

# 基于 ciRs-7/miR-7 信号通路探讨中医药调控缺血缺氧微环境延缓干细胞衰老的作用机制

https://doi.org/10.12307/2022.338

王诗琦<sup>1</sup>, 惠小珊<sup>2</sup>, 安兰花<sup>1</sup>, 袁书章<sup>1</sup>, 张金生<sup>3</sup>

投稿日期: 2021-01-07

送审日期: 2021-01-08

采用日期: 2021-02-10

修回日期: 2021-06-16

在线日期: 2021-07-15

中图分类号:

R459.9; R394.2; R318

文章编号:

2095-4344(2022)13-02087-06

文献标识码: A

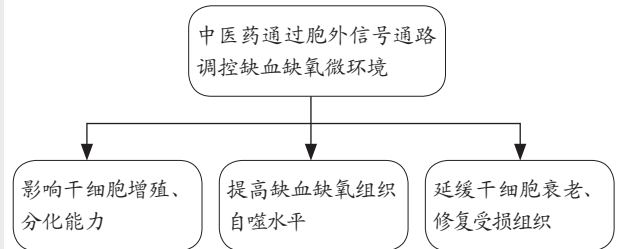
## 文章快速阅读:

### 文章特点一

△总结细胞外信号通路对干细胞增殖、分化、衰老及自噬的影响;

△中医药可以直接干预干细胞, 促进其增殖、分化, 提高抗衰老能力, 也可以调控细胞外信号通路及其上下游蛋白促进其存活及功能的建立;

△进一步研究调控缺血缺氧微环境对干细胞影响的分子机制, 可能是干细胞治疗缺血缺氧性损伤疾病的新方向。



## 文题释义:

**干细胞衰老与微环境:** 干细胞接收并响应来自周围环境的各种反馈信号, 从而对组织不断变化的需求做出反应。干细胞微环境的关键组分随着个体年龄增加发生变化, 势必会导致干细胞的功能活性改变, 如失去其多向分化能力, 影响受损组织再生和修复; 衰老的干细胞旁分泌特征变化, 分泌炎症因子及蛋白酶等对周围细胞功能和组织微环境造成不利影响, 这些不利因素降低了微环境的“质”和“量”, 同时影响干细胞的功能状态。

**ciRs-7/miR-7:** ciRs-7在大脑中高表达, 拥有74个miRNA的保守结合位点, 是目前研究中拥有miRNA结合位点最多的circRNA。ciRs-7与miR-7效应子紧密结合, 比其他线性转录本紧密约10倍, 因此, miR-7的功能受到更有效调控。ciRs-7通过与靶mRNA的3'端非编码区结合或基于circRNA-miRNA-mRNA轴等方式, 在转录水平或转录后调控基因表达方面发挥了重要的作用。ciRs-7既是miR-7的“海绵”, 亦是竞争性内源RNA抑制剂。ciRs-7/miR-7轴与缺血缺氧微环境中信号通路或信号因子及干细胞衰老、自噬等分子作用机制具有密切相关性, 这对其调控缺血缺氧微环境延缓干细胞衰老具有重要意义。

## 摘要

**背景:** 干细胞衰老是机体衰老的一部分, 通过细胞外信号通路调控缺血缺氧微环境, 可能是延缓干细胞衰老的重要方法。

**目的:** 整理与剖析近年来基于细胞外信号通路与缺血缺氧微环境的关系, 探索延缓干细胞衰老的机制与方法。

**方法:** 以“ciRs-7/miR-7, stem cell, ischemia-hypoxia microenvironment, aging”或“ciRs-7/miR-7, 干细胞, 缺血缺氧微环境, 衰老”为主题检索词, 检索中国期刊全文数据库、PubMed、万方数据库, 纳入ciRs-7/miR-7信号通路、缺血缺氧微环境对干细胞衰老影响的相关文章, 检索时间范围为1978-2021年, 最终选择56篇文献进行综述。

**结果与结论:** 缺血缺氧微环境下干细胞的增殖、分化、自噬水平下降, 干细胞衰老进程加速。干细胞老化是导致机体衰老的重要原因, 通过调控细胞外信号通路、ciRs-7/miR-7信号轴延缓干细胞衰老可能成为抗衰老的新思路。

**关键词:** 干细胞; 衰老; ciRs-7; miR-7; 缺血; 缺氧; 综述

## Action mechanism of traditional Chinese medicine on regulating ischemia-hypoxia microenvironment and delaying stem cell senescence based on ciRs-7/miR-7 signaling pathway

Wang Shiqi<sup>1</sup>, Hui Xiaoshan<sup>2</sup>, An Lanhua<sup>1</sup>, Yuan Shuzhang<sup>1</sup>, Zhang Jinsheng<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, Henan Province, China; <sup>2</sup>Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China; <sup>3</sup>Third Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, Henan Province, China

Wang Shiqi, Doctoral candidate, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, Henan Province, China

Hui Xiaoshan, Doctoral candidate, Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China

Wang Shiqi and Hui Xiaoshan contributed equally to this article.

**Corresponding author:** Zhang Jinsheng, Chief physician, MD, Professor, Doctoral supervisor, Third Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, Henan Province, China

<sup>1</sup>河南中医药大学, 河南省郑州市 450046; <sup>2</sup>中国中医科学院广安门医院, 北京市 100053; <sup>3</sup>河南中医药大学第三附属医院, 河南省郑州市 450008

第一作者: 王诗琦, 女, 1993年生, 河南省焦作市人, 汉族, 在读博士, 主要从事中医药防治心脑血管疾病的研究。

共同第一作者: 惠小珊, 女, 1992年生, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市人, 汉族, 在读博士, 主要从事中药防治心脑血管疾病研究。

通讯作者: 张金生, 主任医师, 博士后, 教授, 博士研究生导师, 河南中医药大学第三附属医院, 河南省郑州市 450008

https://orcid.org/0000-0002-8175-7018(王诗琦)

基金资助: 国家自然科学基金面上项目(81673893), 项目负责人: 张金生

引用本文: 王诗琦, 惠小珊, 安兰花, 袁书章, 张金生. 基于 ciRs-7/miR-7 信号通路探讨中医药调控缺血缺氧微环境延缓干细胞衰老的作用机制 [J]. 中国组织工程研究, 2022, 26(13):2087-2092.



## Abstract

**BACKGROUND:** Stem cell senescence is a part of the body's aging. Regulating the ischemia-hypoxia microenvironment through extracellular signaling pathways may be an important method to delay stem cell aging.

**OBJECTIVE:** To explore the mechanisms and methods of delaying stem cell senescence based on the relationship between extracellular signaling pathway and ischemia-hypoxia microenvironment in recent years.

