

## 【综述】

## 细胞治疗产品示踪技术研究进展

郝晓芳<sup>1,2</sup>, 耿兴超<sup>1\*</sup>, 黄 瑛<sup>1\*</sup>, 李 波<sup>1,2</sup>

1. 中国食品药品检定研究院 国家药物安全评价监测中心, 药物非临床安全评价研究北京市重点实验室, 北京 100176

2. 中国医学科学院北京协和医学院, 北京 100730

**摘 要:** 细胞治疗给许多疾病带来希望, 已经成为业界关注的热点之一。尽管细胞治疗在治疗效力方面取得了快速发展, 但移植细胞在体内的生物分布及机制尚不清楚。细胞体内示踪技术的不足严重影响了细胞治疗的临床转化应用。目前, 多种细胞体内示踪技术已经应用于临床前研究, 如染料标记追踪、放射性同位素追踪、纳米颗粒标记技术、报告基因技术、实时定量聚合酶链式反应(qRT-PCR)技术、组织学技术等, 但缺乏完美可靠的示踪技术。为比较不同的示踪技术, 对目前研究中应用的细胞示踪技术进行综述。

**关键词:** 细胞治疗; 生物分布; 细胞标记; 示踪技术; 临床前研究

**中图分类号:** R915      **文献标志码:** A      **文章编号:** 1674-6376(2023)04-0885-05

**DOI:** 10.7501/j.issn.1674-6376.2023.04.025

## Research progress in tracing techniques for cellular therapy products

HAO Xiaofang<sup>1,2</sup>, GENG Xingchao<sup>1</sup>, HUANG Ying<sup>1</sup>, LI Bo<sup>1,2</sup>

1. Toxicology Laboratory, Safety Evaluation Center, China National Institute for Food and Drug Control, Beijing 100176, China

2. Chinese Academy of Medical Sciences &amp; Peking Union Medical College, Beijing 100730, China

**Abstract:** Cellular therapy has brought hope to many diseases and has become one of the hot spots in the pharmaceutical world. Although cellular therapy has made rapid progress in therapeutic efficacy, the biodistribution of cellular therapy products *in vivo* and the mechanisms involved are still unclear. Inadequate *in vivo* cellular tracing techniques have hindered the mastery of cell fate and severely impacted the clinical translation of cellular therapy applications. A variety of *in vivo* cell tracing techniques have been applied in preclinical studies, such as dye labeling tracing, radioisotope tracing, nanoparticle labelling techniques, reporter gene techniques, quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR) techniques, and histological techniques, but a perfect and reliable tracing technique is lacking. In order to compare the different tracing techniques, a review of the cellular tracing techniques applied in current research is presented.

**Key words:** cellular therapy; biodistribution; cell labeling; tracing; preclinical studies

细胞治疗一般是指将正常的或特殊处理的细胞移植到患者体内发挥作用, 从而达到治疗疾病的目的。细胞治疗应用于多种难治性疾病, 包括癌症<sup>[1]</sup>、神经系统疾病<sup>[2]</sup>、免疫系统疾病<sup>[3]</sup>以及其他内外科疾病, 如肝硬化<sup>[4]</sup>、股骨头坏死<sup>[5]</sup>等。近年来细胞治疗快速发展, 已经成为业界关注的热点之一。

美国食品药品监督管理局和经济合作与发展组织等药监部门已批准了多种细胞产品上市。在中国, 细胞治疗及临床转化相继被纳入“十三五”和“十四五”发展规划, 成为提高竞争力的新技术制高点。2021年, 2个嵌合抗原受体T细胞药物阿基仑赛注射液和瑞基奥仑赛注射液在中国相继获批。

收稿日期: 2022-10-18

基金项目: 国家重点研发计划课题(2021YFA1101602); 中国科学院战略先导科技专项(XDA1604050202); 中国食品药品检定研究院关键技术研究基金(GJJS-2022-6-1)

