

# 人输卵管与骨髓来源间充质干细胞生物学特性的比较研究

王娇娇<sup>1</sup>, 武晓云<sup>2</sup>, 洪博<sup>1</sup>

(1. 北京市海淀区妇幼保健院 妇产科, 北京 100080; 2. 中国科学院北京生命科学院研究院 干细胞转化中心)

**摘要:**目的:从生物学特性及免疫调节方面对输卵管间充质干细胞(FTMSCs)与骨髓间充质干细胞(BMMSCs)进行比较研究,为临床选择使用间充质干细胞(MSCs)提供实验依据。方法:体外分离,培养及扩增人FTMSCs和BMMSCs,从细胞形态、倍增时间、细胞表型、诱导分化能力及免疫调节对FTMSCs和BMMSCs进行比较研究。结果:FTMSCs与BMMSCs在细胞形态、倍增时间、细胞表型及细胞分化方面无明显差异。FTMSCs的成骨能力强于BMMSCs,但BMMSCs比FTMSCs有更强的免疫抑制作用。结论:FTMSCs具有一定的免疫抑制功能,尽管弱于BMMSCs,但也是MSCs的主要来源。

**关键词:**输卵管;骨髓;间充质;干细胞;诱导分化;细胞培养;免疫调节

**中图分类号:** R71

**文献标识码:** B

**文章编号:** 2095-512X(2020)05-0497-05

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是一类具有自我更新及向多种组织分化能力的单核间质细胞, MSCs的低免疫原性和免疫调节能力,使之成为组织工程较为理想的种子细胞。MSCs最早是从骨髓中发现的,骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMMSCs)是当前MSCs的主要种类,也是研究MSCs的金标准,但骨髓取材给供者带来了额外的痛苦和感染风险,来源受限,且随着年龄增长MSCs数量和增殖、分化能力下降,因此越来越多的研究团队寻找其它组织来源的MSCs来替代BMMSCs。近些年脂肪、脐带、胎盘、肌肉、骨髓、子宫内膜、月经血、羊膜等组织都陆续被证实存在MSCs<sup>[1]</sup>。2009年, Jazedje等首次从输卵管组中分离培养出输卵管间充质干细胞(fallopian tube mesenchymal stem cells, FTMSCs)<sup>[2]</sup>。2015年国内也有文献证实临床上被废弃的输卵管组织是MSC的新来源<sup>[3]</sup>。本次实验将FTMSCs与BMMSCs进行比较研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究对象

无菌条件下取因子宫及卵巢疾病(子宫颈癌、子宫肌瘤、子宫内膜癌及卵巢癌)需行切除的输卵

管,产妇产妇乙肝病毒检测为阴性,患者年龄30~60岁,均经术后病理核查证实输卵管无病理改变,患者术前3个月未服用甾体类激素或放置宫内节育器,患者已完全了解本项目研究内容(组织样本的用途、处理及去向),同时签署知情同意书并自愿捐赠输卵管组织。输卵管采集完毕后密封保存,12h内送至实验室进行分离培养。取7例来自中国科学院北京生命科学院研究院干细胞转化中心接受捐献的骨髓组织。本研究经过伦理委员会批准。

### 1.2 主要试剂

0.25%胰酶-0.04% EDTA胰蛋白酶(Gibco), DMEM/F12培养基(Gibco),胎牛血清(杭州四季青), CD13-FITC CD29-APC CD44-APC CD90-FITC CD14-APC CD19-APC CD34-PE CD45-FITC CD73-PE CD105-PerCP CD166-PE HLA-DR-APC HLA-ABC-FITC Mouse IgG1-FITC Mouse IgG1-APC Mouse IgG1-PE Mouse IgG1-PerCP(BD),二甲基亚砜(美国Sigma-Aldrich公司), PBS溶液(武汉博士德),成脂肪诱导培养基、成骨诱导培养基及成软骨诱导培养基(广州赛业),多聚甲醛(国药集团化学试剂有限公司), kynurenine ELISA试剂盒(中国欣博盛生物公司), SYB Green RT-PCR试剂盒(美国ABI公司), TIANScript cDNA合成试剂盒(北京天根生化科技有限公司)

收稿日期: 2020-06-21; 修回日期: 2020-08-22

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81960252)

