

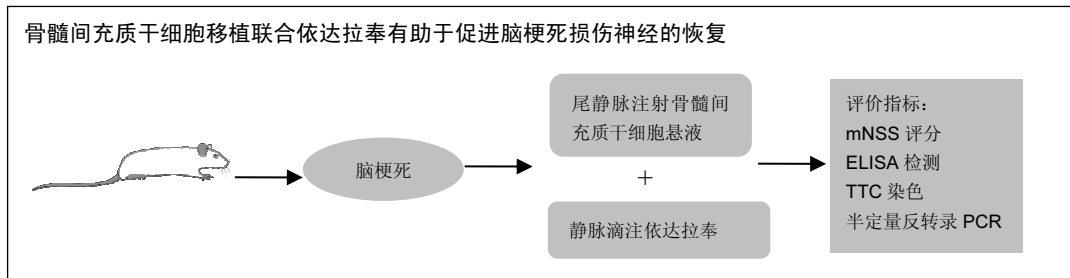
骨髓间充质干细胞联合依达拉奉移植脑梗死大鼠血清炎症因子的表达

宋乃光¹, 孙晶晶², 张耀龙¹, 孟令海², 高书焕², 薛建², 孙彩月²(唐山市协和医院, ¹急诊科, ²神经内科, 河北省唐山市 063000)

引用本文: 宋乃光, 孙晶晶, 张耀龙, 孟令海, 高书焕, 薛建, 孙彩月. 骨髓间充质干细胞联合依达拉奉移植脑梗死大鼠血清炎症因子的表达[J]. 中国组织工程研究, 2016, 20(28):4162-4168.

DOI: 10.3969/j.issn.2095-4344.2016.28.009 ORCID: 0000-0002-4105-602X(孙晶晶)

文章快速阅读:



宋乃光, 男, 1981年生, 河北省唐山市人, 汉族, 2005年华北煤炭医学院毕业, 主治医师, 主要从事神经内科急诊学方面的研究。

通讯作者: 孙晶晶, 硕士, 主治医师, 唐山市协和医院神经内科, 河北省唐山市 063000

中图分类号: R394.2

文献标识码: B

文章编号: 2095-4344

(2016)28-04162-07

稿件接受: 2016-04-13

文题释义:

依达拉奉: 是一种自由基清除剂。大鼠在缺血/缺血再灌注后静脉给予依达拉奉, 可阻止脑水肿和脑梗死的进展, 并缓解所伴随的神经症状, 抑制迟发性神经死亡。机制研究提示, 依达拉奉可清除自由基, 抑制脂质过氧化, 从而抑制脑细胞、血管内皮细胞、神经细胞的氧化损伤。

脑梗死: 又称缺血性卒中, 系由各种原因所致的局部脑组织区域血液供应障碍, 导致脑组织缺血缺氧性病变坏死, 进而产生临床上对应的神经功能缺失表现。脑梗死依据发病机制的不同分为脑血栓形成、脑栓塞和腔隙性脑梗死等主要类型。

摘要

背景: 抑制血清炎症因子凝血酶元激活因子的抑制因子 1 和组织纤维溶酶原激活物表达是治疗脑梗死的潜在靶点之一。

目的: 观察骨髓间充质干细胞移植联合依达拉奉对脑梗死大鼠血清炎症因子的表达变化。

方法: 60只SD大鼠采用大脑中动脉线栓法复制局灶性脑梗死模型后, 随机等分为模型组、骨髓间充质干细胞移植组和联合组。模型组连续5d尾静脉注射PBS, 骨髓间充质干细胞移植组经尾静脉注射 $2.0 \times 10^9 \text{ L}^{-1}$ 骨髓间充质干细胞悬液1mL, 2次/d, 连续5d。联合组静脉滴注依达拉奉30mg+尾静脉注射 $2.0 \times 10^9 \text{ L}^{-1}$ 骨髓间充质干细胞悬液1mL(2次/d), 连续5d。

结果与结论: ①与模型组相比, 骨髓间充质干细胞移植组与联合组大鼠mNSS评分较低, 血清凝血酶元激活因子的抑制因子1表达水平减少, 脑梗死面积减少, 脑组织中肿瘤坏死因子 α mRNA的表达水平减少; ②联合组大鼠上述指标变化差异比骨髓间充质干细胞移植组大; ③结果提示骨髓间充质干细胞移植联合依达拉奉有助于促进脑梗死损伤神经功能的恢复。

关键词:

干细胞; 移植; 脑梗死; 骨髓间充质干细胞; 依达拉奉; 血清炎症因子; 凝血酶元激活因子的抑制因子1; 组织纤维溶酶原激活物

主题词:

梗塞, 大脑中动脉; 间质干细胞; 组织工程

Expression of serum inflammatory cytokines in rats with cerebral infarction undergoing bone marrow mesenchymal stem cell transplantation combined with edaravone