第一作者: 郝晓芳, 女, 博士研究生, 研究方向为药理毒理。E-mail: haoxiaofang1128@163.com

\*共同通信作者: 黄 瑛, 博士, 副研究员, 研究方向为药理毒理。E-mail: huangying1002@nifdc.org.cn

耿兴超, 博士, 研究员, 研究方向为药理毒理。E-mail: gengxch@nifdc.org.cn

尽管细胞治疗在疾病实验动物模型中展现出很好的治疗效果,但细胞在体内的分布、迁移、归巢、定植、增殖以及分化等生物学行为尚不清楚。目前,许多指导原则对细胞产品的生物分布研究提出要求。国家卫生计生委与食品药品监管总局2015年发布的《干细胞制剂质量控制及临床前研究指导原则(试行)》指出,对于干细胞产品进行临床前安全有效性评价时,应在合适的动物模型基础上,研究和建立干细胞有效标记技术和动物体内干细胞示踪技术,以便于研究干细胞的体内存活、分布、归巢、分化和组织整合等功能的研究。国家药品监督管理局药品审评中心2021年发布的《基因修饰细胞治疗产品非临床研究评价技术指导原则(试行)》中规定基因治疗产品在临床试验开始前进行生物分布研究。细胞归巢于非靶器官可能引发未知的安全性风险,并且尚未清楚的体内生物学行为影响对细胞治疗机制的探索,这些严重阻碍细胞治疗的临床转化应用,而这部分归因于细胞体内示踪技术的不足。目前,多种细胞示踪技术已经应用于临床前研究,如染料标记追踪、放射性同位素追踪、纳米颗粒标记技术、实时定量聚合酶链式反应(qRT-PCR)技术、组织学技术等。为比较不同的示踪技术,本文对目前研究中应用的细胞体内示踪技术进行综述,并对未来的发展方向进行展望。

## 1 细胞标记体内成像技术

细胞体内成像技术是将转染或标记示踪物的细胞移植到体内,通过成像技术获得细胞在体内的分布情况。细胞体内成像的对象是动物或人体,而动物或人体组织深厚且不透明,会干扰成像信号的采集,这要求细胞标记物要具备体内稳定性且信号能够不受组织的干扰。细胞标记物主要分为外源性细胞标记和内源性细胞标记。

### 1.1 外源性细胞标记

外源性细胞标记是指标记物与细胞进行共价结合或物理结合,如荧光染料标记、放射性核素标记、纳米颗粒标记等。

**1.1.1 荧光染料** 荧光染料受到光照射时,可激发成为激发态,当从激发态恢复基态时,产生荧光,利用荧光设备追踪荧光从而达到示踪细胞的目的。目前多种荧光染料被用来示踪细胞,主要包括羟基荧光素二醋酸琥珀酰亚胺酯(CFSE)、5-溴脱氧尿嘧啶核苷(BrdU)、PKH26以及亲脂性二烷基碳菁类染料等。

CFSE穿过细胞膜进入细胞后,在细胞内酯酶

的作用下发生水解,产生明亮的荧光。水解产物与细胞内蛋白的赖氨酸残基或其他氨基共价结合,能够稳定、长期地进行细胞示踪。CFSE标记被广泛用于细胞增殖研究,也被用于在组织切片中定位细胞<sup>[6]</sup>。Bertelsen等<sup>[7]</sup>、Montufar-Solis等<sup>[8]</sup>利用CFSE标记研究内皮生长细胞、脾白细胞在小鼠体内的归巢能力。

BrdU可代替胸腺嘧啶核苷插入复制的DNA双链中,并带到子代细胞中,通过免疫组化或流式检测其掺入的细胞。Yin等<sup>[9]</sup>通过BrdU标记定位细胞,但BrdU对细胞的毒性已有报道<sup>[10-11]</sup>,因此干细胞的研究中使用BrdU时需要更加谨慎。