作者简介: 王娇娇(1990-), 女, 北京市海淀区妇幼保健院妇产科住院医师。

### 1.3 实验方法

**1.3.1 FTMSCs 的分离与培养** 把输卵管组织剪碎,剪成大小约 1 mm × 1 mm 的组织块。用等体积的 0.2% IV 型胶原酶消化,收集输卵管有核细胞,以  $2 \times 10^5/\text{cm}^2$  将细胞接种至培养基。48h 后将未贴壁细胞去除掉,每 3 ~ 4 天需更换一次新鲜培养基。当细胞融合达到 80%~90%,以  $2000/\text{cm}^2$  的密度传代。

**1.3.2 BMMSCs 的分离与培养** 将骨髓移入 50mL 的离心管内,再将等量的生理盐水液加入离心管,混匀,紧贴试管内壁将稀释后的骨髓加到等量的 Ficoll 分离液表面,1500 r/min,离心机内离心 15min。吸取白膜层来获取单个核细胞(mononuclear cells, MNCs),用磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffer saline, PBS)洗涤 MNCs 2 次。将 MNCs 以  $1 \times 10^6/\text{mL}$  接种至培养基。置于 37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。培养 24h 后,去除未贴壁细胞,加入新鲜培养基。每隔 2 ~ 3 天全量换液,待细胞达到 80% 汇合,以  $2 \times 10^3/\text{cm}^2$  进行传代培养。

**1.3.3 克隆形成率的分析** 取输卵管和骨髓有核细胞,在 6 孔板内将细胞以  $1 \times 10^5/\text{孔}$  的密度进行接种,每个孔内均加入 3 mL 细胞培养基,置于 37℃、5% CO<sub>2</sub> 的条件进行培养,每隔 3 天需半量置换培养基,培养 14 天后, PBS 清洗 3 次,10% 多聚甲醛固定 5min,加入 5mL 的 20% 结晶紫染色液,室温孵育 15min;生理盐水清洗,然后显微镜下观察细胞的集落,并计数大于 50 个细胞的集落总数。

**1.3.4 细胞倍增时间的计算** 将 P1-P5 代 FTMSCs 和 BMMSCs 进行细胞的计数,通过以下的计算公式计算两种细胞每一代的群倍数(population doubling, PD)。

公式为:  $PD = \frac{\log_{10}(N_h) - \log_{10}(N_p)}{\log_{10}(2)}$ 。N<sub>h</sub> 表示获取细胞数量, N<sub>p</sub> 表示原始细胞数量。累积细胞群倍数(cumulative population doublings, CPD)为这一代 PD 与上一代 PD 之和。记录每一代 FTMSCs 和 BMMSCs 的培养时间。

**1.3.5 细胞表型检测** 取 P5 代 FTMSCs 和 BMMSCs,用生理盐水调整密度为  $1 \times 10^6$  细胞/mL,分别向管内加入鼠抗人抗体 10 μL,将入鼠 IgG-PE、IgG-PerCP、IgG-FITC、IgG-APC 加入同型对照管内,4℃ 放置 30min,900r/min 离心 10min,然后上机用流式细胞仪进行检测,用软件分析细胞的表型。

#### 1.3.6 诱导分化

**成骨分化:**用 1% 明胶预先包被 6 孔板,将 P5 代 FTMSCs 和 BMMSCs 按照  $1 \times 10^5$  细胞/孔接种至 6 孔

板,待两种细胞汇合达到 90%,除去上清培养液,加入 5mL 新鲜配制的成骨诱导分化培养基。每隔 3 天更换一次新鲜分化培养基,培养直至 21 天。除去上清培养液,加入 95% 冷乙醇,固定 10min,然后加入 3mL 的 1% 茜素红染色液,染色 10 分钟,自来水小心冲洗除去染色液。显微镜下进行观察细胞染色的情况。

**成软骨诱导分化:**将 P5 代 FTMSCs 和 BMMSCs 用培养基调整细胞密度为  $2.0 \times 10^7/\text{mL}$ ,用移液器吸取 100μL 接种至 6 孔板中间凸起部位,置于 37℃、5% CO<sub>2</sub> 的条件培养 2h,将培养基小心移除,加入 3mL 新鲜的软骨诱导分化培养基。每隔 2 ~ 3 天更换一次新鲜分化培养基,培养 21 天。除去上清培养液,加入 10% 多聚甲醛,固定 10min,加入 3mL 的阿利辛蓝染色液,染色 10min 后,除去染色液,置于显微镜下观察细胞染色情况。

