

再生医療を利用した脳梗塞治療について

産業技術総合研究所細胞分子工学研究部門

寺村 裕治

Yuji TERAMURA



1. はじめに

脳卒中または脳血管疾患は、脳血管の閉塞や破裂により脳に不可逆的なダメージを与え、意識障害や半身不随などの重篤な後遺症を残す疾患である¹⁾。2021年1月現在、脳卒中は全世界で年間1,300万人以上に発症しており、年間550万人が死亡し、生存者の50%以上が後遺症による障害を抱えている^{2),3)}。日本においては心臓病に次いで死因の第2位であり、また、発症後に後遺症を来す疾患の第1位である²⁾。日本のみならず超高齢化社会を迎える国は増え続けるため、脳卒中の患者も増え続けるものと予想される。そのため、脳卒中治療を研究・開発していくことは不可欠である。脳卒中のうち約7割を占める病態が「脳梗塞」である。

脳梗塞は、脳内へ血液を供給する血管内に血栓が形成されることによって引き起こされる病態であり、この酸素供給不足により神経細胞死が生じる¹⁾。本稿では、現行の治療法に加え、今後期待されている脳梗塞治療についてまとめる。

2. 脳梗塞に対する現行の治療法：血栓溶解療法と機械的血栓除去術

現在、脳梗塞に対して利用可能な治療法は2つある。1つ目は、組織型プラスミノゲンアクチベータ (tPA) を利用した血栓溶解療法で、臨床では一般的にアルテプラゼが使用されている^{4),5)}。虚血性脳梗塞症状の発症後4.5時間までは、tPAの有効性が実証されている⁴⁾。tPAは、プラス

ミノゲン依存的にフィブリンを分解して血栓を溶解し、再灌流を可能にする⁶⁾。また、tPAには皮質の神経細胞を保護する効果も認められている^{6),7)}。一方で、tPAの欠点として、発症後4.5時間以内に投与する必要があり、実際の現場ではこの時間内での処置は容易ではない。さらに、tPA投与により出血などの重篤な副作用を引き起こす可能性も知られている⁴⁾。アルテプラゼが発症後4.5時間以内に投与された場合、出血傾向の割合は2%未満である。ただし、tPA投与が遅れた場合には出血の可能性が高くなる。最近では、出血性副作用を回避すべく、半減期が長く、特異性が高いテネクテプラゼが開発されている^{4),8)}。

2つ目の治療法は、機械的血栓除去術である。開発当初は、脳梗塞発症後6~8時間以内にこの手術の有効性が示されたが⁹⁾、その後、発症後24時間までこの有効性が確認されている。機械的血栓除去術では、吸引カテーテルやステント型回収装置を使用して物理的に血栓を除去するため、tPAの効果が得づらい太い血管閉塞の場合にも有効である¹⁰⁾。tPAよりも適用可能時間が長く、適切に処置すれば副作用が少ないことがわかっている。今後、ますます機械的血栓除去術が利用される可能性がある。

このように、血栓溶解療法と機械的血栓除去術とでは、発症後の適用時間には限りがあるものの、形成された血栓を除去し、脳内の虚血状態を早急に正常に戻すことで、神経細胞や脳内細胞へのダメージを最小限にとどめることが可能になっている。

一方で、再灌流によって引き起こされる炎症反応が、治療後の神経症状の悪化につながる場合がある。また、一度破壊された神経細胞は永久に失われる。このため、再灌流後の炎症反応の制御や、失われた神経細胞の再生誘導が脳梗塞治療の課題となっている。次項では、これらの問題点を解決すべく取り組まれている研究段階の治療法 (2023年

■ 著者連絡先

産業技術総合研究所細胞分子工学研究部門

(〒305-8565 茨城県つくば市東1-1-1 つくば中央第5)

