

基于转录组数据探讨不同组织来源的间充质干细胞的生物学异质性

王丽波¹, 丁凯^{1, 2}, 娄云云^{1, 2}, 慈小燕^{1, 2*}, 张英驰^{2, 3}, 李虹⁴, 闫凤英^{1, 2*}

1. 药物成药性评价与系统转化全国重点实验室, 天津 300301

2. 天津市细胞技术创新中心, 天津和创生物技术有限公司, 天津 300301

3. 中国医学科学院血液病医院(中国医学科学院血液学研究所), 实验血液学国家重点实验室, 天津 300020

4. 天津市第一中心医院 产科, 天津 300192

摘要: 目的 基于转录组数据探讨脂肪组织(AD)、胎盘绒毛膜(HC)、胎盘羊膜(HA)和脐带(UC)来源的间充质干细胞(MSCs)的生物学异质性。方法 从人AD、HC、HA和UC中分离MSCs, 流式细胞术检测细胞表面阳性标志物(CD73、CD90、CD105)和阴性标志物(CD14、CD34、CD45、CD79a、HLA-DR)的表达, 改良版茜素红染色、油红O染色、阿利辛蓝染色检测细胞的三系分化能力; Trizol法提取细胞总RNA, 用于转录组测序, 应用GFOLD(1.1.4)进行差异基因表达分析; 使用DAVID数据库对差异表达的基因进行基因本体(GO)功能富集分析。结果 P2代的不同来源的MSCs, CD73、CD90、CD105均为阳性表达, CD14、CD34、CD45、CD79a、HLA-DR均为阴性表达, 培养的MSCs均具有三系分化能力。新生儿来源的MSCs(HA、HC和UC)相关性大于成人来源的MSCs(AD), 在功能富集分析中, 与来源于AD的MSCs相比, HA和UC来源的MSCs表现出更优异的增殖能力。来源于AD的MSCs有更好的分化潜力以及促进血管生成能力, 而来源于UC的MSCs支持神经元的发育并分泌可以调节免疫环境的趋化因子和抗炎因子。结论 不同来源的MSCs具有不同的生物学特征, 提示不同来源的MSCs可能具有不同临床应用的最佳选择。

关键词: 间充质干细胞; 胎盘绒毛膜; 胎盘羊膜; 脐带; 脂肪; 转录组

中图分类号: R965 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2024)06-1259-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2024.06.010

Biological heterogeneity of mesenchymal stem cells derived from different sources based on transcriptomics

WANG Libo¹, DING Kai^{1, 2}, LOU Yunyun^{1, 2}, CI Xiaoyan^{1, 2}, ZHANG Yingchi^{2, 3}, LI Hong⁴, YAN Fengying^{1, 2}

1. State Key Laboratory of Drugability Evaluation and Systematic Translational Medicine, Tianjin 300301, China

2. Tianjin Cell Technology Innovation Center, Tianjin Joint Innovation Biotechnology Co., Ltd., Tianjin 300301, China

3. State Key Laboratory of Experimental Hematology, Institute of Hematology and Blood Diseases Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Tianjin 300020, China

4. Obstetrics Department, Tianjin First Center Hospital, Tianjin 300192, China

Abstract: Objective To investigate the biological heterogeneity of adipose tissue (AD), placental chorionic membrane (HC), placental amniotic membrane (HA) and umbilical cord (UC) derived mesenchymal stem cells (MSCs) based on transcriptome data. **Methods** MSCs were isolated from human AD, HC, HA and UC, and the expressions of positive markers (CD73, CD90, CD105) and negative markers (CD14, CD34, CD45, CD79a, HLA-DR) on the cell surface were detected by flow cytometry. Improved alizarin red staining, oil red O staining and alisin blue staining were used to detect the three-line differentiation ability of the cells. Total RNA was extracted by Trizol method for transcriptome sequencing, and differential gene expression was analyzed by GFOLD (1.1.4). The gene ontology (GO) functional enrichment analysis of differentially expressed genes was performed using the DAVID database. **Results** In P2 generation of MSCs from different sources, CD73, CD90 and CD105 were all positively expressed, while

收稿日期: 2024-01-15

基金项目: 国家重点研发计划干细胞及相关治疗产品质量控制和非临床评价关键技术与规范研究项目(2021YFA1101603); 天津市科技计划项目细胞产品开发和临床应用的研究(22ZYJDSY00150); 天津市科技计划项目细胞制品的成药性及转化研究(23ZGXC-QY00050)

第一作者: 王丽波(1991—), 硕士研究生。E-mail: wanglibo@tipr.com.cn

***通信作者:** 慈小燕(1987—), 副研究员, 主要从事干细胞研发。E-mail: cixy@tipr.com.cn

闫凤英(1963—), 高级工程师。E-mail: yanfy@tipr.com.cn

CD14, CD34, CD45, CD79a and HLA-DR were all negatively expressed. The cultured MSCs all had the ability of three-line differentiation. Correlation analysis revealed that MSCs derived from neonatal sources (HA, HC, and UC) were more closely related to each other than those derived from adult sources (AD). In functional enrichment analysis, compared to MSCs from AD, those derived from HA and UC showed superior proliferative abilities. AD-derived MSCs demonstrated better differentiation potential and angiogenesis ability. In contrast, UC-derived MSCs supported neuronal development and secreted chemokines and anti-inflammatory factors that regulate the immune environment. **Conclusion** MSCs derived from different sources possess distinct biological characteristics, suggesting that the optimal choice for clinical applications may vary depending on the source of MSCs.