Song Nai-guang¹, Sun Jing-jing², Zhang Yao-long¹, Meng Ling-hai², Gao Shu-huan², Xue Jian², Sun Cai-yue² (¹Department of Emergency, ²Department of Neurology, Xiehe Hospital of Tangshan, Tangshan 063000, Hebei Province, China)

Song Nai-guang, Attending physician, Department of Emergency, Xiehe Hospital of Tangshan, Tangshan 063000, Hebei Province, China

Corresponding author: Sun Jing-jing, Master, Attending physician, Department of Neurology, Xiehe Hospital of Tangshan, Tangshan 063000, Hebei Province, China

Abstract

BACKGROUND: To inhibit the expressions of prothrombin activator inhibitor 1 and tissue plasminogen activator is one potential target for the treatment of cerebral infarction.

OBJECTIVE: To investigate the expressions of serum inflammatory cytokines in rats with cerebral infarction undergoing bone marrow mesenchymal stem cell transplantation combined with edaravone.

METHODS: Sixty Sprague-Dawley rats were enrolled to prepare models of focal cerebral infarction by middle cerebral artery occlusion, and were randomly divided into four groups. Rats were given intravenous injection of PBS *via* tail veins for 5 consecutive days as model group, rats were subjected to intravenous injection of 2.0×10^9 /L bone marrow mesenchymal stem cell suspension (1 mL) *via* tail veins, twice daily for 5 days as stem cell transplantation group, and those were given intravenous injection of 30 mg edaravone combined with intravenous injection of 2.0×10^9 /L bone marrow mesenchymal stem cell suspension (1 mL) *via* tail veins for 5 days, twice daily, as combined group.

RESULTS AND CONCLUSION: Compared with the model group, modified neurologic severity scores were lower, expressions of serum prothrombin activator inhibitor 1 and tumor necrosis factor- α mRNA in the brain decreased, and the infarct area reduced in the stem cell transplantation and combined groups. And the changed levels of above indicators in the combined group were significantly larger than those of the stem cell transplantation group. In conclusion, combination of bone marrow mesenchymal stem cell transplantation with edaravone can promote neural function recovery after cerebral infarction.

Subject headings: Infarction, Middle Cerebral Artery; Mesenchymal Stem Cells; Tissue Engineering

Cite this article: Song NG, Sun JJ, Zhang YL, Meng LH, Gao SH, Xue J, Sun CY. Expression of serum inflammatory cytokines in rats with cerebral infarction after bone marrow mesenchymal stem cell transplantation combined with edaravone. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2016;20(28):4162-4168.

0 引言 Introduction

缺血性脑卒中以其高发病率、高致残率、高死亡率而严重威胁着人类的健康,因此缺血性脑卒中的治疗受到社会的广泛关注。临床中对于脑卒中的治疗主要以药物治疗为主,介入治疗和干细胞治疗相对较少^[1-7]。

有研究显示血清炎症因子凝血酶元激活因子的抑制因子1和组织纤维溶酶原激活物的表达与脑梗死面积大小及预后密切相关^[8-9],所以抑制血清炎症因子凝血酶元激活因子的抑制因子1和组织纤维溶酶原激活物表达成为治疗脑梗死的潜在靶点之一。且研究显示,骨髓间充质干细胞移植可通过抑制血清炎症因子凝血酶元激活因子的抑制因子1和组织纤维溶酶原激活物表达,减少脑梗死面积及改善脑梗死的预后^[10]。依达拉奉是临床上常用的一种治疗缺血性脑卒中的药物,是一种羟自由基清除剂,可以减小脑梗死急性期患者梗死面积,减轻梗死后脑组织的水肿^[11-14]。单独使用骨髓间充质干细胞移植及依达拉奉治疗缺血性脑卒中时,脑梗死面积都可以减小且脑梗死的预后也可以得到一定程度的改善^[15-21],然而二者联合治疗对脑梗死的作用是否优于单独使用其中一种,目前尚不明确。因此作者拟就二者联合治疗大鼠脑梗死的效果进行分析。

1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 随机对照动物实验。

1.2 时间及地点 实验于2014年1月至2015年8月在

河北医科大学动物实验室完成。

1.3 材料 63只SPF级健康的SD大鼠,雌雄不限,鼠龄4.0-5.0周,体质量300-350 g,由河北医科大学动物实验中心提供,动物许可证号:SCXK(冀)20090028。大鼠实验期间自由饮水,饲养室温度18-28℃,相对湿度62%-80%。

1.4 方法

1.4.1 骨髓间充质干细胞的分离与培养 取3只大鼠,采用颈椎脱臼处死,取大鼠四肢骨,充分暴露冲洗骨髓腔,收集冲洗液,吹打均匀,1 000 r/min离心5 min,弃上清液,加入培养液,吹打至重新悬浮,取少量悬浮液接种到培养瓶中,培养1 d后更换新的培养液,每隔3或4 d换液一次。细胞融合至80%-90%时,可按1:2比例进行传代。移植使用的细胞是第3或4代。