**METHODS:** Using the keywords of "ciRs-7/miR-7, stem cell, ischemia-hypoxia microenvironment, aging" in Chinese and English, we searched Chinese Journal Full-Text Database, PubMed and Wanfang Database for articles about the effects of ciRs-7/miR-7 signaling pathway and ischemia-hypoxia microenvironment on stem cell senescence from 1978 to 2021. Finally, 56 articles were reviewed.

**RESULTS AND CONCLUSION:** The level of proliferation, differentiation and autophagy of stem cells decreased and the senescence process of stem cells accelerated under the ischemia-hypoxia microenvironment. Stem cell aging is an important cause of body aging. Delaying stem cell aging by regulating extracellular signaling pathway ciRs-7/miR-7 may become a new method of anti-aging.

**Key words:** stem cells; senescence; ciRs-7; miR-7; ischemia; hypoxia; review

**Funding:** the National Natural Science Foundation of China, No. 81673893 (to ZIS)

**How to cite this article:** WANG SQ, HUI XS, AN LH, YUAN SZ, ZHANG JS. Action mechanism of traditional Chinese medicine on regulating ischemia-hypoxia microenvironment and delaying stem cell senescence based on ciRs-7/miR-7 signaling pathway. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu.* 2022;26(13):2087-2092.

## 0 引言 Introduction

机体衰老显著增加了心脑血管疾病的发生风险, 增龄过程中伴发的动脉粥样硬化、继发缺血缺氧性损伤疾病, 给个人、家庭及社会造成了沉重的负担<sup>[1]</sup>。临床上, 抗衰老的研究是一个永恒的话题。细胞是构成生物体结构、功能和发育的基本单位, 衰老可以认为是细胞损伤与修复之间的一场博弈, 细胞老化激活炎症因子及趋化因子, 这些因子通过干细胞的旁分泌效应恶化细胞生存的微环境, 不仅导致干细胞的数量及质量下降, 而且降低干细胞的再生和修复能力。近年来, 通过中医药调控微环境干预干细胞增殖、分化的研究已经取得一定进展, 但干细胞衰老的具体细胞生物学作用机制尚不明确。在课题组前期关于缺血缺氧微环境与干细胞衰老的研究基础上, 该文章进一步从分子机制的角度综述细胞外信号通路、ciRs-7/miR-7信号轴与缺血缺氧微环境的关系, 探讨延缓干细胞衰老进程的作用机制。

## 1 资料和方法 Data and methods

**1.1 文献检索和筛选要求** 选择中国期刊全文数据库、PubMed、万方数据库。中文检索词为“ciRs-7/miR-7, 干细胞, 缺血缺氧微环境, 衰老”, 英文检索词为“ciRs-7/miR-7, stem cell, ischemia-hypoxia microenvironment, aging”, 检索时间范围为 1978-2021 年。

### 1.2 文献筛选标准

**1.2.1 文献采用标准** ①干细胞与缺血缺氧微环境高度相关的研究; ②细胞外信号通路与干细胞增殖、分化、衰老、自噬高度相关的研究; ③文献类型为近期发表或在权威杂志发表的期刊论文、综述及经典文献。

**1.2.2 文献剔除标准** ①重复发表、内容陈旧的文献; ②逻辑不严谨、可信度差的文献。

**1.3 质量评估及数据的提取** 计算机初检得到 185 篇文献, 经资料收集者互相评估纳入文献的有效性和适用性, 通过阅读文题和摘要进行初步筛选; 排除中英文文献重复性研究, 以及内容不相关的文献, 最后纳入 56 篇文献进行综述。

## 2 结果 Results

### 2.1 干细胞衰老与微环境

**2.1.1 干细胞衰老的分子机制** 干细胞存在于多种组织及器官中, 具有多向分化潜能、自我更新能力, 且在内环境调控下, 干细胞通过旁分泌形式分泌多种生长因子, 发挥免疫调节、营养支持、促血管生成等作用。随着年龄的增长, 组织、细胞、器官等发生一系列系统性病变, 而干细胞的修复和再生成为衰老疾病发生、发展的重要因素。因此, 研究干细胞衰老相关的

分子机制, 有助于衰老疾病的预防与治疗。

(1)Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路: Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路是介导干细胞增殖、凋亡的经典信号通路, 该信号通路激活的标志是  $\beta$ -catenin 的转录活性被激活, 它是 Wnt 信号的关键中介, MARCHETTI 等<sup>[2]</sup> 研究认为 Wnt 信号因子与细胞表面受体结合使  $\beta$ -catenin 在胞浆中积聚, 进入细胞核与 T 细胞因子等转录因子结合, 致使 Wnt 靶基因转录, 引起干细胞衰老。大脑衰老时 Wnt 因子活性减弱, 导致神经干细胞分化异常。Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路通过调控 p53/p21 信号通路、促炎因子的表达、mTOR 信号通路以及 c-Myc 基因而干预干细胞的生长<sup>[3]</sup>。

(2)MAPK/ERK 信号通路: MAPK/ERK 信号通路在干细胞增殖、基因表达、分化、有丝分裂和凋亡中具有重要的生物学功能。MAPK/ERK 与干细胞的分化密切相关, 抑制 ERK 可阻止干细胞自然分化, 是干细胞有丝分裂分化的强有力刺激源, 与干细胞衰老相关性极强。ERK1/2 可以抑制细胞凋亡, 加快细胞周期进展。KOLOŠA 等<sup>[4]</sup> 研究发现激活 MAPK/ERK 信号通路, 可增强衰老相关蛋白 p16 的表达, 加快衰老的进程。

(3)SIRT6/NF- $\kappa$ B 信号通路: 去乙酰化酶 SIRT6 是干细胞衰老的关键调控蛋白, 通过抑制 NF- $\kappa$ B 调控端粒非依赖的有机体细胞的衰老。SIRT6 功能缺陷可影响 DNA 修复, 致使干细胞衰老, 而增强 NF- $\kappa$ B 信号通路可促进干细胞早衰或正常衰老的发生。李渊等<sup>[5]</sup> 通过研究辐射与造血干细胞衰老相关性发现, SIRT6 表达下降, NF- $\kappa$ B 表达上升, 通过人参皂苷 Rg1 干预此通路可有效减少造血干细胞衰老。