PKH26荧光染料通过与膜结构的脂质分子结合标记细胞,呈橙红色荧光。PKH26标记的人脂肪间充质干细胞注射到小鼠玻璃体腔后1个月,视网膜血管仍出现强荧光<sup>[12]</sup>。

亲脂性二烷基碳菁类染料家族主要包括3,3'-二十八烷氧碳菁高氯酸盐(DiO)、1,1'-双十八烷基-3,3',3'-四甲基吡啶菁高氯酸盐(DiI)、1,1'-双十八烷基-3,3',3'-四甲基吡啶菁-4-氯苯基(DiD)、1,1'-双十八烷基-3,3',3'-四甲基吡啶菁高碘酸盐(DiR)等,4种染料呈现不同的荧光。这类染料自身发光强度弱,一旦对细胞染色,即可发出强烈的荧光。这类染料广泛应用于细胞标记,其中DiR属于近红外荧光染料,激发波长750 nm,发射波长782 nm,所发射的近红外光可以高效地穿过细胞和组织,受组织和毛发的干扰小,荧光背景很低<sup>[13]</sup>,且DiR标记细胞形态良好,阳性标记率达90%以上,标记后荧光表达稳定,在细胞间也没有转移<sup>[14]</sup>,因此DiR在小动物活体成像中意义非凡。小动物活体成像是追踪细胞体内分布研究中的强有力工具,它可以对体内干细胞进行实时纵向监测,以跟踪细胞迁移和位置<sup>[15]</sup>。作为非侵入性的活体成像工具有很多优势,如操作简单、灵敏度高、实时直观、无创性、成像快速、成本低、动物使用量少和可同时观测多分子事件。DiR标记的树突状细胞移植大鼠体内后,通过小动物活体成像技术在至少25 d和长达35 d的时间内能观察到DiR荧光信号<sup>[16]</sup>。不足之处是小动物活体成像不适用于大动物(如猴子),需要大型仪器设备,组织器官精确定位有限或者荧光低于定量下限时,需要与其他方法结合。

**1.1.2 放射性核素** 放射性核素能自发地放出射线(如 $\alpha$ 射线、 $\beta$ 射线等),使用最广泛的放射性核素示踪剂包括<sup>18</sup>氟-氟脱氧葡萄糖(<sup>18</sup>F-FDG)<sup>[17]</sup>、<sup>111</sup>铟-8-

羟基喹啉( $^{111}\text{In-Oxine}$ )<sup>[18]</sup>、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -六甲基丙二胺肟( $^{99\text{m}}\text{Tc-HMPAO}$ )<sup>[19-20]</sup>、 $^{89}\text{Zr}$ <sup>[21-22]</sup>、 $^{51}\text{Cr}$ 等。将核素与细胞培养,注射进入细胞后,发射的放射性就可以通过核医学成像技术(如单光子发射计算机断层扫描或正电子发射断层扫描)来检测,能够追踪细胞的活动。日本已上市干细胞 Temcell 使用 $^{51}\text{Cr}$ 标记的受试物,开展了免疫缺陷小鼠单次给药的生物分布研究,检测持续到给药后4周。放射性核素标记具有高分辨率和准确性,但其短的半衰期导致放射性的持续时间有限,限制了其对细胞后期分布的评估,以及细胞死亡导致放射性核素释放,从而产生非特异性和非细胞结合的放射信号<sup>[18]</sup>。另外,放射性元素发射出的射线可能破坏细胞组织,从而对细胞和人体造成损害。

