

内皮祖细胞在缺血性脑血管病中的研究进展

王琪 王满侠 郑婷 张帅杰 张新燕

【中图分类号】 R 【文献标识码】 A 【文章编号】 1007-0478(2016)04-0298-04

【DOI】 10.3969/j.issn.1007-0478.2016.04.024

1 背景

脑血管病是全球第二大常见死因,也是成年人最主要的致残原因^[1]。随着老龄化社会的发展,脑血管病的发病率逐渐增高^[2]。其中,ICVD(Ischemic cerebrovascular disease)占脑血管病的87%^[3]。目前,药物溶栓和血管内介入治疗

是公认的治疗 ICVD 的有效方法^[4]。但溶栓治疗时间窗短暂,仅为3~4.5 h^[5],因此只有约5%的 ICVD 患者成功接受溶栓治疗^[6]。血管内介入治疗后2年内脑卒中再发率明显高于药物溶栓^[7]。所以,对于无溶栓适应症和血管内介入指征的 ICVD 患者需要寻求其他方法。近年来,新提出的生物疗法为 ICVD 的治疗提供了一个新的方向。研究表明 EPCs(endothelial progenitor cells)可以促进血管再生及神经修复,且 EPCs 的水平与 ICVD 的严重程度呈负相关^[8]。因此,基于 EPCs 为 ICVD 的治疗提供了一个新的思路。

基金项目:甘肃省卫生行业科研计划项目(编号为 GSWSKY-2015-56)

作者单位:730030 兰州大学第二医院神经内科[王琪 王满侠(通信作者) 郑婷 张帅杰 张新燕]

- [50] Bedi GS, Brown AD, Delgado SR, et al. Impact of rituximab on relapse rate and disability in neuromyelitis optica[J]. MULTIPLE SCLEROSIS JOURNAL, 2011, 17(10):1225-1230.
- [51] Yang CS, Yang L, Li T, et al. Responsiveness to reduced dosage of rituximab in Chinese patients with neuromyelitis optica[J]. Neurology, 2013, 81(8):710-713.
- [52] Tolerability KE, Rituximab SO. MabThera[J]. Cancer Treat Rev, 2005, 31(6):456-473.
- [53] Uzawa A, Mori M, Sato Y, et al. CSF interleukin-6 level predicts recovery from neuromyelitis optica relapse[J]. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2012, 83(3):339-340.
- [54] Ayzenberg I, Kleiter I, Schröder A, et al. Interleukin 6 receptor blockade in patients with neuromyelitis optica nonresponsive to anti-CD20 therapy[J]. JAMA Neurol, 2013, 70(3):394-397.
- [55] Kieseier BC, Storch O, Dehmel T, et al. Disease amelioration with tocilizumab in a treatment-resistant patient with neuromyelitis optica: implication for cellular immune responses[J]. JAMA Neurol, 2013, 70(3):390-393.
- [56] Ringelstein M, Ayzenberg I, Harmel J, et al. Long-term Therapy With Interleukin 6 Receptor Blockade in Highly Active Neuromyelitis Optica Spectrum Disorder[J]. JAMA Neurol, 2015, 72(7):756-763.
- [57] Zappia E, Casazza S, Pedemonte E, et al. Mesenchymal stem cells ameliorate experimental autoimmune encephalomyelitis inducing T-cell anergy[J]. Blood, 2005, 106(5):1755-1761.
- [58] Yamout B, Hourani R, Salti H, et al. Bone marrow mesenchymal stem cell transplantation in patients with multiple sclerosis: a pilot study[J]. Multiple Sclerosis, 2009, 15(9):S142.
- [59] Karussis D, Karageorgiou C, Vaknin-Dembinsky A, et al. Safety and immunological effects of mesenchymal stem cell transplantation in patients with multiple sclerosis and amyotrophic lateral sclerosis[J]. Arch Neurol, 2010, 67(10):1187-1194.

