川芎嗪	促进 SDF-1、CXCR4、VEGF、BDNF 和 Bcl-2 及其 mRNA 表达;抑制 Bax 及其 mRNA 表达	促进 BMSCs 归巢、抑制 BMSCs 凋亡、促进血管新生及神经再生、抑制神经细胞凋亡
铁皮石斛多糖	抑制 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 表达	促进 BMSCs 向神经细胞分化、改善神经炎症
淫羊藿苷	促进 VEGF、BDNF 和 Bcl-2 表达	促进血管新生和神经再生、抑制神经细胞凋亡
银杏内酯 K	促进 HIF-1 α 和 VEGF 表达	促进血管新生
木香羟内酯	促进 NSE、GFAP 及 Nestin 表达	促进 BMSCs 向神经细胞分化
人参皂苷 R _{g1}	促进 Bcl-2 表达;抑制 Bax 表达	促进 BMSCs 存活、抑制神经细胞凋亡
丹参提取物	促进 Bcl-2 表达;抑制 Bax 和 Caspase3 表达	抑制 BMSCs 凋亡
当归提取物	促进 Ang-1、Tie-2 及 VEGF-A 表达	促进血管新生
黄芪皂苷 IV	促进 SDF-1、VEGF 和 Bcl-2 表达;抑制 Bax 和 Caspase-3 表达	促进 BMSCs 归巢及血管新生、抑制神经细胞凋亡
阿魏酸钠	促进 SDF-1、CXCR4 和 BMP2/4 表达;抑制 Notch-1、Hes1 和 Hes5 表达	促进 BMSCs 归巢及神经再生
阿魏酸钠联合正丁基苯酚	促进 VEGF 和 BDNF 表达	促进血管新生及神经再生
黄芪甲苷配伍三七皂苷	促进 BDNF、GDNF、Ang-1 和 TGF- β_1 表达	促进 BMSCs 归巢、存活和向神经细胞分化、促进血管新生

表 2 中药复方及中成药联合 BMSCs 治疗缺血性脑卒中作用机制

Table 2 Mechanism of Chinese medicinal compound and proprietary Chinese medicine combined with BMSCs in treating ischemic stroke

中药及中成药	作用机制	药理作用
黄芪注射液	促进 GFAP、NSE 表达	促进 BMSCs 向神经细胞分化
丹红注射液	促进 Bcl-2 mRNA 和 GAP-43 mRNA 表达	抑制神经细胞凋亡、增强突触重构
疏血通脉胶囊	促进 VEGF 和 BDNF 表达	抑制神经细胞凋亡
脑脉通	促进 NSE、GDNF 和 NGF 表达;抑制 LN 及 ColIV 降解	促进血管新生、突触重构及神经再生
脑脉 1 号	促进 NSE 和 VEGF 表达	增强神经保护、促进血管新生
补阳还五汤	促进 NSE、GFAP、GAP-43、bFGF 及其 mRNA、Occludin、Claudin、JAM-A、ZO-1 和 VEGF 表达;抑制 FVIII、MMP-2、MMP-9 和 AQP4 表达;调控外泌体:促进外泌体中 miR-126 的表达、抑制 miR-221 和 miR-222 表达	促进 BMSCs 向神经细胞分化、促进神经再生和血管新生、调节血脑屏障
扎里奴思方	促进 NGF、GDNF、GAP-43、NF-200、Occludin 及其 mRNA 和 Claudin-5 及其 mRNA 表达;抑制 MAG、Nogo-A、VCAM-1 mRNA、integrin α_4 mRNA、P-gp 和 AQP4 表达	促进 BMSCs 归巢及向神经细胞分化、促进轴突再生、调节血脑屏障
清热化痰方	促进 SDF-1、CXCR4、PI3K/Akt、eNOS、VEGF 和 CD31 表达	促进 BMSCs 归巢、抑制神经细胞凋亡、促进血管新生
补肾化痰生新方	促进 IL-10、VEGF、bFGF 和 SDF-1 表达;抑制 miRNA-124a 和 TNF- α 表达	促进 BMSCs 存活和血管新生
芎归方	调控外泌体:促进 TGF- β 、Arg-1、IL-13、Sema3G、PlexinA4、PSD-95、Nrp2、SYN、p-PI3K、p-Akt、p-mTOR、p-p70S6K 和 VEGF 表达;抑制 TNF- α 、iNOS、IL-1 β 、IL-6 mRNA 表达	改善神经炎症、促进神经再生、突触重构、轴突再生和血管新生