1.4.2 实验分组 将剩余60只SD大鼠采用大脑中动脉线栓法建立局灶性脑梗死模型,以腹腔注射5%水合氯醛将大鼠进行麻醉固定,首先依次分离并暴露大鼠右侧颈总动脉、颈外动脉、颈内动脉,然后结扎并游离颈外动脉主干,用微血管夹夹闭颈总动脉及颈内动脉,用眼科剪在颈外动脉残端剪一小口,将直径0.23 mm、头端圆钝的日本鱼线经颈外动脉插入颈内动脉血管腔中,有阻力感时停止,即到大脑中动脉起始处;将线栓及颈外动脉残端一起结扎,缝合颈部切口。将大鼠放回笼中饲养观察。造模成功后随机分为3组:模型组、骨髓间充

质干细胞移植组和联合组, 每组20只。

1.4.3 干预 造模后当天进行干预。模型组尾静脉注射2 mL PBS(武汉博士德生物工程有限公司)。骨髓间充质干细胞移植组经尾静脉注射 $2.0 \times 10^9 \text{ L}^{-1}$ 骨髓间充质干细胞悬液1 mL, 2次/d, 连续5 d。联合组静脉滴注依达拉奉(武汉江民华泰医药化工有限公司)30 mg+尾静脉注射 $2.0 \times 10^9 \text{ L}^{-1}$ 骨髓间充质干细胞悬液1 mL(2次/d), 连续5 d。

1.4.4 mNSS评分 移植后第1, 3, 7, 14天进行mNSS评分。mNSS评分主要通过对大鼠运动、感觉、平衡、反射的评价来判断大鼠神经功能的缺损及恢复情况。神经功能共分为0-18分, 分值不同代表神经功能的受损的严重程度不同, 0分表示神经功能正常, 没有受损, 18分则表示神经功能严重缺失^[22]。

1.4.5 ELISA检测 采用ELISA法来检测血清炎症因子凝血酶元激活因子的抑制因子1和组织纤维溶酶原激活物的表达量。移植后第2周, 大鼠尾静脉采血3.0-4.0 mL, 静止放置30-35 min后, 3 200 r/min离心5 min, 取上清液, $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 储存, ELISA法(上海酶联生物技术有限公司)检测凝血酶元激活因子的抑制因子1和组织纤维溶酶原激活物的表达水平。

1.4.6 TTC染色 移植后2周, 大鼠水合氯醛腹腔注射麻醉, 断头处死, 取脑, 生理盐水冲洗后置于 $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ 冷冻10 min后, 沿冠状面切片, 切片厚度为2 mm, 2%TTC溶液(青岛高科技工业园海博生物技术有限公司)染色约10 min, 红色为正常脑组织, 苍白色为梗死脑组织, 采用病理图像分析仪(徐州市技易软件科技有限公司)计算梗死面积。

1.4.7 半定量反转录PCR检测肿瘤坏死因子 α mRNA的表达水平 移植后2周, 采用改良的异硫氰酸胍一步法抽提大鼠脑组织中总RNA(华舜公司), 采用一步法RT-PCR检测脑组织中肿瘤坏死因子 α mRNA表达(大连宝生物公司试剂盒)。肿瘤坏死因子 α 及 β -actin序列由上海生工公司合成。肿瘤坏死因子 α : 正义链5'-GCCAAT GGC ATG GAT CTC AAA G-3', 反义链5'-CAG AGC AAT GAC TCC AAA GT-3', 扩增产物为357 bp。 β -actin: 正义链5'-GTG GGC CGC TCTAGG CAC CAA-3', 反义链5'-CTC TTT GAT GTCACG CAC GAT TTC-3', 扩增产物为540 bp。50 $^\circ\text{C}$ 30 min反转录反应, 94 $^\circ\text{C}$ 2 min灭活反转录酶。PCR反应条件: 94 $^\circ\text{C}$ 变性30 s, 55 $^\circ\text{C}$ 退火30 s, 72 $^\circ\text{C}$ 延伸30 s, 循环35次, 72 $^\circ\text{C}$ 终末延伸10 min。将少量扩增产物置于1.8%琼脂糖凝胶中电泳。然后以目的基因与 β -actin的灰度比值代表肿瘤

坏死因子 α 的表达水平。

1.5 主要观察指标 大鼠mNSS评分、血清炎症因子表达水平、脑梗死体积以及脑组织中肿瘤坏死因子 α mRNA的表达水平。

1.6 统计学分析 采用SPSS 13.0软件包进行处理。所有实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果 Results

2.1 骨髓间充质干细胞的形态 分离培养两三天时可见细胞形成多个集落, 呈多角形或长梭形, 有明显集落生成。传代3次后的骨髓间充质干细胞形态趋于一致, 胞体饱满。显微镜下可见骨髓间充质干细胞均一性好, 纯度达97%以上, 见图1。