- [60] Tyndall A. EULAR stromal cell translational group. mesenchymal stem cells for multiple sclerosis: can we find the answer? [J]. Mult Scler, 2010, 16(4):386.
- [61] Greco R, Bondanza A, Vago L, et al. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for neuromyelitis optica [J]. Ann Neurol, 2014, 75(3):447-453.
- [62] Greco R, Bondanza A, Oliveira MC, et al. Autologous hematopoietic stem cell transplantation in neuromyelitis optica: A registry study of the EBMT Autoimmune Diseases Working Party [J]. Multiple Sclerosis, 2015, 21(2):189-197.
- [63] Okada K, Tsuji S, Tanaka K. Intermittent intravenous immunoglobulin successfully prevents relapses of neuromyelitis optica[J]. Intern Med, 2007, 46(19):1671-1672.
- [64] Tradtrantip L, Ratelade J, Zhang H, et al. Enzymatic deglycosylation converts pathogenic neuromyelitis optica anti-aquaporin-4 immunoglobulin G into therapeutic antibody[J]. Ann Neurol, 2013, 73(1):77-85.
- [65] Tradtrantip L, Asavapanumas N, Verkman AS. Therapeutic cleavage of Anti-Aquaporin-4 autoantibody in neuromyelitis optica by an IgG-Selective proteinase [J]. Mol Pharmacol, 2013, 83(6):1268-1275.
- [66] Saadoun S, Waters P, Macdonald C, et al. Neutrophil protease inhibition reduces neuromyelitis optica-immunoglobulin G-induced damage in mouse brain[J]. Ann Neurol, 2012, 71(3):323-333.
- [67] Papadopoulos MC, Bennett JL, Verkman AS. Treatment of neuromyelitis optica: state-of-the-art and emerging therapies [J]. Nat Rev Neurol, 2014, 10(9):493-506.
- [68] Tradtrantip L, Zhang H, Saadoun S, et al. Anti-aquaporin-4 monoclonal antibody blocker therapy for neuromyelitis optica [J]. Ann Neurol, 2012, 71(3):314-322.

(2016-03-05 收稿)

2 内皮祖细胞的起源、生物学特性和表面特征

EPCs 主要来源于骨髓、脾、外周血和脐带血,其中骨髓中 EPCs 含量丰富^[9]。将外周血中 EPCs 在体外培养,根据生长周期将其分为早期 EPCs 和晚期 EPCs。早期 EPCs 呈梭形,3~5 d 出现,约第 4 周死亡,增殖能力低,能分泌血管内皮生长因子和白介素-8 等细胞因子促进血管新生。晚期 EPCs 呈鹅卵石样,培养 2~3 周出现,4~8 周生长达顶峰,能在培养基中存活长达 12 周,主要通过增殖分化形成成熟血管内皮细胞,参与血管新生^[10]。EPCs 表面标志目前尚不十分明确,主要包括造血干细胞标志 CD34 和 CD133,内皮细胞表面标志如 CD31、KDR、vWF、CD144、Tie2、c-kit/CD117 和 E-选择素等^[10-13]。由于 EPCs 处于干细胞向内皮细胞的分化阶段,其表面标志处于动态变化中,所以研究倾向于使用 CD34/VEGF R2 /CD133 三阳性细胞表面标记鉴定 EPCs^[14]。