Key words: mesenchymal stem cells; human chorionic villus; human amniotic membrane; umbilical cord; adipose tissue; transcriptome

间充质干细胞(MSCs)是成体干细胞,来源于多种组织,如成人的脂肪组织、外周血、骨髓和新生儿的胎盘、脐带和沃顿胶等^[1]。它们具有自我更新和多谱系分化能力(如骨细胞、脂肪细胞和软骨细胞分化)^[2-3]。此外, MSCs可以分泌调节炎症环境的因子,支持神经元的发育和维持,促进血管生成和伤口愈合^[4-6]。由于这些生物学特点,近年来离体扩增的MSCs在细胞治疗和再生医学应用中显示出了广阔的前景。然而,由于MSCs表型和功能的批次间差异较大,阻碍了基础研究和临床应用的效率和可重复性^[7]。MSCs在多个层面具有异质性,包括供体、组织来源、培养条件和扩增代数等,故系统地了解这些特性对MSCs治疗功效的影响非常重要。国际细胞治疗学会(ISCT)在2006年发布标准,各种组织来源的MSCs被定义为:在标准细胞培养条件下具有黏附性、多能性,细胞表面CD73、CD90和CD105均为阳性,CD11b或CD14、CD19或CD79α、CD34、CD45和HLA-DR均为阴性^[8]。然而该标准只定义了MSCs的有限特性,低估了细胞的复杂性和异质性。因此对来自不同组织的MSCs进行全基因组转录组数据分析,旨在准确地了解这些细胞的生物学特性,可为MSCs在细胞治疗和再生医学领域的精准应用提供指导。近年来,高通量测序技术的发展,为异质性研究提供了强大的技术手段,极大地提高了对整个转录组分析的效率和准确度,可对大量基因进行完整的定量和注释^[9]。

本研究分析和比较脂肪组织(AD)、胎盘绒毛膜(HC)、胎盘羊膜(HA)和脐带(UC)中分离的MSCs的整个转录组,提供不同来源MSCs细胞群里的详细转录组图谱,并进行比较和特征分析,在一定程度上解释了它们之间生物学特性的差异。

1 材料

1.1 主要试剂

DMEM/F12 Basic 培养基、D-MEM/F-12 粉、

TrypLE™酶、胎牛血清(FBS)、磷酸盐缓冲液(PBS, Gibco 公司);培养瓶、离心管、冻存管、移液管(Corning 公司);人MSCs表面标记检测试剂盒(BD 公司);MSCs诱导成脂、成骨、成软骨试剂盒(BI 公司);NEB Next Ultra RNA Library Prep Kit for Illumina(NEB 公司);AC2-4S8-CN生物安全柜、CCL-170B-8二氧化碳培养箱(ESCO 公司)。

1.2 主要仪器

CKX53SF倒置相差显微镜(OLYMPUS 公司);全自动细胞计数仪(Countstar 公司);流式细胞仪(BD 公司);台式低速冷冻离心机(Thermo 公司);xCELLlight RTCA eSight 实时细胞分析系统(Agilent 公司);超低温冰箱(Thermo 公司)。

1.3 材料

脂肪、脐带、胎盘组织等由天津第一中心医院提供,均签订知情同意书,获得天津第一中心医院医学伦理委员会批准,伦理会批件编号2020N222KY。

2 方法

2.1 MSCs的分离

根据解剖位置,将羊膜、绒毛膜、脐带与胎盘物理分离。羊膜MSCs(HA-MSCs):将羊膜切成小块,在37℃下用0.25%胰酶-EDTA处理,然后在37℃下用0.2%胶原酶IV处理;绒毛膜MSCs(HC-MSCs):使用0.2%胶原酶I进行处理;脐带MSCs(UC-MSCs):将脐带组织切成1 mm×1 mm×1 mm大小的组织块,贴于用DMEM/F-12培养液完全培养基湿润的T75培养瓶底壁培养。将培养瓶在37℃、5% CO₂的培养箱中培养,每周更换1次培养基,直到细胞达到70%的密度^[10]。

脂肪MSCs(AD-MSCs):脂肪组织用0.2%胶原酶IV在37℃下处理,适当时间后向消化后的组织中加入培养基,在培养瓶培养,每周更换培养液2次,直到细胞达到80%~90%的密度^[11]。

