

本文引用:河南省细胞生物学会干细胞专业委员会,中国研究型医院学会临床数据与样本资源库专业委员会.经血源子宫内膜干细胞分离培养及制备标准操作规程[J].新乡医学院学报,2021,38(11):1001-1005. DOI:10.7683/xyxyxb.2021.11.001.

【标准·方案·指南】

经血源子宫内膜干细胞分离培养及制备标准操作规程

河南省细胞生物学会干细胞专业委员会

中国研究型医院学会临床数据与样本资源库专业委员会

摘要: 干细胞移植已为众多难治性疾病提供了新的治疗方法,并获得了良好的疾病改善效果。经血源子宫内膜干细胞(MenSCs)凭借其样本采集的无创性、可周期性采集而获得大量遗传背景一致的种子细胞、优良的增殖活性及自体移植等优势,成为干细胞治疗中非常具有潜力的种子细胞。建立符合药品生产质量管理规范的、标准的、规范化的MenSCs分离、培养及冻存等操作流程,是保证MenSCs制品质量的前提,其不仅决定了MenSCs治疗疾病的效果,同时对MenSCs移植数量、移植时间窗及移植途径等临床使用关键参数的优化提供了支持和保障,为深入探索MenSCs对相关疾病的改善机制奠定了坚实的基础。因此,本研究团队在参考已有间充质干细胞标准操作的基础上,结合MenSCs自身的特性,通过长期的摸索及实践经验,完成了MenSCs分离培养及制备的规范化操作流程,以期为各科研生产单位在制备MenSCs制品过程中提供借鉴,推动MenSCs的临床应用进程。

关键词: 经血源子宫内膜干细胞;干细胞治疗;标准操作流程

中图分类号: R329.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-7239(2021)11-1001-05

目前,干细胞技术已成为很多难治性疾病治疗的新希望。通过干细胞移植、分化与组织再生,促进机体创伤修复、疾病恢复,给疾病的临床治疗带来了颠覆性变化^[1-3]。在与新型冠状病毒肺炎疫情的抗争中,干细胞技术成为治疗新型冠状病毒肺炎的一种具有良好临床前景的选择,而干细胞技术的安全性、有效性得到了临床与科研数据的验证,为战胜疫情提供了强有力的科技支撑^[4-7]。截至目前,国内通过国家卫生健康委员会备案的干细胞研究机构已超过100家,国家也正在大力支持干细胞的临床转化,已批准干细胞技术在数十种疾病的治疗上进行临床研究^[8]。近年来,国家频发政策支持干细胞行业的发展,干细胞的监管模式逐渐明朗,《细胞治疗产品研究与评价技术指导原则(试行)》的颁布,意味着我国干细胞治疗产品的上市审批道路逐渐打通,患者使用干细胞产品治疗的时代即将到来^[9]。2021年2月9日,国家卫生健康委员会在官网发布的《对十三届全国人大三次会议第4371号建议的答复》中,明确表示支持推动示范区干细胞治疗、细胞免疫治疗等医疗技术的临床应用,答复函中明确提出:“国家卫生健康委员会一直鼓励和支持干细胞研究、转化和产业发展。”干细胞制剂具有明显的药品属性,国家药品监管部门审批后可以应用,既有利于保障医疗质量安

全,又有利于产业化、高质量发展^[10]。

经血源子宫内膜干细胞(menstrual blood derived endometrial stem cells, MenSCs)凭借其丰富的来源、采集和分离方式的无侵入性、良好的增殖活性等优势获得国内外广泛关注^[11-13]。在临床应用MenSCs的安全性获得保障的前提下,其已在骨损伤、心肌损伤、肝脏损伤、子宫内膜损伤及中风等疾病的治疗过程中展示了良好的治疗效果^[14-19]。截至2020年6月,国家卫生健康委员会已备案干细胞相关治疗项目74个,其中包括6项与MenSCs相关的临床备案项目。上述临床研究项目的备案与开展不仅表明MenSCs有巨大的应用前景与市场,也说明建立子宫内膜干细胞相关质量标准的紧迫性和必要性。目前,尽管已经出台多项间充质干细胞分离培养及制备的地方或行业标准^[20-25],但针对MenSCs规范化、标准化的细胞分离培养及制备操作规程尚未见报道。因此,基于上述MenSCs的技术开发与应用中存在的机遇与挑战,本项目以新乡医学院干细胞与生物治疗技术研究中心、河南省干细胞工程实验室、河南省干细胞与生物治疗工程研究中心等科研平台为基础,参考现有间充质干细胞分离培养及制备的方法,通过校企合作的方式与新乡高新区中源干细胞研究院和北京臻溪谷医学研究中心共同建立形成了符合药品生产质量管理规范(goods manufacturing practice, GMP)的、标准的、规范化的MenSCs分离培养及冻存等操作流程,以期为各科研