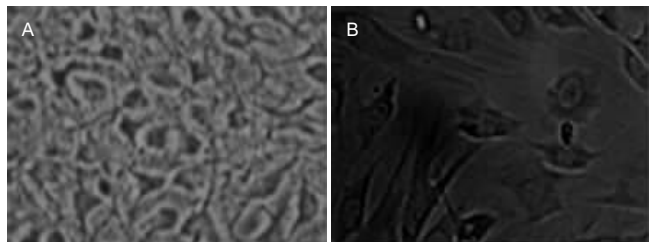


图1 骨髓间充质干细胞的形态 ($\times 200$)

Figure 1 Morphology of bone marrow mesenchymal stem cells ($\times 200$)

图注: 图中 A 为培养两三天的骨髓间充质干细胞, 生长放缓; B 为传代第3次的骨髓间充质干细胞细胞呈长梭形, 生长良好。

2.2 实验动物数量分析 60只大鼠均进入结果分析。

2.3 mNSS评分 与模型组相比, 联合组和骨髓间充质干细胞移植组大鼠的mNSS评分较低($P < 0.05$), 且联合组大鼠的mNSS评分低于骨髓间充质干细胞移植组($P < 0.05$)。提示联合干预较单独移植骨髓间充质干细胞能更好的促进神经功能的恢复(表1, 图2)。

表1 骨髓间充质干细胞移植联合依达拉奉对脑梗死大鼠mNSS评分的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=20$)

Table 1 Modified neurologic severity scores of rats with cerebral infarction undergoing bone marrow mesenchymal stem cell transplantation combined with edaravone

组别	模型组	骨髓间充质 干细胞移植组	联合组
移植前	12.03 \pm 0.10	12.20 \pm 0.14	12.54 \pm 0.12
移植后 3 d	11.69 \pm 0.08	10.36 \pm 0.04 ^a	9.12 \pm 0.09 ^{ab}
移植后 7 d	11.31 \pm 0.21	9.64 \pm 0.20 ^a	7.15 \pm 0.18 ^{ab}
移植后 14 d	10.72 \pm 0.17	6.31 \pm 0.12 ^a	4.02 \pm 0.15 ^{ab}

表注: 与模型组相比, ^a $P < 0.05$; 与骨髓间充质干细胞移植组相比, ^b $P < 0.05$ 。

表2 骨髓间充质干细胞移植联合依达拉奉对脑梗死大鼠血清炎性因子表达水平的影响 ($\bar{x}\pm s, n=20, \text{mg/L}$)

Table 2 Expressions of serum inflammatory cytokines in rats with cerebral infarction after bone marrow mesenchymal stem cell transplantation combined with edaravone

组别	凝血酶元激活因子的抑制因子 1	组织纤维溶酶原激活物
模型组	0.77±0.05	0.21±0.14
骨髓间充质干细胞移植组	0.42±0.07 ^a	0.36±0.19 ^a
联合组	0.26±0.02 ^{ab}	0.47±0.10 ^{ab}

表注: 与模型组相比, ^a $P < 0.05$; 与骨髓间充质干细胞移植组相比, ^b $P < 0.05$.

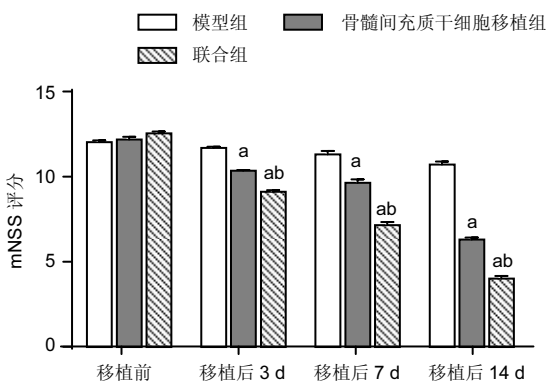


图2 骨髓间充质干细胞移植联合依达拉奉对脑梗死大鼠 mNSS 评分的影响

Figure 2 Modified neurologic severity scores of rats with cerebral infarction after bone marrow mesenchymal stem cell transplantation combined with edaravone

图注: 与模型组相比, ^a $P < 0.05$; 与骨髓间充质干细胞移植组相比, ^b $P < 0.05$.