2.2 MSCs的鉴定

(1)细胞鉴定:以 TrypLE™酶消化收集 P2 代的人 UC-MSCs、HA-MSCs、HC-MSCs 和 AD-MSCs, PBS 洗涤 2 次,分装成每管 5×10^5 个细胞,分别加入抗体 PE-Cy7-anti-human CD34、PreCP-Cy5.5-anti-human CD45、PE anti-human CD79a、BB515 Anti-human HLA-DR、APC anti-human CD14、PE anti-human CD105、PreCP-Cy5.5-anti-human CD73、PE-Cy7 anti-human CD90 10 μ L, 4 $^{\circ}$ C 避光孵育 30 min, PBS 洗涤后用 10 g·L⁻¹ 多聚甲醛固定,流式细胞仪检测分析。

(2)分化鉴定:以 TrypLE™酶消化收集 P2 代不同组织 MSCs,用培养基调整细胞至 1.0×10^5 个·mL⁻¹, 铺板至 6 孔板,铺板至孔板,隔天更换诱导培养基,隔天换液,培养箱中连续培养 21 d 后分别进行改良版茜素红染色、油红 O 染色、阿利辛蓝染色后拍照。

2.3 转录组测序文库构建、质控和测序

总 RNA 作为 RNA 样品制备的输入材料。将不同组别的 MSCs 接种至培养瓶,细胞融合率达 80%~90% 时,加入 Trizol 收获总 RNA,用于转录组测序。转录组测序委托北京诺禾致源科技股份有限公司 (<http://www.novogene.com>) 开展。使用 NEB Next Ultra RNA Library Prep Kit for Illumina 试剂盒,按照说明书步骤和要求,生成测序文库,并添加索引以将序列归属到每个样品。该步骤的主要目的是使用 Oligo 磁珠从总 RNA 中纯化

mRNA。合格的文库根据所需的有效文库浓度和数据量,利用 Illumina 平台进行 PE150 策略测序。

2.4 RNA-seq 生物信息学数据分析

对于 RNA-seq 数据的分析,首先使用软件 fastp(0.23.1)^[12]对原始 reads 进行质控,移除接头序列和低质量 reads。经过修剪的 reads 使用软件 STAR(2.7.8a)^[13]比对到人类参考基因组(hg38)并且使用 GENCODE V35^[14]进行注释和定量。对于没有生物学重复的分组使用 GFOLD(1.1.4)^[15]来进行差异基因表达分析。将满足差异倍数(Fold change)绝对值大于 2 的基因定义为差异表达的基因。通过使用 DAVID 数据库^[16]对差异表达的基因进行基因本体(GO)功能富集分析。使用 R 包 gsva 用于 GSVA 基因集富集分析,基因集来自 MSigDb 数据库的 hallmark 基因集,认为矫正后的 $P < 0.05$ 具有生物学意义。

3 结果

3.1 4 种组织来源的 MSCs 鉴定

分离获得的 4 种组织来源的 MSCs 均贴壁生长,形态均一,呈纺锤状。

细胞表面标记物的表达:P2 代的不同来源的 MSCs, CD73、CD90、CD105 均为阳性表达, CD14、CD34、CD45、CD79a、HLA-DR 均为阴性表达,结果见表 1,判定培养的细胞均为 MSCs。

表 1 4 种组织来源的 MSCs 的流式鉴定结果
Table 1 Flow identification of four tissue-derived MSCs

细胞名称	阳性标志物/%			阴性标志物/%				
	CD73	CD90	CD105	CD14	CD34	CD45	CD79a	HLA-DR
AD-MSCs	99.9	98.3	98.8	0.200	0.100	0.100	0.200	0.400
HC-MSCs	99.9	95.9	99.7	0.100	0.100	0.100	0.200	0.500
HA-MSCs	100.0	95.1	99.9	0.100	0.200	0.100	0.300	0.300
UC-MSCs	100.0	98.8	99.2	0.100	0.100	0.100	0.100	0.200

细胞分化能力鉴定:如图 1 所示,P2 代的不同来源的 MSCs,诱导培养 21 d 后,改良版茜素红染色后在原细胞密集区可见紫红色橘红色钙沉积物;油红 O 染色后在细胞质中充满红色脂滴;阿利辛蓝染色后在原细胞密集区可见蓝色光滑软骨球。结果判定培养的 MSCs 均具有三系分化能力。

3.2 4 种组织来源的 MSCs 的总体转录差异

根据 ISCT 标准,为了评估 MSCs 质量控制的准确性,在转录组数据中验证了细胞的阳性 MSCs 标

志物(CD105、CD73、CD90 和 CD44)的表达呈阳性,并且几乎没有检测到阴性标志物(CD14、CD45、CD34、CD19 和 HLA-DR)的表达(图 2-A)。这表明了样本处理程序的准确性和测序数据的高质量。

为了确定这 4 个组织来源的 MSCs 是否不同,对转录组表达数据进行了相关性分析,结果表明 HA-MSCs 和 HC-MSCs 相关性最强,与成人组织来源的 AD-MSCs 差异最大,而 UC-MSCs 是新生儿胎盘组织和成人脂肪组织的过渡(图 2-B、C)。

