

人源干细胞产品的药学评价考虑

韩冬梅, 何 伍, 韦 薇, 魏开坤

(国家药品监督管理局药品审评中心, 北京 100022)

[摘要] 干细胞具有自我更新(self-renewing)和多向分化(multilineage differentiation)潜能,且不同类型的干细胞具有各自不同的优势和局限性,在基础研究和临床应用中成为热点领域。按药品进行研发的人源干细胞产品目前主要来源于成体干细胞、人胚干细胞和诱导多能干细胞三大类。人源干细胞产品复杂多样,在多种疾病治疗中展现出独特的治疗优势。本文总结了人源干细胞产品的特点和最新的研究进展,并根据药品开发和技术评价的规律,围绕生产用原材料、生产工艺、质量研究与控制、稳定性和包装容器密封系统等方面提出现阶段的药学审评考虑和讨论,供业界和监管机构探讨交流,以期能促进此类产品的临床转化和应用。

[关键词] 干细胞;人源干细胞产品;药学评价;质量研究与控制

[中图分类号] R95 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1003-3734(2023)02-0148-06

Considerations on CMC evaluation of human-derived stem cell products

HAN Dong-mei, HE Wu, WEI Wei, WEI Kai-kun

(Center for Drug Evaluation, National Medical Products Administration, Beijing 100022, China)

[Abstract] Stem cells have the potential of self-renewing and multilineage differentiation. Different types of stem cells have different advantages and limitations. It has become a hot topic of basic research and clinical application. Currently human-derived stem cell products to be developed as drugs come mainly from adult stem cells, embryonic stem cells, and induced pluripotent stem cells. Human-derived stem cell products are complex and diverse, showing unique therapeutic advantages in the treatment of a variety of diseases. This paper summarizes the characteristics and the latest research progress of human-derived stem cell products. According to the drug development and evaluation rules, this article brings up some quality assessment concerns and discussions in the major fields, such as raw materials, manufacturing process, quality research and control, stability, packaging container system, for the industry and regulators to discuss and communicate, expecting to promote the clinical transformation and application of this class of products.

[Key words] stem cells; human-derived stem cell products; pharmaceutical assessment; quality research and control

几十年来,干细胞在人类疾病的临床治疗应用和探索,一直处于深入和拓宽应用范围当中。干细

胞治疗在多种适应证和疾病领域展现出临床优势,为许多难治疾病如脑卒中、帕金森、移植物抗宿主病(graft versus host disease, GVHD)等提供了新的治疗机遇^[1],其中较为成熟和常态化的应用是人体干细胞移植治疗恶性或良性血液病^[2]。

国际上已有多款干细胞产品按药品研发并获批

[作者简介] 韩冬梅,女,硕士,助理研究员,主要从事生物制品药学审评研究。联系电话:(010)85243017,E-mail:handm@cde.org.cn。

[通讯作者] 魏开坤,男,博士,助理研究员,主要从事生物制品药学审评研究。联系电话:(010)85242990,E-mail:weikk@cde.org.cn。

上市,细胞类型集中在间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)领域,少数如脐带血造血祖细胞产品、角膜缘干细胞产品、基因修饰造血干细胞产品。目前,我国虽然尚无人源干细胞产品按药品开发而获批上市,但相关的临床研究数量不断增加,已跻身国际前列。

对于细胞和基因治疗产品这一快速发展的领域,工业界和监管部门的认知经验较为有限,相关的技术指导原则较少,人源干细胞产品相关的指导原则有待完善。监管机构也已持续收到多家申请人的干细胞相关品种的临床试验申请或沟通交流。为了帮助此类产品的开发和技术评价,本文基于当前认知,结合此类产品在治疗领域的最新研究进展,探讨人源干细胞产品在生产用原材料、生产工艺、质量研究与控制、稳定性与包装容器密封系统等方面的药学研究和技术评价考虑要点,为行业提供参考。