**成脂肪诱导分化:**取 P5 代 FTMSCs 和 BMMSCs,用生长培养基以  $1 \times 10^5$  细胞/孔的密度接种于 6 孔板中,待细胞生长至 80%~90% 汇合时,除去培养基,加入 3mL 的新鲜脂肪诱导分化培养基。每 3 天更换一次诱导分化培养基,培养 21 天。10% 多聚甲醛固定 5min,然后加入 3mL 的饱和油红-O 染液,静置 10min,用生理盐水移去染色液。置于显微镜下进行观察细胞染色的情况。

**1.3.7 Real time-PCR 分析** 取 P5 代 FTMSCs 和 BMMSCs 以及分化后的骨、软骨和脂肪细胞,参考试剂盒说明书进行细胞总 RNA 的提取细胞 RNA,然后按照 PrimeScript™ 1st Strand cDNA Synthesis 试剂盒的操作说明书,进行逆转录反应。最后进行 PCR 反应。引物采用表 1 成骨标志基因引物:碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)和 Runt 相关转录因子 2(Runt-Related Transcription factor 2, RUNX-2)。成软骨标志基因引物:II 型胶原蛋白(type II collagen, Collagen II)和 Sry 相关 hmg box-9(sry related HMG box-9, SOX-9)。成脂肪标志基因引物:脂蛋白脂肪酶(lipoprotein lipase, LPL)和过氧化物酶体增殖物激活受体 γ(peroxisome proliferators-activated receptor gamma, PPARγ)。每个样本设 3 个平行管,取 3 管 CT 值的平均值,以内参 β-actin 为对照,计算相应 ΔCT 值。

**1.3.8 免疫调节相关介质的检测** 取 P5 代 FTMSCs 和 BMMSCs,调整细胞浓度为  $1.6 \times 10^7/\text{mL}$ ,用 15ng/mL γ-干扰素(interferon γ, IFN-γ)和 15ng/mL 肿瘤坏死因子 α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)干预 48h。ELISA 测定条件培养基中犬尿氨酸(kynuren-

表1 实时定量PCR引物序列

Gene	Primer sequence (5' to 3')	Products size (bp)
RUNX-2	GGAGTGGACGAGGCAAGAGTTT	133
	AGCTTCTGTCTGTGCCTTCTGG	
ALP	GGGAACGAGGTCACCTCCAT	67
	TGGTCACAATGCCACAGAT	
PPAR $\gamma$	GGCTTCATGACAAGGGAGTTTC	74
	AACTCAAACCTGGGGTCCATAAAG	
SOX-9	GTACCCGCACTTGCACAAC	139
	GTAATCCGGGTGGTCTTCT	
Collagen II	GGCAATAGCAGGTTACGTACA	79
	CGATAACAGTCTTGCCCCACTT	
LPL	GAGGTACTTTTCAGCCAGGATGTAAC	82
	AGCTGGTCCACATCTCCAAGTC	
$\beta$ -actin	TGACGTGGACATCCGCAAAG	205
	CTGGAAGGTGGACAGCGAGG	

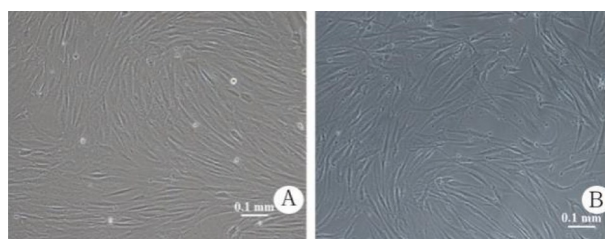
ine)、前列腺素 E2 (prostaglandin E2, PGE2) 和转化生长因子- $\beta$ 1 (transforming growth factor- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 1) 的浓度。使用 Kynurenine 水平评估吲哚胺 2,3-双加氧酶(indoleamine 2,3-dioxygenase, IDO) 的活性。