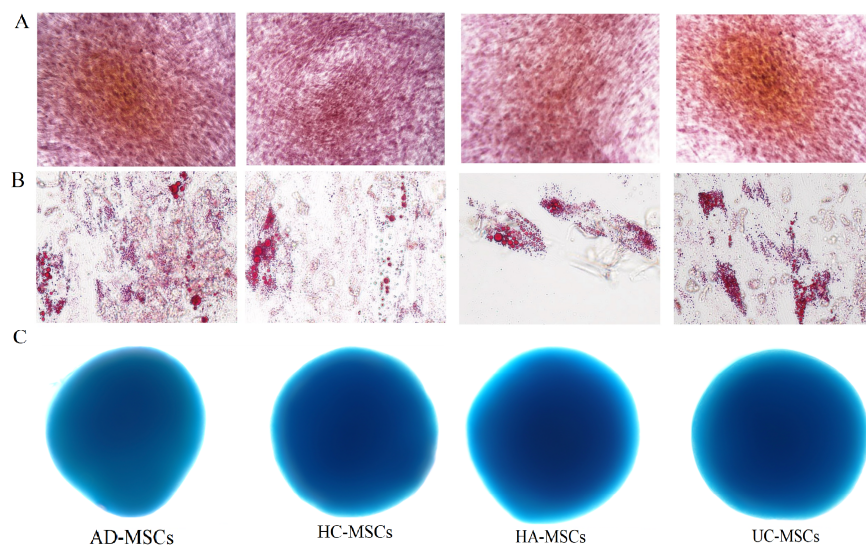
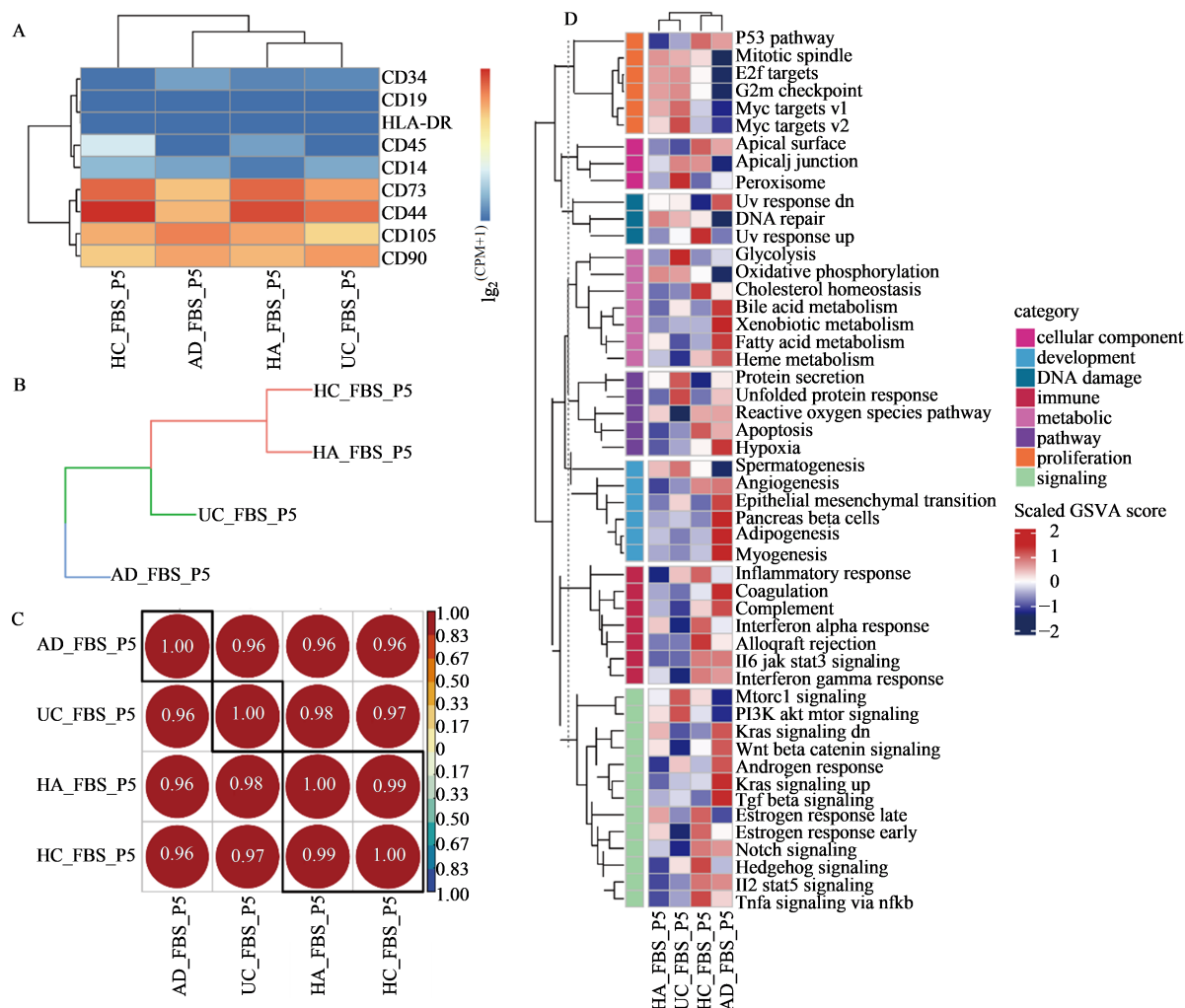