(4)PI3K/AKT/mTOR 信号通路: PI3K/AKT/mTOR 信号通路是调控干细胞周期、凋亡、代谢及自噬的关键信号通路。外界信号因子激活 PI3K, 活化的 PI3K 与磷酸化激酶结合诱导 AKT 磷酸化, 继而激活其下游重要作用靶点 mTOR 的活性, mTOR 分别控制特定亚组分 mRNA 的翻译, 调节蛋白质的合成, 促进干细胞的生长和存活等过程。PI3K 及其效应物 AKT 是维持干细胞稳态的重要调节因子, 部分 PI3K 的缺失会导致干细胞增殖能力降低, 而 AKT 和 mTOR 的过度激活则会导致干细胞扩增, 大量进入细胞周期, 发生干细胞耗竭。YANG 等<sup>[6]</sup> 实验研究显示, 大鼠衰老干细胞增加导致活性氧增强, AKT/mTOR 信号通路被激活。使用抑制剂阻断活性氧或 AKT/mTOR 信号通路, 衰老干细胞数量减少。

(5)其他信号因子: 转化生长因子  $\beta$  是组成早期衰老相关分泌表型的主要生长因子, 转化生长因子  $\beta$  信号通路可调控衰老细胞特异性指标  $\beta$ -半乳糖苷酶的表达。CIESLIK 等<sup>[7]</sup> 研究指出, 衰老与组织不良纤维化有关, 转化生长因子  $\beta$  受体表达减少是因为骨髓间充质干细胞和成纤维细胞对转化生长因子  $\beta$  的无反应性造成的。Nanog 是一种衰老相关转录因子, 在老年心脏的干细胞中, Nanog 表达减少, 导致骨髓间充质干细胞逐渐分化,

表达胶原的间充质纤维细胞数量增加。转化生长因子 $\beta$ 可以促进 Nanog 的表达,使骨髓间充质干细胞保持在原始状态。Notch 是决定细胞命运的跨膜蛋白,Notch 信号通路的激活可以降低 p16、p21 蛋白的表达,促进干细胞的增殖和分化,预防间充质干细胞在长期培养中出现老化<sup>[6]</sup>。

**2.1.2 微环境是影响干细胞衰老的重要因素** 干细胞衰老是机体衰老的一部分,衰老的改变可由自身遗传因素决定,当干细胞在体外经过一定次数的细胞分裂后,会出现生长停滞的复制性衰老,如端粒酶缩短及活性改变、细胞周期阻滞、衰老相关基因异常表达等。对衰老干细胞后续研究亦可看出,干细胞在多种外界因素环境刺激下受损细胞逐渐累积,细胞内出现调控紊乱,丧失增殖、分化和自我修复的能力,从而造成干细胞衰老。因此,干细胞的衰老是内因和外因共同作用的结果。通过全基因组芯片检测技术发现,虽然激活衰老信号通路的分子机制各不相同,但无论是内在还是外在因素引起的干细胞衰老,最终大多要通过调节细胞周期相关蛋白而发挥作用。如 ZENG 等<sup>[8]</sup>研究发现,人参皂苷 Rg1 干预衰老大鼠,可以有效减少大鼠体内氧化应激含量,明显降低衰老骨髓间充质干细胞中 p16、p21、p53 的表达水平,间接增加下游细胞周期蛋白 cyclinD、cyclinE 和 CDK4 的表达,并通过调控 p53/p21 和 p16/Rb 信号通路延缓干细胞的衰老。

干细胞生存的微环境是影响干细胞生长的主要外界因素,干细胞生存的微环境又可称为干细胞龕,是干细胞分化领域的重要学说之一。SCHOFIELD<sup>[9]</sup>最先提出这一观点,其认为能够调控干细胞功能活性的外在因素共同组成了干细胞生存的微环境,可防止干细胞分化,确保其持续增殖。这里的微环境不是孤立的静止状态,而是包括能够维持干细胞自身功能状态的细胞外环境或细胞外组织区域,既包含细胞内组分,又关联细胞外基质及信号通路,这是一个动态而复杂的过程。当干细胞受到外界刺激时,可使干细胞出现衰老表现,这种情况主要是因为干细胞受到微环境的变化所影响。有研究报道,干细胞接收并响应来自周围环境的各种反馈信号,从而对组织不断变化的需求做出反应。这些分泌信号来自干细胞本身(自分泌)、邻近的壁龕细胞(旁分泌)及其他组织(全身),构成了干细胞调节通路的一部分<sup>[10]</sup>。干细胞微环境的关键组分包括特定间质、血管、生长因子、神经递质、信号受体、氧气及温度等<sup>[11]</sup>,这些组成干细胞生存环境的组分随着个体年龄增加发生变化,势必会导致干细胞的功能活性改变,如失去其多向分化能力,影响受损组织再生和修复能力;衰老的干细胞旁分泌特征变化,分泌炎症因子及蛋白酶等对周围细胞功能和组织微环境造成不利影响,这些不利因素降低了微环境的“质”和“量”,同时影响干细胞的功能状态,长时间缺血缺氧会产生一种有毒的内环境,在这种内环境下细胞线粒体呼吸遭受抑制,钙信号失调导致线粒体损伤。缺血细胞产生活性氧,过量的活性氧及过氧化剂防御不足之间的失衡又可导致氧化应激。有研究显示,氧化应激是加速干细胞衰老的重要因素,会诱导干细胞早衰、凋亡或死亡,进一步发展导致机体衰老<sup>[12]</sup>。益气复脉散通过改善心功能,修复组织受损结构,减少心肌梗死后心肌氧化应激、坏死、胶原沉积和心肌纤维化,从改善大环境到改良微环境治疗心血管疾病<sup>[13]</sup>。加味丹参饮含药血清干预骨髓间充质干细胞,促进骨髓间充质干细胞的增殖分化,增强骨髓间充质干细胞分泌血管内皮生长因子和碱性成纤维细胞生长因子的能力,减轻骨髓间充质干细胞衰老,有效改善微循环,促进梗死区血管新生,使缺血心肌得到保护<sup>[14]</sup>。由此可见,干细胞衰老与微环境的正常与否密切相关。

## 2.2 细胞外信号通路影响微环境与干细胞衰老

### ○ 细胞外信号通路对缺血缺氧微环境的调控

#### ○ 衰老干细胞自噬相关信号通路对缺血缺氧微环境的影响

- mTOR 信号通路

- p53 信号通路

- 其他途径

#### ○ circrna/miRNA 与干细胞衰老

- circrna/miRNA 是干细胞衰老机制研究的焦点

- ciRs-7/miR-7 延缓干细胞衰老

**2.2.1 细胞外信号通路对缺血缺氧微环境的调控** 人体增龄过程中会伴发动脉粥样硬化、血管狭窄继发缺血缺氧性损伤等一系列疾病,不仅会使组织生存的微环境发生缺血坏死,还会导致细胞生存的微环境异常。信号通路作为干细胞与微环境之间的连接方式,对细胞增殖、分化、自噬和衰老有重要调节作用。因此,越来越多的研究倾向于通过信号通路调控缺血缺氧微环境,进而影响细胞的生存发展、凋亡和代谢过程。