E-mail. y.teramura@aist.go.jp

7月現在)について紹介する。表1に、現在進められている脳梗塞治療法をまとめている。

3. 幹細胞移植

幹細胞移植に期待される効果として、虚血時に死滅した細胞との置換がある。また、幹細胞から分泌される多くのタンパク質やサイトカインによる効果(パラクライン効果)も考えられている¹¹⁾。現在は、後者のパラクライン効果の方が、移植の効果に大きな影響を与えていると考えられている。これまでに、神経幹細胞(NSC)や骨髄由来間葉系幹細胞(MSC)、歯髄幹細胞(DPSC)、毛包幹細胞(HFSC)など、多くの種類の幹細胞について検討されてきた^{12)~14)}。ただし、これらの幹細胞移植は、脳梗塞モデル動物での効果は実証されているものの、未だ、臨床試験で良好な結果が得られているとは言い難い^{12), 15)~17)}。それぞれの幹細胞の長所と短所を表1¹⁸⁾にまとめた。以下に各幹細胞について簡単に説明する。

1) 間葉系幹細胞(MSC)

他の幹細胞と比較して、体内に豊富に存在することや倫理的ハードルが低いこと、また、安全性の観点からも、脳梗塞の治療には、MSC(ほとんどの場合は骨髄由来)を利用する人が多い¹⁹⁾。ただし、MSCによる治療メカニズムは未だ明確ではない²⁰⁾。移植されたMSCが腫瘍壊死因子の発現を減少させ、抗炎症効果および抗アポトーシス効果をもたらす可能性があるとの報告がある^{21), 22)}。また、脳由来神経栄養因子(BDNF)、血管内皮細胞増殖因子(VEGF)、神経成長因子(NGF)などのサイトカインの分泌により、内因性神経新生を誘導する可能性が示唆されている²¹⁾。さらに、MSCは内皮細胞^{23), 24)}、グリア細胞^{25), 26)}、および神経細胞^{27)~29)}に分化する可能性があり、将来的には失われた神経細胞と置換できる可能性があることも示唆されている。

一方で、動物実験の報告とは異なり、臨床試験の結果は良好ではない。骨髄由来MSC(ALD-401)の第II相試験では、統計的に有意な結果はみられなかったため、試験は中止された¹⁶⁾。すでに完了した第III相臨床試験(STARTING-2)では、移植90日後の脳血管障害を判定するmodified Rankin Scale(mRS)スコアは有意に改善しなかったものの、脚の運動機能は改善したとの報告があった³⁰⁾。ただし、別の第I/II相試験では、MSCの他家移植は成功し、日常生活における患者の身体機能を測定するバーセルインデックス(BI)スコアの有意な改善が示されている³¹⁾。MSC移植の安全面についてみてみると、これらのすべての臨床試験は患者に重篤な副作用がみられず、このことはMSC移

植の有利な点であるといえる³²⁾。2023年10月現在も臨床試験が実施されており、MSC移植による有効性を検証中である³³⁾。

2) 神経幹細胞(NSC)

NSCは、通常、ヒトの胎児から採取するため、倫理的な観点からは一般的には利用されていない³⁴⁾が、NSCは神経細胞、アストロサイトなどに分化できることから、一部の研究者はNSCを脳梗塞治療に利用し、その効果を実証している³⁴⁾。前臨床研究では、NSC移植により抗炎症効果があり、神経新生と血管新生を促進させて、機能回復を誘導することが示されている³⁵⁾。これは、失われた細胞の置換とパラクライン効果との両方による可能性が考えられているが、そのメカニズムは、MSCの場合と同様にはっきりとはわかっていない。ただし、これまでに実施された小規模な臨床試験では良好な結果が報告されている。例えば、NSCの外科的脳内注射を受けた患者では、脳卒中重症度評価スケール(NIHSS)スコアの改善が報告されている^{36), 37)}。しかし、侵襲性の高い移植であることとNSCがヒト胎児由来であることから、大規模な臨床試験まで展開することができず、第III相臨床試験まで進むことができなかった。iPS細胞(induced pluripotent stem cell)またはES細胞(embryonic stem cell)から分化誘導したNSCを利用することで、倫理面や細胞源についての問題は解決できると考えられるが、ヒトへの利用の場合には、腫瘍形成に関する安全性を十分に注意する必要がある^{34), 35)}。