生产单位在制备 MenSCs 制品的过程中提供借鉴,促进 MenSCs 的建库工作,为 MenSCs 的临床推广应用提供技术保障。

1 本操作规范的目的和适用范围

1.1 目的 规范 MenSCs 的分离、培养、入库过程,充分利用每一份经血样本,有效提高样本中 MenSCs 原代细胞的分离数量。

1.2 适用范围 本规范适用于 MenSCs 的原代分离培养、传代培养及冻存等规范化操作流程。

2 操作人员职责

2.1 制备操作 进行制备前的准备、整个制备过程的操作及制备后的清场、记录填写和样品送检、培养过程中的细胞观察等。

2.2 质量控制 接收送检样品,进行样品检测并出具检测报告。

2.3 现场质量保证 确保制备操作前制备环境正常,使用设备处于正常运行状态,制备人员整个操作过程符合标准操作规程,记录填写及时、正确,取样点正确,样品送检及时。

3 物料需求

3.1 耗材 器械盒、100 mm 培养皿、50 mL 离心管、T75 培养瓶、T175 培养瓶、10 mL 移液管、25 mL 移液管、1.5 mL 离心管、5 mL 离心管、2 mm 孔径滤网、100 μm 细胞滤网、50 mL 注射器、2 mL 冻存管。

3.2 试剂 基础培养基、血清替代物、生理盐水、体积分数 75% 医用乙醇、1.25 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 胰蛋白酶、消化终止液、细胞冻存液。

4 细胞培养代次定义

原代细胞:样本接种后培养至融合度为 70% ~ 80% 的细胞为原代细胞。

第 1 代细胞(passage 1, P1):原代细胞按照本规程操作消化接种后,培养至融合度为 85% ~ 90%,可以收获或传代的细胞为第 1 代细胞。

第 2 代细胞(passage 2, P2):第 1 代细胞按照本规程操作消化接种后,培养至融合度为 85% ~ 90%,可以收获或传代的细胞为第 2 代细胞。

本规程中所述的种子细胞特指第 2 代细胞。

5 工作规程

5.1 环境要求 (1) MenSCs 种子细胞的分离、培养和冻存操作在 C 级洁净室中进行,开放式操作必须在 A 级环境内进行(生物安全柜);(2)制备人员

(固定的岗位名称,与质量管理手册一致)应提前对细胞操作间和生物安全柜进行紫外线灭菌,紫外线照射时间为 30 min。

5.2 操作前准备 (1)开启 C 级洁净室中各生物安全柜相关操作单元紫外线灯照射 30 min,关闭各操作单元紫外线灯后通新风 10 min,保持各操作单元处于运行状态;(2)从准备间 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱或采集套装中取出装有经血的样本采集管,使用喷有体积分数 75% 乙醇的无尘布将经血样本采集管自管口向管底螺旋式擦拭一遍后再放入传递窗,C 级洁净室中的制备人员从传递窗中取出经血样本采集管,再使用喷有体积分数 75% 乙醇的无尘布擦拭一遍,然后将其放入处于运行状态的生物安全柜中。(3)从 C 级洁净室的洁净物料间取出所需耗材置于物料推车上,再将物料推车推至生物安全柜旁边。(4)从洁净物料间 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中取出培养基,正立放置于 37.0 $^{\circ}\text{C}$ 恒温金属浴,使其恢复至 37 $^{\circ}\text{C}$ 。(5)取出生理盐水瓶,使用喷有体积分数 75% 乙醇的无尘布将生理盐水瓶自瓶口向瓶底螺旋式擦拭一遍,去除瓶口塑料盖后将其放入生物安全柜中。(6)开启玻璃瓶装生理盐水瓶塞:先用止血钳夹断瓶口铝外套,再用镊子夹取体积分数 75% 乙醇棉球,将棉球一侧固定在橡胶瓶塞与玻璃瓶口接合处,环绕一周进行擦拭,再用棉球另一侧擦拭瓶塞顶端;弃去乙醇棉球,静置,待瓶口乙醇挥发后倾斜生理盐水瓶,使其与台面呈 45 $^{\circ}$,然后应用止血钳夹紧橡胶塞边缘一角(止血钳勿接触玻璃瓶口),施力拔下瓶塞。