主要策略包括预处理、基因工程、联合治疗和 BMSCs 源性细胞外囊泡移植等^[108]。中药可以同时促进 BMSCs 移植后归巢、存活、增殖与分化,而且可以在缺氧预处理的基础上进一步增强 BMSCs 的疗效。在未来,可以开展更多中药在其他增强策略的基础上进一步增强 BMSCs 移植效率的研究。

VEGF 和 Ang 是中药联合 BMSCs 移植促进缺

缺血性卒中后血管新生的研究重点,除了促进 VEGF 和 Ang 的表达,中药联合 BMSCs 还可通过促进 BMSCs 向内皮细胞分化和调控 BDNF、bFGF、HIF-1 α 、整合素 $\alpha v \beta 3$ 及 TGF- β 表达,增强血管新生,这体现了中药与 BMSCs 移植疗法多途径和多靶点的优势,但只有少数研究涉及细胞因子的上下通路,对促进血管新生的机制研究不够深入,未来需要进一

步探索细胞因子之间的联系及所涉及的通路问题。

中药联合 BMSCs 移植主要通过促进神经营养因子及 GAP-43 表达增强神经可塑性。移植到梗死区周围皮质的 BMSCs 并不能分化为成熟神经元整合到现有神经系统中发挥作用,而且,由于方法论、BrdU 标记误用、动物模型及新生神经元标记物的局限性等问题,目前的证据无法证明人类卒中后内源性再生的神经元可以整合到原有神经系统并发挥作用^[109],未来的研究应侧重于现有神经元的保护和修复(如抑制神经细胞凋亡和增强突触重构等),而不是神经元发生。

卒中后继发性脑损伤以延迟方式发展,主要诱因是兴奋性毒性、氧化应激和神经炎症。中药联合 BMSCs 移植可通过抑制 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、VCAM-1 mRNA 及 Integrin α 4 mRNA 表达改善神经炎症。除了改善神经炎症,中药联合 BMSCs 移植可调控 BDNF、VEGF、bFGF、Bcl-2、Bax、Caspase-3 及 SDF-1/CXCR4/PI3K/Akt/eNOS 信号轴抑制神经细胞凋亡。但这显然是不够的,未来需要对兴奋性毒性、氧化应激、细胞凋亡和神经炎症的综合研究来进一步揭示中药联合 BMSCs 移植的神经保护作用。

中药联合 BMSCs 移植可上调脑组织紧密连接相关蛋白 Occludin、Claudin 及 JAM-A 表达,降低 MMPs、AQP4 及 P-gp 表达,调控血脑屏障通透性,减轻脑水肿,但抑制血脑屏障通透性可能会抑制 BMSCs 归巢及中药有效成分进入脑组织发挥作用,利弊问题需要进一步探究。外泌体是目前缺血性卒中防治的研究热点,中药联合 BMSCs-Exo 相较于单纯 BMSCs-Exo 可以通过改善神经炎症、增强神经可塑性及促进血管新生进一步促进缺血性卒中后神经功能恢复,但目前的研究数量太少,需要更多的研究来揭示其机制。

目前尚无中药联合 BMSCs 移植治疗缺血性卒中的临床试验以供参考。LEVY 等^[110]进行的 I/II 期临床试验首次证明单次静脉注射异基因 BMSCs 是安全有效的,随访期间的 15 个严重不良反应中,可能没有一个与 BMSCs 治疗有关,此外,在第二阶段静脉注射同种异体 BMSCs 显示日常生活活动能力评分和 NIHSS 评分显著改善。WANG 等^[111]让 42 例一氧化碳中毒后迟发性脑病(DEACMP)患者随机接受 BMSCs 移植联合丁基苯酞、单独 BMSCs 移植和高压氧治疗 3 种治疗方法中的 1 种,用自制的高压注射器交替将 BMSCs 注入蛛网膜下腔和颈动脉,发现治疗 1、3、6 个月时, BMSCs 移植联合丁基

苯酞治疗组的简易智能状态检查评分和日常生活活动能力评分均显著高于单独 BMSCs 移植组和高压氧治疗组且未发生重大不良事件,说明 BMSCs 移植联合丁基苯酞治疗 DEACMP 是安全有效的,而丁基苯酞是川芎等多种中药的有效成分。相信不久的将来就会有中药联合 BMSCs 移植治疗缺血性卒中的临床试验。

