

DOI: 10.3969/j.issn.1673-713X.2025.05.015

· 技术与方法 ·

人脐带间充质干细胞制剂免疫调节功能评价 ——基于吸光光度法检测吲哚胺 2,3-双加氧酶 1 活性方法验证

罗志勇*, 吴建福*, 廖霞, 侯凯翔, 宋煜, 戴希城, 潘兴华, 梁晓

【摘要】

目的 对基于吸光光度法检测吲哚胺 2,3-双加氧酶 1 (IDO1) 活性检测方法进行验证, 以期用于人脐带间充质干细胞制剂生产过程中的生物学效价分析。

方法 建立基于吸光光度法检测 IDO1 活性的检测方法, 并根据《中国药典》要求, 对检测方法的特异性、准确性、精密度、线性及范围、耐用性等方面进行验证, 并与人脐带间充质干细胞对总淋巴细胞增殖抑制检测结果对比。

结果 该方法特异性良好, 准确性验证中对 100、200、300 $\mu\text{mol/L}$ 的犬尿氨酸标准溶液回收率均值分别为 106.52%、107.87%、106.78%; 精密度验证中重复性验证结果 RSD 为 1.83%, 人员精密度 RSD 为 9.82%; 耐用性验证结果 RSD 均 < 15%; 在 0 ~ 500 $\mu\text{mol/L}$ 犬尿氨酸浓度范围内线性良好, $r^2 \geq 0.99$; 三批人脐带间充质干细胞制剂 IDO1 活性评价检测结果与人脐带间充质干细胞总淋巴细胞增殖抑制检测结果趋势一致。

结论 基于吸光光度法检测 IDO1 活性的检测方法具有良好的特异性、线性、准确性、精密度及耐用性, 可作为人脐带间充质干细胞制剂免疫调控功能评价检测方法的有效补充。

【关键词】 人脐带间充质干细胞制剂; 质量研究; 免疫调节; 吲哚胺 2,3-双加氧酶 1; 方法验证

中图分类号: R392.12

文献标识码: A

文章编号: 1673-713X (2025) 05-0576-04

脐带间充质干细胞因具有分化再生能力、调节免疫微环境和释放生长因子等特性为各种临床疾病提供了新的治疗思路^[1], 目前仅国内获得药品注册申报临床批件的脐带间充质干细胞产品已多达 45 项^[2]。但细胞治疗产品不同于一般的化学药物和生物药物, 其产品差异性较大, 体内作用过程复杂, 因此对细胞治疗产品的质量研究应涵盖细胞特性分析、功能性分析、纯度分析和安全性分析等方面。细胞治疗产品的质量研究工作中应考虑到产品的作用机制并结合临床应用的适应证或其他可替代的指标建立合理、有效的生物学效力检测的方法^[3]。

目前, 在脐带间充质干细胞制剂生物学效价分析中, 对其免疫调节能力的检测普遍采用间充质干细胞与外周血单

个核细胞共培养的方法, 以其对淋巴细胞的增殖抑制率作为其免疫调控能力的关键评价指标^[4], 但该方法作用机制复杂, 操作时间长, 实验结果受外周血单个核细胞来源影响较大, 方法稳定性不高。因此, 一种结果稳定、操作简便的间充质干细胞免疫调节功能的检测方法对间充质干细胞制剂的质量研究工作具有积极的促进作用。

有研究报道, 间充质干细胞在促炎因子的刺激下分泌多种免疫抑制因子发挥免疫抑制作用, 而吲哚胺 2,3-双加氧酶 1 (indoleamine 2,3-dioxygenase 1, IDO1) 是这些因素中的关键因子之一^[5-6], 因此对间充质干细胞 IDO1 活性的评价能很大程度上反映其免疫调节能力。间充质干细胞在炎症因子 IFN- γ 的刺激下, IDO1 被活化, 催化色氨酸沿犬尿氨酸途径代谢, 进而发挥其免疫抑制能力, 细胞培养上清液中的犬尿氨酸水平反映了 IDO1 活性^[7-8]。因此, 基于对人脐带间充质干细胞制剂生物学效价的质量研究工作, 本研究验证了一种以吸光光度法检测犬尿氨酸浓度评价 IDO1 活性的检测方法。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 仪器 AC2-4S1 生物安全柜为新加坡 ESCO 公司产品; Vi-cell Blu 细胞计数及活力分析系统为美国贝克曼公司产品; 二氧化碳培养箱和倒置显微镜为美国 Thermo Fisher 公司产品; 多功能酶标仪为德国 Berthold 公司产品。