3) 改変した幹細胞

MSCやNSCを移植した結果を鑑みた場合には、脳梗塞モデル動物に対する幹細胞の治療効果がみられるものの、臨床試験での成績が芳しくないことから、改変した幹細胞の利用も検討されている。例えば、インターフェロン- γ (IFN- γ)で活性化したMSC(aMSC γ)の利用である³⁸⁾。aMSC γ の利用により、抗炎症性サイトカインの分泌が増加することやオリゴデンドロサイトへの分化を効果的に誘導できることがわかった。また、グリア細胞株由来神経栄養因子(GDNF)の発現を遺伝子導入したMSCを脳梗塞モデルラットへ移植することで、虚血領域を大幅に縮小することが可能になった³⁹⁾。さらに、CCモチーフケモカインリガンド2(CCL2)をヒト臍帯由来MSCに遺伝子導入したMSCでも、同様に機能回復が認められ、良好な結果が報告されている⁴⁰⁾。ただし、遺伝子組み換え細胞であるために、臨床での使用には注意が必要であるが、メカニズムの解明にはこれらの改変細胞は有用であるといえる。

4) 細胞外小胞(EV)

EVまたはエクソソームは、多くの細胞から分泌される

表1 Prospective Ischemic Stroke treatments

Treatment	Advantages	Disadvantages
MSCs	Cell replacement and paracrine effect, positive results in clinical trials Abundance, no ethical issues, differentiation into matured neurons, secretion of beneficial cytokines, a lot of reports and experiences	Variety from different sources and different efficacy in different patients, and risk for infection
NSCs	Cell replacement and paracrine potential, positive results in clinical trials	Ethical problems, limited cell sources, and risk for infection
Other stem cells (DPSCs, HFSCs)	DPSCs: superiority to MSCs in pre-clinical models, easy access to obtain, increased homing effect to ischemic areas HFSCs: easy access to obtain, potential to cross BBB without its permeabilizer	Difficulty to keep quality control, some uncertainty due to less experience, risk for infection
Modified stem cells	Improvement for most limitations from other cell sources, in particular, for localization at area of interest	Safety issue of materials, laborious process, risk for infection
Extracellular vesicles	Smaller size, potential to cross BBB, easy modification	Difficulty to characterize and monitoring <i>in vivo</i> , limited source
Conditioned media	Strong paracrine effects, fewer side effects compared to cell transplantation, low immunogenicity	Difficulty to identify effective factors, risk for contamination of unknown components
	Strong paracrine effects, fewer side effects compared to cell transplantation, low immunogenicity	

Hurd MD, et al, Regen Ther 18:408-417, 2021 より改変

BBB, blood-brain barrier; DPSCs, dental pulp stem cells; HFSCs, hair follicle stem cells; MSCs, mesenchymal stem cells; NSCs, neural stem cells.

小胞で、その大きさはおよそ30~150 nmであり、細胞間情報伝達物質として機能することが知られている^{41)~43)}。近年では、脳梗塞治療において、このEVを利用した治療が関心を集めている。その理由は、EVの生体適合性が高く、血液脳関門 (BBB) を通過して中枢神経系に到達することがわかったことである^{44)~47)}。骨髄由来MSCから抽出したEVは、移植後に脳梗塞領域に集積し、神経新生や軸索数の増加などの治療効果があることが報告された^{48), 49)}。また、さまざまなmicroRNA (miRNA) を組み込んだEVでは、神経保護反応が促進されている^{50)~51)}。さらに、特定部位へのターゲティングを行うために、EVへの表面改質も検討されている⁵²⁾。ここでは詳細を割愛するが、最も一般的なりガンド修飾としては、虚血状態の脳で発現されるインテグリンに対して高い親和性を持つRGD (アルギニン-グリシン-アスパラギン酸) ペプチドの利用や^{53), 54)} BBBを通過できるペプチドが期待されている⁵⁵⁾。今後、幹細胞移植と並行して、EVの臨床応用研究が進められていくことが考えられる⁵⁶⁾。