1 干细胞(stem cells)的分类和应用优势

干细胞是一类具有增殖(proliferate)、自我更新(self-renew)和特定条件下向多种功能细胞分化潜能(differentiative potential)的原始未分化细胞^[3]。根据发育阶段可以分为人胚干细胞(embryonic stem cells, ESCs)和成体干细胞(adult stem cells, ASCs)。根据分化潜能可以分为全能干细胞(totipotent stem cells)、多能干细胞(pluripotent stem cells, PSCs)和单能干细胞(unipotent stem cells)^[4]。通常认为, PSCs大致可以分为亚全能干细胞和多潜能干细胞(multipotent stem cells)等,亚全能干细胞可能不一定具备发育成完整个体的能力,但具有三胚层分化潜能,如 ESCs;多潜能干细胞具有向多种细胞组织分化的能力,如 MSCs。用于转化应用的干细胞分类形式有多种,包括按自体/异体、组织来源、修饰与否等。对于按药品进行研发的人源干细胞产品,目前常见干细胞类型包括成体干细胞、ESCs 及诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs)三大类。

可基于不同类型干细胞的优势和局限性,进行人源干细胞产品开发,以实现其治疗功能。成体干细胞取材较方便和高效,免疫原性较低,可以分化成多种成熟细胞和组织,目前应用较广泛,以造血干细胞和来源于骨髓、脂肪、牙齿、脐带、胎盘、外周血等组织的 MSCs 为代表^[5-7]。MSCs 一般都是组织提取,原代细胞培养扩增而来,操作工艺较简单,传代代次较短,诸如脐带 MSCs,体外具备较好的增殖分

化能力。相对而言,造血干细胞产品临床应用的药学开发中,可能存在干细胞体外扩增受限的问题^[8]。ESCs 是一类从早期胚胎或最初的生殖腺中分离的高度未分化细胞,具备无限增殖、自我更新以及体外多向分化的特点。其理论上应用非常广泛,并且易于工业化生产,从人类胚胎干细胞分离到首次临床试验只用了 12 年。但由于伦理争议和排异问题,ESCs 的临床使用受到限制。且有关其细胞迁移和细胞因子的调控机制尚不清楚,需要进一步探索^[9-10]。iPSCs 是指由人体细胞经重编程而获得的具有无限自我更新能力和向三胚层细胞分化潜能的一种干细胞,具有类似于 ESCs 的多能性^[11]。2014 年 9 月,日本人息肉样脉络膜血管病患者成为世界上第一个接受 iPSCs 药物自体移植的患者^[12]。iPSCs 具有来源广泛、无伦理限制、应用范围广、便于体外扩增等特点,有助于使其更接近临床应用,然而其广泛应用需要克服重编程效率较低、异质性较大、潜在突变、体内肿瘤形成和免疫响应等诸多限制性问题^[13]。ESCs 与 iPSCs 均为具有三胚层分化潜能的 PSCs,体内可形成畸胎瘤,转化应用时需将其定向诱导分化为功能细胞类型。用于治疗的人源干细胞产品还可能结合相应组件形成组织工程材料或药械组合产品,其药学研究涉及多方面的技术要求。

2 人源干细胞产品的研发和申报进展

干细胞产品已经在多种适应证和疾病治疗中展示出巨大潜力,包括贫血、白血病、血友病等血液和淋巴系统疾病,强直性脊柱炎和类风湿关节炎等免疫系统疾病、糖尿病等内分泌系统疾病、中风和阿尔茨海默等神经系统疾病以及肿瘤等^[14]。在 clinicaltrials.gov 检索显示,截至 2022 年 10 月共登记了 9 300 多项干细胞产品相关的临床试验,其中约 41% 的研究已经完成,17.5% 项临床研究正在进行。

国际上部分按药品研发的干细胞产品已获批上市,集中在 MSCs 领域,少数如脐带血造血祖细胞产品、角膜缘干细胞产品、基因修饰造血干细胞产品。在中国,尚无人源干细胞产品作为药品获批上市,但相关临床研究数量不断攀高。截至 2022 年 10 月,我国已批准 20 余项 MSCs 临床试验,首款 ESCs 来源细胞药物 M-021001 于 2021 年 9 月 26 日获得临床试验模式许可。2022 年, iPSCs 来源的细胞药物迎来暴发,已有 iPSCs 来源间充质样细胞注射液和

iPSCs 来源异体内皮祖细胞注射液 2 款产品获国家药品监督管理局(NMPA) 临床试验默示许可。就目前我国按药品进行管理的干细胞产品来说, 确保临床试验用样品的安全性仍是获准进入临床的金标准。在完成原辅料评估、生产工艺初步可控、质量研究与质量控制确保样品安全性、支持临床试验开展的稳定性和相容性评估等, 可以整体评价产品是否达到获准临床的要求。