3 EPCs 在 ICVD 治疗中的作用机制

ICVD 主要是由于脑组织局部血液循环受阻及神经元坏死而造成难以逆转的功能破坏。EPCs 主要通过参与血管再生和神经修复来促进 ICVD 恢复。Zhang 等^[15]首次提出内源性 EPCs 在 ICVD 中参与新血管形成。在 ICVD 急性期 EPCs 分泌多种细胞因子促进更多的 EPCs 向缺血灶迁移;进入 ICVD 亚急性期 EPCs 主要以血管发生和血管生成两种方式促进血管新生。一方面,骨髓中的 EPCs 在细胞因子的作用下动员到外周血中,迁移、增殖、分化形成内皮细胞,再从头形成血管网的过程即为血管发生;另一方面,EPCs 通过分泌多种细胞因子激活静止的内皮细胞,使内皮细胞以出芽或非出芽方式形成新的毛细血管,此过程即为血管生成。研究表明,新生血管内皮细胞中约 26% 来源于 EPCs^[16]。ICVD 中血管新生常常伴随着神经再生,目前对于 EPCs 促进血管和神经修复的机制尚不完全清楚,可能有以下几个方面:①EPCs 促进血管新生,为神经再生提供营养物质;②脑缺血发生后 EPCs 能动员脑组织现存的神经祖细胞沿新生血管迁移,代替受损的神经细胞^[17];③EPCs 可通过抑制细胞凋亡和氧化应激反应,减轻神经元损伤^[18];④EPCs 通过旁分泌作用生成的血管内皮生长因子不仅能促进血管新生,还能将星形胶质细胞转化为神经细胞,形成新的血管神经网络^[19];⑤Mao 等^[20]用 CXCR4 拮抗剂 AMD3100 处理大脑中动脉阻塞的动物模型后发现缺血区 EPCs 数量下降,毛细血管密度和脑血流量均不同程度的减少,据此推测 EPCs 通过 CXCR4/SDF-1 轴来参与新血管形成。

4 以 EPCs 为基础的治疗策略

以 EPCs 为基础的治疗策略分为内源性 EPCs 的动员和外源性 EPCs 的移植,现从这两方面展开阐述。

4.1 内源性 EPCs 的动员

ICVD 发生后内源性 EPCs 主要从骨髓动员至外周血^[21]。由于内源性 EPCs 在体内的数量很少,尤其是病理状

态下内源性 EPCs 数量和功能均会下降^[22]。通过内源性途径治疗 ICVD,其策略是促进、激活生理性存在于体内的 EPCs 增殖、迁移和分化,避免了细胞移植中有关的伦理道德、异源性细胞致病性及移植细胞致癌性等问题。临床上促进 EPCs 动员的最常见药物是他汀类药物,其机制可能是通过他汀类药物促进内皮型一氧化氮合酶的合成而使一氧化氮增加有关^[23]。血管紧张素 II 是通过与 EPCs 表面的 1 型血管紧张素 II 受体结合来诱导凋亡信号通路,所以血管紧张素转换酶抑制剂和血管紧张素阻滞剂类药物可以增加 EPCs 的数量和改善其功能^[24-25]。Stenmetz 等^[26]发现联合应用替米沙坦和辛伐他汀比使用单一药物对 EPCs 的数量增加和功能改善有更加显著的作用,据此推测他汀类药物和沙坦类药物联合使用时对 EPCs 数量增加和功能改善有协同作用。De Ciuceis 等^[27]在观察降压药对 EPCs 数量的影响时给 2 组患者分别给予巴尼地平 20 mg、氢氯噻嗪 25 mg,6 月后 2 种药物对于患者的降压效果相同,但巴尼地平能够增加循环 EPCs 的数量,而氢氯噻嗪不能,据此推测钙离子通道阻滞剂可能增加 EPCs 的数量,其机制可能与其促进血管平滑肌细胞释放血管内皮生长因子和清除氧自由基有关。Sheu 等^[28]对 55 例肢体严重缺血的患者给予氯吡格雷和西洛他唑治疗,3 个月肢体疼痛明显改善,并且其血循环中 EPCs 数量明显增加。西洛他唑单独使用也可增加循环 EPCs 的数量,促进脐血来源的 EPCs 迁移和粘附^[29]。胞二磷胆碱作为神经内科常用的神经保护剂,单独注射或与 rt-PA 同时注射均可增加急性脑血管病患者血循环中 EPCs 的数量^[30]。Zhao 等^[31]通过 170 例患者的临床研究证实丁苯酞注射液不仅能有效改善急性缺血性脑卒中患者神经功能缺损,还能促进 EPCs 动员,增加循环 EPCs 的数量。粒细胞集落刺激因子是细胞因子家族中的成员,其主要功能是刺激粒、单核巨噬细胞成熟,促进成熟细胞向外周血释放。动物实验证实,粒细胞集落刺激因子还能动员骨髓干细胞进入外周血并促进脑组织基质细胞衍生因子表达以趋化干细胞,促进脑组织的血管再生和神经修复,继而改善大脑中动脉阻塞后大鼠神经功能缺损症状^[32]。临床研究也证实,静脉给予粒细胞集落刺激因子,刺激 EPCs 动员至周围血循环中,可使冠心病患者血循环中的 EPCs 数量增加^[33]。在 ICVD 患者中粒细胞集落刺激因子可动员 CD34+ 骨髓干细胞至周围血循环中,并改善患者美国国立卫生研究院卒中量表(NIH-SS)和改良 Rankin 量表(MRS)^[34]。此外,促红细胞生成素(erythropoietin,EPO)因具有神经保护作用曾认为可以用于 ICVD 的治疗^[35]。但在德国进行的一项多中心大样本临床试验中对 522 例 ICVD 患者用 rt-PA 静脉溶栓后 6、24 或 48 h 使用 EPO,显示 EPO 非但不能改善 ICVD 发病后 3 个月的 Barthel 指数,反而会增高其病死率^[36]。然而,最新一项临床试验表明 EPO 治疗可以增加循环 EPCs 的水平,并且能够改善 3 个月后的 Barthel 指数^[37]。动物实验也证实,EPO 能动员 EPCs 至周围血,促进血管生成^[38]。所以,EPO 是否能够用于 ICVD 的治疗,目前还需要进一步的临床试验去评价其有效性和安全性。