总之,目前对中药联合 BMSCs 移植治疗缺血性卒中的研究确实取得了一些成果,但对作用机制的研究并不够深入,中药联合 BMSCs 移植在缺血性卒中的防治及提高干细胞移植效率方面具有巨大潜力,值得进一步深入研究。

[参考文献]

- [1] ROTH G A, MENSAH G A, JOHNSON C O, et al. Global burden of cardiovascular diseases and risk factors, 1990—2019: Update from the GBD 2019 study [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2020, 76(25): 2982-3021.
- [2] FEIGIN V L, VOS T, ALAHDAB F, et al. Burden of neurological disorders across the US from 1990—2017: A global burden of disease study [J]. *JAMA Neurol*, 2021, 78(2): 165-176.
- [3] BENJAMIN E J, MUNTNER P, ALONSO A, et al. Heart disease and stroke statistics—2019 update: A report from the American Heart Association [J]. *Circulation*, 2019, 139(10): e56-e528.
- [4] DÍEZ-TEJEDOR E, GUTIÉRREZ-FERNÁNDEZ M. Why do we say 'neuroprotection' in stroke when we mean 'brain protection or cerebroprotection'? [J]. *Eur Stroke J*, 2019, 4(3): 281-282.
- [5] NOGUEIRA R G, JADHAV A P, HAUSSEN D C, et al. Thrombectomy 6 to 24 hours after stroke with a mismatch between deficit and infarct [J]. *N Engl J Med*, 2018, 378(1): 11-21.
- [6] MIAO C, LEI M, HU W, et al. A brief review: The therapeutic potential of bone marrow mesenchymal stem cells in myocardial infarction [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8(1): 1-6.
- [7] GONG P, ZHANG W, HE Y, et al. Classification and characteristics of mesenchymal stem cells and its potential therapeutic mechanisms and applications against ischemic stroke [J]. *Stem Cells Int*, 2021, doi: 10.1155/2021/2602871.
- [8] GUO Y, PENG Y, ZENG H, et al. Progress in mesenchymal stem cell therapy for ischemic stroke [J]. *Stem Cells Int*, 2021, doi: 10.1155/2021/9923566.
- [9] LALU M M, MONTROY J, DOWLATSHAHI D, et