5.3 细胞原代培养 (1)在制备档案上记录环境状况和经血样本信息。(2)使用体积分数 75% 乙醇擦拭采集管外壁。(3)吸取 7 mL 样本密度分离液加入 15 mL 离心管中,然后沿管壁缓慢加入 7 mL 经血样本(含收集液),置于水平转子离心机中,4 $^{\circ}\text{C}$ 、1 800 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 25 min。(4)离心完毕后取中间白膜层转入新的 50 mL 离心管中,加入生理盐水重悬,所抽取白膜层与生理盐水体积比例为 1 : 2; 1 500 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min,洗涤 2 次,将末次离心后的上清液留样进行支原体、细菌及真菌检测。(5)将白膜层离心后的沉淀加入 MenSCs 原代完全培养基,吹打均匀,均匀接种至 T75 培养瓶中,每瓶 12 mL(在 15 mL 离心管中,不超过 0.5 mL 沉淀时接种 1 个 T75 培养瓶,超过 0.5 mL 沉淀时接种 2 个 T75 培养瓶),随后将细胞培养瓶水平置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、含体积分数 5% CO_2 的恒温培养箱中培养 48 h。(6)将“5.3(3)”项中密度梯度离心完毕后所获得的最下层细胞沉淀加入 10 mL 红细胞裂解液,室温裂解 5 min,1 200 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min,如未裂解完全,可

重复上述步骤;离心后的沉淀加入 10 mL 生理盐水吹打, $1\ 200\ \text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 洗涤 2 次;将末次离心后的上清液留样进行支原体、细菌及真菌检测。(7)将离心后的沉淀加入 MenSCs 原代完全培养基,吹打均匀,均匀接种至 T75 培养瓶中,每瓶 12 mL (在 15 mL 离心管中不超过 0.5 mL 沉淀,接种 1 个 T75 培养瓶;超过 0.5 mL 沉淀,接种 2 个 T75 培养瓶),随后将细胞培养瓶水平置于 $37\ ^\circ\text{C}$ 、含体积分数 5% CO_2 的恒温培养箱中培养 48 h。(8)全量换液:培养 48 h 后进行一次全量换液,吸去旧培养液,10 mL 生理盐水冲洗 2~3 次,除去未贴壁组织及细胞;添加新鲜 MenSCs 原代完全培养基,T75 瓶每瓶 12 mL,置入 $37\ ^\circ\text{C}$ 、含体积分数 5% CO_2 的恒温培养箱中继续培养,每 3 d 观察、换液 1 次。

5.4 原代收集 (1)培养至第 5~7 天,在倒置显微镜下观察细胞形态有无异常及细胞有无污染。待细胞融合度达到 80%~90% 时即可进行消化收获。若细胞融合度未达到 40%~50%,将培养瓶中细胞分别按下述步骤进行消化和终止, $1\ 200\ \text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min。离心完毕后加入 2 mL 新鲜 MenSCs 原代完全培养基重悬细胞沉淀,待细胞吹打均匀后将 2 mL 细胞悬液加入含有 10 mL 培养基的 T75 培养瓶中,T75 培养瓶中的细胞及培养基的最终体积为 12 mL;注意:原代细胞培养时间不得超过 14 d。(2)生理盐水轻轻冲洗细胞培养瓶底 2 次,每次每瓶 10 mL。(3)消化:将 $1.25\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 胰蛋白酶加入洗涤后的 T75 培养瓶中,每瓶 1 mL,轻摇叠加培养瓶,使每个培养瓶的消化液均能浸润培养瓶底面。在培养箱中静置 3~5 min 后取出培养瓶,左右轻轻晃动,并于倒置显微镜下观察,待见镜下细胞变圆、大部分细胞脱落即表示消化可终止;(4)终止消化:向可终止消化的培养瓶中加入消化终止液,每瓶 5 mL,终止消化,再将终止消化后培养瓶中细胞悬液转移至 50 mL 的离心管中,然后用 10 mL 的生理盐水洗涤黏附在培养瓶中的残余细胞,并将洗涤后的细胞悬液一并转移至 50 mL 离心管中(加入胰蛋白酶到终止消化,时间不超过 10 min)。(5)离心洗涤:将离心管配平后置入离心机, $1\ 200\ \text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min。(6)合并离心后的细胞沉淀:离心后将洗涤上清液弃去,加入 5~10 mL 生理盐水重悬细胞,最终将重悬后的细胞悬液合并到 1 个 50 mL 离心管中,并定容至 40~45 mL。(7)取样计数、计算细胞活率:将定容后的细胞悬液吹打混匀,先取不超过 0.5 mL 的细胞悬液转移到 1.5 mL 离心管中,使用细胞计数仪进行收获细胞总数和细胞活率的计算。注意:如果 1 个 50 mL 离心管可以完成操作,则在步