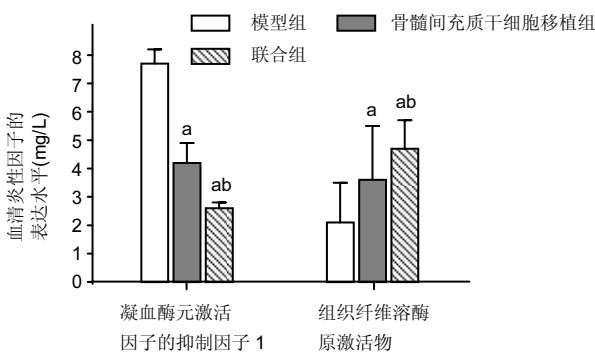


图3 骨髓间充质干细胞移植联合依达拉奉对脑梗死大鼠血清凝血酶元激活因子的抑制因子 1 和组织纤维溶酶原激活物表达水平的影响

Figure 3 Expressions of prothrombin activator inhibitor 1 and tissue plasminogen activator of rats with cerebral infarction after bone marrow mesenchymal stem cell transplantation combined with edaravone

图注: 与模型组相比, ^a $P < 0.05$; 与骨髓间充质干细胞移植组相比, ^b $P < 0.05$.

表3 骨髓间充质干细胞移植联合依达拉奉对脑梗死大鼠脑梗死面积的影响 ($\bar{x}\pm s, n=20$)

Table 3 Effect of the combination of bone marrow mesenchymal stem cell transplantation with edaravone on the infarction area of rats with cerebral infarction

组别	脑梗死面积(%)	梗死体积百分比(%)
模型组	12.77±0.15	6.21±0.04
骨髓间充质干细胞移植组	6.42±0.17 ^a	2.36±0.19 ^a
联合组	3.26±0.02 ^{ab}	0.47±0.10 ^{ab}

表注: 与模型组相比, ^a $P < 0.05$; 与骨髓间充质干细胞移植组相比, ^b $P < 0.05$.

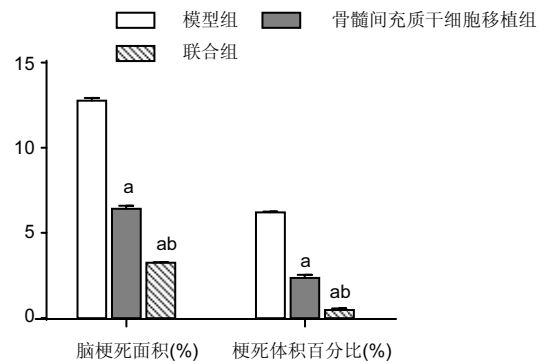


图4 骨髓间充质干细胞移植联合依达拉奉对脑梗死大鼠脑梗死面积的影响

Figure 4 Effect of the combination of bone marrow mesenchymal stem cell transplantation with edaravone on the infarction area of rats with cerebral infarction

图注: 与模型组相比, ^a $P < 0.05$; 与骨髓间充质干细胞移植组相比, ^b $P < 0.05$.

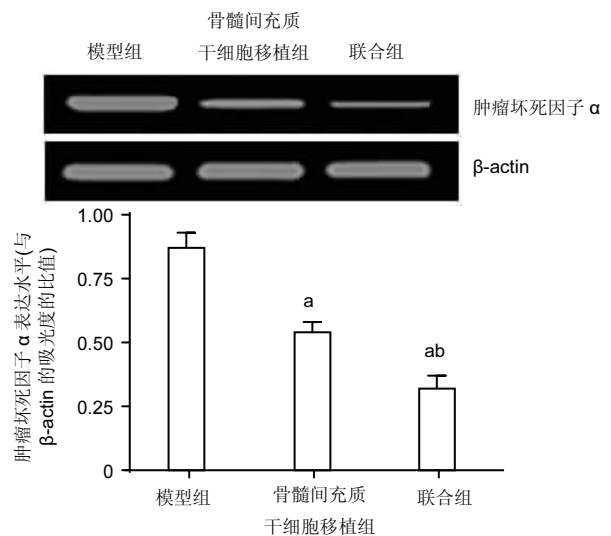


图5 骨髓间充质干细胞移植联合依达拉奉对脑梗死大鼠脑组织中肿瘤坏死因子 α 表达水平的影响

Figure 5 Expression of tumor necrosis factor alpha in rats with cerebral infarction after bone marrow mesenchymal stem cell transplantation combined with edaravone

图注: 与模型组相比, ^a $P < 0.05$; 与骨髓间充质干细胞移植组相比, ^b $P < 0.05$.

2.4 血清炎症因子的表达水平 移植后2周, 与模型组相比, 联合组和骨髓间充质干细胞移植组大鼠血清凝血酶元激活因子的抑制因子1表达水平减少($P < 0.05$), 而组织纤维溶酶原激活物表达水平增加($P < 0.05$), 且联合组大鼠血清凝血酶元激活因子的抑制因子1和组织纤维溶酶原激活物表达水平变化更为显著(与骨髓间充质干细胞移植组相比, $P < 0.05$; **表2, 图3**)。

2.5 脑梗死面积 与模型组相比, 联合组和骨髓间充质干细胞移植组大鼠的脑梗死面积受到显著抑制($P < 0.05$), 且联合组大鼠的脑梗死面积低于骨髓间充质干细胞移植组($P < 0.05$; **表3, 图4**)。