图 1 茜素红(A,×200)、油红 O(B,×200)、阿利辛蓝(C,×100)染色结果

Fig. 1 Alizarin red (A, ×200), Oil red O (B, ×200), and Alcian blue (C, ×100) staining results



热图(A)显示 MSCs 阳性标志物和阴性标志物在不同组织来源的 MSCs 中的表达; 层次聚类树状图(B)和相关性热图(C)展示不同组织来源的 MSCs 之间的相关性; 热图(D)展示不同组织来源的 MSCs 通过 GSEA 计算的基因集富集得分。

Heatmap (A) displayed expression of positive and negative markers for MSCs in different tissue sources; Hierarchical clustering dendrogram (B) and correlation heatmap (C) showed correlation between MSCs from different tissue sources; Heat map (D) showed GSEA calculated gene sets scores for MSCs from different tissue sources.

图 2 不同组织来源的 MSCs 的全局转录表达谱

Fig. 2 Global transcript expression profiles of different tissue-derived MSCs

为了进一步表明不同来源的MSC的功能特征,进行了GSVA分析来定义每个样本的富集分数。热图上显示了每个样本表达最高的基因集,结果表明:来自UC和HA的MSCs高表达基因参与细胞增殖,来自HC和AD的MSCs高表达基因参与免疫反应和信号通路,并且有更优越的血管生成潜力,来自AD的MSCs有更优越的成脂潜力(图2-D)。

3.3 差异表达基因和功能富集分析

为了进一步探究不同组织来源的MSCs的生物异质性,对4种不同来源的MSCs两两比较来确认它们之间的差异表达基因个数。以fold change绝对值大于2为阈值,AD-MSCs与新生儿来源的MSCs差异表达基因显著下调的数目最多,胎盘来源的HA-MSCs和HC-MSCs之间差异表达基因个数最少(图3)。

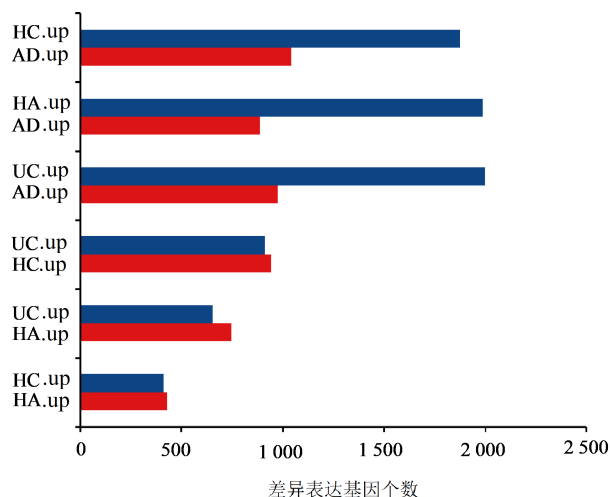


图3 不同组织来源的MSCs的差异表达基因个数

Fig. 3 Number of differentially expressed genes in MSCs from different tissue sources

为了更好地了解UC-MSCs、HCs-MSC、HA-MSCs与AD-MSCs的差异表达基因的特异性和共有特征,将差异表达基因分为AD-MSCs上调组和下调组,然后使用2个韦恩图显示3对比较组之间差异表达基因上调和下调的分布(图4-A、B)。通过GO富集分析,发现485个差异表达基因在3对比较组AD-MSCs中表达均上调,并且主要富集于细胞黏附、细胞外基质矩阵组织、血管生成、成骨分化、成软骨分化等生物过程(图4-C)。而811个差异表达基因在3对比较AD-MSCs中表达均下调,并且主要富集于细胞分裂、细胞周期、DNA修复以及DNA复制等生物过程(图4-D)。