1.1.2 试剂 IFN- γ 购自北京同立海源生物科技有限公司; 对二甲氨基苯甲醛 (PDAB) 购自生工生物工程 (上海) 股份有限公司; 冰醋酸购自西陇科学股份有限公司; 犬尿氨酸标准品购自美国 Sigma 公司; 三氯乙酸 (TCA) 购自上海麦克林生化科技股份有限公司; 艾卡哌司他 (epacadostat, Epa) 购自美国 Selleck 公司。

1.1.3 样本 采用三批次人脐带间充质干细胞制剂, 细胞浓度 1×10^7 个/mL, 细胞活率均 > 90%。

作者单位: 518067 深圳市北科生物科技有限公司 (罗志勇、吴建福、廖霞、宋煜、戴希城、潘兴华、梁晓); 518071 深圳云诺生物科技有限公司/细胞产业关键共性技术国家工程中心 (侯凯翔)

通信作者: 梁晓, Email: szjiance@beike.cc

收稿日期: 2024-12-03

*同为第一作者

1.2 方法

1.2.1 检测方法^[9] 取人脐带间充质干细胞制剂, 按 1×10^5 个/孔接种于 24 孔板, 每孔加入 300 μL 完全培养基, 分刺激组与对照组, 各平行 2 孔。刺激组: 加入 300 μL 含 10 ng/mL IFN- γ 的完全培养基, 刺激 24 h 后, 收集上清液。对照组: 加入 300 μL 完全培养基, 培养 24 h 后, 收集上清液并 $300 \times g$ 离心 5 min, 取上清 200 μL , 加入 50 μL 30% TCA 水溶液, 混匀, 50 $^{\circ}\text{C}$ 加热反应 30 min, $10\,000 \times g$ 离心 10 min, 取反应液上清 100 μL 加入至 96 孔板中, 再加入 100 μL 2% PDAB 醋酸溶液, 混匀, 室温显色 10 min, 于酶标仪 A_{492} 波长下测吸光度。以 0、3.9、7.8、15.6、31.25、62.5、125、250、500 $\mu\text{mol/L}$ 系列浓度犬尿氨酸标准溶液做标准曲线, 建立线性回归方程, 计算犬尿氨酸浓度。

1.2.2 准确性验证 取人脐带间充质干细胞制剂, 按 1×10^5 个/孔接种于 24 孔板, 每孔加入 300 μL 完全培养基, 分抑制组、刺激组与对照组, 各平行 4 孔, 复苏培养 24 h 后换液。

抑制组: 用含 0.2 mmol/mL 的 Epa^[10] 与 10 ng/mL IFN- γ 的 300 μL 完全培养基共同处理人脐带间充质干细胞, 培养 24 h 后, 收集上清液进行测定。对照组: 加入 300 μL 完全培养基, 培养 24 h 后, 收集上清液进行测定。刺激组: 用含 10 ng/mL IFN- γ 的 300 μL 完全培养基刺激, 培养 24 h 后, 收集上清液进行测定。

1.2.3 准确性验证 取一支脐带间充质干细胞制剂设 A、B、C 3 组, 每组 3 个复孔, 培养 24 h 后完全换液继续培养 24 h, 收集培养上清, 将各组培养上清按检测方法处理后得反应液, 将反应液进行 40 倍稀释以降低基质干扰, 取各组稀释后的反应液 200 μL , 均分成 ①、② 两份。

A 组 ① 份加入 100 μL 的 100 $\mu\text{mol/L}$ 犬尿氨酸标准溶液, B 组 ① 份加入 100 μL 的 200 $\mu\text{mol/L}$ 犬尿氨酸标准溶液, C 组 ① 份加入 100 μL 的 300 $\mu\text{mol/L}$ 犬尿氨酸标准溶液, 各组 ② 份均加入 100 μL 纯水, 混匀后各取 100 μL 至 96 孔板进行显色反应。

在酶标仪 A_{492} 波长读数, 根据标准曲线方程计算出各组的犬尿氨酸浓度, 计算各组的回收率, 回收率 = (① 份犬尿氨酸浓度 - ② 份犬尿氨酸浓度) / 标准溶液浓度 $\times 100\%$ 。