4.2 外源性 EPCs 移植

4.2.1 外源性 EPCs 移植现状

基于 EPCs 在 ICVD 中的治疗作用, EPCs 移植可能成为治疗 ICVD 的新方法。动物实验表明, CD34 + 细胞移植在 ICVD 后对促进新血管形成和神经再生有治疗作用^[39]。Moubarik 等^[40]在小鼠大脑中动脉闭塞模型中向缺血损伤区注射人脐血源性的 EPCs 同种亚型细胞即内皮克隆形成细胞(endothelial colony-forming cells, ECFCs)24 h 后发现, 用荧光标记的 ECFCs 定位于大脑缺血区, 14 d 发现注射 ECFCs 的大鼠神经功能较对照组大鼠有明显改善。另一项动物实验表明, EPO 结合脐带血源性的 ECFCs 移植较单独注射 EPO 或者人脐带血源性的 ECFCs 更有利于抑制细胞凋亡, 促进血管和神经再生, 改善 ICVD 的预后^[41]。此外, 在 EPCs 移植前在体外对移植 EPCs 进行基因修饰的预处理能够增强其治疗效果^[42]。目前, 修饰后的 EPCs 移植尚未应用于脑缺血动物实验中, 因此为进一步脑缺血的动物实验研究提供了一个新的方向。

4.2.2 EPCs 移植的安全性和有效性

虽然 EPCs 的移植在动物实验模型中取得了一定的效果, 但仍存在一些问题。由于 EPCs 可以产生趋化因子白细胞介素-8 及单核细胞趋化蛋白-1, 并且招募更多的单核细胞和巨噬细胞, 这些都会加重缺血性脑损伤^[40]; 产生血管内皮生长因子, 它在促进血管和神经再生的同时还增加血管的通透性, 加重脑水肿^[43]; EPCs 还可以迁移至肿瘤组织促进肿瘤组织血管形成, 加快肿瘤增长^[44]。但是, 在对 55 例行 EPCs 移植的急性心肌梗死患者长达 5 年的随访中并未发现有肿瘤形成^[45]。动物实验中习惯经静脉、动脉和经颅途径进行 EPCs 移植, 由于动脉内注射容易形成血栓, 经颅途径移植手术复杂, 并且易造成脑出血等并发症, 所以临床上移植首先考虑经静脉途径移植。此外, 移植浓度和移植时间对于移植效果有重要意义, 但目前在此方面研究很少。最近台湾进行的一项动物实验显示, 与低浓度(1.7×10^6 /kg)相比, 给家兔动脉注射高浓度(5.7×10^6 /kg)骨髓来源 EPCs 时能显著减少脑梗死面积和改善其神经功能缺损的程度^[46]。在体外分别检测 ICVD 急性期和亚急性期的 EPCs 功能时发现, 亚急性期的 EPCs 的血管形成能力更强, 据此推测在 ICVD 亚急性期进行细胞移植可能比急性期更有效。EPCs 在 ICVD 治疗中的作用仍需进一步探索和验证。