PI3K/AKT 信号通路被认为是介导细胞保护的经典通路,是参与细胞发展过程的重要通路之一,涂献坤等<sup>[15]</sup>研究显示大鼠脑组织缺血 24 h 后,缺血脑组织 p-Akt 蛋白表达下降,同时证实 PI3K/Akt 信号通路参与了缺血性脑损伤的发病过程,其上游靶标基因 EGFR 在功能上与 PI3K/AKT 和 MAPK/EPK1/2 相关联,在脑缺血后被反式激活,并通过激活下游信号级联 PI3K/AKT 信号通路促进大脑神经元功能再生<sup>[1]</sup>。表皮生长因子与表皮生长因子受体相结合,表皮生长因子受体在酪氨酸残基上被磷酸化激活,是调节细胞周期的关键因素。与缺血缺氧密切相关的信号因子还包括 ERK1/2,缺氧 2 h,大鼠脑微血管内皮细胞内 p-ERK1/2 蛋白表达水平明显降低;缺氧 6 h,大鼠海马神经元 p-ERK1/2 表达减少;大鼠大脑中动脉阻塞 7 d 后, p-ERK1/2 表达下降<sup>[16-17]</sup>。PI3K/AKT 参与了对 ERK 活性的调节, Raf/MAPK/ERK1/2 参与了细胞存活和抑制凋亡的过程<sup>[2]</sup>。由此可见, PI3K/AKT、ERK1/2 信号通路与缺血缺氧微环境相关性最强,是调节血管生成所必须的。通过调控此信号通路或其上下游靶标基因,可以提供细胞保护或损伤机制的详细情况。

**2.2.2 衰老干细胞自噬相关信号通路对缺血缺氧微环境的影响** 自噬是细胞的自我吞噬,在缺血缺氧、饥饿、氧化应激水平升高,或体内受损细胞器、蛋白质过多时,细胞可以激活自噬,通过消化回收代谢物,实现细胞的自我调节和回收利用。干细胞经过多次分化会出现复制性衰老,复制性衰老的干细胞通过抑制自噬,可在一定程度上减缓干细胞的衰老状态,可以看出自噬是一把双刃剑。HO 等<sup>[1]</sup>建立年轻小鼠及老年小鼠动物模型,改变小鼠的基因组使其均不发生自噬,发现年轻小鼠自噬丧失导致造血干细胞早衰及外观发生异常改变,这表明自噬可以抑制干细胞衰老,当自噬受到阻碍则加快干细胞衰老。衰老干细胞的自噬作用可以通过不同途径调节其水平,其中主要通过依赖 mTOR 信号通路、p53 信号通路、线粒体自噬及调控自噬相关蛋白等途径来调节干细胞自噬水平。

**(1)mTOR 信号通路:** 尽管干细胞的衰老研究认为, mTOR 是调节干细胞增殖、凋亡的关键信号因子,但 MA 等<sup>[18]</sup>研究发现,衰老大鼠骨髓间充质干细胞出现明显的退行性病变,表现出增殖能力减弱及分化不平衡, p53、p21、p16 衰老相关蛋白表达上升。使用 mTOR 抑制剂雷帕霉素后,骨髓间充质干细胞活性增强,相关蛋白标志物表达降低,因此,抑制 mTOR 的活

性可以有效延缓干细胞衰老。由于骨髓间充质干细胞在体外培养的氧体积分数为 20%，远高于体内环境，在心肌梗死大鼠模型中显示，移植入缺血缺氧梗死区的干细胞由于低氧应激反应使凋亡率降低，细胞给药前的低氧预适应使干细胞能够更好地适应缺氧环境，这可能都与低氧应激诱发了自噬相关。如雷帕霉素减弱 AMPK/mTOR 活性，自噬抑制剂 3-MA 促进缺氧诱导的间充质干细胞凋亡，证实了在缺氧条件下间充质干细胞的凋亡受自噬调节。因此，骨髓间充质干细胞在缺血缺氧微环境下通过激活自噬来提高其存活率，这可能是移植治疗心肌梗死的一个有效途径<sup>[19]</sup>。另外，研究证明，干细胞衰老受其细胞周期阻滞影响颇深。使用雷帕霉素抑制剂可以抑制 mTORC1 的活性，调控 cyclinD、cyclinE 和 CDK4 等细胞周期蛋白的表达，使多数细胞处于 G<sub>0</sub> 期，从而抑制干细胞的衰老<sup>[20]</sup>。

(2) p53 信号通路: p53 蛋白对干细胞衰老具有双向调节作用。当干细胞进入复制性衰老时，自噬增加。作为自噬标志性蛋白，LC3- I 型向 LC3- II 型转换的多少可以判断自噬通量是否激活，敲除 p53 基因导致 LC3- II 型转换减少及 mTOR 表达增加，从而可以证明骨髓间充质干细胞体外扩增过程中自噬激活的关键是 p53 信号通路<sup>[21]</sup>。MRAKOVIC 等<sup>[22]</sup> 研究显示，FIP200 蛋白在神经干细胞分化中起关键作用，敲除 FIP200 基因导致神经干细胞大量死亡，氧化应激水平作用上升。p53 通过与 FIP200 相互作用，起到抑制自噬的作用，诱导干细胞衰老。这一结果提示，p53 对干细胞自噬的反向抑制作用可能大于正向激活作用。

(3) 其他途径: 胰岛素生长因子 1 表达减少可以通过上调自噬通量来保护缺氧条件下的衰老间充质干细胞，从而提高心肌梗死移植后间充质干细胞的存活率<sup>[23]</sup>。

GATA4 是调控心肌基因表达的重要转录因子，是心肌梗死检测的重要指标。衰老干细胞自噬的研究发现，选择性自噬通过激活 NF- $\kappa$ B 信号通路降低 GATA4 的表达可以抑制骨髓间充质干细胞的衰老，而 GATA4 还可通过核膜的降解来促进细胞衰老，认为其对自噬的调节也具有双面性<sup>[24]</sup>。总之，衰老干细胞的自噬受到多因素的参与，而细胞自噬既是对抗恶劣微环境的手段，也是许多物种对抗衰老的措施。