1.2.4 精密度验证

1.2.4.1 重复性验证 取人脐带间充质干细胞制剂, 按 1×10^5 个/孔接种于 24 孔板, 每孔加入 300 μL 完全培养基, 设 6 个复孔, 培养 24 h 换液, 用 300 μL 含 10 ng/mL IFN- γ 的完全培养基, 刺激 24 h 后, 收集上清液进行检测。在酶标仪 A_{492} 波长读数, 根据标准曲线方程计算出各组的犬尿氨酸浓度, 分析 6 组数据间的 RSD。

1.2.4.2 人员精密度验证 取同一批次脐带间充质干细胞制剂, 由两名操作者分别进行 3 次实验, 每次实验 2 个复孔。

1.2.5 线性和范围 配制系列浓度为 0、3.9、7.8、15.6、31.25、62.5、125、250、500 $\mu\text{mol/L}$ 犬尿氨酸标准溶液。在酶标仪 A_{492} 波长读数, 对各浓度检测结果进行线性回归。标准曲线 $r^2 \geq 0.99$; 每个浓度检测 3 次, 符合准确性和重复性要求的犬尿氨酸浓度的最高值和最低值之间即为检测范围。

1.2.6 耐用性验证

1.2.6.1 样本保存时间验证 取 1 支脐带间充质干细胞制剂, 分为均等的 3 份, 在 2~8 $^{\circ}\text{C}$ 条件保存 0、4、6 h 后各进行一次实验, 在酶标仪 A_{492} 波长读数, 根据标准曲线方程计算出各组的犬尿氨酸浓度, 分析 3 次实验结果 RSD。

1.2.6.2 培养上清保存时间验证 取一支脐带间充质干细胞制剂, 对照组与刺激组各平行接种 6 孔, 收集培养上清后将各组培养上清分为 3 份, 在 -20 $^{\circ}\text{C}$ 下分别保存 0、3、7 d 后再进行检测, 在酶标仪 A_{492} 波长读数, 根据标准曲线方程计算出各组的犬尿氨酸浓度, 分析 3 份数据间的 RSD。

1.2.6.3 标准溶液保存时间验证 配制 500 $\mu\text{mol/L}$ 犬尿氨酸标准溶液, 置于 2~8 $^{\circ}\text{C}$ 保存, 在第 0、7、15、30、60 d 取出标准溶液进行检测, 在酶标仪 A_{492} 波长读数, 根据标准曲线方程计算出各组的犬尿氨酸浓度, 分析 5 组数据间的 RSD。

1.2.7 不同分析方法检测结果对比 取 3 支脐带间充质干细胞制剂, 同时进行基于吸光度法检测 IDO1 活性实验与脐带间充质干细胞对总淋巴细胞增殖抑制实验^[11], 评价不同分析方法结果的差异。

1.2.8 方法验证可接受标准 准确性: 回收率范围 85%~115%; 每组回收率 RSD 值 $\leq 5\%$ 。精密度: RSD 值 $\leq 15\%$ 。线性和范围: 标准曲线 $r^2 \geq 0.99$; 每个浓度检测 3 次符合特异性和重复性要求的犬尿氨酸浓度的最高值和最低值之间即为检测范围。耐用性: RSD 值 $\leq 15\%$ 。

2 结果

2.1 特异性验证结果

检测结果显示 (图 1), 经 IDO1 特异性抑制剂 Epa 作用后, 抑制组培养上清中犬尿氨酸的浓度与对照组无显著差异, $P \geq 0.05$; 刺激组培养上清中犬尿氨酸的浓度与对照组差异明显, $P < 0.0001$, 表明间充质干细胞经 IFN- γ 诱导

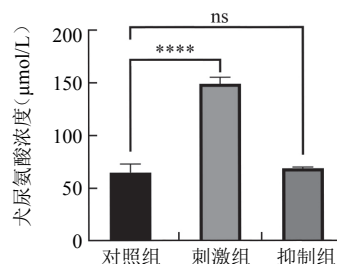


图 1 特异性验证结果 ($\bar{x} \pm s$, $n = 4$, $^{ns}P > 0.05$, $^{****}P < 0.0001$)