骤“5.4(5)”前取样计数,不必离心第 2 次。

5.5 细胞传代 (1)计算传代数量:根据计数结果,并按照每个 T175 瓶 2×10^6 个细胞传代密度,计算传代需要的 T175 培养瓶数量。(2)去上清液、重悬细胞悬液: $1\ 200\ \text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min 后将上清液去除,应用适量培养基重悬离心后的细胞沉淀(按每瓶接种 2 mL 细胞悬液计算)。(3)根据最终传代 T175 培养瓶数量及生物安全柜一次能放置 T175 培养瓶的容量(不超过 25 瓶),将所需 T175 培养瓶排成一排,竖直摆放在生物安全柜内,在瓶壁上标注细胞编码、细胞代数、培养时间等信息后,开盖,用 25 mL 移液管加入培养基,每瓶 23 mL。(4)接种:将细胞吹打均匀后分别往已加 23 mL 培养基的 T175 培养瓶中每瓶加入 2 mL 细胞悬液($1 \times 10^9\ \text{L}^{-1}$),使每个 T175 培养瓶中的细胞及培养基的最终体积为 25 mL。(5)混匀:加完细胞悬液后将 T175 培养瓶盖拧紧,以 3 个叠加后将培养瓶平置,轻轻混匀 10 s,使加入细胞悬液均匀分布于整个培养瓶底面。(6)放入 CO_2 培养箱培养:将接种后的 T175 培养瓶以 3 个叠加平稳置于 $37\ ^\circ\text{C}$ 、含体积分数 5% CO_2 的培养箱中培养至细胞融合度达到 85%~90%。

5.6 传代细胞收集 (1)弃去培养瓶中的旧培养基,使用生理盐水轻轻冲洗细胞培养瓶 2 遍。(2)消化:于洗涤后的培养瓶中加入 $1.25\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 胰蛋白酶,每瓶 2 mL,轻摇叠加培养瓶,使每个培养瓶的消化液均能浸润培养瓶底面。在培养箱中静置 1 min 后取出培养瓶,轻轻拍打,取 1 个培养瓶于倒置显微镜下观察,镜下见细胞变圆、大部分细胞脱落即表示消化可终止(加入胰蛋白酶到终止消化,时间不超过 5 min)。按步骤“5.4(2)至 5.4(4)”进行消化和终止,消化后的细胞悬液移至 1 个 50 mL 离心管中,洗瓶 1~2 次,洗瓶后的液体也移至同 1 个 50 mL 离心管中。(3)离心洗涤:将离心管配平后放入离心机, $1\ 200\ \text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min。(4)合并离心后的细胞沉淀:离心后将洗涤上清液弃去,用 10 mL 的生理盐水重悬细胞,将重悬后的细胞悬液合并到 1 个 50 mL 离心管中,并定容至 40 mL。(5)取样计数、计算细胞活率:将定容后的细胞悬液吹打混匀,取不超过 0.5 mL 的细胞悬液转移到 1.5 mL 离心管中,进行收获细胞总数和细胞活率的计算,并进行支原体、细菌及真菌检测。