**1.3.9 混合淋巴细胞反应** 取健康人外周血 10mL, 通过 Ficoll 分离液无菌操作分离外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMCs)。RPMI-1640 培养液清洗 3 次, 调整细胞浓度为  $4 \times 10^5$ /mL。50 $\mu$ g/mL 丝裂霉素 C 处理 60 min 的 FTMSCs 或者 BMMSCs 作为刺激细胞, 调整细胞浓度为  $1 \times 10^5$ /mL, 不加 FTMSCs 或者 BMMSCs 为对照组。以 MSCs:PBMCs 分别 1:16, 1:32, 1:64 的比例加入不同数量的 MSCs 和固定数量的 PBMCs 至 96 孔板中。添加 1  $\mu$ g/mL anti-CD3, anti-CD28 和 200U/mL IL-2, 总体积为 200 $\mu$ L; 在 37 $^{\circ}$ C, 5% CO<sub>2</sub> 共培养 72 h。加入 CCK-8, 将培养板在培养箱内孵育 2h, 用酶标仪测定在 450nm 处的 OD 值, 以公式计算 MSCs 对 PBMCs 的抑制增殖率:  $OD_{(实验组)}/OD_{(对照组)} \times 100\%$ 。

## 2 结果

### 2.1 细胞形态学观察

输卵管和骨髓有核细胞接种 12h 后, 可见较多贴壁细胞散在生长, 形态大多呈圆形、多边形、纺锤形等不同形态的细胞, 分布不均, 少部分呈集落样生长。培养至 10~15 天后, 细胞形态较一致, 为长梭形, 局部呈漩涡状, 细胞生长达 80%~90% 融合。两种不同来源的 MSCs 形态无明显差别(见图 1)。



FTMSCs BMMSCs

A. FTMSCs 呈漩涡状生长 ( $\times 100$ )

B. BMMSCs 呈漩涡状生长 ( $\times 100$ )

图1 显微镜观察 FTMSCs 和 BMMSCs 的细胞形态图

### 2.2 菌落形成单位检测结果

菌落形成单位 (colony-forming unit, CFU) 检测 FTMSCs 和 BMMSCs 两者的克隆数, 两者均表现出克隆能力, 两者之间无统计学差异 ( $P>0.05$ ) (见图 2)。结果表明 FTMSCs 和 BMMSCs 具有相似的克隆形成能力。

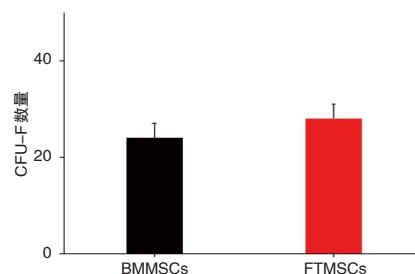
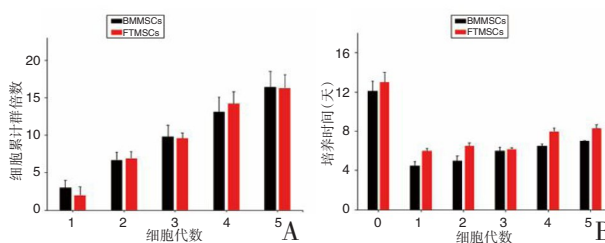


图2 FTMSCs 和 BMMSCs 的克隆形成能力

### 2.3 细胞增殖能力检测结果

CPD 和培养时间是常被用来检测 MSCs 扩增能力的指标, 结果显示 P1~P5 代两种细胞间 CPD 无统计学差异 ( $P>0.05$ ) (见图 3A), 而且两者之间每一代的细胞培养时间也无统计学差异 ( $P>0.05$ ) (见图 3B)。这些结果表明 FTMSCs 和 BMMSCs 具有相似的细胞增殖能力。



A. FTMSCs 与 BMMSCs P1~P5 代 CPD 值  
B. FTMSCs 与 BMMSCs P1~P5 代培养时间

图3 FTMSCs 和 BMMSCs 的增殖能力

### 2.4 细胞表型检测结果

流式细胞学分析显示 FTMSCs 和 BMMSCs 两种细胞均阳性表达 CD13、CD29、CD44、CD90、CD73、

CD105、CD166、HLA-ABC, 阴性表达 CD14、CD19、CD34、CD45 和 HLA-DR, 与国际细胞治疗协会 MSCs 免疫表型标准相吻合。这些结果表明 FTMSCs 和 BMMSCs 具有相似的细胞表型。