进一步探讨了UC-MSC与胎盘来源的MSCs之间的差异表达基因的重叠,确定重叠的差异基因个

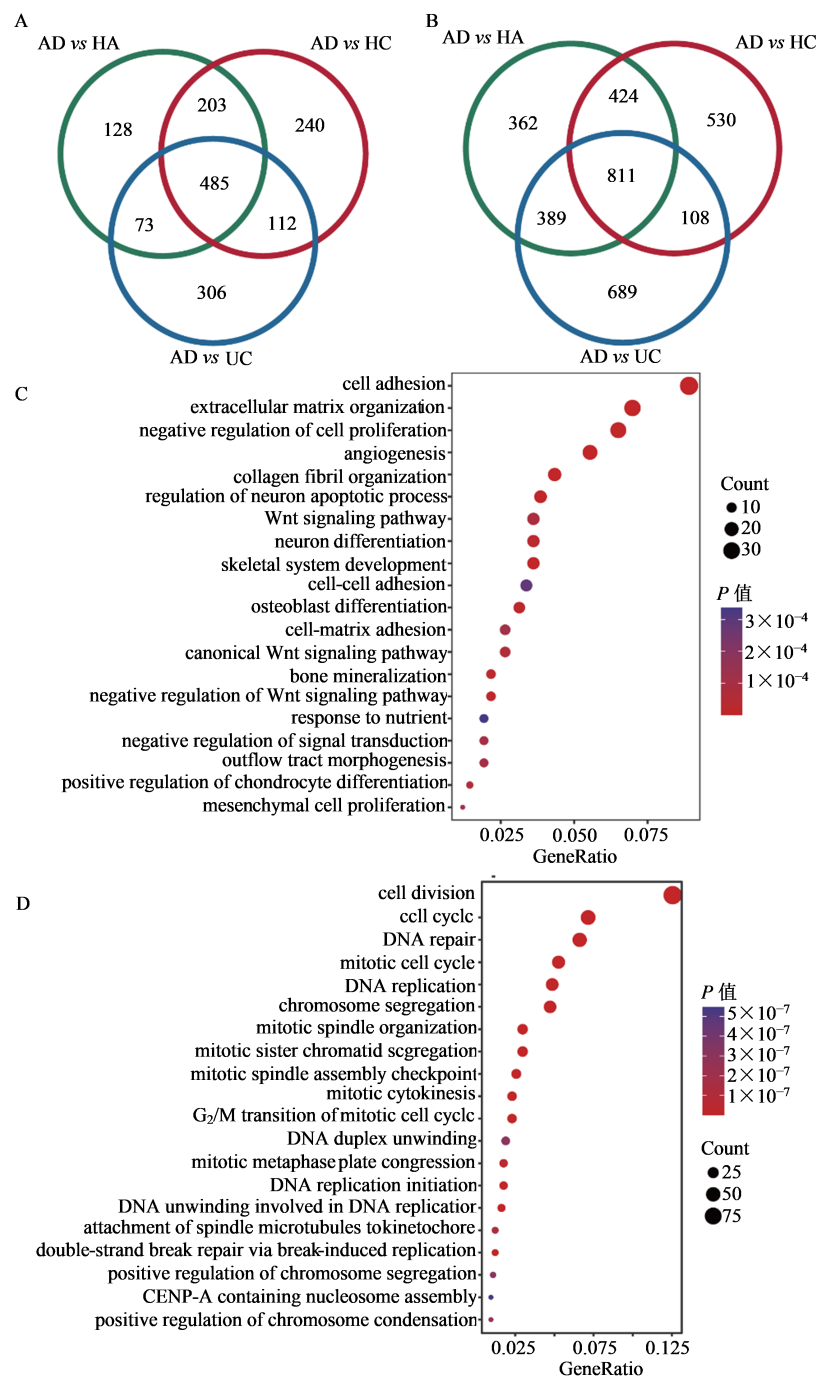
数为952个,其中467个基因在UC-MSCs中表达上调,485个基因在UC-MSC中表达下调(图5-A、B)。GO分析表明UC-MSC上调的差异表达基因特异地富集在细胞黏附、神经元的发育、细胞迁移等生物过程,UC-MSC下调的差异表达基因特异的富集在器官的形成和发育等生物过程。有趣的是,这些上调和下调的差异表达基因也富集在一些共同的生物过程中,如炎症反应、信号传导、细胞迁移等(图5-C),但是它们富集到这些生物过程中发挥作用的机制是不同的:UC-MSC上调的富集到炎症反应生物过程的高表达基因是*CXCL6*、*CXCL8*、*CXCL1*、*CCL2*等趋化因子以及*TNFAIP6*、*TNFAIP3*等抗炎因子;而UC-MSCs下调的富集到炎症反应生物过程中是*ECM1*、*ADAM8*、*HDAC5*、*THBS1*等参与细胞-细胞或细胞-基质相互作用以及信号传导的基因高表达。

最后对胎盘来源的HC-MSCs和HA-MSCs之间的差异表达基因进行了GO功能分析,结果表明,相对于主要富集于胚胎在子宫内发育等功能的HA-MSC,HC-MSC高表达的基因还富集在细胞外基质、细胞黏附、T细胞分化以及血管生成等生物过程(图5-D)。虽然HA-MSC上调也富集在了血管生成的生物过程,但是这主要是指在胚胎发育早期,由于胚胎内部组织需要氧气和营养物质,导致血管系统的形成。

4 讨论

MSCs及其潜在的临床应用引起了人们的广泛关注,从多种组织中分离出的MSCs已被用于治疗多种疾病的临床试验。目前尚不清楚这些MSCs是否具有相同的生物学特性,或者它们是否在影响其临床应用的方面存在差异。

本研究分析比较了从AD、UC、HC和HA获得的MSCs的RNA-seq数据。最初评估了来自不同组织来源的MSCs之间的相关性;同样来源于胎盘组织的HA和HC基因表达相关性最高,而成人组织来源的AD-MSCs与它们的相关性最低。接下来筛选了不同组织来源的MSCs两两分组的显著差异表达基因,并利用GO富集评估其功能。与AD-MSCs相比,新生儿来源的MSCs表现出优异的增殖能力。而AD-MSCs有更好的分化潜能和血管生成能力,血管生成通常发生在创伤愈合等过程中,涉及到炎症反应、血管生成因子和细胞黏附等机制。研究表明,AD-MSCs主要通过增加微血管密度从而增强血管生成来促进伤口愈合。尽管HA-MSC和HC-