- al. From the lab to patients: A systematic review and meta-analysis of mesenchymal stem cell therapy for stroke[J]. *Transl Stroke Res*, 2020, 11(3):345-364.
- [10] LI Y, ZHONG W, TANG X. Strategies to improve the efficiency of transplantation with mesenchymal stem cells for the treatment of ischemic stroke: A review of recent progress[J]. *Stem Cells Int*, 2021, doi: 10.1155/2021/9929128.
- [11] LIU Q, CHENG G, WANG Z, et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells differentiate into nerve-like cells *in vitro* after transfection with brain-derived neurotrophic factor gene[J]. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, 2015, 51(3):319-327.
- [12] DE BECKER A, VAN RIET I. Homing and migration of mesenchymal stromal cells: How to improve the efficacy of cell therapy?[J]. *World J Stem Cells*, 2016, 8(3):73.
- [13] NITZSCHE F, MÜLLER C, LUKOMSKA B, et al. Concise review: MSC adhesion cascade-insights into homing and transendothelial migration[J]. *Stem cells*, 2017, 35(6):1446-1460.
- [14] 李琳. 川芎嗪预处理促进骨髓间充质干细胞向损伤区迁移提高脑缺血的治疗作用[D]. 杭州:浙江中医药大学, 2015.
- [15] 王莹, 李文媛, 李明秋, 等. 黄芪皂苷IV联合骨髓间充质干细胞对脑缺血再灌注大鼠血管生成的影响[J]. *解剖学研究*, 2011, 33(5):323-326, 343.
- [16] ZHAO Y, GUAN Y, XU Y, et al. Sodium ferulate combined with bone marrow stromal cell treatment ameliorating rat brain ischemic injury after stroke[J]. *Brain Res*, 2012, 1450:157-165.
- [17] 胡跃强, 陈海峰, 甘业贤, 等. 缺氧预处理MSCs移植对脑缺血再灌注损伤大鼠SDF-1/CXCR4表达的影响及清热化痰方的干预作用[J]. *中药新药与临床药理*, 2016, 27(6):779-784.
- [18] 曲铁兵. 川芎嗪预处理促进骨髓间充质干细胞迁移的体外研究[D]. 杭州:浙江中医药大学, 2014.
- [19] 任非非. 扎里奴思方调控血脑屏障开放对脑缺血骨髓间充质干细胞移植由血管迁移脑内的影响[D]. 银川:宁夏医科大学, 2015.
- [20] 张鹏, 周国庆, 孙晶晶. 丹红注射液联合骨髓间充质干细胞移植治疗大鼠脑梗死[J]. *中国组织工程研究*, 2013, 17(23):4286-4291.
- [21] 刘晓丹, 丁煌, 邓常清. 黄芪甲苷配伍三七总皂苷对OGD/R大鼠骨髓间充质干细胞增殖、凋亡、迁移及神经分化的影响[J]. *中草药*, 2019, 50(23):5795-5801.
- [22] COPPIN L, SOKAL E, STÉPHENNE X. Thrombotic risk induced by intravascular mesenchymal stem cell therapy: Current status and future perspectives[J]. *Cells*, 2019, 8(10):1160.