5 展望

大量研究证实 EPCs 在 ICVD 的治疗中有重要意义, EPCs 在缺血后脑组织血管再生和神经保护的作用已得到证实, 但是在 ICVD 中 EPCs 的增殖、迁移和修复作用的机制还不清楚。关于 EPCs 作为 ICVD 治疗中的研究还停留在动物模型试验阶段, 还需要更多的动物实验和临床试验去证实其有效性和安全性。除了在治疗方面的意义, EPCs 在 ICVD 的诊断和预后中也有重要意义, EPCs 在预防 ICVD 方面或许是一个新的研究方向。因此, EPCs 在 ICVD 中的作用还需要进一步探讨。

参 考 文 献

- [1] Moskowitz MA, Lo EH, Iadecola C. The science of stroke: mechanisms in search of treatments[J]. *Neuron*, 2010, 67(2): 181-198.
- [2] Sun F, Wang X, Mao X, et al. Ablation of neurogenesis attenuates recovery of motor function after focal cerebral ischemia in middle-aged mice[J]. *PLoS One*, 2012, 7(10): e46326.
- [3] Shiber JR, Fontane E, Adewale A. Stroke registry: hemorrhagic vs ischemic strokes[J]. *Am J Emerg Med*, 2010, 28(3): 331-333.
- [4] Molina CA. Reperfusion therapies for acute ischemic stroke: current pharmacological and mechanical approaches [J]. *Stroke*, 2011, 42(1 Suppl): S16-S19.
- [5] Shobha N, Buchan AM, Hill MD. Thrombolysis at 3-4.5 hours after acute ischemic stroke onset - evidence from the Canadian alteplase for stroke effectiveness study (CASES) registry[J]. *Cerebrovascular Diseases*, 2011, 31(3): 223-228.
- [6] Adeoye O, Hornung R, Khatri P, et al. Recombinant tissue-type plasminogen activator use for ischemic stroke in the United States: a doubling of treatment rates over the course of 5 years[J]. *Stroke*, 2011, 42(7): 1952-1955.
- [7] Lutsep HL, Lynn MJ, Cotsonis GA, et al. Does the stenting versus aggressive medical therapy trial support stenting for subgroups with intracranial stenosis? [J]. *Stroke*, 2015, 46(11): 3282-3284.
- [8] Bogoslovsky T, Chaudhry A, Latour L, et al. Endothelial progenitor cells correlate with lesion volume and growth in acute stroke[J]. *Neurology*, 2010, 75(23): 2059-2062.
- [9] Isner JM, Kalka C, Kawamoto A, et al. Bone marrow as a source of endothelial cells for natural and iatrogenic vascular repair[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2001, 953: 75-84.
- [10] Hur J, Yoon CH, Kim HS, et al. Characterization of two types of endothelial progenitor cells and their different contributions to neovascularogenesis[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, 24(2): 288-293.
- [11] Hristov M, Erl W, Weber PC. Endothelial progenitor cells: mobilization, differentiation, and homing [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003, 23(7): 1185-1189.
- [12] Rouhl RP, Van Oostenbrugge RJ, Damoiseaux J, et al. Endothelial progenitor cell research in stroke: a potential shift in pathophysiological and therapeutic concepts [J]. *Stroke*, 2008, 39(7): 2158-2165.
- [13] Fadini GP, Losordo D, Dimmeler S. Critical reevaluation of endothelial progenitor cell phenotypes for therapeutic and diagnostic use[J]. *Circ Res*, 2012, 110(4): 624-637.
- [14] Hirschi KK, Ingram DA, Yoder MC. Assessing identity, phenotype, and fate of endothelial progenitor cells[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2008, 28(9): 1584-1595.
- [15] Zhang ZG, Zhang L, Jiang Q, et al. Bone marrow-derived endothelial progenitor cells participate in cerebral neovascularization after focal cerebral ischemia in the adult mouse[J]. *Circ Res*, 2002, 90(3): 284-288.
- [16] Murayama T, Tepper OM, Silver M, et al. Determination of bone marrow-derived endothelial progenitor cell significance in angiogenic growth factor-induced neovascularization in vivo [J]. *Exp Hematol*, 2002, 30(8): 967-972.
- [17] Thored P, Wood J, Arvidsson A, et al. Long-term neuroblast