**1.1.3 纳米颗粒** 纳米颗粒是不超过100 nm、人工制造的微型颗粒,常见的用于细胞标记的纳米颗粒包括超顺磁性氧化铁纳米颗粒(SPIONs)、量子点(QDs)等。

SPIONs是包裹着一定生物相容性聚合物的合成铁小颗粒,靶向肽将其输送到活细胞的细胞质中。通过这种机制的细胞质传递不是由特定的酶介导的,因此可以输送到任何细胞中。当细胞被标记后,它们就可以通过成像技术(如磁共振成像)检测出来<sup>[23]</sup>。鉴于磁共振是不太容易获得的技术,这种方法的使用可能会受到限制。QDs标记不出现光漂白和降解的问题,同时,近红外量子点的发射光谱位于近红外光区(700~900 nm),减少来自组织的散射、吸收和自发荧光,因此,QDs成为细胞成像的传统荧光探针的潜在替代品已受到关注。QDs不能直接标记细胞,使用化学物质、阳离子脂质体、细胞穿透肽和抗体等方法可用于标记。其中,具有穿膜作用的肽段修饰的QDs能够实现对细胞快速有效地标记<sup>[24]</sup>,如八精氨酸寡肽<sup>[25]</sup>方便用于干细胞标记,因为细胞毒性低、操作简单、转导时间短,并且在细胞的复杂环境和各种生物条件下(包括细胞内pH值、温度和代谢活动的变化)都能保持强烈的荧光<sup>[26]</sup>。纳米颗粒进入细胞后,可以提供可追踪几代的强烈、稳定的荧光,并且不会传递到相邻细胞中。但是,纳米颗粒标记细胞法仍存在一些缺点,如干细胞的分裂会稀释细胞中纳米颗粒的浓度,这将影响长期观察效果,细胞死亡将导致纳米颗粒的分散。

## 1.2 内源性细胞标记

内源性标记使用病毒或非病毒载体将编码蛋

白的报告基因转导并整合到细胞基因组中,并通过表达特定的报告基因来标记细胞,如萤火虫荧光素酶(LUC)基因、绿色荧光蛋白(GFP)、Lac-Z基因、Y染色体标记等。

LUC和D-荧光素系统长期以来被用于各类示踪实验。细胞转染LUC基因后注射到动物体内,在给予D-荧光素后,含有特定基因荧光的细胞发出特定波长的光信号。Liu等<sup>[27]</sup>将人间充质干细胞(MSCs)用此法基因标记后通过体内生物发光成像评估细胞移植后的存活。LUC的优点是能够提供有关细胞活性的信息,因为ATP作为D-荧光素的辅助因子参与生物发光过程,可以用于研究干细胞的存活和增殖。但是,该系统发射光为536 nm,无法穿透哺乳动物组织。为了克服这一限制,研究者开发了高敏感度的报告基因-Antares2,是原始Antares的增强版本<sup>[28]</sup>。Antares是生物发光共振能量转移报告蛋白,能促进发射光的红移,从而更好地穿透细胞组织<sup>[29]</sup>。

GFP是生物发光蛋白,激发后可稳定地产生绿色荧光。Ruan等<sup>[30]</sup>将树鼩脐带间充质细胞转染GFP后静脉给予创伤性全身反应综合征树鼩模型,追踪其在脏器中的分布情况。

通过上述方法标记的细胞被移植到体内后,需要通过相应的成像技术(如荧光成像、放射自显影、磁共振成像、电子计算机断层扫描等)被追踪。一般来说,外源标记方法简单直接,但存在标记效率低、标记过程不稳定、细胞标记时间短、难以跟踪全过程等缺点。内源性细胞标记的信号不会随着细胞的分裂和增殖而消失,跟踪准确率高,可以实现细胞的长期跟踪,克服了外源性标记的一些不足。