- [23] FANG Y, CHU L, LI L, et al. Tetramethylpyrazine protects bone marrow-derived mesenchymal stem cells against hydrogen peroxide-induced apoptosis through PI3K/Akt and ERK1/2 pathways[J]. *Biol Pharm Bull*, 2017, doi:10.1248/bpb.b17-00524.
- [24] KIM R, LEE S, LEE C Y, et al. *Salvia miltiorrhiza* enhances the survival of mesenchymal stem cells under ischemic conditions[J]. *J Pharm Pharmacol*, 2018, 70(9):1228-1241.
- [25] 包翠芬, 包翠芳, 李磊, 等. 人参皂苷Rg₁联合BMSCs对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用[J]. *山东医药*, 2012, 52(25):9-11.
- [26] 李艳玲, 丁煌, 傅馨莹, 等. 黄芪甲苷配伍三七总皂苷对脑缺血大鼠BMSCs移植后神经修复的影响[J]. *中草药*, 2021, 52(21):6537-6544.
- [27] 张金生, 张宝霞, 刘雪曼. 补肾化痰生新方优化缺血缺氧微环境对间充质干细胞旁分泌效应及分化率的影响[J]. *中华中医药学刊*, 2021, 39(9):9-16, 259.
- [28] 刘敬霞, 任非非, 刘会贤, 等. 回医扎里奴思方对脑缺血再灌注损伤大鼠骨髓间充质干细胞移植向神经样细胞分化的影响[J]. *中华中医药杂志*, 2016, 31(7):2567-2573.
- [29] ZHAO Y, LAI W, XU Y, et al. Exogenous and endogenous therapeutic effects of combination sodium ferulate and bone marrow stromal cells (BMSCs) treatment enhance neurogenesis after rat focal cerebral ischemia[J]. *Metab Brain Dis*, 2013, 28(4):655-666.
- [30] DOU R, LIU X, KAN X, et al. *Dendrobium officinale* polysaccharide-induced neuron-like cells from bone marrow mesenchymal stem cells improve neuronal function a rat stroke model[J]. *Tissue Cell*, 2021, 73:101649.
- [31] 江羽, 王叶叶, 梁晨, 等. 经木香炔内酯诱导的骨髓间充质干细胞用于治疗脑缺血再灌注损伤的研究[J]. *世界科学技术—中医药现代化*, 2019, 21(4):573-579.
- [32] 余勤, 李佩佩, 周丽萍, 等. 黄芪联合鞘内移植间充质干细胞对大鼠缺氧缺血性脑损伤修复作用的研究[J]. *中华中医药学刊*, 2011, 29(7):1455-1458.
- [33] 张运克, 高峰, 张丹, 等. 补阳还五汤联合骨髓间充质干细胞移植对脑缺血再灌注大鼠脑组织NSE和GFAP表达的影响[J]. *中医杂志*, 2013, 54(23):2043-2045.
- [34] SETO S W, CHANG D, JENKINS A, et al. Angiogenesis in ischemic stroke and angiogenic effects of Chinese herbal medicine [J]. *J Clin Med*, 2016, 5(6):56.
- [35] GAN L, LIAO S, XING Y, et al. The regulatory