代谢产生犬尿氨酸的活性可被 Epa 显著抑制，该检测方法特异性良好。

2.2 准确性验证结果

使用 100、200、300 μmol/L 的犬尿氨酸标准溶液进行回收率检测，所得回收率结果均在 100%~110% 之间，且 3 组回收率的 RSD 均 ≤ 5%（表 1）。

表 1 准确性验证结果（ $\bar{x} \pm s$ ，n = 3）

犬尿氨酸标准溶液 浓度（μmol/L）	回收率（%）			$\bar{x} \pm s$	RSD （%）
100	109.80	105.70	104.07	106.52 ± 2.95	2.77
200	106.78	107.19	109.65	107.87 ± 1.55	1.44
300	107.14	106.32	106.87	106.78 ± 0.42	0.39

2.3 精密度验证结果

2.3.1 重复性验证结果 使用该检测方法对同一样本进行 6 次检测，检测结果的 RSD < 2%（表 2）。说明该检测方法重复性佳。

表 2 重复性验证结果（ $\bar{x} \pm s$ ，n = 2）

实验次数	犬尿氨酸浓度（μmol/L）
1	134.01 ± 2.29
2	139.48 ± 3.72
3	134.01 ± 0.57
4	134.41 ± 0.57
5	138.67 ± 4.30
6	137.45 ± 0.29
$\bar{x} \pm s$	136.34 ± 2.49
RSD（%）	1.83

2.3.2 人员精密度验证结果 A、B 两名操作者对同一份样本分别进行 3 次实验，同一操作人员对同一样本检测 3 次结果的 RSD 均 < 15%，两名操作人员对同一样本检测 6 次结果的 RSD < 15%（表 3）。

表 3 人员精密度验证结果（ $\bar{x} \pm s$ ，n = 3）

操作人员	犬尿氨酸浓度（μmol/L）			$\bar{x} \pm s$	RSD（%）
A	126.14	122.39	130.65	126.39 ± 4.14	3.27
B	136.25	116.22	102.15	118.21 ± 17.13	14.49
RSD（%）	9.82				

2.4 线性及范围检测结果

对各浓度检测结果进行线性回归，标准曲线 $r^2 \geq 0.99$ ；每个浓度检测 3 次符合准确性和重复性要求，检测范围为 0~500 μmol/L。表明该标准曲线线性良好，在 0~500 μmol/L 范围内能准确计算样本浓度（表 4）。

2.5 耐用性验证结果

2.5.1 样本保存时间验证结果 检测犬尿氨酸浓度分别为（129.22 ± 5.44）、（113.69 ± 8.06）、（100.92 ± 6.37）μmol/L，

表 4 线性及范围验证结果（ $\bar{x} \pm s$ ，n = 3）

犬尿氨酸标准溶液 浓度（μmol/L）	A_{492}			$\bar{x} \pm s$	RSD （%）
	1	2	3		
0	0.150	0.147	0.146	0.148 ± 0.002	0.07
3.9	0.161	0.158	0.160	0.160 ± 0.002	0.09
7.8	0.171	0.169	0.168	0.169 ± 0.002	0.06
15.6	0.190	0.187	0.188	0.188 ± 0.002	0.06
31.25	0.227	0.231	0.233	0.230 ± 0.003	0.11
62.5	0.300	0.296	0.299	0.298 ± 0.002	0.12
125	0.454	0.451	0.457	0.454 ± 0.003	0.24
250	0.729	0.710	0.702	0.714 ± 0.014	0.49
500	1.298	1.299	1.314	1.304 ± 0.009	0.63
标准曲线方程		$y = 435.45x - 2.355$ $r^2 = 0.9996$			

3 次实验结果 RSD = 12.06%（< 15%）。即样本在 2~8 ℃ 条件下保存 6 h 以内，对检测样本中的犬尿氨酸浓度无明显影响。

2.5.2 培养上清保存时间验证结果 检测犬尿氨酸浓度分别为（113.82 ± 1.83）、（109.62 ± 5.33）、（102.21 ± 3.89）μmol/L，3 次实验结果 RSD = 5.75%（< 15%）。表明收集后的培养上清在 -20 ℃ 条件下保存 7 d 以内，对检测样本中的犬尿氨酸浓度无明显影响。

2.5.3 标准溶液保存时间验证结果 尿氨酸标准溶液 5 次检测结果的 RSD = 3.45%（< 5%）。表明犬尿氨酸标准溶液母液在 2~8 ℃ 保存 60 d 以内，对检测样本中的犬尿氨酸浓度无明显影响（表 5）。