5) 幹細胞培養上清

前述した通り、タンパク質やサイトカイン類のパラクライン効果は、脳梗塞による神経障害を改善する主要な要因として知られている⁵⁷⁾。骨髄由来MSCの培養上清を脳梗塞モデルラットへ投与したところ、神経新生を促進し、虚血領域へのミクログリア/マクロファージ浸潤を軽減することが発見され、機能回復を有意に誘導したことが報告された^{58), 59)}。これまでの報告では、BDNFがアポトーシスの減少および血管新生の増加に関与し、機能回復を誘導していることが示唆されている。しかし、BDNFを除去しても培養上清によるこれらの効果が完全に消失するわけではなく、機能回復にはVEGFなどの他のタンパク質が重要であることも示唆されている⁶⁰⁾。

インターロイキン-10 (IL-10) や tumor necrosis factor-stimulated gene-6 (TSG-6) などのサイトカインが抗炎症作用を示すことも示されている。また、NSC由来の培養上清に関しても、脳梗塞モデル動物でその効果が検証され、その培養上清が血管新生を促進することが報告されている。血管新生を誘導する重要なサイトカインとして、アンジオ

ポエチン-1 (Ang-1), アンジオポエチン-2 (Ang-2), 血管内皮細胞増殖因子A (VEGFA), 塩基性線維芽細胞成長因子 (bFGF), 上皮成長因子 (EGF) などが同定されている。この培養上清を脳梗塞モデルラットへ投与することで, 脳内の虚血部分を減少させることができ, 神経学的スコアを有意に改善したことが報告されている⁶¹⁾。この報告では, アポトーシスが抑制されること, また, ミトコンドリアを保存して神経保護が可能なることも示されている。

このように, 培養上清では, サイトカインの複合的な効果により治療効果が生じるため, 臨床試験への展開には多くの検討すべき点があるが, そのパラクリン効果による治療効果は実証されている^{60), 62)}。さらに, 幹細胞移植に関連するリスクや問題点を回避できることもあり, 大きな期待が寄せられている。

4. おわりに

本稿では, 脳梗塞治療の現状について説明した。臨床で利用可能な脳梗塞治療は, 血栓溶解療法と機械的血栓除去術のみである。これらの治療法は, 限られた適用時間内では, 血栓形成に伴う虚血を防ぐ目的で有効な治療法であるが, 再灌流による細胞傷害や神経損傷から患者を回復させることは期待できない。そのため, 幹細胞移植やその分泌成分の利用が検討されている。未だ臨床での成功例はないものの, 幹細胞のパラクリン効果による脳梗塞からの回復が期待されている^{57), 63)}。また, 幹細胞由来の培養上清やエクソソームにより, 幹細胞移植の問題点を解決できる可能性があり, 今後の展開に期待したい。これらの治療法により, 有効な治療法の適用時間外に搬送されたために救えなかったような多くの脳梗塞患者にも, 今後は有効な治療をすることが可能になる。

利益相反の開示

寺村裕治:【技術顧問】株式会社 U-Factor

文 献

- 1) Eltzschig HK, Eckle T: Ischemia and reperfusion—from mechanism to translation. *Nat Med* **17**: 1391-401, 2011
- 2) Lindsay MP, Norrving B, Sacco RL, et al: World Stroke Organization (WSO): Global Stroke Fact Sheet 2019. *Int J Stroke* **14**: 806-17, 2019
- 3) Paul S, Candelario-Jalil E: Emerging neuroprotective strategies for the treatment of ischemic stroke: An overview of clinical and preclinical studies. *Exp Neurol* **335**: 113518, 2021
- 4) Liaw N, Liebeskind D: Emerging therapies in acute ischemic stroke. *F1000Res* **9**: F1000 Faculty Rev-546, 2020
- 5) Rich MW: tPA: is it worth the price?. *Am Heart J* **114**: 1259-