- functions of lncRNAs on angiogenesis following ischemic stroke [J]. *Front Mol Neurosci*, 2021, 13:268.
- [36] KANAZAWA M, TAKAHASHI T, ISHIKAWA M, et al. Angiogenesis in the ischemic core: A potential treatment target? [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2019, 39(5):753-769.
- [37] MELINCOVICI C S, BOŞCA A B, ŞUŞMAN S, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF)-key factor in normal and pathological angiogenesis [J]. *Rom J Morphol Embryol*, 2018, 59(2):455-467.
- [38] LIU D, YE Y, XU L, et al. Icaritin and mesenchymal stem cells synergistically promote angiogenesis and neurogenesis after cerebral ischemia via PI3K and ERK1/2 pathways [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 108:663-669.
- [39] 伍小燕, 陈朝, 郭建文. 骨髓间充质干细胞移植联合脑脉1号对大鼠缺血组织血管生成的影响[J]. *时珍国医国药*, 2012, 23(2):485-488.
- [40] GUO J W, CHAO C, HUANG Y, et al. Combinatorial effects of Naomai Yihao Capsules and vascular endothelial growth factor gene-transfected bone marrow mesenchymal stem cells on angiogenesis in cerebral ischemic tissues in rats [J]. *J Tradit Chin Med*, 2012, 32(1):87-92.
- [41] 秦红玲, 农必华, 陈炜, 等. 清热化痰方联合骨髓间充质干细胞移植对脑缺血再灌注损伤大鼠血管新生的影响[J]. *现代中西医结合杂志*, 2017, 26(25):2747-2750.
- [42] 胡跃强, 甘业贤, 梁妮, 等. 缺氧预处理骨髓间充质干细胞移植联合清热化痰方对脑缺血损伤大鼠血管新生的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2018, 38(21):5281-5285.
- [43] ZHANG Q, CHEN Z W, ZHAO Y H, et al. Bone marrow stromal cells combined with sodium ferulate and *N*-butylidenephthalide promote the effect of therapeutic angiogenesis via advancing astrocyte-derived trophic factors after ischemic stroke [J]. *Cell Transplant*, 2017, 26(2):229-242.
- [44] ZHANG Q, ZHAO Y, XU Y, et al. Sodium ferulate and *n*-butylidenephthalate combined with bone marrow stromal cells (BMSCs) improve the therapeutic effects of angiogenesis and neurogenesis after rat focal cerebral ischemia [J]. *J Transl Med*, 2016, 14(1):1-15.
- [45] 郝怀勇, 贺敏敏, 李永涛, 等. 骨髓间充质干细胞脑室内移植联合银杏内酯K腹腔注射治疗大鼠脑缺血再灌注损伤[J]. *中华实验外科杂志*, 2019(8):1377-1380.
- [46] 张运克, 杨俊红, 高峰, 等. 补阳还五汤联合骨髓间充质干细胞移植对大鼠中动脉栓塞模型整合素相关因子的影响[J]. *中国组织工程研究*, 2017, 21(5):724-729.
- [47] 张运克, 张振强, 宋军喜. 补阳还五汤联合MSCs移植对脑缺血再灌注模型大鼠VEGF及信号通路的影响[J]. *时珍国医国药*, 2016, 27(4):806-809.
- [48] 张运克, 杨俊红, 高峰. 补阳还五汤联合MSCs移植对TIMP-1干预后MCAO模型大鼠凝血Ⅷ因子的影响[J]. *中医药学报*, 2016, 44(2):27-30.
- [49] AKWII R G, MIKELIS C M. Targeting the angiopoietin/tie pathway: Prospects for treatment of retinal and respiratory disorders [J]. *Drugs*, 2021, 81(15):1731-1749.
- [50] 王延, 钱海兵. Ang-1/Tie-2信号通路及缺血性脑卒中的相关性研究述评[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2021, 27(1):170-172, 177.
- [51] KIM R, KIM P, LEE C Y, et al. Multiple combination of *Angelica gigas* extract and mesenchymal stem cells enhances therapeutic effect [J]. *Biol Pharm Bull*, 2018, 41(12):1748-1756.
- [52] 李艳玲, 丁煌, 杨芙蓉, 等. 黄芪甲苷配伍三七总皂苷对脑缺血大鼠BMSCs移植后血管新生的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2021, 27(21):73-79.
- [53] 刘轲, 李建生, 刘敬霞, 等. 脑脉通对脑缺血大鼠骨髓间充质干细胞移植脑内血管内皮细胞分化的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2013, 19(19):187-192.
- [54] 刘轲, 李建生, 刘敬霞, 等. 脑脉通对大鼠骨髓间充质干细胞移植保护脑缺血微血管完整性作用的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2015, 35(21):6014-6017.
- [55] BONFANTI L, CHARVET C J. Brain plasticity in humans and model systems: Advances, challenges, and future directions [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(17):9358.
- [56] 卢乙众, 李合华, 卢奕帆. 丹参酮Ⅱ联合骨髓间充质干细胞移植促进脑梗死后的神经再生[J]. *中国组织工程研究*, 2016, 20(23):3425-3431.
- [57] CHUNG D, SHUM A, CARAVEO G. GAP-43 and BASP1 in axon regeneration: Implications for the treatment of neurodegenerative diseases [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8:567537.
- [58] 刘敬霞, 李建生, 刘轲, 等. 脑脉通联合骨髓间充质干细胞移植对脑缺血大鼠神经营养因子表达的影响[J]. *时珍国医国药*, 2013, 24(8):1986-1989.
- [59] 冯静静, 刘显言, 刘轲, 等. 脑脉通联合骨髓间充质干细胞移植对脑缺血再灌注大鼠巢蛋白表达的影响[J]. *辽宁中医杂志*, 2021, 48(11):181-185.
- [60] 刘轲, 鲁红伟, 冯静静, 等. 脑脉通联合骨髓间充质干细胞移植对脑缺血再灌注大鼠神经细胞中SYN-38和PSD-95表达变化的影响[J]. *时珍国医国药*, 2015,