## 2 qRT-PCR技术

qRT-PCR是灵敏度高、可重复性、可以定量的传统方法,能通过移植细胞在整个宿主器官内的细胞特异性DNA序列对移植细胞进行准确和灵敏的检测,将抽样误差降至最低。由于基因组的重复性和物种的特异性,Alu序列仍然是评估异种模型中移植细胞生物分布的首选标记。人类Alu(hAlu)序列可以通过qRT-PCR从基因组DNA中扩增和定量,具有高度的准确性<sup>[31-32]</sup>。对于有特定基因序列的细胞,如嵌合抗原受体T细胞(CAR-T),可以根据特异性的基因序列设计引物序列。Schubert等<sup>[33]</sup>在急性肾损伤小鼠静脉输注后第3、6天,通过生物发光技术显示MSCs被清除。然而,当在第6天对几个组织进行从qRT-PCR检测时,在血液、肝脏、肾脏



和肺中检测到不同数量 mRNA。因此,qRT-PCR 似乎是更灵敏的方法,可能是检测组织中晚期 MSCs 存在的更好选择,并可用于补充成像技术。

### 3 组织学技术

组织学方法包括传统的免疫组织化学、免疫荧光以及原位杂交等。免疫组织化学和免疫荧光是传统的检测方法。原位杂交方法是基于 DNA 或 DNA/RNA 双链互补的大分子识别技术,与荧光团偶联的核苷酸整合的 DNA 链可以用作探针以杂交到追踪细胞的互补序列上,然后通过荧光显微镜或成像系统进行观测。该技术能够高灵敏度和特异性识别目标 DNA 或 RNA 序列,并且实现在单细胞水平杂交信号的可视化。但是在应用较短的 cDNA 探针时,荧光原位杂交(FISH)技术不能保证 100% 杂交。

RNAscope 是新型的 RNA 原位杂交技术,该法克服了以前的 RNA 原位杂交技术的弱点,如灵敏度低、非特异性杂交、对样本要求高等,可替代传统的 FISH 原位检测的方法,灵敏度更高。荣斌等<sup>[34]</sup>使用 RNAscope 检测到 CAR-T 在输注 14 d 后少量特异性分布于骨髓和脾脏。组织学和 qRT-PCR 技术均是在离体组织上进行的,相比于成像技术,它们不能直接获得细胞在体内的分布情况。

### 4 结语

细胞治疗具有广阔的临床应用前景,高灵敏度检测移植细胞的技术对于确保细胞治疗的安全性和有效性至关重要。相比于有创的 qRT-PCR 技术和组织学技术,细胞标记的体内示踪技术不仅能够减少动物的使用,还可以在时间和空间上更加精准地监测细胞的分布、迁移、归巢、定植等。由于荧光染料具有淬灭性、放射性核素可能造成的伤害、报告基因需要克服组织自发荧光等体内示踪技术的不足,细胞示踪技术仍需进一步研究与开发。理想的示踪方法应具有简单易行、无毒、特异性强、灵敏度高、假阳性率低、存续时间长、受外界干扰因素小等特点。优秀的细胞示踪技术有助于了解细胞治疗产品在体内的生物分布及作用机制,从而更好地推动细胞治疗的临床应用。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