5.7 细胞冻存 (1)从 $4\ ^\circ\text{C}$ 冰箱中取出冻存液,根据步骤“5.6(5)”细胞计数结果,离心获得细胞沉淀,在离心管中加入适量的冻存液,重悬细胞沉淀,用 1 mL 枪头轻轻吹打均匀,使细胞密度与要求冻存密度一致($5.0 \times 10^9 \sim 1.0 \times 10^{10}\ \text{L}^{-1}$)。(2)根据冻

存规格,将细胞悬液按每支冻存管 1 mL 的标准分装于 2 mL 的冻存管中。(3)贴标签,封口:将分装后的冻存管贴上冻存细胞编码标签,封口膜封口。

5.8 使用程序降温盒或程控降温仪冻存细胞

(1)使用程序降温盒冻存细胞:把含细胞的冻存管放入 4 ℃ 冰箱中预冷 10 min;把含细胞的冻存管放入 4 ℃ 预冷的程序降温盒中,并转移到 -80 ℃ 超低温冰箱中;12 ~ 16 h 内利用中转罐转移到临时储存罐中,暂存。(2)利用程控降温仪冻存细胞:检查程控降温仪、杜瓦罐及电脑和打印机是否连接完好;打开电脑和程控降温仪;打开液氮阀门,点击“CRF”图标运行程控降温仪软件;点击“Run”按钮,输入使用用户名和密码;如果一切正常,软件会自动弹出一个对话框选择冷冻规程,然后选择脂肪冻存规程;把含细胞的冻存管放入程控降温仪的腔体内;把探针插入标准样的冷冻管中,关闭程控降温仪的门;点击“Start”按钮;等待腔体温度降到 4 ℃,5 min 后进入下一步,然后程控降温仪将自动运行直至结束:首先,以 2 ℃ · min⁻¹ 的降温速率运行,直至样本温度达到 -40.0 ℃;随后,以 10 ℃ · min⁻¹ 的降温速率运行,直至样本温度达到 -80.0 ℃;打印并保留冻存曲线图;关闭电脑和程控降温仪,关闭液氮阀门;操作结束后,将冻存管用中转罐转移到临时储存罐中暂存。

5.9 在制备档案上及时记录相关信息 详细记录从经血样本接收到干细胞入库全过程,包括人(操作人员、操作时间)、机(所使用的仪器名称、编号)、料(所使用的物料、物料批号)、法(制备工艺流程、参数)、环(制备房间、温湿度)、测(检测项目、检测结果)等方面,并形成完整实验记录(生产、检测)。

6 展望

前期大量基础及临床研究结果已证实, MenSCs 移植在多种难治性疾病的治疗中取得了改善良好效果,且样本采集、分离获得 MenSCs 具有无创性,同一供体可周期性多次采集获得 MenSCs,从而获得大量遗传背景一致的种子细胞,并且 MenSCs 具有自体移植的优势,使其成为干细胞治疗中非常具有潜力的种子细胞。因此,建立符合 GMP 生产要求、标准化、规范化的 MenSCs 细胞生产制备标准操作流程,是保证 MenSCs 细胞制品质量的前提,其不仅为 MenSCs 临床治疗效果提供保障,也进一步为深入探索其对相关疾病的改善机制奠定坚实基础。因此,本文在参考已有间充质干细胞标准操作的基础上,结合 MenSCs 自身的特性,通过长期的摸索及实践,已完成针对 MenSCs 种子细胞分离培养及制备

标准操作流程,后续将根据研究的深入及相关技术的发展,与时俱进地对现有 MenSCs 标准操作进行升级和补充。相信基于本文所建立的 MenSCs 种子细胞分离培养及制备标准操作,可为各科研及生产单位在制备 MenSCs 细胞制品的过程中提供借鉴,促进 MenSCs 干细胞资源库的建立,为 MenSCs 的临床使用,包括细胞移植数量、细胞移植时间窗及细胞移植途径等关键参数的优化提供支持保障,从而推动 MenSCs 临床应用进程。

7 附则

执笔人:

林俊堂(新乡医学院干细胞与生物治疗技术研究中心)

刘彦礼(新乡医学院干细胞与生物治疗技术研究中心)

陈娟(河南省荣军医院)

杨芬(新乡医学院干细胞与生物治疗技术研究中心)

何亚南(新乡市高新区中源干细胞研究院)