- 26(5):1048-1051.
- [61] 刘敬霞,刘轲,李建生,等. 脑脉通联合骨髓间充质干细胞移植对脑缺血大鼠神经元突触重建的影响[J]. 时珍国医国药,2013,24(4):940-943.
- [62] 刘敬霞,任非非,刘会贤,等. 扎里奴思方干预骨髓间充质干细胞移植对脑缺血再灌注损伤大鼠黏附分子及 NeuN 表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2016,22(12):159-166.
- [63] 刘敬霞,任非非,刘会贤,等. 扎里奴思方干预骨髓间充质干细胞移植对脑缺血再灌注损伤大鼠神经轴突再生的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2016,22(12):152-158.
- [64] 刘敬霞,任非非,刘会贤,等. 扎里奴思方干预骨髓间充质干细胞移植对脑缺血再灌注损伤大鼠突触结构可塑性的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2016,22(12):144-151.
- [65] DURIS K, SPLICHAL Z, JURAJDA M. The role of inflammatory response in stroke associated programmed cell death [J]. *Curr Neuropharmacol*, 2018,16(9):1365-1374.
- [66] NOROUZI-BAROUGH L, ASGARI KHOSROSHAHI A, GORJI A, et al. COVID-19-induced stroke and the potential of using mesenchymal stem cells-derived extracellular vesicles in the regulation of neuroinflammation [J]. *Cell Mol Neurobiol*,2022:1-10.
- [67] JAYARAJ R L, AZIMULLAH S, BEIRAM R, et al. Neuroinflammation: Friend and foe for ischemic stroke [J]. *J Neuroinflammation*,2019,16(1):1-24.
- [68] 刘雪. 铁皮石斛多糖对骨髓间充质干细胞向神经样细胞分化及 MCAO 模型大鼠预后的影响[D]. 合肥:安徽医科大学,2020.
- [69] DABROWSKA S, ANDRZEJEWSKA A, LUKOMSKA B, et al. Neuroinflammation as a target for treatment of stroke using mesenchymal stem cells and extracellular vesicles [J]. *J Neuroinflammation*, 2019,16(1):1-17.
- [70] 陈朝,刘泰,黄一摯,等. 疏血通脉胶囊联合骨髓间充质干细胞移植对脑缺血损伤的作用[J]. 医学研究生学报,2018,31(6):584-589.
- [71] 张运克,杨广华. 补阳还五汤联合间充质干细胞移植对脑缺血再灌注损伤大鼠 bFGF mRNA 表达的影响[J]. 中医杂志,2011,52(7):589-591.
- [72] YUAN Z, DEWSON G, CZABOTAR P E, et al. VDAC2 and the Bcl-2 family of proteins[J]. *Biochem Soc Trans*,2021,49(6):2787-2795.
- [73] DADSENA S, KING L E, GARCÍA-SÁEZ A J. Apoptosis regulation at the mitochondria membrane level [J]. *Biochim Biophys Acta Biomembr*, 2021,1863(12):183716.
- [74] ASADI M, TAGHIZADEH S, KAVIANI E, et al. Caspase-3: Structure, function, and biotechnological aspects [J]. *Biotechnol Appl Biochem*, 2021, doi: 10.1002/bab.2233.
- [75] 丁文倩,李琳,储利胜,等. 川芎嗪联合骨髓间充质干细胞移植抑制脑缺血大鼠神经细胞凋亡[J]. 中国病理生理杂志,2016,32(11):1984-1989.
- [76] 王艳. 人参皂苷 Rg₁ 联合 BMSCs 对脑缺血再灌注损伤大鼠的脑保护作用[D]. 锦州:锦州医科大学,2016.
- [77] BAO C, WANG Y, MIN H, et al. Combination of ginsenoside Rg₁ and bone marrow mesenchymal stem cell transplantation in the treatment of cerebral ischemia reperfusion injury in rats [J]. *Cell Physiol Biochem*,2015,37(3):901-910.
- [78] 王莹,李文媛,贾桦,等. 黄芪皂苷 IV 联合骨髓间充质干细胞移植对大鼠脑缺血/再灌注损伤海马神经元凋亡及相关基因表达的影响[J]. 解剖科学进展,2011,17(4):355-360,363.
- [79] 李金艳,张哲成. 骨髓间充质干细胞联合丹红注射液干预脑梗死组织 GAP-43、Bcl-2 的表达[J]. 中国组织工程研究,2013,17(32):5871-5876.
- [80] 胡跃强,毛丹凤,甘业贤,等. 清热化痰方联 MSCs 移植对脑缺血损伤大鼠 PI3K/Akt 表达影响[J]. 辽宁中医药大学学报,2018,20(4):8-11.
- [81] 胡跃强,甘业贤,梁妮,等. 清热化痰方联合缺氧预处理 MSCs 移植对脑缺血再灌注损伤大鼠 eNOS 表达的影响[J]. 中药新药与临床药理,2017,28(5):633-637.
- [82] ISHIKAWA T, YASUI M. Water transportation during cerebral edema formation and aquaporin-4 [J]. *Brain Nerve*,2021,73(9):983-989.
- [83] HAJAL C, LE ROI B, KAMM R D, et al. Biology and models of the blood brain barrier [J]. *Annu Rev Biomed Eng*,2021,23:359-384.
- [84] JIANG X, ANDJELKOVIC A V, ZHU L, et al. Blood-brain barrier dysfunction and recovery after ischemic stroke[J]. *Prog Neurobiol*,2018,163:144-171.
- [85] CHEN S, SHAO L, MA L. Cerebral edema formation after stroke: Emphasis on blood-brain barrier and the lymphatic drainage system of the brain [J]. *Front Cell Neurosci*,2021,15:716825.
- [86] 张运克,车志英,李可. 补阳还五汤联合骨髓间充质干细胞移植脑缺血再灌注大鼠脑组织紧密连接蛋白的表达[J]. 中国组织工程研究,2019,23(1):55-60.
- [87] 张运克,宋军营,张振强. 补阳还五汤联合骨髓间充质干细胞对大鼠中动脉闭塞再灌注治疗的作用机制[J]. 中国组织工程研究,2015,19(50):8120-8125.