3 人源干细胞产品的药学研究和评价考虑

3.1 生产用原材料

3.1.1 生产用细胞 生产用细胞是用来生产干细胞产品的起始性原材料, 对终产品的质量至关重要。生产用细胞可能为供者来源或细胞库来源, 由于不同供者、同一供者不同组织的细胞具有较大的差异性, 以及供者年龄、健康情况等, 对产品质量和安全性有较大影响, 需建立合理的供者筛选程序和标准, 以保证产品质量, 并有效防范病毒污染、组织排异和遗传性疾病等风险。结合既往产品开发中遇到的规范性问题, 建议关注一般筛查方法, 如问卷调查在微生物筛查方面的重要性, 结合既往病史、用药史、旅居史、生活习惯等具体情况适当增加相应的筛查类型。检测方法方面, 建议采用经监管机构批准的试剂盒, 对于 HBV, HCV, HIV 和 TP 这 4 种病毒应该采用灵敏度更高的血源筛查试剂盒而不是体外诊断试剂。

为保证终产品质量可控且批间一致, 一般需对生产用细胞进行建系/建库和检定, 建议对生产用 ESCs 和 iPSCs, 尤其是基因修饰多能干细胞筛选建立单克隆细胞株, 并完成全面检定。对于生产中确实不适合建库生产的情形, 如自体造血干细胞产品, 需提供充分的依据, 说明确保产品批间一致性的质量控制策略。基于不同的细胞特性, 细胞库检定的内容可能涉及细胞形态、鉴别、活性、标志物, 细胞干性、多能性、分化潜能, 微生物学安全性、杂质残留和遗传稳定性, 以及基因修饰功能验证和安全性分析等。

3.1.2 体外基因修饰系统 基因修饰是在干细胞生物学活性的基础上, 增强终产品功能的策略。修饰步骤可能发生在干细胞阶段或者向功能细胞分化阶段, 不同阶段使用体外基因修饰系统的风险和可能不同, 具体可参见《体外基因修饰系统药学研究与评价技术指导原则(试行)》。为保证产品质量可控和批间一致性, 一般要求在基因修饰多能干

细胞阶段, 筛选建立单克隆细胞株, 并完成全面检定。若所用的基因修饰系统与回输人体的细胞直接接触, 对于基因修饰系统的制备工艺和质量控制等药学研究要求较全面; 若考虑基因修饰后的细胞经过建系/库等情形, 可结合生产使用情况和细胞系/库的研究和检测情况, 制定修饰系统的风险控制策略。

3.1.3 其他原材料 其他原材料方面可参考药典和同类产品的一般要求开展, 细胞制备过程中不得使用青霉素或其他 β -内酰胺类抗生素。尽量避免使用可能存在病毒污染等外源因子污染风险的人或动物源性原材料。为了确保产品一致性和纯度, 对于生产中与细胞直接接触的研究级试剂(如培养基、细胞因子、化学小分子等)等原材料, 建议尽可能按照 GMP 要求生产。

3.2 生产工艺

干细胞产品的工艺流程一般包括细胞的获取、复苏、传代或扩增、激活或预处理、基因修饰、诱导分化、纯化、收获、灌装、冻存、运输等多个工艺步骤。

细胞培养的长时间传代可能会导致突变累积、基因组和表观遗传不稳定, 从而改变细胞分化能力或功能, 或形成恶性肿瘤^[15]; 体外培养细胞还会增加被病原体污染的风险, 因此工艺设计需有效控制外源因子引入或传播的风险, 并采用传代稳定性研究可支持的一定代次内的干细胞用于终产品制备。如何有效控制干细胞的增殖和分化具有较大挑战^[16], 诱导分化工艺应能对不同分化阶段的细胞命运进行有效调控, 控制终末细胞不再发生非预期的分化或转分化。

富集纯化工艺应关注在最终细胞产品中最大限度地提高目的细胞的比例, 提高产品纯度, 并满足去除相关杂质和非预期影响的要求。制剂研究中建议对细胞数量和/或输注速度进行研究, 还需特别关注新型给药装置和给药方式的给药准确度。干细胞制剂中过量的细胞可能引起多种并发症, 包括闭塞、血栓形成, 甚至增加肿瘤形成的风险^[17]。

干细胞产品工艺开发应特别关注传代稳定性的相关研究, 对于工艺过程中的建库或非建库干细胞, 建议采用代表性传代条件, 考察遗传稳定性、成瘤/致瘤性、细胞干性、多能性、目的细胞分化能力等性质, 相关的研究项目比如细胞形态、STR 鉴别、活率、活细胞数、群体倍增时间(PDT)、表型等生长特性稳定性, 也包括染色体核型和组学测序等遗传稳定性,