### 2.5 细胞分化能力检测结果

**2.5.1 成骨诱导分化鉴定 FTMSCs 和 BMMSCs** 成骨诱导分化结束后, 用茜素红进行染色, 显示橘红色细胞结节, 边界清晰, 说明胞外钙基质沉积, FTMSCs 和 BMMSCs 具有成骨分化能力。RT-PCR 结果显示 ALP 和 RUNX-2 表达量无统计学差异 ( $P > 0.05$ ), 两者有相似的成软骨分化能力。

**2.5.2 成脂诱导分化鉴定 FTMSCs 和 BMMSCs** 成脂肪诱导培养至 21 天, 油红 O 染色提示胞内着色脂滴生成, 两种细胞均有成脂肪分化能力。Real Time-PCR 结果显示 FTMSCs 和 BMMSCs 成骨分化特异性基因 PPAR $\gamma$  和 LPL 表达量无统计学差异 ( $P > 0.05$ ), 两者有相似的成脂分化能力。

**2.5.3 成软骨诱导分化鉴定 FTMSCs 和 BMMSCs** 成软骨诱导培养结束后, 用阿利新蓝染色见细胞浆及细胞间质呈亮绿色, 提示有羟基酸性粘液物质形成, 说明两者均具有成软骨分化能力。Real Time-PCR 结果显示 FTMSCs 和 BMMSCs 成骨分化特异性基因 SOX-9 和 Collagen II 表达量无统计学差异 ( $P > 0.05$ ), 两者有相似的成软骨分化能力。

### 2.6 免疫调节相关蛋白检测结果

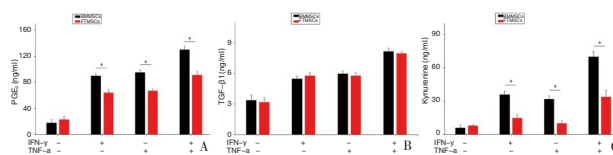
IFN- $\gamma$  和 (或) TNF- $\alpha$  干预时, FTMSCs 和 BMMSCs 均表达一定浓度的免疫抑制相关介质, 且两者之间 PGE2、TGF- $\beta$ 1 和 IDO 表达无显著差异 ( $P > 0.05$ )。当用 IFN- $\gamma$  和 (或) TNF- $\alpha$  干预后, FTMSCs 和 BMMSCs 中 PGE2 和 TGF- $\beta$ 1 的表达水平和 IDO 活性均增加, BMMSCs 中 PGE2 的表达水平和 IDO 活性均高于 FTMSCs ( $P < 0.05$ ), 但 TGF- $\beta$ 1 表达与 BMMSCs 相似 ( $P > 0.05$ )。这些结果表明, BMMSCs 比 FTMSCs 具有更强的免疫抑制功能(见图 4)。

### 2.7 混合淋巴细胞反应检测结果

在不同的 MSCs/PBMCs 比率下, BMMSCs 对 PBMCs 增殖的抑制作用高于 FTMSCs ( $P < 0.05$ ) (见图 5)。进一步证实, BMMSCs 比 FTMSCs 具有更强的免疫抑制功能。

## 3 讨论

目前再生医学研究中仍然主要采用骨髓来源的 MSCs 作为种子细胞, 但是随着越来越多的组织



A. FTMSCs 与 BMMSCs 在 IFN- $\gamma$  和 (或) TNF- $\alpha$  干预前后的 PGE2 的表达水平  
 B. FTMSCs 与 BMMSCs 在 IFN- $\gamma$  和 (或) TNF- $\alpha$  干预前后的 TGF- $\beta$ 1 的表达水平  
 C. FTMSCs 与 BMMSCs 在 IFN- $\gamma$  和 (或) TNF- $\alpha$  干预前后的 Kynurenine 的表达水平