### 2.2.3 circRNA/miRNA 与干细胞衰老

(1) circRNA/miRNA 是干细胞衰老机制研究的焦点: 长期以来，人们对细胞衰老的分子机制研究主要集中于蛋白基因，而哺乳动物的转录产物 90% 是由非编码 RNA 组成，非编码 RNA 参与多种生物学进程。

miRNA 是在真核生物转录调控中起关键作用的内源性非编码 RNA。目前已知的与调节衰老相关的 miRNA 多存在于造血干细胞和骨髓间充质干细胞中，miRNA 通过靶向参与 DNA 损伤、表观遗传、新陈代谢的相关基因，被认为是衰老的关键调节剂<sup>[24]</sup>。let-7 家族<sup>[25]</sup>、miR-9<sup>[26]</sup>、miR-29<sup>[27]</sup>、miR-34a<sup>[28]</sup>、miR-212/132<sup>[29]</sup>、miR-195<sup>[30]</sup>、miR-495 等多个 miRNA 通过不同途径影响干细胞衰老进程<sup>[31]</sup>。如 miR-195 抑制干细胞端粒酶活性，使干细胞增殖分化能力减弱，促进干细胞衰老；miR-495 抑制细胞周期，提升了骨髓间充质干细胞凋亡水平，诱发干细胞衰老。JEDARI 等<sup>[32]</sup> 研究得出，miR-7 是参与神经干细胞分化的又一重要 miRNA，在青年大鼠及老年大鼠缺血模型中显示， $\alpha$ - 突触核蛋白在老年大鼠脑中积聚，miR-7 显著抑制靶蛋白  $\alpha$ - 突触核蛋白的表达，减轻脑缺血后造成的脑损伤<sup>[33]</sup>。

circRNA 在哺乳动物中广泛表达，单个 circRNA 的分子末端可以共价链接，呈闭环状结构，对核糖核酸酶 (RNase) 不敏感，不易被降解，因此 circRNA 具有更高的稳定性，无论作为新

的临床标志物或是实验研究应用上都具有更强的优势。不同物种基因中存在成千上万的 circRNA，但只有少数得到了认证。作为 microRNA 的“海绵”或抑制剂，circRNA 主要产生于大脑区域，自然存在于细胞内，尤其是在神经元的生存生长及突触可塑性过程中的表达最明显<sup>[34]</sup>。在大鼠缺血缺氧脑损伤模型中，鉴定出大约 66 个差异表达的 circRNAs，其中作为 miR-143 海绵作用的 circDLGAP4 在脑缺血情况下表达显著降低，提示脑缺血缺氧可能与 circRNA 的表达失衡直接相关<sup>[35]</sup>。在老年动物中，circRNA 在神经元中增多并在大脑皮质和海马区积聚。circRNA 随着年龄的增长而增加，这可能是由于老年动物的细胞增殖能力减弱，circRNA 在增殖过程中分配给子细胞的数量减少，不断产生的 circRNA 稳定性强又不易降解，因此会在脑中积聚，这为其作为衰老的生物标志物提供了基础<sup>[36-37]</sup>。由此可见，circRNA 和 miRNA 之间的相互作用与脑缺血缺氧损伤及细胞凋亡、细胞代谢变化、免疫系统改变密不可分<sup>[38]</sup>。

(2) ciRs-7/miR-7 延缓干细胞衰老: ciRs-7/miR-7 之间的作用机制可能是调控缺血缺氧微环境延缓干细胞衰老的重要因素。

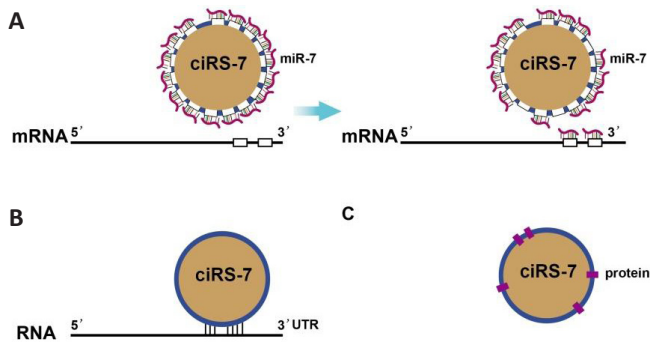
ciRs-7 对 miR-7 的海绵作用: ciRs-7 在大脑中高表达，拥有 74 个 miRNA 的保守结合位点，是目前研究中拥有 miRNA 结合位点最多的 circRNA。ciRs-7 与 miR-7 效应子紧密结合，比其他线性转录本紧密约 10 倍<sup>[39]</sup>，因此，miR-7 的功能受到更有效调控。ciRs-7 与 miR-7 在小鼠胚胎脑组织中具有相同的特异表达区，在斑马鱼脑组织中发现 ciRs-7 注射液与敲除后的 miR-7 表型相似<sup>[40]</sup>。这些研究结果可以看出，ciRs-7 的正、反式调节对 miR-7 起到海绵作用，且海绵效应与 ciRs-7 的表达水平相关，脑中 ciRs-7 的高表达对 miR-7 的海绵作用更强，增加 miR-7 靶基因的表达调控功能<sup>[41]</sup>。

ciRs-7 对 miR-7 的转录或转录后调控: ciRs-7 通过与靶 mRNA 的 3' 端非编码区 (UTR) 结合或基于 circRNA-miRNA-mRNA 轴等方式，在转录水平上或转录后调控基因表达方面发挥了重要的作用<sup>[42-43]</sup>。ciRs-7 在大脑中的高表达与 miR-7 在小鼠脑切片和分离的小鼠原代细胞中的表达一致。大鼠心肌缺血再灌注模型中表现出特定 circRNA 的上调，促进细胞凋亡并加重损伤，在心肌梗死模型中作为保护剂 miR-7a 的海绵，ciRs-7 可增加心肌梗死面积<sup>[44]</sup>，提示 ciRs-7 与 miR-7 存在内源性相关作用的关系，即 ciRs-7 既是 miR-7 的“海绵”，亦是竞争性内源 RNA 抑制剂<sup>[45]</sup>。

ciRs-7/miR-7 与靶蛋白的相互作用: miR-7 作为多种疾病及信号通路的关键调控因子，可以靶向 EGFR、PIK3CD、IGF1R、mTOR、p53 等的表达，这些基因是影响干细胞增殖、凋亡和衰老的关键因子，ciRs-7 可能是参与其调节神经元功能的重要因素<sup>[46]</sup>。LI 等<sup>[40]</sup> 研究认为，ciRs-7/miR-7 对 IGF1、EGFR 和 mTOR 起到关键调控作用，显著提高神经干细胞在缺血缺氧微环境中的增殖分化能力。miR-7 同家族基因 miR-7a 在心肌梗死后与 ciRs-7 共表达可逆转 ciRs-7 诱导的细胞凋亡，并提升半胱氨酸蛋白酶 3 的活性，提示 ciRs-7/miR-7 在梗死区的缺血缺氧微环境中对心肌细胞具有明显的保护作用<sup>[47]</sup>。