表 5 标准溶液保存时间验证结果（ $\bar{x} \pm s$ ，n = 2）

标准溶液保存时间（d）	吸光度 A
0	1.244 ± 0.004
7	1.252 ± 0.011
15	1.207 ± 0.002
30	1.160 ± 0.011
60	1.215 ± 0.001
均值	1.215 ± 0.036
RSD（%）	3.45

2.5.4 不同分析方法检测结果对比 根据 3 份样本的检测数据（表 6）及实验原理分析，两种方法的检测结果存在些许偏差，但大体相同，表明 IDO1 活性评价的检测方法在一定程度上能够反映脐带间充质干细胞制剂的免疫调节能力。

表 6 IDO1 活性评价与对总淋巴细胞增殖抑制实验对比结果（ $\bar{x} \pm s$ ，n = 3）

对比实验	样本 1	样本 2	样本 3
犬尿氨酸浓度 （μmol/L）	56.619 ± 4.272	45.603 ± 3.987	45.107 ± 2.333
对淋巴细胞增殖 抑制率（%）	42.295 ± 2.761	32.249 ± 2.984	35.225 ± 0.768

3 讨论

随着对人脐带间充质干细胞临床应用方向研究的不断深入,脐带间充质干细胞制剂在疾病治疗领域展现出巨大潜力,特别在炎症及免疫调控方面更具应用前景。免疫调控能力作为脐带间充质干细胞的独特优势,是脐带间充质干细胞制剂生物学效价的关键质量属性,也是推动脐带间充质干细胞制剂临床转化的关键环节。IDO1 是参与介导人脐带间充质干细胞多项免疫调控功能的重要分子,或有望成为人脐带间充质干细胞免疫调控功能的“分子标志物”,为脐带间充质干细胞制剂在临床转化过程中的质量控制、质量研究提供更多检验规范^[9, 12]。

通过对多种 IDO1 检测方法的分析发现,吸光光度法对客观条件要求低、操作简单、实验周期短。因此,本实验对基于吸光光度法检测 IDO1 活性的方法进行了充分的验证,实验结果表明该方法的稳定性、特异性、准确性、精密性、耐用性等均满足《中华人民共和国药典》2020 版三部 9101 要求,适用于脐带间充质干细胞制剂生产制备过程中的质量研究和质量控制。不足的是,本实验的检测方法没有建立工作参考品细胞^[13],不能评价不同批次实验脐带间充质干细胞制剂的相对 IDO1 生物活性,对于该检测方法评价脐带间充质干细胞制剂 IDO1 生物活性质量标准的建立也存在一定影响。

同时,通过对脐带间充质干细胞制剂进行基于吸光光度法检测 IDO1 活性实验与脐带间充质干细胞对总淋巴细胞增殖抑制实验的比较发现,虽然两次实验结果趋势一致,但仍存在一定差异。这或许是因为 IDO1 虽然在人脐带间充质干细胞免疫调控功能发挥重要作用,但依旧存在其他可溶性因子如前列腺素 E₂、IL-6、人类生长因子、转化生长因子-β、IL-10 等在人脐带间充质干细胞免疫调控过程中具有不可替代的作用^[14]。或许,在后续对脐带间充质干细胞制剂生物学效价的质量研究工作中,可以考虑上述因子对其在免疫调控过程中的作用不同,建立一个评分体系,对不同因子的检测结果进行评分加权计算,用以综合评价脐带间充质干细胞制剂的免疫调控能力。

参考文献

[1] Zhou J, Shi Y. Mesenchymal stem/stromal cells (MSCs): origin, immune regulation, and clinical applications[J]. *Cell Mol Immunol*, 2023, 20(6):555-557.

[2] Implied consent in clinical trials[DB/OL]. Beijing: Center for Drug Evaluation, National Medical Products Administration, [2024-07-04]. <https://www.cde.org.cn/main/xxgk/listpage/4b5255eb0a84820cef4ca3e8b6bbe20c>. (in Chinese)

临床试验默示许可[DB/OL]. 北京: 国家药品监督管理局药品审评中心, [2024-07-04]. <https://www.cde.org.cn/main/xxgk/listpage/4b5255eb0a84820cef4ca3e8b6bbe20c>.