韦恩图展示了AD-MSC与HA-MSC、HC-MSC和UC-MSC之间的3个比较组中上调(A)和下调(B)的每个子集中差异表达基因的数量分布；气泡图展示了不同分组差异表达基因上调(C)和下调(D)交集的GO功能富集分析结果。

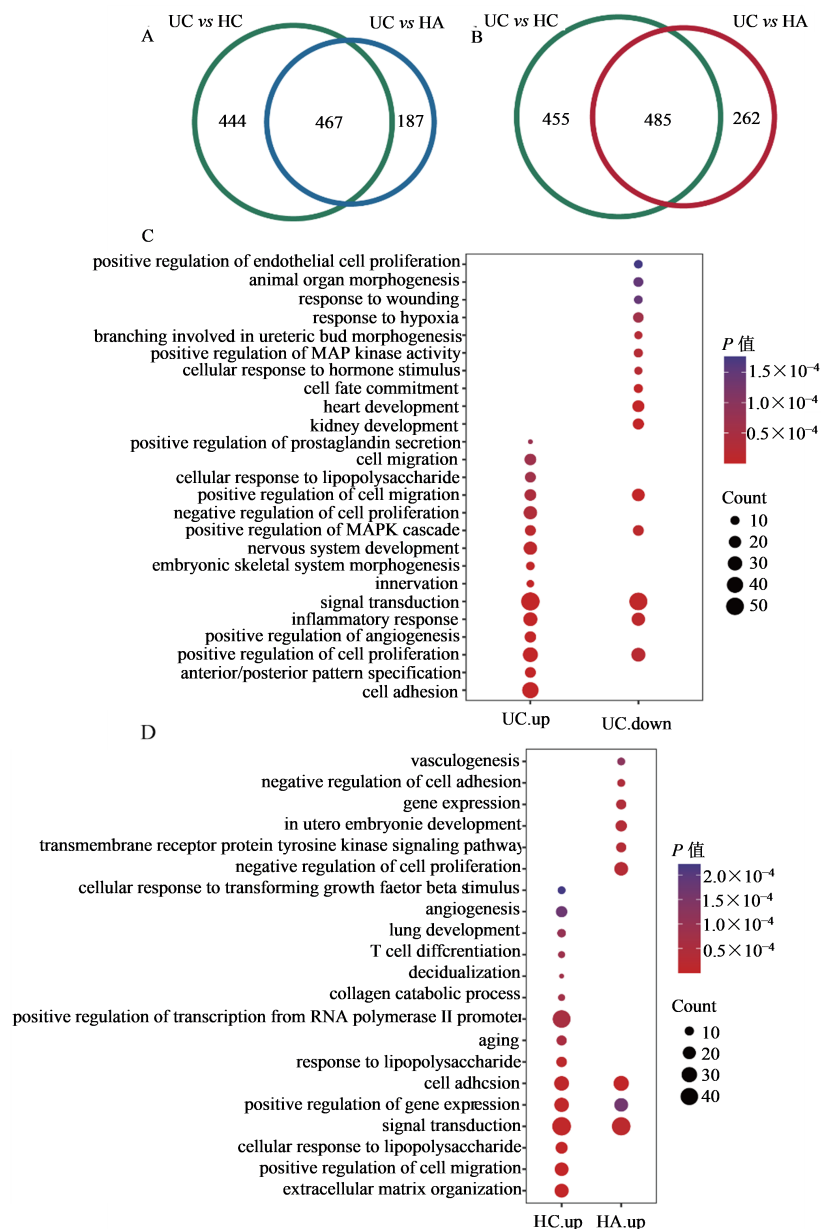
Venn diagrams illustrate the distribution of upregulated (A) and downregulated (B) differentially expressed genes (DEGs) in each subset among the three comparison groups: AD-MSC vs HA-MSC, HC-MSC, and UC-MSC; The bubble plot presents the results of Gene Ontology (GO) functional enrichment analysis for intersection of upregulated (C) and downregulated (D) DEGs in different comparison groups.

图4 UC-MSCs、HCs-MSC、HA-MSCs与AD-MSCs差异表达基因的韦恩图和气泡图

Fig. 4 Venn diagram and bubble diagram of differentially expressed genes of UC-MSCs, HCs-MSC, HA-MSCs and AD-MSCs

MSC之间的表达相关性最高,但是在功能上却存在差异,这可能是由于HA是胎盘的 inner 薄膜,紧贴着胎儿。它由一层细胞组成,主要起保护和隔离的作用。而HC与子宫壁相连。它由绒毛和绒毛间质组

成,起到营养供应和气体交换的作用。人HC通过绒毛与母体的血液进行物质的交换,使胎儿得到所需的养分和氧气。所以HA-MSCs主要功能是器官形成和胚胎发育,而HC-MSCs有了更接近于成人



韦恩图展示了 UC-MSC 与 HA-MSC、HC-MSC 之间的两个比较组中上调(A)和下调(B)的每个子集中差异表达基因的数量分布;气泡图展示了不同分组差异表达基因上调和下调交集(C)以及 HA-MSCs 和 HC-MSCs 分组的差异表达基因(D)的 GO 功能富集分析结果。

Venn diagrams depicts distribution of upregulated (A) and downregulated (B) differentially expressed genes in each subset among two comparison groups: UC-MSC vs HA-MSC and HC-MSC; bubble plot displays results of GO functional enrichment analysis for intersection of upregulated and downregulated differentially expressed genes (C) as well as DEGs between HA-MSCs and HC-MSCs (D) in different comparison groups.