2.6 肿瘤坏死因子 α mRNA的表达水平 通过RT-PCR检测, 模型组肿瘤坏死因子 α mRNA的表达高于联合组和骨髓间充质干细胞移植组, 骨髓间充质干细胞移植组稍高于联合组($P < 0.05$; **图5**)。

3 讨论 Discussion

缺血性脑卒中是指脑组织缺血缺氧导致的变性坏死。炎症是脑梗死的重要病理表现, 脑缺血可以激活强烈的炎症反应, 释放大量的细胞因子、趋化因子、黏附分子及蛋白水解酶, 从而加剧脑组织的损伤。这些细胞因子包括白细胞介素类及肿瘤坏死因子 α 等^[23-24], 因此抑制细胞因子的释放可以起到保护缺血性脑卒中后受损脑组织的作用^[25-26]。

骨髓间充质干细胞是一类具有高分化潜能及高度增殖能力的细胞^[27-31]。还可以促进缺血/再灌注损伤后大鼠脑组织生成, 使大鼠神经功能得到明显改善, 这为临床脑梗死的治疗开辟了新途径^[32-34]。Peng等^[35]指出骨髓间充质干细胞对脑梗死大鼠具有神经保护作用。骨髓间充质干细胞还可以通过分泌神经营养因子^[36-37]、生长因子、细胞因子等, 减少神经元损伤, 从而增强了脑细胞的神经修护作用, 对脑梗死神经功能的恢复有促进的作用。Lee等^[6]对52例患者进行了5年随访研究, 结果显示自体干细胞移植对于卒中患者是安全的, 该治疗可能会改善卒中患者的预后。依达拉奉近年来临床广发使用的一种新型的自由基清除剂, 对缺血性脑卒中的治疗效果显著^[18-20, 38-47], 尤其是缺血性脑卒中的急性期^[38, 48-50]。依达拉奉治疗脑梗死的主要机制为: ①延迟神经功能的损害与其可以清除自由基有关。②减轻脑细胞因缺血缺氧而导致的水肿, 损伤, 对脑组织起到很好的保护作用^[51]。③抑制因自由基导致的脑血管痉挛^[52]。

实验结果表明骨髓间充质干细胞移植联合依达拉奉干预能够恢复凝血酶元激活因子的抑制因子1和组织纤维溶酶原激活物表达, 减小脑梗死面积, 改善脑梗死后大鼠神经功能的恢复。

作者贡献: 实验设计为宋乃光、孙晶晶; 实验实施为宋乃光、孙晶晶、张耀龙、孟令海, 实验评估为宋乃光、孙晶晶、高书焕、薛建、孙彩月, 资料收集为张耀龙、孟令海、高书焕、薛建、孙彩月。宋乃光成文, 孙晶晶审校。

利益冲突: 所有作者共同认可文章内容不涉及相关利益冲突。

伦理问题: 实验方案经河北医科大学动物实验伦理委员会批准, 批准号为SCXK(冀)20090028。实验动物在水合氯醛麻醉下进行所有的手术, 并尽一切努力最大限度地减少其疼痛、痛苦和死亡。

文章查重: 文章出版前已经过CNKI反剽窃文献检测系统进行3次查重。

文章外审: 文章经国内小同行外审专家双盲外审, 符合本刊发稿宗旨。

作者声明: 第一作者对研究和撰写的论文中出现的不良行为承担责任。论文中涉及的原始图片、数据(包括计算机数据库)记录及样本已按照有关规定保存、分享和销毁, 可接受核查。

文章版权: 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

4 参考文献 References

- [1] 中华医学会神经病学分会脑血管病学组缺血性脑卒中二级预防指南撰写组. 中国缺血性脑卒中和短暂性脑缺血发作二级预防指南2010[J]. 中华神经科杂志, 2010, 43(2): 154-160.
- [2] Nakagawara J, Minematsu K, Okada Y, et al. Thrombolysis with 0.6 mg/kg intravenous alteplase for acute ischemic stroke in routine clinical practice: the Japan post-Marketing Alteplase Registration Study (J-MARS). Stroke. 2010;41(9):1984-1989.
- [3] Cannon CP, Rhee KE, Califf RM, et al. Current use of aspirin and anti-thrombotic agents in the United States among outpatients with atherothrombotic disease (from the REduction of Atherothrombosis for Continued Health [REACH] Registry). Am J Cardiol. 2010;105(4):445-452.
- [4] Ansara AJ, Nisly SA, Arif SA, et al. Aspirin dosing for the prevention and treatment of ischemic stroke: an indication-specific review of the literature. Ann Pharmacother. 2010;44(5):851-862.