- 61, 1987
- 6) Chevilly A, Lesept F, Lenoir S, et al: Impacts of tissue-type plasminogen activator (tPA) on neuronal survival. *Front Cell Neurosci* **9**: 415, 2015
- 7) Grummisch JA, Jadavji NM, Smith PD: tPA promotes cortical neuron survival via mTOR-dependent mechanisms. *Mol Cell Neurosci* **74**: 25-33, 2016
- 8) Campbell BC: Thrombolysis and Thrombectomy for Acute Ischemic Stroke: Strengths and Synergies. *Semin Thromb Hemost* **43**: 185-90, 2017
- 9) Jovin TG, Chamorro A, Cobo E, et al; REVASCAT Trial Investigators: Thrombectomy within 8 hours after symptom onset in ischemic stroke. *N Engl J Med* **372**: 2296-306, 2015
- 10) Derex L, Cho TH: Mechanical thrombectomy in acute ischemic stroke. *Rev Neurol (Paris)* **173**: 106-13, 2017
- 11) Salikhova D, Bukharova T, Cherkashova E, et al: Therapeutic Effects of hiPSC-Derived Glial and Neuronal Progenitor Cells-Conditioned Medium in Experimental Ischemic Stroke in Rats. *Int J Mol Sci* **22**: 4694, 2021
- 12) Suda S, Nito C, Yokobori S, et al: Recent Advances in Cell-Based Therapies for Ischemic Stroke. *Int J Mol Sci* **21**: 6718, 2020
- 13) Jiang XC, Xiang JJ, Wu HH, et al: Neural Stem Cells Transfected with Reactive Oxygen Species-Responsive Polyplexes for Effective Treatment of Ischemic Stroke. *Adv Mater* **31**: e1807591, 2019
- 14) Zhang X, Tang H, Mao S, et al: Transplanted hair follicle stem cells migrate to the penumbra and express neural markers in a rat model of cerebral ischaemia/reperfusion. *Stem Cell Res Ther* **11**: 413, 2020
- 15) Qiao LY, Huang FJ, Zhao M, et al: A two-year follow-up study of cotransplantation with neural stem/progenitor cells and mesenchymal stromal cells in ischemic stroke patients. *Cell Transplant* **23**(Suppl 1): S65-72, 2014
- 16) Savitz SI, Yavagal D, Rappard G, et al: A Phase 2 Randomized, Sham-Controlled Trial of Internal Carotid Artery Infusion of Autologous Bone Marrow-Derived ALD-401 Cells in Patients With Recent Stable Ischemic Stroke (RECOVER-Stroke). *Circulation* **139**: 192-205, 2019
- 17) Boncoraglio GB, Ranieri M, Bersano A, et al: transplantation for ischemic stroke. *Cochrane Database Syst Rev* **5**: CD007231, 2019
- 18) Hurd MD, Goel I, Sakai Y, et al: Current status of ischemic stroke treatment: From thrombolysis to potential regenerative medicine. *Review Regen Ther* **18**: 408-17, 2021
- 19) Stonesifer C, Corey S, Ghanekar S, et al: Stem cell therapy for abrogating stroke-induced neuroinflammation and relevant secondary cell death mechanisms. *Prog Neurobiol* **158**: 94-131, 2017
- 20) Liu K, Guo L, Zhou Z, et al: Mesenchymal stem cells transfer mitochondria into cerebral microvasculature and promote recovery from ischemic stroke. *Microvasc Res* **123**: 74-80, 2019
- 21) Carpenter AB, Ahsan H, Kong A, et al: Understanding the therapeutic potential of bone marrow stem cell therapy in ischemic stroke. *Georgetown Medical Review* **2**, 2018
- 22) Wang F, Tang H, Zhu J, et al: Transplanting Mesenchymal Stem Cells for Treatment of Ischemic Stroke. *Cell Transplant* **27**: 1825-34, 2018