图5 UC-MSC 与 HA-MSC、HC-MSC 差异表达基因韦恩图和气泡图、HA-MSCs 和 HC-MSCs 差异表达基因气泡图

Fig. 5 UC-MSC and HA-MSC, HC-MSC differentially expressed gene Venn diagram and bubble diagram, HA-MSCs and HC-MSCs differentially expressed gene bubble diagram

MSC 的功能。最后 UC-MSCs 富集到神经元发育、细胞迁移和免疫调节等生物过程,具有抑制炎症反应和抑制免疫细胞的活化的功能。

截至 2023 年底,经国家药品监督管理局药品审评中心(CDE)批准获得临床默示许可的 MSCs 临床试验共 56 项,其中脐带来源的 MSCs 获批 43 项,脂肪来源的 MSCs 获批 5 项,是获批最多的 2 种组织。

经本研究证实,不同组织来源的 MSCs 具有不同的生物学特征,脂肪来源的 MSCs 在分化潜能和血管生成能力方面较强,而脐带来源的 MSCs 则在抑制炎症反应和抑制免疫细胞的活化方面突出。以上研究提示研发机构在进行 MSCs 适应症选择时,要根据自身产品的来源和特性选择最佳适应症,提高细胞临床治疗的成功率。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] [1] Hass R, Kasper C, Böhm S, et al. Different populations and sources of human mesenchymal stem cells (MSC): A comparison of adult and neonatal tissue-derived MSC [J]. Cell Commun Signal, 2011, 9: 12.
- [2] Banfi A, Muraglia A, Dozin B, et al. Proliferation kinetics and differentiation potential of *ex vivo* expanded human bone marrow stromal cells: Implications for their use in cell therapy [J]. Exp Hematol, 2000, 28(6): 707-715.
- [3] Russell K C, Phinney D G, Lacey M R, et al. *In vitro* high-capacity assay to quantify the clonal heterogeneity in trilineage potential of mesenchymal stem cells reveals a complex hierarchy of lineage commitment [J]. Stem Cells, 2010, 28(4): 788-798.
- [4] Shi Y F, 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.
- [5] Lee R H, Pulin A A, Seo M J, et al. Intravenous hMSCs improve myocardial infarction in mice because cells embolized in lung are activated to secrete the anti-inflammatory protein TSG-6 [J]. Cell Stem Cell, 2009, 5 (1): 54-63.
- [6] Prockop D J, Oh J Y. Mesenchymal stem/stromal cells (MSCs): Role as guardians of inflammation [J]. Mol Ther, 2012, 20(1): 14-20.
- [7] Yin J Q, Zhu J, Ankrum J A. Manufacturing of primed mesenchymal stromal cells for therapy [J]. Nat Biomed Eng, 2019, 3(2): 90-104.
- [8] Dominici M, le Blanc K, Mueller I, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement [J]. Cytotherapy, 2006, 8(4): 315-317.
- [9] Wang Z, Gerstein M, Snyder M. RNA-Seq: A revolutionary tool for transcriptomics [J]. Nat Rev Genet, 2009, 10(1): 57-63.
- [10] Kwon A, Kim Y, Kim M, et al. Tissue-specific differentiation potency of mesenchymal stromal cells from perinatal tissues [J]. Sci Rep, 2016, 6: 23544.
- [11] Choudhery M S, Badowski M, Muise A, et al. Comparison of human mesenchymal stem cells derived from adipose and cord tissue [J]. Cytotherapy, 2013, 15 (3): 330-343.
- [12] Chen S F, Zhou Y Q, Chen Y R, et al. Fastp: An ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor [J]. Bioinformatics, 2018, 34(17): i884-i890.
- [13] Dobin A, Davis C A, Schlesinger F, et al. STAR: Ultrafast universal RNA-seq aligner [J]. Bioinformatics, 2013, 29 (1): 15-21.
- [14] Frankish A, Diekhans M, Ferreira A M, et al. GENCODE reference annotation for the human and mouse genomes [J]. Nucleic Acids Res, 2019, 47(D1): D766-D773.
- [15] Feng J X, Meyer C A, Wang Q, et al. GFOLD: A generalized fold change for ranking differentially expressed genes from RNA-seq data [J]. Bioinformatics, 2012, 28(21): 2782-2788.
- [16] Dennis G Jr, Sherman B T, Hosack D A, et al. DAVID: Database for annotation, visualization, and integrated discovery [J]. Genome Biol, 2003, 4(5): P3.

【责任编辑 兰新新】