- [5] Bath PM, Cotton D, Martin RH, et al. Effect of combined aspirin and extended-release dipyridamole versus clopidogrel on functional outcome and recurrence in acute, mild ischemic stroke: PROFESS subgroup analysis. *Stroke*. 2010;41(4):732-738.
- [6] Lee JS, Hong JM, Moon GJ, et al. A long-term follow-up study of intravenous autologous mesenchymal stem cell transplantation in patients with ischemic stroke. *Stem Cells*. 2010;28(6):1099-1106.
- [7] Ferrero E, Ferri M, Viazzo A, et al. Early carotid surgery in patients after acute ischemic stroke: is it safe? A retrospective analysis in a single center between early and delayed/deferred carotid surgery on 285 patients. *Ann Vasc Surg*. 2010;24(7):890-899.
- [8] Stanca DM, Mărginean IC, Sorițău O, et al. Plasmatic markers for early diagnostic and treatment decisions in ischemic stroke. *J Med Life*. 2015;8 Spec Issue:21-25.
- [9] Jin R, Yang G, Li G. Molecular insights and therapeutic targets for blood-brain barrier disruption in ischemic stroke: critical role of matrix metalloproteinases and tissue-type plasminogen activator. *Neurobiol Dis*. 2010;38(3):376-385.
- [10] 鹿寒冰,董瑞国,李晓宾,等.大鼠实验性脑梗死后AQP4表达与MRI变化的相关性研究[J].卒中与神经疾病,2011,18(6):348-352.
- [11] 彭晓琴,张兆辉,何国厚.依达拉奉联合银杏达莫治疗急性脑梗死的Meta分析[J].卒中与神经疾病,2012,19(3):159-163.
- [12] Wang GH, Jiang ZL, Li YC, et al. Free-radical scavenger edaravone treatment confers neuroprotection against traumatic brain injury in rats. *J Neurotrauma*. 2011;28(10):2123-2134.
- [13] 李丽红.加用依达拉奉治疗急性脑梗死的疗效观察[J].中国医药指南,2010,8(15):104-105.
- [14] 黄杰,陈燕,张斌,等.依达拉奉治疗急性脑梗死45例疗效分析[J].中国实用神经疾病杂志,2010,13(10):18-20.
- [15] van Velthoven CT, Kavelaars A, van Bel F, et al. Mesenchymal stem cell treatment after neonatal hypoxic-ischemic brain injury improves behavioral outcome and induces neuronal and oligodendrocyte regeneration. *Brain Behav Immun*. 2010;24(3):387-393.
- [16] 孙春霞,孙善卫,张瑞彪.依达拉奉对进展性脑卒中患者血清hs-CRP及TNF- α 水平的影响及临床意义[J].河北医药,2010,32(18):2351-2352.
- [17] 丁忠阳.依达拉奉对创伤性脑水肿大鼠 AQP4 表达的影响[J].山东医药,2011,51(49):32-33.
- [18] 刘信东,张利娟,赵丽君.依达拉奉治疗大面积脑梗死的临床疗效观察[J].四川医学,2012,33(3):431-433.
- [19] 张敏,张月,吕辉,等.依达拉奉注射液联合苦碟子注射液治疗急性脑梗死的疗效观察[J].中国医院用药评价与分析,2012,12(3):249-251.
- [20] 叶冠龙.低分子肝素钙与依达拉奉联合治疗对进展性脑梗死的疗效及血清一氧化氮的影响[J].中国医院用药评价与分析,2010,10(4):335-336.
- [21] 赵彬,刘斌,张玉芹.依达拉奉对脑出血大鼠血肿周围组织 Caspase-3和Pdcd-5蛋白表达的影响[J].天津医药,2012,40(5):483-485.
- [22] 吴睿,罗世坚,李振东,等.环孢素A抑制炎症改善大鼠脑缺血神经功能[J].中国神经精神疾病杂志,2015,41(5):299-303.
- [23] 曹红元,刘雨辉,李惠允,等.急性脑梗死后炎症因子的动态变化及其与神经功能的相关性研究[J].解放军医药杂志,2014,26(3):51-54.
- [24] 桂千,程庆璋.炎症因子与急性脑梗死的相关性研究[J].中国实用神经疾病杂志,2015,18(20):42-43.
- [25] Liu N, Chen R, Du H, et al. Expression of IL-10 and TNF- α in rats with cerebral infarction after transplantation with mesenchymal stem cells. *Cell Mol Immunol*. 2009;6(3):207-213.
- [26] 郭靖,李晓宾,李传玲,等.急性脑梗死后血清TNF- α 水平与NIHSS评分的相关性及依达拉奉的干预作用[J].山东医药,2013,53(41):16-18.
- [27] Myers TJ, Granero-Molto F, Longobardi L, et al. Mesenchymal stem cells at the intersection of cell and gene therapy. *Expert Opin Biol Ther*. 2010;10(12):1663-1679.
- [28] Wang L, Ott L, Seshareddy K, et al. Musculoskeletal tissue engineering with human umbilical cord mesenchymal stromal cells. *Regen Med*. 2011;6(1):95-109.
- [29] Li J, Zhu H, Liu Y, et al. Human mesenchymal stem cell transplantation protects against cerebral ischemic injury and upregulates interleukin-10 expression in Macaca fascicularis. *Brain Res*. 2010;1334:65-72.
- [30] Eglitis MA, Mezey E. Hematopoietic cells differentiate into both microglia and macroglia in the brains of adult mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997;94(8):4080-4085.
- [31] 张洪连,吴晓牧.骨髓间充质干细胞移植治疗脑梗死及存在问题[J].中华脑血管病杂志(电子版),2010,4(4):300-307.
- [32] Anbari F, Khalili MA, Bahrami AR, et al. Intravenous transplantation of bone marrow mesenchymal stem cells promotes neural regeneration after traumatic brain injury. *Neural Regen Res*. 2014;9(9):919-923.
- [33] Xin H, Li Y, Liu Z, et al. MiR-133b promotes neural plasticity and functional recovery after treatment of stroke with multipotent mesenchymal stromal cells in rats via transfer of exosome-enriched extracellular particles. *Stem Cells*. 2013;31(12):2737-2746.