图 4 FTMSCs 和 BMMSCs 的免疫调节相关蛋白表达

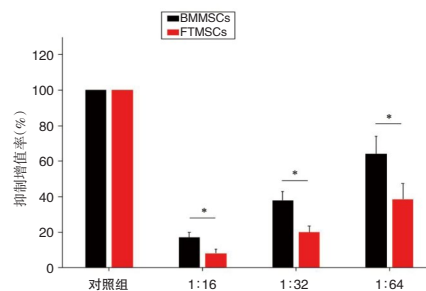


图 5 FTMSCs 和 BMMSCs 抑制 PBMCs 增殖能力

中被发现存在 MSCs, 有许多的研究提出用其他来源的 MSCs 替代骨髓 MSCs 进行临床研究<sup>[4]</sup>。目前对于输卵管干细胞的认识并不深入, 输卵管组织易获取, 术后的输卵管经常作为临床废弃物, 因此输卵管来源较丰富。国际细胞治疗协会 (International Society for Cell Therapy, ISCT) 提出了包括形态学、表型和分化能力在内的基本生物学特征作为确定 MSCs 的最低标准。我们的结果表明, FTMSCs 和 BMMSCs 均满足所有标准。P5 代两种类型的细胞在形态学和表型上没有显著差异。由于原代细胞内中出现圆形、多边形、纺锤形等不同形态的细胞, 提示细胞纯度不够, 传代至 P3 代以后, 细胞形态更均一。P6 代细胞体积较前明显增大, 考虑与细胞老化有关。鉴于细胞纯度、细胞老化等影响因素, 同时有文献报道取 P5 代间充质干细胞进行比较研究<sup>[5]</sup>, 本实验取 P5 代细胞进行一系列检测。输卵管及骨髓细胞均以低密度 (1000 细胞/孔) 进行接种后发现输卵管细胞形成的克隆细胞数与骨髓细胞形成的克隆团数目无明显差异, 提示两者有相似的细胞克隆能力。我们的研究结果表明, FTMSCs 与 BMMSCs 具有相似的自我更新能力, 此外, 根据我们的计算, FTMSCs 和 BMMSCs 的细胞群倍增时间在 25 ~ 45h 范围内, 两种类型的细胞之间没有显著差异。RT-PCR 实验提示 FTMSCs 与 BMMSCs 成脂、成软骨及成骨能力无明显差距。 (下转第 508 页)

[8] HAMILTON M. The assessment of anxiety states by rating[J]. Br J Med Psychol, 1959; 32(1):50-55  
 [9] 高政, 姜潮, 刘启贵. 卒中急性期抑郁障碍汉密尔顿抑郁

量表各因子分的特点[J]. 中国临床康复, 2003; 7(5):728-729  
 [10] Mims K N, Kirsch D. Sleep and Stroke[J]. Sleep Medicine Clinics, 2016; 11(1):39-51

(上接第 500 页)

越来越多的证据支持 MSCs 的作用机制主要依赖于免疫抑制活性<sup>[6]</sup>。目前已证明 MSCs 发挥其免疫抑制作用的机制是多方面的<sup>[7]</sup>。MSCs 可以通过抑制 T 淋巴细胞的增殖、抑制 DC 分化成熟及功能发挥、抑制 B 淋巴细胞的形成、增加 Treg 比例等多种途径发挥免疫抑制作用<sup>[8]</sup>, 从而成为移植领域、各种退行性和衰竭性疑难病症的替代治疗的研究热点。MSCs 可通过调控巨噬细胞 M1 型向 M2 型的转化, 使其吞噬能力增加、抗炎细胞因子白介素 4 (interleukin 4, IL-4)、白介素 10 (interleukin 10, IL-10) 和 TGF- $\beta$  表达增强、促炎细胞因子诸如白介素 12 (interleukin 12, IL-12) 和 TNF- $\alpha$  表达下调, 发挥免疫抑制机制。但一般来说, MSCs 的免疫抑制能力不是组成性的, 而是由所处的炎性环境所决定的<sup>[9]</sup>。当暴露于炎症环境中时, MSCs 可以通过释放各种介质, 主要包括 TGF- $\beta$ 1、PGE<sub>2</sub>、IDO, 其中可能还包括免疫抑制分子、生长因子、趋化因子、补体成分和各种代谢产物, 协调局部和全身的固有和适应性免疫反应<sup>[10, 11]</sup>。到目前为止, 关于 MSCs 免疫抑制机制的研究尽管已取得一定进展, 但尚不完全清楚。