还包括多能性基因表达、畸胎瘤形成、定向诱导分化等干性的稳定性。对于可传代的终产品,应重点关注限传代次下的生长特性稳定性、遗传稳定性、成瘤/致瘤性考察以及终末细胞分化和去分化情况分析等。代次相关研究中,建议以群体倍增水平(PDL)定义细胞代次,或明确细胞传代过程中的群体倍增时间以开展研究。

3.3 质量研究与控制

3.3.1 细胞特性 基于不同干细胞类型,干细胞产品在细胞形态,标志物,群体倍增时间,端粒酶活性等方面可能存在差异,需要在质量研究加以确认。例如:MSC呈纺锤形,国际MSCs标准将MSC的判定为CD105,CD73和CD90表达阳性,而CD45,CD34,CD14或CD11b,CD79a或CD19及HLA-DR表面标记阴性;端粒酶活性多为未检出^[18]。造血干细胞的表面标记物为CD34,伴随CD133和CD90阳性,CD38阴性^[19]。而PSCs的标志物为一些多能性基因(*OCT4*,*SOX2*,*NANOG*)的表达阳性;另外,PSCs具有较强的增殖能力,端粒酶活性较高,可作为ESC或iPSCs向MSCs分化的一种区分指标;群体倍增时间也会存在一定变化。

3.3.2 理化特性 干细胞产品为细胞治疗产品,制剂通常为混悬液,应按现行版《中华人民共和国药典》的相关要求进行明显可见异物检查。其他一般理化检查项目如外观、颜色、pH值、渗透压摩尔浓度、装量等。

3.3.3 纯度和杂质 在基于干细胞特性进行产品生产过程中,可能会引入或产生一些目的细胞以外的成分,对产品进行纯度和杂质分析有利于了解产品的特性、功能以及安全性。从PSCs向功能性细胞定向分化时,在有些情形下会产生混合细胞群,而其中的非目的细胞也可能发挥功能。例如:从PSCs向胰岛细胞的定向分化技术(state-of-the-art)会产生包含胰岛beta细胞、alpha细胞和delta细胞在内的细胞团,细胞团内的各组分细胞的数量构成比例与天然胰岛细胞团类似,其中的目的细胞(beta细胞)能像天然胰岛beta细胞一样去分泌胰岛素,从而发挥调节血糖的能力。而上述混合细胞群处于一种更加天然的状态,发挥着更接近天然的调节血糖水平功能^[20]。当非目的细胞对产品安全性和有效性无不良影响时,纯度分析和评价需研究其组成和比例,必要时,控制批间一致性。另外,从PSCs向功能性细胞定向分化时,还可能残留PSCs(ESC或iPSCs)等

高风险杂质成分,建议开发灵敏可靠的杂质去除方法和分析检测方法,并结合科学合理的质控限度有效控制产品安全性。

3.3.4 成瘤性、致瘤性和促瘤性 由于细胞增殖过程中存在永生化的可能,细胞治疗产品不可避免需要考虑肿瘤发生的风险。Miura等^[21]发现小鼠骨髓MSCs可以自发转化为恶性细胞,在体内形成纤维肉瘤,机制可能与累积染色体异常、端粒酶活性逐渐增加以及c-Myc116表达升高有关。MSCs还可能具有免疫抑制功能,从而对肿瘤生长可能有一定的促进作用,应关注考察促瘤性。而ESC和iPSCs来源干细胞产品可能因残留PSCs或持续增殖的分化子代细胞具备更高的成瘤风险,基因修饰干细胞可能因表达外源基因或病毒载体插入突变导致致癌基因活化等,导致致瘤性风险增加。所以ESC和iPSCs来源干细胞产品以及基因修饰干细胞产品要特别关注成瘤和致瘤性检测。

3.3.5 非预期分化 对于干细胞产品,无论体外还是体内,都不希望看到非预期的分化,发生非预期分化会影响产品的安全性和有效性。尤其是ESC或iPSCs来源干细胞产品,建议有效控制定向诱导分化过程,以提高终末细胞的分化效率和纯度。相对地,基因修饰造血干细胞产品,需关注基因修饰对HSCs干性的影响,生产工艺和质量控制中关注终产品干性的维持。