- [34] Yu HB, Chen PD, Yang ZX, et al. Electro-acupuncture at Conception and Governor vessels and transplantation of umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells for treating cerebral ischemia/reperfusion injury. *Neural Regen Res.* 2014; 9(1):84-91.
- [35] 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): 975-980.
- [36] Li Y, Hua XM, Hua F, et al. Are bone marrow regenerative cells ideal seed cells for the treatment of cerebral ischemia? *Neural Regen Res.* 2013;8(13): 1201-1209.
- [37] Du J, Gao XQ, Deng L, et al. Transfection of the glial cell line-derived neurotrophic factor gene promotes neuronal differentiation. *Neural Regen Res.* 2014;9(1): 33-40.
- [38] 何国美,戴薇.依达拉奉对脑梗死患者IL-6、IL-1 3及ET-1表达的影响[J].实用医学杂志,2010,26(6):1043-1044.
- [39] Lapchak PA. A critical assessment of edaravone acute ischemic stroke efficacy trials: is edaravone an effective neuroprotective therapy? *Expert Opin Pharmacother.* 2010;11(10):1753-1763.
- [40] Sharma P, Sinha M, Shukla R, et al. A randomized controlled clinical trial to compare the safety and efficacy of edaravone in acute ischemic stroke. *Ann Indian Acad Neurol.* 2011;14(2):103-106.
- [41] 赵燕民,范仲鹏,陈品.依达拉奉治疗急性大面积脑梗死患者的疗效观察[J].临床神经病学杂志,2008,21(5):381-383.
- [42] 欧阳锦华.依达拉奉治疗急性脑梗死的临床研究[J].中国医药,2010,5(9):833-834.
- [43] 陈景红,李娜,孙素娟,等.依达拉奉对急性脑梗死患者血清血管内皮生长因子和肿瘤坏死因子水平的影响[J].临床神经病学杂志,2012,25(6):425-427.
- [44] Balu S. Differences in psychometric properties, cut-off scores, and outcomes between the Barthel Index and Modified Rankin Scale in pharmacotherapy-based stroke trials: systematic literature review. *Curr Med Res Opin.* 2009;25(6):1329-1341.
- [45] Watanabe T, Tanaka M, Watanabe K, et al. Research and development of the free radical scavenger edaravone as a neuroprotectant. *Yakugaku Zasshi.* 2004;124(3):99-111.
- [46] Naritomi H, Moriwaki H. Prevention of post-stroke disuse muscle atrophy with a free radical scavenger. *Front Neurol Neurosci.* 2013;32:139-147.
- [47] Kikuchi K, Miura N, Kawahara KI, et al. Edaravone (Radicut), a free radical scavenger, is a potentially useful addition to thrombolytic therapy in patients with acute ischemic stroke. *Biomed Rep.* 2013;1(1):7-12.
- [48] 赵燕民,范仲鹏,陈品.依达拉奉治疗急性大面积脑梗死患者的疗效观察[J].临床神经病学杂志,2008,21(5):381-383.
- [49] 欧阳锦华.依达拉奉治疗急性脑梗死的临床研究[J].中国医药,2010,5(9):833-834.
- [50] 陈景红,李娜,孙素娟,等.依达拉奉对急性脑梗死患者血清血管内皮生长因子和肿瘤坏死因子水平的影响[J].临床神经病学杂志,2012,25(6):425-427.
- [51] 中华医学会神经病学分会脑血管病学组急性缺血性脑卒中诊治指南撰写组.中国急性缺血性脑卒中诊治指南2010 [J].中华神经科杂志,2010,43(2):146-153.
- [52] 李忠音,张军.依达拉奉对急性脑梗死患者血清炎症因子及神经功能的影响[J].河北医学,2015,21(1):122-125.