- 23) Oswald J, Boxberger S, Jørgensen B, et al: Mesenchymal stem cells can be differentiated into endothelial cells in vitro. *Stem Cells* **22**: 377-84, 2004
- 24) Zhang C, Lin Y, Liu Q, et al: Growth differentiation factor 11 promotes differentiation of MSCs into endothelial-like cells for angiogenesis. *J Cell Mol Med* **24**: 8703-17, 2020
- 25) Elgamal A, Althani AA, Abd-Elmaksoud A, et al: Xeno-free trans-differentiation of adipose tissue-derived mesenchymal stem cells into glial and neuronal cells. *Am J Stem Cells* **8**: 38-51, 2019
- 26) Bossolasco P, Cova L, Calzarossa C, et al: Neuro-glial differentiation of human bone marrow stem cells in vitro. *Exp Neurol* **193**: 312-25, 2005
- 27) Yim EK, Pang SW, Leong KW: Synthetic nanostructures inducing differentiation of human mesenchymal stem cells into neuronal lineage. *Exp Cell Res* **313**: 1820-9, 2007
- 28) He J, Zhang N, Zhu Y, et al: MSC spheroids-loaded collagen hydrogels simultaneously promote neuronal differentiation and suppress inflammatory reaction through PI3K-Akt signaling pathway. *Biomaterials* **265**: 120448, 2021
- 29) Nandy SB, Mohanty S, Singh M, et al: Fibroblast Growth Factor-2 alone as an efficient inducer for differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells into dopaminergic neurons. *J Biomed Sci* **21**: 83, 2014
- 30) Chung JW, Chang WH, Bang OY, et al; STARTING-2 Collaborators: Efficacy and Safety of Intravenous Mesenchymal Stem Cells for Ischemic Stroke. *Neurology* **96**: e1012-23, 2021
- 31) Levy ML, Crawford JR, Dib N, et al: Phase I/II Study of Safety and Preliminary Efficacy of Intravenous Allogeneic Mesenchymal Stem Cells in Chronic Stroke. *Stroke* **50**: 2835-41, 2019
- 32) Li Z, Dong X, Tian M, et al: Stem cell-based therapies for ischemic stroke: a systematic review and meta-analysis of clinical trials. *Stem Cell Res Ther* **11**: 252, 2020
- 33) Krause M, Phan TG, Ma H, et al: Cell-Based Therapies for Stroke: Are We There Yet?. *Front Neurol* **10**: 656, 2019
- 34) Zhang GL, Zhu ZH, Wang YZ: Neural stem cell transplantation therapy for brain ischemic stroke: Review and perspectives. *World J Stem Cells* **11**: 817-30, 2019
- 35) Boese AC, Le QE, Pham D, et al: Neural stem cell therapy for subacute and chronic ischemic stroke. *Stem Cell Res Ther* **9**: 154, 2018
- 36) Kalladka D, Sinden J, Pollock K, et al: Human neural stem cells in patients with chronic ischaemic stroke (PISCES): a phase 1, first-in-man study. *Lancet* **388**: 787-96, 2016
- 37) Muir KW, Bulters D, Willmot M, et al: Intracerebral implantation of human neural stem cells and motor recovery after stroke: multicentre prospective single-arm study (PISCES-2). *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **91**: 396-401, 2020
- 38) Tobin MK, Stephen TKL, Lopez KL, et al: Activated Mesenchymal Stem Cells Induce Recovery Following Stroke Via Regulation of Inflammation and Oligodendrogenesis. *J Am Heart Assoc* **9**: e013583, 2020
- 39) Horita Y, Honmou O, Harada K, et al: Intravenous administration of glial cell line-derived neurotrophic factor gene-modified human mesenchymal stem cells protects against injury in a cerebral ischemia model in the adult rat. *J Neurosci Res* **84**: 1495-504, 2006
- 40) Lee S, Kim OJ, Lee KO, et al: Enhancing the Therapeutic Potential of CCL 2-Overexpressing Mesenchymal Stem Cells in Acute Stroke. *Int J Mol Sci* **21**: 7795, 2020
- 41) Théry C, Zitvogel L, Amigorena S: Exosomes: composition, biogenesis and function. *Nat Rev Immunol* **2**: 569-79, 2002
- 42) Valadi H, Ekström K, Bossios A, et al: Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat Cell Biol* **9**: 654-9, 2007
- 43) Witwer KW, Théry C: Extracellular vesicles or exosomes? On primacy, precision, and popularity influencing a choice of nomenclature. *J Extracell Vesicles* **8**: 1648167, 2019
- 44) Kang X, Zuo Z, Hong W, et al: Progress of Research on Exosomes in the Protection Against Ischemic Brain Injury. *Front Neurosci* **13**: 1149, 2019
- 45) Li Y, Tang Y, Yang GY: Therapeutic application of exosomes in ischaemic stroke. *Stroke Vasc Neurol* **6**: 483-95, 2021
- 46) Zhang ZG, Chopp M: Exosomes in stroke pathogenesis and therapy. *J Clin Invest* **126**: 1190-7, 2016
- 47) Zhuang X, Xiang X, Grizzle W, et al: Treatment of brain inflammatory diseases by delivering exosome encapsulated anti-inflammatory drugs from the nasal region to the brain. *Mol Ther* **19**: 1769-79, 2011
- 48) Xu R, Bai Y, Min S, et al: In vivo Monitoring and Assessment of Exogenous Mesenchymal Stem Cell-Derived Exosomes in Mice with Ischemic Stroke by Molecular Imaging. *Int J Nanomedicine* **15**: 9011-23, 2020
- 49) Dabrowska S, Andrzejewska A, Lukomska B, et al: Neuroinflammation as a target for treatment of stroke using mesenchymal stem cells and extracellular vesicles. *J Neuroinflammation* **16**: 178, 2019
- 50) Liu X, Song J, Zheng Z, et al: Effects of Excess Manganese on the Oxidative Status, and the Expression of Inflammatory Factors and Heat Shock Proteins in Cock Kidneys. *Biol Trace Elem Res* **197**: 639-50, 2020
- 51) He XW, Shi YH, Zhao R, et al: Plasma Levels of miR-125b-5p and miR-206 in Acute Ischemic Stroke Patients After Recanalization Treatment: A Prospective Observational Study. *J Stroke Cerebrovasc Dis* **28**: 1654-61, 2019
- 52) Huang T, Sato Y, Kuramochi A, et al: Surface modulation of extracellular vesicles with cell-penetrating peptide-conjugated lipids for improvement of intracellular delivery to endothelial cells. *Regen Ther* **22**: 90-8, 2023
- 53) Tian T, Zhang HX, He CP, et al: Surface functionalized exosomes as targeted drug delivery vehicles for cerebral ischemia therapy. *Biomaterials* **150**: 137-49, 2018
- 54) Wang J, Li W, Lu Z, et al: The use of RGD-engineered exosomes for enhanced targeting ability and synergistic therapy toward angiogenesis. *Nanoscale* **9**: 15598-605, 2017
- 55) Sakamoto K, Shinohara T, Adachi Y, et al: A novel LRP1-binding peptide L57 that crosses the blood brain barrier. *Biochem Biophys Rep* **12**: 135-9, 2017
- 56) Mendt M, Rezvani K, Shpall E: Mesenchymal stem cell-derived exosomes for clinical use. *Bone Marrow Transplant* **54**(Suppl 2): 789-92, 2019
- 57) Salikhova D, Bukharova T, Cherkashova E, et al: Therapeutic Effects of hiPSC-Derived Glial and Neuronal Progenitor Cells-Conditioned Medium in Experimental Ischemic Stroke in Rats. *Int J Mol Sci* **22**: 4694, 2021
- 58) Tsai MJ, Tsai SK, Hu BR, et al: Recovery of neurological function of ischemic stroke by application of conditioned