综上所述，ciRs-7/miR-7 轴与缺血缺氧微环境中信号通路或信号因子及干细胞衰老、自噬等分子作用机制具有密切相关性，这为其调控缺血缺氧微环境延缓干细胞衰老具有重要意义，见图 1, 2。

2.3 中医药调控细胞外信号通路改良缺血缺氧微环境的初步探索 中医药在延缓干细胞衰老、防治机体衰老中的功效越来越显著。无论是中药复方还是中药单体，以其多途径、多靶点、多角度的形式调控缺血缺氧微环境，影响细胞外信号通路，具有明显优势。



图注: A 显示 ciRS-7 作为 miR-7 海绵, 通过“外显子环化”与 miR-7 相连; B 为 ciRS-7 通过与靶基因 mRNAs 的 3'UTR 反式结合调控靶基因表达; C 为 ciRS-7 与蛋白质的相互作用

图 1 | ciRS-7 与 miR-7 的作用机制

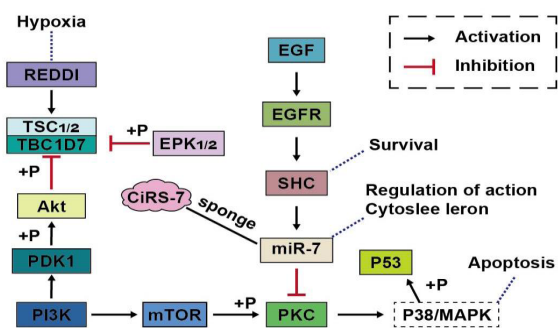


图 2 | ciRS-7/miR-7 信号轴与上下游靶基因间的关联

对于大鼠脑缺血缺氧模型, 经人参皂苷 Rg1 干预后, 通过降低 D-半乳糖苷处理后的神经干细胞 p-AKT 及 p-mTOR 蛋白表达水平, 下调 p53、p16、p21 及 Rb 的表达量, 可以起到延缓神经干细胞衰老、降低其氧化应激水平的作用, 这可能与抑制 PI3K/AKT/mTOR 通路活性有关<sup>[48-49]</sup>。另外, 相较于大鼠衰老模型组, 人参皂苷 Rg1 干预后,  $\beta$ -半乳糖苷酶染色阳性细胞百分率及 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期细胞比例明显下降, 混合细胞集落生成单位数量升高, SIRT6 mRNA、蛋白表达上调, NF- $\kappa$ B mRNA、蛋白表达下调, 证实了人参皂苷 Rg1 可能通过调控 SIRT6/NF- $\kappa$ B 信号通路延缓造血干细胞的衰老<sup>[50]</sup>。LIU 等<sup>[51]</sup> 建立大鼠脑缺血再灌注模型, 运用淫羊藿苷干预间充质干细胞, 激活 PI3K/EPK1/2 信号通路, 可显著提高海马和额叶皮层区血管内皮生长因子及脑源性神经营养因表达量, 促进神经干细胞的增殖, 且已有研究发现淫羊藿苷对神经干细胞的诱导作用还与细胞周期基因 cyclinD1 和 p21 mRNA、蛋白表达增加有关<sup>[52]</sup>。

相对于中药单体来说, 中药复方成分复杂, 发挥作用的成分也不尽相同, 且不同的配伍对中药的药效也会存在差异。HE 等<sup>[53]</sup> 使用龙蛭汤含药血清作用于缺血损伤细胞模型, 结果显示自噬小体增多, 自噬因子 LC3-II 及 Beclin-1 蛋白表达增加, 促进细胞增殖、迁移, 细胞管型形成增多; 周胜强<sup>[54]</sup> 认为补阳还五汤具有补气、活血、通络的功效, 在大鼠缺血模型中, 补阳还五汤可以升高 p-PI3K、p-Akt 及 p62 蛋白表达水平, 降低脑缺血半暗带自噬水平, 保护脑神经。课题组在前期实验研究中发现, 补肾化痰生新方通过调控缺血缺氧微环境, 显著提升骨髓间充质干细胞的生存率, 降低凋亡率及氧化应激水平, 通过下调 p16、p53、p21 蛋白表达可延缓骨髓间充质干细胞衰老, 且补肾化痰生新方可有效提升大鼠海马区神经干细胞在半暗带区的增殖分化水平, 促进脑缺血后神经元及神经功能的恢复<sup>[55-56]</sup>。

综上所述, 以补肾、活血化瘀为代表的中药单体或复方, 可明显改善缺血缺氧微环境的功能状态, 主要通过调控 PI3K/AKT/mTOR、NF- $\kappa$ B、p53 信号通路及其上下游信号因子发挥延缓干细胞衰老的作用。

### 3 结语 Conclusions

干细胞作为目前受关注最多、最具价值的移植供体细胞, 无论在临床还是实验研究中都有着巨大的潜力。干细胞衰老的发生发展是多因素、多途径、多基因协同调节的结果, 随着技术的进步及知识的积累, 从非编码 RNA 层面研究干细胞衰老是新的突破, miR-7 作为重要的调控干细胞生存生长的基因, 参与多种疾病的发生发展, ciRS-7 是近期发现参与生命活动的物质, 具有重要的研究意义。在许多研究中, circRNA 的功能更多地是被经验研究所描述, 缺乏体内证实的方法, 这对于 circRNA 作为未来的药物靶标或生物标志物的发展至关重要。ciRS-7/miR-7 信号轴与 PI3K/AKT/mTOR 信号通路、NF- $\kappa$ B 信号通路、Wnt- $\beta$ /catenin 信号通路、p53 信号通路及 PI3K/EPK1/2 信号通路相关性最强。但基于 ciRS-7/miR-7 信号轴研究缺血缺氧微环境相关作用机制仍处在初级阶段, 对延缓干细胞衰老或增强其增殖、分化、自噬能力的作用机制仍需进一步探索。

作者贡献: 王诗琦负责综述构思设计, 惠小珊负责文章写作校对, 安兰花、袁书章参与文献收集、分析总结, 张金生负责项目指导。全体作者都阅读并同意最终的文本。

经费支持: 该文章接受了“国家自然科学基金面上项目(81673893)”的资助。所有作者声明, 经费支持没有影响文章观点和对研究数据客观结果的统计分析及其报道。

利益冲突: 文章的全部作者声明, 在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

写作指南: 该研究遵守《系统综述和荟萃分析报告规范》(PRISMA 指南)。

文章查重: 文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。

文章外审: 文章经小同行外审专家双盲外审, 同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

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。

开放获取声明: 这是一篇开放获取文章, 根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享 4.0”条款, 在合理引用的情况下, 允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展, 同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献, 并为之建立索引, 用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