- migration along blood vessels in an area with transient angiogenesis and increased vascularization after stroke[J]. *Stroke*, 2007, 38(11):3032-3039.
- [18] Qiu J, Li W, Feng SH, et al. Transplantation of bone marrow-derived endothelial progenitor cells attenuates cerebral ischemia and reperfusion injury by inhibiting neuronal apoptosis, oxidative stress and nuclear factor-kappa B expression[J]. *Int J Mol Med*, 2013, 31(1):91-98.
- [19] Shen SW, Duan CL, Chen XH, et al. Neurogenic effect of VEGF is related to increase of astrocytes transdifferentiation into new mature neurons in rat brains after stroke[J]. *Neuropharmacology*, 2015, pii: S0028-3908(15):30173-30176.
- [20] Mao L, Huang M, Chen SC, et al. Endogenous endothelial progenitor cells participate in neovascularization via CXCR4/SDF-1 axis and improve outcome after stroke[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2014, 20(5):460-468.
- [21] Hess DC, Hill WD, Martin-Studdard A, et al. Bone marrow as a source of endothelial cells and NeuN-expressing cells After stroke[J]. *Stroke*, 2002, 33(5):1362-1368.
- [22] Fadini GP, Agostini C, Avogaro A. Endothelial progenitor cells in cerebrovascular disease[J]. *Stroke*, 2005, 36(6):1112-1113; author reply 1113.
- [23] Sobrino T, Blanco M, Perez-Mato M, et al. Increased levels of circulating endothelial progenitor cells in patients with ischemic stroke treated with statins during acute phase[J]. *Eur J Neurol*, 2012, 19(12):1539-1546.
- [24] Endtmann C, Ebrahimi T, Czech T, et al. Angiotensin II impairs endothelial progenitor cell number and function in vitro and in vivo: implications for vascular regeneration[J]. *Hypertension*, 2011, 58(3):394-403.
- [25] Gong X, Shao L, Fu YM, et al. Effects of olmesartan on endothelial progenitor cell mobilization and function in carotid atherosclerosis[J]. *Med Sci Monit*, 2015, 21:1189-1193.
- [26] Steinmetz M, Brouwers C, Nickenig G, et al. Synergistic effects of telmisartan and simvastatin on endothelial progenitor cells [J]. *J Cell Mol Med*, 2010, 14(6b):1645-1656.
- [27] De Ciuceis C, Pili A, Rizzoni D, et al. Effect of antihypertensive treatment on circulating endothelial progenitor cells in patients with mild essential hypertension[J]. *Blood Press*, 2011, 20(2):77-83.
- [28] Sheu JJ, Lin PY, Sung PH, et al. Levels and values of lipoprotein-associated phospholipase A2, galectin-3, RhoA/ROCK, and endothelial progenitor cells in critical limb ischemia: pharmacotherapeutic role of cilostazol and clopidogrel combination therapy[J]. *J Transl Med*, 2014, 12(19):101.
- [29] Lee DH, Lee HR, Shin HK, et al. Cilostazol enhances integrin-dependent homing of progenitor cells by activation of cAMP-dependent protein kinase in synergy with Epac1[J]. *J Neurosci Res*, 2011, 89(5):650-660.
- [30] Sobrino T, Rodriguez-Gonzalez R, Blanco M, et al. CDP-choline treatment increases circulating endothelial progenitor cells in acute ischemic stroke[J]. *Neurol Res*, 2011, 33(6):572-577.
- [31] Zhao H, Yun W, Zhang Q, et al. Mobilization of circulating endothelial progenitor cells by dl-3-n-Butylphthalide in acute ischemic stroke patients[J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2016, 25(4):752-760.