- medium of bone marrow mesenchymal stem cells derived from normal and cerebral ischemia rats. *J Biomed Sci* **21**: 5, 2014
- 59) Asgari Taei A, Dargahi L, Nasoohi S, et al: The conditioned medium of human embryonic stem cell-derived mesenchymal stem cells alleviates neurological deficits and improves synaptic recovery in experimental stroke. *J Cell Physiol* **236**: 1967-79, 2021
- 60) Cunningham CJ, Redondo-Castro E, Allan SM: The therapeutic potential of the mesenchymal stem cell secretome in ischaemic stroke. *J Cereb Blood Flow Metab* **38**: 1276-92, 2018
- 61) Yang H, Wang C, Chen H, et al: Neural Stem Cell-Conditioned Medium Ameliorated Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury in Rats. *Stem Cells Int* **2018**: 4659159, 2018
- 62) Inoue T, Sugiyama M, Hattori H, et al: Stem cells from human exfoliated deciduous tooth-derived conditioned medium enhance recovery of focal cerebral ischemia in rats. *Tissue Eng Part A* **19**: 24-9, 2013
- 63) Bersano A, Ballabio E, Lanfranconi S, et al: Clinical studies in stem cells transplantation for stroke: a review. *Curr Vasc Pharmacol* **8**: 29-34, 2010