[3] Center for Drug Evaluation, National Medical Products Administration. Technical Guidelines for Research and Evaluation of Cellular Therapy Products (Trial)[Z]. 2017-12-22. (in Chinese)

国家药品监督管理局药品审评中心. 细胞治疗产品研究与评价技术指导原则(试行)[Z]. 2017-12-22.

[4] Han Y, Shi YZ, Wei XD, et al. Inhibitory effect of mesenchymal stem cells on lymphocyte proliferation was detected by Ki67 assay[J]. *Drug Eval Res*, 2022, 45(4):673-679. (in Chinese)

韩莹, 时玉峥, 魏训东, 等. Ki67 法检测间充质干细胞对淋巴细胞增殖抑制能力[J]. *药物评价研究*, 2022, 45(4):673-679.

[5] He HP. Immunosuppressive properties of Wharton's jelly derived mesenchymal stromal cells and secreted soluble factors IDO to T lymphocytes[J]. *J Kunming Univ Sci Technol (Nat Sci Ed)*, 2018, 43(6):96-102. (in Chinese)

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, 43(6):96-102.

[6] Zhang KH, Na T, Han XY, et al. Immunomodulatory properties-based strategy for the assessment of biological effectiveness of mesenchymal stem cells[J]. *Chin J New Drugs*, 2016, 25(3):283-290. (in Chinese)

张可华, 纳涛, 韩晓燕, 等. 基于免疫调控功能的间充质干细胞生物学有效性质量评价策略[J]. *中国新药杂志*, 2016, 25(3):283-290.

[7] Li H, Dai H, Li J. Immunomodulatory properties of mesenchymal stromal/stem cells: the link with metabolism[J]. *Adv Res*, 2023, 45:15-29.

[8] Agaugué S, Perrin-Cocon L, Coutant F, et al. 1-Methyl-tryptophan can interfere with TLR signaling in dendritic cells independently of IDO activity[J]. *J Immunol*, 2006, 177(4):2061-2071.

[9] Na T, Wang P, Liu J, et al. Development and optimization of an indoleamine 2,3-dioxygenase 1 activity-based absorption photometry for evaluation of immunomodulatory activity of human mesenchymal stem cells[J]. *Chin J Biol*, 2016, 29(9):954-960. (in Chinese)

纳涛, 王盼, 刘静, 等. 基于吲哚胺 2,3-双加氧酶 1 活性评价人间充质干细胞免疫调控功能的吸光光度法的建立及优化[J]. *中国生物制品学杂志*, 2016, 29(9):954-960.

[10] Zhang KP, Zhang Q, Yu KY, et al. Clinical research status of indoleamine 2,3-dioxygenase inhibitors[J]. *Chin J Front Med Sci (Electronic Version)*, 2020, 12(1):20-26. (in Chinese)

张康平, 张琪, 于恺英, 等. 吲哚胺 2,3-双加氧酶抑制剂临床研究现状[J]. *中国医学前沿杂志(电子版)*, 2020, 12(1):20-26.

[11] Chu WL, Li TJ, Shanguan Y, et al. Stability study of umbilical cord mesenchymal stem cells formulation in large-scale production[J]. *Acta Pharm Sinica*, 2024, 59(3):743-750. (in Chinese)

储王龙, 李童婧, 上官燕, 等. 人脐带间充质干细胞制剂大规模生产中稳定性研究[J]. *药学报*, 2024, 59(3):743-750.

[12] Wu WJ. AHR is involved in regulation the immunomodulatory function of mesenchymal stem cells[D]. Beijing: Peking Union Medical College, 2023. (in Chinese)

武文婧. 芳香烃受体参与调控间充质干细胞的免疫调节功能[D]. 北京: 北京协和医学院, 2023.

[13] ZEPHYRM. Detection method for IDO1 activity in immunomodulatory stem cells meeting product release requirements: CN202011561297.0[P]. 2021-05-04. (in Chinese)

北京泽辉辰星生物科技有限公司. 满足产品放行要求的免疫调节干细胞 IDO1 活性检测方法: CN202011561297.0[P]. 2021-05-04.

[14] Wu HH. The standardization and quantitative study on the immunodulatory effect of Human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells[D]. Beijing: Peking Union Medical College, 2015. (in Chinese)

吴禾禾. 人脐带间充质干细胞的免疫调节能力的标准化与量化研究[D]. 北京: 北京协和医学院, 2015.