### 4 参考文献 References

- HO TT, WARR MR, ADELMAN ER, et al. Autophagy maintains the metabolism and function of young and old stem cells. *Nature*. 2017; 543(7644):205-210.
- MARCHETTI B, TIROLO C, L'EPISCOPO F, et al. Parkinson's disease, aging and adult neurogenesis: Wnt/ $\beta$ -catenin signalling as the key to unlock the mystery of endogenous brain repair. *Aging Cell*. 2020;19(3):e13101.
- WU J, LIU S, MENG H, et al. Neuropeptide Y enhances proliferation and prevents apoptosis in rat bone marrow stromal cells in association with activation of the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway in vitro. *Stem Cell Res*. 2017;21:74-84.
- KOLOŠA K, MOTALN H, HEROLD-MENDE C, et al. Paracrine effects of mesenchymal stem cells induce senescence and differentiation of glioblastoma stem-like cells. *Cell Transplant*. 2015;24(4):631-644.
- 李渊, 周玥, 王亚平, 等. 人参皂苷 Rg1 基于 SIRT6/NF- $\kappa$ B 信号通路对辐射致造血干/祖细胞衰老的保护作用 [J]. *中草药*, 2017, 48(21): 4497-4501.
- YANG M, TENG S, MA C, et al. Ascorbic acid inhibits senescence in mesenchymal stem cells through ROS and AKT/mTOR signaling. *Cytotechnology*. 2018;70(5):1301-1313.
- CIESLIK KA, TRIAL J, CRAWFORD JR, et al. Adverse fibrosis in the aging heart depends on signaling between myeloid and mesenchymal cells; role of inflammatory fibroblasts. *J Mol Cell Cardiol*. 2014;70:56-63.