- [32] 张兴秀, 郭慧娟, 李琳, 等. 缺血性脑卒中大鼠模型骨髓干细胞的动员和神经修复作用[J]. *第三军医大学学报*, 2012, 34(12):1192-1196.
- [33] Powell TM, Paul JD, Hill JM, et al. Granulocyte colony-stimulating factor mobilizes functional endothelial progenitor cells in patients with coronary artery disease[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, 25(2):296-301.
- [34] Fan ZZ, Cai HB, Ge ZM, et al. The efficacy and safety of granulocyte Colony-Stimulating factor for patients with stroke[J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2015, 24(8):1701-1708.
- [35] Wang Y, Zhang ZG, Rhodes K, et al. Post-ischemic treatment with erythropoietin or carbamylated erythropoietin reduces infarction and improves neurological outcome in a rat model of focal cerebral ischemia[J]. *Br J Pharmacol*, 2007, 151(8):1377-1384.
- [36] Ehrenreich H, Weissenborn K, Prange H, et al. Recombinant human erythropoietin in the treatment of acute ischemic stroke [J]. *Stroke*, 2009, 40(12):e647-e656.
- [37] Tsai TH, Lu CH, Wallace CG, et al. Erythropoietin improves long-term neurological outcome in acute ischemic stroke patients: a randomized, prospective, placebo-controlled clinical trial[J]. *Crit Care*, 2015, 19(1):49.
- [38] Wang L, Wang X, Su H, et al. Recombinant human erythropoietin improves the neurofunctional recovery of rats following traumatic brain injury via an increase in circulating endothelial progenitor cells[J]. *Transl Stroke Res*, 2015, 6(1):50-59.
- [39] Taguchi A, Soma T, Tanaka H, et al. Administration of CD34+ cells after stroke enhances neurogenesis via angiogenesis in a mouse model[J]. *J Clin Invest*, 2004, 114(3):330-338.
- [40] Moubarik C, Guillet B, Youssef BA, et al. Transplanted late outgrowth endothelial progenitor cells as cell therapy product for stroke[J]. *Stem Cell Reviews and Reports*, 2011, 7(1):208-220.
- [41] Pellegrini L, Bennis Y, Guillet B, et al. Therapeutic benefit of a combined strategy using erythropoietin and endothelial progenitor cells after transient focal cerebral ischemia in rats[J]. *Neurol Res*, 2013, 35(9):937-947.
- [42] Chen J, Chen J, Chen S, et al. Transfusion of CXCR4-primed endothelial progenitor cells reduces cerebral ischemic damage and promotes repair in db/db diabetic mice[J]. *PLoS One*, 2012, 7(11):e50105.
- [43] Greenberg DA, Jin K. Vascular endothelial growth factors (VEGFs) and stroke[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2013, 70(10):1753-1761.
- [44] Dome B, Timar J, Ladanyi A, et al. Circulating endothelial cells, bone marrow-derived endothelial progenitor cells and proangiogenic hematopoietic cells in cancer: From biology to therapy[J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2009, 69(2):108-124.
- [45] Leistner DM, Fischer-Rasokat U, Honold J, et al. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction (TOPCARE-AMI): final 5-year results suggest long-term safety and efficacy[J]. *Clin Res Cardiol*, 2011, 100(10):925-934.
- [46] Chen YL, Tsai TH, Wallace CG, et al. Intra-carotid arterial administration of autologous peripheral blood-derived endothelial progenitor cells improves acute ischemic stroke neurological outcomes in rats[J]. *Int J Cardiol*, 2015, 201:668-683.