3.3.6 微生物安全性 微生物安全性是指对微生物及其代谢产物/衍生物污染的研究,如真菌、细菌、支原体、病毒、内毒素等,以确保产品无内外源因子污染。同一般细胞治疗产品,干细胞产品生产中无病毒清除步骤和除菌/灭菌工艺,原材料(生产用细胞、生产辅助细胞、其他人源/动物源性原材料等),以及生产工艺都可能引入或传播外源因子,需要全面的外源因子风险控制策略。GMP方面,可加强设施设备、环境监测等方面的验证。原材料方面,需特别关注人源/动物源性原材料的风险评估和控制,可参考药典进行常规外源因子检测。必要时,还应根据可能引入的外源因子适当增加外源病毒的内控检测。过程控制方面,建议可在收获液阶段进行外源病毒和特定复制性病毒等检测。通过原材料和过程控制的结合,可相对控制风险。

3.3.7 基因修饰干细胞产品 随着体外基因修饰技术的发展,多种新型干细胞产品大量涌现,但同时带来了巨大的潜在风险。建议参考《体外基因修饰

系统药理学研究与评价技术指导原则》和《免疫细胞治疗产品药理学研究与评价技术指导原则》等相关指南,考虑开展基因修饰干细胞产品特殊的质量研究项目。考虑到细胞阶段可能存在的主要风险和质量需求,建议从基因组水平、染色体水平和细胞水平综合考虑。基因组水平,包括目的基因在基因组中的整合情况及整合位点,插入位点、插入序列和拷贝数,基因物质在目标细胞群中的表达水平及表达稳定性,目的基因遗传稳定性、基因组稳定性、脱靶编辑(脱靶位点、脱靶分析)等;染色体水平,包括染色体结构稳定性,如缺失、易位等;细胞水平,如病毒复制能力回复突变、致瘤性。还需考虑基因修饰对细胞活性、表型、功能、特性、工艺相关杂质和非目的细胞群变化等的影响。例如:对于一些具备分化和发育潜能的细胞,基因修饰技术的应用可能带来巨大的安全性风险,在早期选择时就需充分评估风险,并进行质量控制。

3.3.8 生物学活性 不同类型的干细胞产品具有不同的功能,需要基于产品与临床相关的治疗活性或预期的生物学效应,开发能够代表产品作用机制的定量生物学活性/功能测定方法,多活性组分产品应当分别进行鉴定和活性测定。MSCs 主要是三系分化和免疫调控功能,生物学活性分析涉及成骨、成脂和成软骨分化能力检测,以及一些细胞因子的检测。基因修饰干细胞产品更多关注基因修饰功能的验证,涉及转录和表达层面。PSCs 产品是基于目的细胞的特性和功能进行分析,例如:iPSCs 衍生内皮祖细胞 EPCs 产品,需进行成管功能的检测和控制。

3.4 稳定性和包装容器密封系统

干细胞产品为活细胞药物,对外界条件如超低温冷冻、振荡、机械力、脱冷链等较为敏感,建议采用细胞活率、活细胞数、生物学活性等敏感的考察指标,结合产品自身的特点、临床配伍和实际给药的特殊要求,以及包装、贮存、运输和使用情况,规范开展稳定性研究。

干细胞产品可能存在多种多样的药用辅料(人血白蛋白、复方电解质、含 DMSO 的冻存液等)、制剂类型(新鲜制剂、冻存制剂、凝胶剂等),以及包装容器(西林瓶、预灌装注射器、软袋、组织工程细胞装置等),应充分考虑和研究不同辅料和包装组件的安全性及相容性,并对包装容器密封系统的功能性、密封性、耐低温性等进行考察。

4 结语

人源干细胞产品和再生医学研究发展迅速,为许多有限选择的疾病治疗提供了广泛的革命性进展和希望。干细胞的自我更新和谱系分化特征构成了人源干细胞产品潜在的、有害的安全风险,包括不受控制的细胞增殖、遗传等不稳定性、致瘤性(ESCs, iPSCs 等可能涉及)和不良细胞分化等。且再生医学的诸多研究仍处于初级阶段,一些问题包括伦理冲突、疗效、不良反应(栓塞、感染、高热等)、并发症、免疫排异、细胞纯化等的研究仍具有较大挑战性。

干细胞产品的研发和人体临床应用仍将是未来较长时期内生物医药领域的持续热点。在平衡风险和获益的前提下,关于干细胞产品的技术审评考量将持续地结合研究领域的进展而与时俱进,和行业共同造福人民健康。