曹毓琳(北京臻溪谷医学研究中心)

参考文献:

- [1] SNEDDON J B, TANG Q, STOCK P, *et al.* Stem cell therapies for treating diabetes: progress and remaining challenges[J]. *Cell Stem Cell*, 2018, 22(6): 810-823.
- [2] DE LUCA M, AIUTI A, COSSU G, *et al.* Advances in stem cell research and therapeutic development[J]. *Nat Cell Biol*, 2019, 21(7): 801-811.
- [3] BIRESSI S, FILARETO A, RANDO T A. Stem cell therapy for muscular dystrophies[J]. *J Clin Invest*, 2020, 130(11): 5652-5664.
- [4] MENG F, XU R, WANG S, *et al.* Human umbilical cord-derived mesenchymal stem cell therapy in patients with COVID-19: a phase I clinical trial[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2020, 5(1): 172.
- [5] GOLCHIN A, SEYEDJAFARI E, ARDESHIRYLAJIMI A. Mesenchymal stem cell therapy for COVID-19: present or future[J]. *Stem Cell Rev Rep*, 2020, 16(3): 427-433.
- [6] LIU S, PENG D, QIU H, *et al.* Mesenchymal stem cells as a potential therapy for COVID-19[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 11(1): 169.
- [7] 孙钰棕, 刘彦礼, 林俊堂. 经血源子宫内膜干细胞在新型冠状病毒肺炎治疗中的应用前景[J]. *新乡医学院学报*, 2020, 37(3): 201-205.
- [8] 中国医药生物技术协会. 干细胞备案[EB/OL]. (2020-02-18) [2021-09-16]. <http://www.cmba.org.cn/common/index.aspx?nodeid=281.html>.
- [9] 国家食品药品监督管理局. 细胞治疗产品研究与评价技术指导原则(试行)[S/OL]. (2018-12-31) [2021-09-16]. <http://www.fredamd.com/law/11457.html>.
- [10] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 对对十三届全国人大三次会议第 4371 号建议的答复[EB/OL]. (2021-02-09) [2021-09-16]. <http://www.nhc.gov.cn/wjw/jianyi/202102/3abb14223904a57b7913e85a4ca9d14.html>.

- [11] LIU Y, NIU R, YANG F, *et al.* Biological characteristics of human menstrual blood-derived endometrial stem cells [J]. *J Cell Mol Med*, 2018, 22(3):1627-1639.
- [12] LIU Y, NIU R, LI W, *et al.* Therapeutic potential of menstrual blood-derived endometrial stem cells in cardiac diseases [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2019, 76(9):1681-1695.
- [13] 刘彦礼, 曹毓琳, 林俊堂. 经血源子宫内膜干细胞生物学特性及临床应用研究进展 [J]. *新乡医学院学报*, 2020, 37(9):885-889.
- [14] TAN J, LI P, WANG Q, *et al.* Autologous menstrual blood-derived stromal cells transplantation for severe Asherman's syndrome [J]. *Hum Reprod*, 2016, 31(12):2723-2729.
- [15] DARZI S, ZARNANI A H, JEDDITEHRANI M, *et al.* Osteogenic differentiation of stem cells derived from menstrual blood versus bone marrow in the presence of human platelet releasate [J]. *Tissue Eng Part A*, 2012, 18(15/16):1720-1728.
- [16] JIANG Z, HU X, YU H, *et al.* Human endometrial stem cells confer enhanced myocardial salvage and regeneration by paracrine mechanisms [J]. *J Cell Mol Med*, 2013, 17(10):1247-1260.
- [17] CEN P P, FAN L X, WANG J, *et al.* Therapeutic potential of menstrual blood stem cells in treating acute liver failure [J]. *World J Gastroenterol*, 2019, 25(41):6190-6204.
- [18] MASUDA H, MATSUZAKI Y, HIRATSU E, *et al.* Stem cell-like properties of the endometrial side population: implication in endometrial regeneration [J]. *PLoS One*, 2010, 5(4):e10387.
- [19] BORLONGAN C V, KANEKO Y, MAKI M, *et al.* Menstrual blood cells display stem cell-like phenotypic markers and exert neuroprotection following transplantation in experimental stroke [J]. *Stem Cells Dev*, 2010, 19(4):439-452.
- [20] 马洁, 刘彩霞, 谭琴, 等. 细胞产品质量控制与质量管理 [J]. *药物评价研究*, 2021, 44(2):273-292.
- [21] 孙丽娟. 脐带间充质干细胞制剂制备及质量控制 [J]. *沈阳药科大学学报*, 2020, 289(2):79-83.
- [22] 中国人民解放军器官移植研究所/全军组织修复与器官重建重点实验室. 间充质干细胞制备及质量控制技术规范(征求意见稿) [J]. *中华细胞与干细胞杂志:电子版*, 2019, 9(6):321-326. DOI:10.3877/cma.j.issn.2095-1221.2019.06.001.
- [23] 杭州易文赛生物技术有限公司, 浙江省易文赛细胞药物和制品研究院. 人间充质干细胞库建设与管理规范: DB 33/T 2030—2017 [S/OL]. (2017-05-10) [2021-09-16]. <http://std.samr.gov.cn/db/search/stdDBDetailed?id=91D99E4DAE6A2E24E05397BE0A0A3A10>.
- [24] 中国医药生物技术协会. 干细胞制剂制备质量管理自律规范 [J]. *中国医药生物技术*, 2016, 11(6):481-490.
- [25] 孙瑞婷, 陈瑶瑶, 王华, 等. 脐带来源间充质干细胞的制备及其质量检定 [J]. *中国医药生物技术*, 2013, 8(6):401-407.