- [88] 张运克,车志英,李可. 补阳还五汤联合骨髓间充质干细胞对脑缺血大鼠血脑屏障通透性的影响[J]. 中华中医药学刊,2019,37(7):1548-1553.
- [89] 刘敬霞,任非非,刘会贤,等. 回药扎里奴思方联合BMSCs移植对脑缺血再灌注大鼠BBB紧密连接蛋白的影响[J]. 中风与神经疾病杂志,2016,33(1):54-59.
- [90] 任非非,刘敬霞,黑长春,等. 回药扎里奴思方联合骨髓间充质干细胞移植对脑缺血再灌注大鼠脑水肿及水通道蛋白4表达的影响[J]. 中华中医药杂志,2016,31(6):2398-2403.
- [91] 任非非,刘敬霞,朱万平,等. 回族药扎里奴思方联合骨髓间充质干细胞移植对脑缺血再灌注大鼠神经元及P-糖蛋白的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(8):125-131.
- [92] LI Y, CHENG Q, HU G, et al. Extracellular vesicles in mesenchymal stromal cells: A novel therapeutic strategy for stroke[J]. *Exp Ther Med*, 2018, 15(5):4067-4079.
- [93] COUCH Y, BUZÀS E I, VIZIO D D, et al. A brief history of nearly EV - erything: The rise and rise of extracellular vesicles[J]. *J Extracell Vesicles*, 2021, 10(14):e12144.
- [94] SCHWARZENBACH H, GAHAN P B. MicroRNA shuttle from cell-to-cell by exosomes and its impact in cancer[J]. *Noncoding RNA*, 2019, 5(1):28.
- [95] MATEESCU B, KOWAL E J K, VAN BALKOM B W M, et al. Obstacles and opportunities in the functional analysis of extracellular vesicle RNA: An ISEV position paper[J]. *J Extracell Vesicles*, 2017, 6(1):1286095.
- [96] ZHANG Z G, BULLER B, CHOPP M. Exosomes-beyond stem cells for restorative therapy in stroke and neurological injury[J]. *Nat Rev Neurol*, 2019, 15(4):193-203.
- [97] DEGHANI L, HASHEMI S M, SAADATNIA M, et al. Stem cell-derived Exosomes as treatment for stroke: A systematic review[J]. *Stem Cell Rev Rep*, 2021, 17(2):428-438.
- [98] MOON G J, SUNG J H, KIM D H, et al. Application of mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles for stroke: Biodistribution and microRNA study[J]. *Transl Stroke Res*, 2019, 10(5):509-521.
- [99] WILLIAMS A M, DENNAHY I S, BHATTI U F, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes provide neuroprotection and improve long-term neurologic outcomes in a swine model of traumatic brain injury and hemorrhagic shock[J]. *J Neurotrauma*, 2019, 36(1):54-60.
- [100] TIAN T, ZHANG H X, HE C P, et al. Surface functionalized exosomes as targeted drug delivery vehicles for cerebral ischemia therapy [J]. *Biomaterials*, 2018, 150:137-149.
- [101] DOLCETTI E, BRUNO A, GUADALUPI L, et al. Emerging role of extracellular vesicles in the pathophysiology of multiple sclerosis [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(19):7336.
- [102] OTERO-ORTEGA L, LASO-GARCÍA F, GÓMEZ-DE FRUTOS M C, et al. Role of exosomes as a treatment and potential biomarker for stroke [J]. *Transl Stroke Res*, 2019, 10(3):241-249.
- [103] YANG J, GAO F, ZHANG Y, et al. Buyang Huanwu Decoction (BYHWD) enhances angiogenic effect of mesenchymal stem cell by upregulating VEGF expression after focal cerebral ischemia [J]. *J Mol Neurosci*, 2015, 56(4):898-906.
- [104] 姜萌萌. 芎归方协同BMSCs-exosomes干预脑卒中神经炎症的效应研究[D]. 天津:天津中医药大学, 2021.
- [105] 尹鹏林. 芎归方协同BMSCs-exosomes调控缺血性脑卒中后突触可塑性的实验研究[D]. 天津:天津中医药大学, 2021.
- [106] 白晓丹. 芎归方协同BMSCs-exosomes干预缺血性脑损伤神经重塑的作用研究[D]. 天津:天津中医药大学, 2020.
- [107] 刘婉莹. 芎归方协同BMSCs-exosomes调控缺血性脑卒中血管新生的实验研究[D]. 天津:天津中医药大学, 2020.
- [108] SZYDLAK R. Biological, chemical and mechanical factors regulating migration and homing of mesenchymal stem cells[J]. *World J Stem Cells*, 2021, 13(6):619.
- [109] DUQUE A, SPECTOR R. A balanced evaluation of the evidence for adult neurogenesis in humans: Implication for neuropsychiatric disorders[J]. *Brain Struct Funct*, 2019, 224(7):2281-2295.
- [110] LEVY M L, CRAWFORD J R, DIB N, et al. Phase I / II study of safety and preliminary efficacy of intravenous allogeneic mesenchymal stem cells in chronic stroke[J]. *Stroke*, 2019, 50(10):2835-2841.
- [111] WANG H, LI Y, WU Q, et al. Combination of butylphthalide with umbilical mesenchymal stem cells for the treatment of delayed encephalopathy after carbon monoxide poisoning [J]. *Medicine*, 2016, 95(49):e5412.

[责任编辑 孙丛丛]