### 参考文献

- [1] Perez-amill L, Marzal B, Urbano-ispizua A, et al. CAR-T cell therapy: A door is open to find innumerable possibilities of treatments for cancer patients [J]. Turk J Haematol, 2018, 35(4): 217-228.
- [2] Garitaonandia I, Gonzalez R, Sherman G, et al. Novel approach to stem cell therapy in Parkinson's disease [J]. Stem Cells Dev, 2018, 27(14): 951-957.
- [3] Li A, Guo F, Pan Q, et al. Mesenchymal stem cell therapy: Hope for patients with systemic lupus erythematosus [J]. Front Immunol, 2021, doi: 10.3389/fimmu.2021.728190.
- [4] Yao L, Hu X, Dai K, et al. Mesenchymal stromal cells: Promising treatment for liver cirrhosis [J]. Stem Cell Res Ther, 2022, 13(1): 308.
- [5] Im G I. Clinical use of stem cells in orthopaedics [J]. Eur Cell Mater, 2017, 33: 183-196.
- [6] Lönnqvist S, Junker J P E, Sedell M, et al. Tracking keratinocytes and melanocytes using carboxyfluorescein hydroxysuccinimidyl ester staining [J]. PLoS One, 2019, 14(8): e0221878.
- [7] Bertelsen L B, Hagensen M, Busk M, et al. *In vivo* bio-distribution and homing of endothelial outgrowth cells in a tumour model [J]. Nucl Med Biol, 2014, 41(10): 848-855.
- [8] Montufar-Solis D, Klein J R. Splenic leukocytes traffic to the thyroid and produce a novel TSH $\beta$  isoform during acute listeria mono cytogenes infection in mice [J]. PLoS One, 2016, 11(1): e0146111.
- [9] Yin J, Shen Y, Si Y, et al. Knockdown of long non-coding RNA SOX2OT downregulates SOX2 to improve hippocampal neurogenesis and cognitive function in a mouse model of sepsis-associated encephalopathy [J]. J Neuroinflamm, 2020, 17(1): 320.
- [10] Wang T, Liao J C, Wang X, et al. Unexpected BrdU inhibition on astrocyte-to-neuron conversion [J]. Neural Regen Res, 2022, 17(7): 1526-1534.
- [11] Arai R, En A, Ukekawa R, et al. Aberrant localization of lamin B receptor (LBR) in cellular senescence in human cells [J]. Biochem Biophys Res Comm, 2016, 473(4): 1078-1083.
- [12] 郭凯, 罗燕, 李士清, 等. PKH26 标记人脂肪间充质干细胞及眼内示踪的可行性研究 [J]. 中华实验眼科杂志 2019, 37(11): 876-879.  
Guo K, Luo Y, Li S Q, et al. Feasibility study of PKH26-labeled human adipose mesenchymal stem cells and intraocular tracing [J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2019, 37 (11): 876-879.
- [13] Somanchi S S. Noninvasive *in vivo* fluorescence imaging of NK cells in preclinical models of adoptive immunotherapy [J]. Methods Mol Biol, 2016, 1441: 307-316.
- [14] Alolga R N, Opoku-damoah Y, Alagpulinsa D A, et al. Metabolomic and transcriptomic analyses of the anti-