- [8] ZENG Y, HU W, JING P, et al. The regulation of ginsenoside Rg1 upon aging of bone marrow stromal cell contribute to delaying senescence of bone marrow mononuclear cells (BMNCs). *Life Sci.* 2018;209:63-68.
- [9] SCHOFIELD R. The relationship between the spleen colony-forming cell and the haemopoietic stem cell. *Blood Cells.* 1978;4(1-2):7-25.
- [10] CHACÓN-MARTÍNEZ CA, KOESTER J, WICKSTRÖM SA. Signaling in the stem cell niche: regulating cell fate, function and plasticity. *Development.* 2018;145(15):dev165399.
- [11] ROSSI L, SALVETTI A. Planarian stem cell niche, the challenge for understanding tissue regeneration. *Semin Cell Dev Biol.* 2019;87:30-36.
- [12] 王诗琦, 张金生. 中医药调控缺血缺氧微环境对骨髓间充质干细胞增殖、分化及衰老的影响 [J]. *中国组织工程研究*, 2021,25(7):1129-1134.
- [13] ZHANG Y, ZHANG L, ZHANG Y, et al. YiQIFuMai Powder Injection Attenuates Coronary Artery Ligation-Induced Heart Failure Through Improving Mitochondrial Function via Regulating ROS Generation and CaMKII Signaling Pathways. *Front Pharmacol.* 2019;10:381.
- [14] 赵慧杰. 加味丹参含药血清对骨髓间充质干细胞增殖及分泌 bFGF、VEGF 的影响 [J]. *亚太传统医药*, 2019,15(8):41-43.
- [15] 涂献坤, 杨滨, 涂德文, 等. PI3K/Akt 通路在丙泊酚减轻大鼠脑缺血性损伤中的作用 [J]. *中国药理学通报*, 2019,35(5):630-633.
- [16] LIU B, LUO C, ZHENG Z, et al. Shengui Sansheng San extraction is an angiogenic switch via regulations of AKT/mTOR, ERK1/2 and Notch1 signal pathways after ischemic stroke. *Phytomedicine.* 2018;44:20-31.
- [17] JEONG JE, PARK JH, KIM CS, et al. Neuroprotective effects of erythropoietin against hypoxic injury via modulation of the mitogen-activated protein kinase pathway and apoptosis. *Korean J Pediatr.* 2017;60(6):181-188.
- [18] MA Y, QI M, AN Y, et al. Autophagy controls mesenchymal stem cell properties and senescence during bone aging. *Aging Cell.* 2018;17(1):e12709.
- [19] JAKOVljeVIC J, HARRELL CR, FELLABAUM C, et al. Modulation of autophagy as new approach in mesenchymal stem cell-based therapy. *Biomed Pharmacother.* 2018;104:404-410.
- [20] WEICHHART T. mTOR as Regulator of Lifespan, Aging, and Cellular Senescence: A Mini-Review. *Gerontology.* 2018;64(2):127-134.
- [21] RASTALDO R, VITALE E, GIACHINO C. Dual Role of Autophagy in Regulation of Mesenchymal Stem Cell Senescence. *Front Cell Dev Biol.* 2020;8:276.
- [22] MRAKOVCIC M, FRÖHLICH LF. p53-Mediated Molecular Control of Autophagy in Tumor Cells. *Biomolecules.* 2018;8(2):14.
- [23] YANG M, WEN T, CHEN H, et al. Knockdown of insulin-like growth factor 1 exerts a protective effect on hypoxic injury of aged BM-MSCs: role of autophagy. *Stem Cell Res Ther.* 2018;9(1):284.
- [24] DALGAARD LT, ELIASSON L. An 'alpha-beta' of pancreatic islet microribonucleotides. *Int J Biochem Cell Biol.* 2017;88:208-219.
- [25] CAPPELLETTI C, GALBARDI B, BRUTTINI M, et al. Aging-associated genes and let-7 microRNAs: a contribution to myogenic program dysregulation in oculopharyngeal muscular dystrophy. *FASEB J.* 2019; 33(6):7155-7167.
- [26] KATZ S, CUSSIGH D, URBÁN N, et al. A Nuclear Role for miR-9 and Argonaute Proteins in Balancing Quiescent and Activated Neural Stem Cell States. *Cell Rep.* 2016;17(5):1383-1398.
- [27] LYU G, GUAN Y, ZHANG C, et al. TGF-beta signaling alters H4K20me3 status via miR-29 and contributes to cellular senescence and cardiac aging. *Nat Commun.* 2018;9(1):2560.
- [28] JAUHARI A, SINGH T, SINGH P, et al. Regulation of miR-34 Family in Neuronal Development. *Mol Neurobiol.* 2018;55(2):936-945.
- [29] HADAR A, MILANESI E, WALCZAK M, et al. SIRT1, miR-132 and miR-212 link human longevity to Alzheimer's Disease. *Sci Rep.* 2018;8(1):8465.
- [30] OKADA M, KIM HW, MATSU-URA K, et al. Abrogation of Age-Induced MicroRNA-195 Rejuvenates the Senescent Mesenchymal Stem Cells by Reactivating Telomerase. *Stem Cells.* 2016;34(1):148-159.
- [31] LI X, SONG Y, LIU D, et al. MiR-495 Promotes Senescence of Mesenchymal Stem Cells by Targeting Bmi-1. *Cell Physiol Biochem.* 2017;42(2):780-796.
- [32] JEDARI B, RAHMANI A, NADERI M, et al. MicroRNA-7 promotes neural differentiation of trabecular meshwork mesenchymal stem cell on nanofibrous scaffold. *J Cell Biochem.* 2020;121(4):2818-2827.
- [33] KIM T, MEHTA SL, MORRIS-BLANCO KC, et al. The microRNA miR-7a-5p ameliorates ischemic brain damage by repressing  $\alpha$ -synuclein. *Sci Signal.* 2018;11(560):eaat4285.
- [34] KONDO MA, MOHAN A, MATHER KA. Going around in circles: deciphering the role of circular RNAs in neurodegenerative disease. *Curr Opin Psychiatry.* 2020;33(2):141-147.
- [35] JIANG L, LI H, FAN Z, et al. Circular RNA expression profiles in neonatal rats following hypoxic-ischemic brain damage. *Int J Mol Med.* 2019; 43(4):1699-1708.
- [36] BACHMAYR-HEYDA A, REINER AT, AUER K, et al. Correlation of circular RNA abundance with proliferation--exemplified with colorectal and ovarian cancer, idiopathic lung fibrosis, and normal human tissues. *Sci Rep.* 2015; 5:8057.
- [37] KUMAR L, SHAMSUZZAMA, HAQUE R, et al. Circular RNAs: the Emerging Class of Non-coding RNAs and Their Potential Role in Human Neurodegenerative Diseases. *Mol Neurobiol.* 2017;54(9):7224-7234.
- [38] GUERRA BS, LIMA J, ARAUJO B, et al. Biogenesis of circular RNAs and their role in cellular and molecular phenotypes of neurological disorders. *Semin Cell Dev Biol.* 2020 Sep 3. doi: 10.1016/j.semcdb.2020.08.003. Online ahead of print.
- [39] LI HM, MA XL, LI HG. Intriguing circles: Conflicts and controversies in circular RNA research. *Wiley Interdiscip Rev RNA.* 2019;10(5):e1538.
- [40] LI L, CHEN Y, NIE L, et al. MyoD-induced circular RNA CDR1as promotes myogenic differentiation of skeletal muscle satellite cells. *Biochim Biophys Acta Gene Regul Mech.* 2019;1862(8):807-821.
- [41] LIU L, LIU FB, HUANG M, et al. Circular RNA ciRS-7 promotes the proliferation and metastasis of pancreatic cancer by regulating miR-7-mediated EGFR/STAT3 signaling pathway. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* 2019;18(6):580-586.
- [42] HANSEN TB, JENSEN TI, CLAUSEN BH, et al. Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges. *Nature.* 2013;495(7441):384-388.
- [43] PENG L, YUAN XQ, LI GC. The emerging landscape of circular RNA ciRS-7 in cancer (Review). *Oncol Rep.* 2015;33(6):2669-2674.
- [44] CAI W, ZHANG Y, SU Z. ciRS-7 targeting miR-135a-5p promotes neuropathic pain in CCI rats via inflammation and autophagy. *Gene.* 2020;736:144386.
- [45] LIN SP, YE S, LONG Y, et al. Circular RNA expression alterations are involved in OGD/R-induced neuron injury. *Biochem Biophys Res Commun.* 2016;471(1):52-56.
- [46] ZHOU X, JIANG L, FAN G, et al. Role of the ciRS-7/miR-7 axis in the regulation of proliferation, apoptosis and inflammation of chondrocytes induced by IL-1 $\beta$ . *Int Immunopharmacol.* 2019;71:233-240.
- [47] GENG HH, LI R, SU YM, et al. The Circular RNA Cdr1as Promotes Myocardial Infarction by Mediating the Regulation of miR-7a on Its Target Genes Expression. *PLoS One.* 2016;11(3):e0151753.
- [48] CHEN L, YAO H, CHEN X, et al. Ginsenoside Rg1 Decreases Oxidative Stress and Down-Regulates Akt/mTOR Signalling to Attenuate Cognitive Impairment in Mice and Senescence of Neural Stem Cells Induced by D-Galactose. *Neurochem Res.* 2018;43(2):430-440.
- [49] LI YB, WANG Y, TANG JP, et al. Neuroprotective effects of ginsenoside Rg1-induced neural stem cell transplantation on hypoxic-ischemic encephalopathy. *Neural Regen Res.* 2015;10(5):753-759.
- [50] TANG YL, ZHOU Y, WANG YP, et al. SIRT6/NF- $\kappa$ B signaling axis in ginsenoside Rg1-delayed hematopoietic stem/progenitor cell senescence. *Int J Clin Exp Pathol.* 2015;8(5):5591-5596.
- [51] LIU D, YE Y, XU L, et al. Icarin and mesenchymal stem cells synergistically promote angiogenesis and neurogenesis after cerebral ischemia via PI3K and ERK1/2 pathways. *Biomed Pharmacother.* 2018;108:663-669.
- [52] FU X, LI S, ZHOU S, et al. Stimulatory effect of icaritin on the proliferation of neural stem cells from rat hippocampus. *BMC Complement Altern Med.* 2018;18(1):34.
- [53] HE Q, LIU Q, CHEN Y, et al. Long-Zhi Decoction Medicated Serum Promotes Angiogenesis in Human Umbilical Vein Endothelial Cells Based on Autophagy. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2018; 2018:6857398.
- [54] 周胜强. 补阳还五汤调控 Cav1/mTOR/ULK1 通路介导的自噬脑缺血损伤机制研究 [D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2017.
- [55] 刘振伟, 孙慧君, 张金生. 补肾化瘀生新方对大鼠中动脉栓塞模型大鼠海马区神经干细胞增殖的影响 [J]. *中医学报*, 2020,35(7):1485-1490.
- [56] 张宝霞, 张金生, 惠小珊, 等. 补肾化瘀生新方改善缺血缺氧性微环境延缓骨髓间充质干细胞衰老的作用 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26(16):87-92.

(责任编辑: MZH, ZN, JY)