(本文编辑:徐自超)

欢迎订阅 2022 年《中华实用儿科临床杂志》

《中华实用儿科临床杂志》(原《实用儿科临床杂志》)是由中国科学技术协会主管、中华医学会主办、新乡医学院承办的中华医学会系列杂志,是以儿科临床与基础研究为主要报道内容的儿科学类核心期刊。本刊为中国科学引文数据库(CSCD)来源期刊,儿科学类核心期刊,中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊),RCCSE 中国核心学术期刊,中国精品科技期刊,中国科学技术协会精品科技期刊,被中国生物医学文献数据库(SinoMed)、中国知网、万方数据知识服务平台、清华大学AMiner数据平台、《中国学术期刊文摘》、Scopus 数据库、美国《化学文摘》、日本科学技术振兴机构数据库、波兰《哥白尼文摘》、英国农业与生物科学研究中心文摘、剑桥科学文摘ProQuest数据库、WHO 西太平洋地区医学索引(WPRIM)、美国《乌利希期刊指南》等国内外数十家权威数据库收录。本刊以贯彻党和国家的卫生工作方针、政策,贯彻理论与实践、普及与提高相结合的方针,反映国内外儿科医疗、科研等方面的新理论、新技术、新成果、新进展,促进学术交流为办刊宗旨。辟有述评、专家论坛、论著、小儿神经基础与临床、中西医结合、实验研究、儿童保健、药物与临床、综述、小儿外科、病例报告、短篇论著、标准·方案·指南、指南解读等栏目。以各级医院儿科医务工作者,各高等医学院校、科研院所儿科医教研人员,各级图书馆(室)、科技情报研究院(所)研究人员等为读者对象。欢迎广大儿科医务工作者和医学科教研人员踊跃投稿。本刊为半月刊, A4 开本, 80 页, 无光铜版纸印刷, 每月 5 日、20 日出版。CN 10-1070/R, ISSN 2095-428X, CODEN SELZBJ, Dewey #:618.92。国内外公开发行, 国内邮发代号:36-102, 国外邮发代号:SM 1763。可通过全国各地邮局订阅, 也可与本刊编辑部直接联系订阅邮购。国内定价:30.00 元/期, 720.00 元/年; 国外定价:30.00 美元/期, 720.00 美元/年。

欲浏览本刊或有投稿意向, 请登录本刊网站 (<http://www.zhshykclzz.com>) 注册, 网站提供免费全文阅读。联系地址: 453003 河南省新乡市金穗大道 601 号新乡医学院《中华实用儿科临床杂志》编辑部。联系电话:0373-3029144, 0373-3831456; 传真:0373-3029144; 电子信箱:zhshykclzz@163.com; cjacp@cmaph.org。请登录中华医学会杂志社远程稿件管理系统 (<http://cmaes.medline.org.cn>) 投稿。