[参 考 文 献]

- [1] REIS C, WILKINSON M, REIS H. A look into stem cell therapy: exploring the options for treatment of ischemic stroke [J]. *Stem cells Int*, 2017;3267352.
- [2] BLOMMESTEIN HM, VERELST SG, HUIJGENS PC. Real-world costs of autologous and allogeneic stem cell transplantations for haematological diseases: a multicentre study [J]. *Annals of hematology*, 2012;91(12):1945-1952.
- [3] WEISSMAN IL, ANDERSON DJ, GAGE F. Stem and progenitor cells: origins, phenotypes, lineage commitments, and transdifferentiations [J]. *Annual review of cell and developmental biology*, 2001,17;387-403.
- [4] LIANSHENG GAO, WEILIN XU, TAO LI. Stem Cell Therapy: A Promising Therapeutic Method for Intracerebral Hemorrhage [J]. *Cell Transplantation*, 2018, (12):1809-1824
- [5] ZUK PA, ZHU M, MIZUNO H. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies [J]. *Tissue Eng*, 2001,7(2):211-228.
- [6] ERICES AA, ALLERS CI, CONGET PA. Human cord blood-derived mesenchymal stem cells home and survive in the marrow of immunodeficient mice after systemic infusion [J]. *Cell Transplantation*, 2003,12(6):555-561.
- [7] VILLARON EM, ALMEIDA J, LOPEZ-HOLOGADO N. Mesenchymal stem cells are present in peripheral blood and can engraft after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation [J]. *Haematologica*, 2004,89(12):1421-1427.
- [8] SOBRINO T, ARIAS S, PEREZ-MATO M. Cd34p progenitor cells likely are involved in the good functional recovery after intracerebral hemorrhage in humans [J]. *J Neurosci Res*, 2011,89(7):979-985.
- [9] MARTELLO G, SMITH A. The nature of embryonic stem cells [J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2014,30:647-675.
- [10] BAIN G, KITCHENS D, YAO M. Embryonic stem cells express neuronal properties *in vitro* [J]. *Dev Biol*, 1995,168(2):342-357.
- [11] TAKAHASHI K, YAMANAKA S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors [J]. *Cell*, 2006,126(4):663-676.

- [12] MANDAI M, WATANABE A, KURIMOTO Y. Autologous induced stem-cell-derived retinal cells for macular degeneration [J]. *N Engl J Med*, 2017,376(11):1038 – 1046.
- [13] EVANS MJ, KAUFMAN MH. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos [J]. *Nature*, 1981, 292(5819):154 – 156.
- [14] MOUSAEI GHASROLDASHT M, SEOK J, PARK HS, *et al.* Stem Cell Therapy: From Idea to Clinical Practice[J]. *Int J Mol Sci*,2022,23(5):2850.
- [15] ISSCR. Isscr-guidelines-for-stem-cell-research-and-clinical-translation[S]. 2021.
- [16] CHANG Z, MAO G, SUN L. Cell therapy for cerebral hemorrhage: Five year follow-up report[J]. *Exp Ther Med*, 2016,12(6):3535 – 3540.
- [17] BHASIN A, KUMARAN SS, BHATIA R. Safety and feasibility of autologous mesenchymal stem cell transplantation in chronic stroke in Indian patients. A four-year follow up[J]. *J Stem Cells Regen Med*, 2017,13(1):14 – 19.
- [18] SEO JH, CHO SR. Neurorestoration induced by mesenchymal stem cells: potential therapeutic mechanisms for clinical trials [J]. *Yonsei Med J*, 2012,53(6):1059 – 1067.
- [19] CALLONI R, CORDERO EA, HENRIQUES JA. Reviewing and updating the major molecular markers for stem cells [J]. *Stem Cells Dev*, 2013,22(9):1455 – 1476.
- [20] ALVAREZ-DOMINGUEZ JR, MELTON DA. Cell maturation: Hallmarks, triggers, and manipulation[J]. *Cell*,2022,185(2):235 – 249.
- [21] MIURA M, MIURA Y, PADILLA-NASH HM. Accumulated chromosomal instability in murine bone marrow mesenchymal stem cells leads to malignant transformation[J]. *Stem Cells*, 2006, 24(4):1095 – 1103.

编辑:刘卓越/接受日期:2022 – 12 – 26