- rheumatoid arthritis potential of xylopic acid in a bioinspired lipoprotein nanoformulation [J]. Biomaterials, 2021, 268: 120482.
- [15] Basel M T. Lipophilic near-infrared dyes for *in vivo* fluorescent cell tracking [J]. Methods Mol Biol, 2020, 2126: 33-43.
- [16] Tian Y, Shi P, Zhou Y, et al. DiR-labeled tolerogenic dendritic cells for targeted imaging in collagen-induced arthritis rats [J]. Int Immunopharmacol, 2021, 91: 107273.
- [17] Wargocka-matuszeska W, Fiedorowicz K, Rugowska A, et al. Molecular imaging of myogenic stem/progenitor cells with [ $^{18}\text{F}$ ] -FHBG PET/CT system in SCID mice model of post-infarction heart [J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 19825.
- [18] Barthelemy I, Thibaud J L, De Fornel P, et al. *In vivo* stem cell tracking using scintigraphy in a canine model of DMD [J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 10681.
- [19] Ghazavi H, Hoseini S J, Ebrahimzadeh-bideskan A, et al. Fibroblast growth factor type 1 (FGF1) -overexpressed adipose-derived mesenchymal stem cells (AD-MSCF GF1) induce neuroprotection and functional recovery in a rat stroke model [J]. Stem Cell Rev Rep, 2017, 13(5): 670-685.
- [20] Meseguer-lmo L, Montellano A J, Martinez T, et al. Intraarticular and intravenous administration of ( $^{99\text{M}}$ )Tc-HMPAO-labeled human mesenchymal stem cells ( $^{99\text{M}}$ )TC-AH-MSCS): *In vivo* imaging and biodistribution [J]. Nucl Med Biol, 2017, 46: 36-42.
- [21] Friberger I, Jussing E, Han J, et al. Optimisation of the synthesis and cell labelling conditions for [ $^{89}\text{Zr}$ ]Zr-oxine and [ $^{89}\text{Zr}$ ]Zr-DFO-NCS: A direct *in vitro* comparison in cell types with distinct therapeutic applications [J]. Mol Imaging Biol, 2021, 23(6): 952-962.
- [22] Lechermann L M, Manavaki R, Ayyili B, et al. Detection limit of  $^{89}\text{Zr}$ -labeled T cells for cellular tracking: An *in vitro* imaging approach using clinical PET/CT and PET/MRI [J]. Ejnm Res, 2020, 10(1): 82.
- [23] Teeman E, Shasha C, Evans J E, et al. Intracellular dynamics of superparamagnetic iron oxide nanoparticles for magnetic particle imaging [J]. Nanoscale, 2019, 11(16): 7771-7780.
- [24] Yukawa H, Suzuki K, Kano Y, et al. Induced pluripotent stem cell labeling using quantum dots [J]. Cell Med, 2013, 6(1/2): 83-90.
- [25] Yukawa H, Baba Y. *In vivo* imaging technology of transplanted stem cells using quantum dots for regenerative medicine [J]. Anal Sci, 2018, 34(5): 525-532.
- [26] Benzin H, Schumann S, Richter A, et al. Evaluation of human skin-derived stem cell characteristics after non-invasive quantum dot labeling [J]. Cell Physiol Biochem, 2021, 55(4): 387-399.
- [27] Liu J J, Hu X J, Li Z R, et al. *In vivo* bioluminescence imaging of transplanted mesenchymal stromal cells and their rejection mediated by intrahepatic NK cells [J]. Mol Imag Biol, 2017, 19(1): 31-40.
- [28] Yeh H W, Karmach O, Ji A, et al. Red-shifted luciferase-luciferin pairs for enhanced bioluminescence imaging [J]. Nat Methods, 2017, 14(10): 971-974.
- [29] Liu S, Nyström N N, Kelly J J, et al. Molecular imaging reveals a high degree of cross-seeding of spontaneous metastases in a novel mouse model of synchronous bilateral breast cancer [J]. Mol Imag Biol, 2022, 24(1): 104-114.
- [30] Ruan G P, Yao X, Mo P, et al. Establishment of a systemic inflammatory response syndrome model and evaluation of the efficacy of umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation [J]. Cell Tiss Organ, 2021, 210(2): 118-134.
- [31] Prigent J, Herrero A, Ambroise J, et al. Human progenitor cell quantification after xenotransplantation in rat and mouse models by a sensitive qPCR assay [J]. Cell Transpl, 2015, 24(8): 1639-1652.
- [32] Creane M, Howard L, O'brien T, et al. Biodistribution and retention of locally administered human mesenchymal stromal cells: Quantitative polymerase chain reaction-based detection of human DNA in murine organs [J]. Cytotherapy, 2017, 19(3): 384-394.
- [33] Schubert R, Sann J, Frueh J T, et al. Tracking of adipose-derived mesenchymal stromal/stem cells in a model of cisplatin-induced acute kidney injury: Comparison of bioluminescence imaging versus qRT-PCR [J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(9): 2564.
- [34] 荣斌, 吴纯启, 原野, 等. NSG小鼠多发性骨髓瘤模型评价 BCMA-CAR-T 的药效和毒性及 RNAscope 在检测 CAR-T 分布中的应用 [J]. 药物评价研究, 2019, 42(5): 822-827.
- Rong B, Wu C Q, Yuan Y, et al. NSG mouse multiple myeloma model was used to evaluate *in vivo* efficacy and toxicity of BCMA-CAR-T cells and application of RNAscope in the detection of CAR-T distribution [J]. Drug Eval Res, 2019, 42(5): 822-827.

[责任编辑 李红珠]