在 2016 年 ISCT 提出将免疫功能检测列为 MSCs 效能的放行标准<sup>[12]</sup>。在一定程度上, 体外采用 IFN- $\gamma$  和/或 TNF- $\alpha$  干预可以较好地模拟 MSCs 移植进入免疫紊乱患者体内时的情况。ISCT 已经建议用 IFN- $\gamma$  和/或 TNF- $\alpha$  干预, 通过分析其分泌的主要免疫抑制相关介质, 如 TGF- $\beta$ 1、PGE<sub>2</sub> 和 IDO, 评价 MSCs 的免疫功能。我们的结果显示, 当没有 IFN- $\gamma$  和/或 TNF- $\alpha$  诱导时, FTMSCs 和 BMMSCs 之间观察到相似的 PGE<sub>2</sub> 和 TGF- $\beta$ 1 的表达和 IDO 活性, 当用 IFN- $\gamma$  和(或)TNF- $\alpha$  诱导启动时, BMMSCs 比 FTMSCs 表现出更高的 PGE<sub>2</sub> 表达和 IDO 活性, 表明 BMMSCs 比 FTMSCs 有更强的免疫抑制作用, 我们的研究结果还进一步证实 BMMSCs 对人 PBMCs 增殖具有更强的抑制的作用。

总之, 我们的研究表明尽管 FTMSCs 的免疫抑制功能弱于 BMMSCs, 但是 FTMSCs 显示有一定的免疫抑制功能, 且输卵管是妇产科手术后比较常见的组织废弃物, 因此 FTMSCs 也具有一定的

应用价值。

## 参考文献

- [1] Christina Brown, Christina McKee, Shreeya Bakshi, et al. Mesenchymal stem cells: Cell therapy and regeneration potential[J]. Tissue Eng Regen Med, 2019; 13(9):1738-1755
- [2] Tatiana J, Paulo MP, Carlos EC, et al. Human fallopian tube: a new source of multipotent adult mesenchymal stem cells discarded in surgical procedures[J]. J Transl Med, 2009; 7:46
- [3] 王娇娇, 赵勇, 武晓云, 等. 输卵管: 间充质干细胞的新来源[J]. 现代妇产科进展, 2015; 24(4): 61-64
- [4] Caroline Laroye, Mélanie Gauthier, Hélène Antonot, et al. Mesenchymal Stem/Stromal Cell Production Compliant with Good Manufacturing Practice: Comparison between Bone Marrow, the Gold Standard Adult Source, and Wharton's Jelly, an Extra embryonic Source[J]. J Clin Med, 2019; 8(12):2207
- [5] Chun-yu Li, Xiao-yun Wu, Jia-bei Tong, et al. Comparative analysis of human mesenchymal stem cells from bone marrow and adipose tissue under xeno-free conditions for cell therapy[J]. Stem Cell Research & Therapy, 2015; 6(1):55
- [6] de Wolf C, van de Bovenkamp M, Hoefnagel M. Regulatory perspective on in vitro potency assays for human mesenchymal stromal cells used in immunotherapy[J]. Cytotherapy, 2017; 19(7):784-797
- [7] Holan V, Hermankova B, Bohacova P, et al. Distinct Immuno regulatory Mechanisms in Mesenchymal Stem Cells: Role of the Cytokine Environment[J]. Stem Cell Rev Rep, 2016; 12(6): 654-663
- [8] Andreeva E, Bobyleva P, Gornostaeva A, et al. Interaction of multipotent mesenchymal stromal and immune cells: bidirectional effects[J]. Cytotherapy, 2017; 9(10):1152-1166
- [9] 周典, 燕飞, 周泽堃, 等. 炎症微环境下间充质干细胞的免疫学研究及调节作用[J]. 中国组织工程研究, 2018; 022(017):P.2747-2754
- [10] Shi Y, Wang Y, Li Q, et al. Immunoregulatory mechanisms of mesenchymal stem and stromal cells in inflammatory diseases[J]. Nat Rev Nephrol, 2018; 14(8):493-507
- [11] 何海萍. 脐带华氏胶来源间充质干细胞及其分泌的可溶性因子 IDO 的免疫抑制作用[J]. 昆明理工大学学报: 自然科学版, 2018; 043(006):96-102
- [12] Galipeau J, Krampera M, Barrett J, et al. International Society for Cellular Therapy perspective on immune functional assays for mesenchymal stromal cells as potency release criterion for advanced phase clinical trials[J]. Cytotherapy, 2016; 18(2):151-159