

1

2

3 人源性干细胞产品药学研究与评价技术指导原则

4

(征求意见稿)

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

国家药品监督管理局药品审评中心

15

生物制品药学部

16

17

2021年8月

# 目 录

1		
2	一、前言 .....	3
3	二、适用范围 .....	3
4	三、一般原则 .....	3
5	四、风险评估与控制 .....	4
6	五、生产用材料 .....	5
7	(一) 原材料 .....	5
8	1. 起始原材料 .....	5
9	1.1 生产用细胞 .....	5
10	1.2 辅助细胞 .....	8
11	1.3 体外基因递送与修饰系统 .....	9
12	2. 其它原材料 .....	9
13	(二) 辅料 .....	10
14	六、生产工艺 .....	11
15	(一) 工艺开发 .....	11
16	1. 细胞培养工艺 .....	11
17	2. 制剂工艺 .....	12
18	3. 工艺过程控制 .....	12
19	4. 工艺变更 .....	13
20	(二) 工艺验证 .....	13
21	七、质量研究与质量控制 .....	14
22	(一) 质量研究 .....	14
23	1. 细胞特性分析 .....	14
24	2. 理化特性分析 .....	15
25	3. 细胞纯度分析 .....	15
26	4. 生物学活性分析 .....	17
27	(二) 质量标准 .....	18
28	八、稳定性研究 .....	20
29	九、包装及密闭容器系统 .....	20

1	十、名词解释.....	21
2	十一、参考文献.....	21

### 3 一、前言

4 2017 年，原国家食品药品监督管理总局发布《细胞治疗产品研究与评价  
5 技术指导原则(试行)》，对细胞治疗产品按照药品管理相关法律法规进行研发  
6 时的技术要求进行了总体阐述。为进一步规范和指导干细胞产品的药学研发和  
7 申报，促进干细胞产业发展，特制定本技术指导原则。

8 本指导原则的目的是基于现有认识，对按药品进行开发的干细胞产品从研  
9 发到上市阶段药学研究技术问题提供建议，药物研发者亦可根据干细胞产品研  
10 发的实际情况，采用其他更有效的方法和手段进行干细胞产品开发，但是必须  
11 符合药物研发的规律，并提供科学合理的依据。

12 按照药品进行研发和注册申报的干细胞产品需接受国家药品监督管理局  
13 (NMPA) 的监管，符合《中华人民共和国药品管理法》、《药品注册管理办法》、  
14 《中华人民共和国药典》等相关法律法规的要求。供人体使用的干细胞产品的生  
15 产全过程应当符合《药品生产质量管理规范》(GMP) 的基本原则和相关要求。

### 16 二、适用范围

17 本指导原则中“干细胞产品”包括由人源性的成体干细胞(adult or somatic  
18 stem cells, ASCs/SSCs)、人胚干细胞(human embryonic stem cell, hESCs)  
19 和诱导性多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs) 扩增、诱导  
20 分化，或成熟体细胞转(分)化获得的干细胞及其衍生细胞，与辅料相混合，分  
21 装至特定容器，符合特定药品放行标准，可直接应用患者,也可与组织工程材料  
22 一起用于患者的治疗产品。

### 23 三、一般原则

24 干细胞产品具备来源和组成复杂、细胞类型多样、细胞本身具备体内生存、  
25 自主增殖或/和分化的能力、产品生产规模和生产工艺差异大、产品作用机制复

1 杂等特点，因此，对干细胞产品的生产工艺设计与验证、质量研究和控制等应充  
2 分考虑以上基本特征，如应有明确合理的供者细胞来源和筛选标准，选择可有效  
3 保持细胞活力和活性的包装系统及储存运输条件。

4 干细胞产品应遵循循序深入、逐步递进的药物开发规律，在申报临床阶段原  
5 则上应满足开展临床试验安全性的要求，临床试验期间继续完善生产工艺和产品  
6 质量等相关研究，在上市申请时应提供支持产品安全、有效、质量可控的完整的  
7 研究数据。

8 干细胞产品的研发生产流程包括从供体材料的获取、运输、接收、产品生产  
9 和检验到成品放行、储存和运输的全过程，符合细胞治疗产品的一般规律，在适  
10 用本指导原则的同时，还适用其它有关的生物制品一般指导原则<sup>(17)</sup>。

#### 11 四、风险评估与控制

12 除了一般生物制品的常见风险外，干细胞产品的风险还包括污染和交叉污染  
13 的风险（供者、原材料、操作过程）、高风险起始原材料（ESCs/iPSCs、基因递  
14 送与修饰系统）残留的风险、加工过程中非目的细胞、非预期变化等杂质的风险、  
15 生产工艺变更的风险和干细胞产品的其他质量风险因素。影响干细胞产品质量的  
16 风险因素具体包括但不限于：（1）供体年龄、健康情况等<sup>(8)</sup>；（2）细胞的来源  
17 （自体、同种异体、iPSC 来源等）、生物学特性（增殖、分化、迁移能力、与目  
18 标治疗组织的谱系接近程度）以及基因突变等；（3）细胞的生产过程操作（体  
19 外培养/扩增/诱导/分化/遗传操作/冷冻保存/复苏等）及操作复杂程度对细胞特  
20 性的影响，如基因修饰对细胞基因组的影响；（4）细胞体外暴露于特定培养物  
21 质时间、细胞培养时间、细胞存活情况和细胞代次等；（5）诱导材料及剂量、  
22 诱导时间、添加处理顺序等；（6）给药方式（皮肤外用、静脉输注或经手术应  
23 用），是否需要受者进行预处理，是否和非细胞产品（生物活性分子或结构材  
24 料）形成组合等。

25 研发者应在综合考虑各种因素的基础上，针对不同类型产品特性和全生命周  
26 期过程评估产品的总体风险，并制定相应的风险控制策略。干细胞产品风险控制  
27 策略可能至少应该考虑以下方面：

1 (1) 建立清场和隔离操作规范，关注对动物或人源性原材料的严格质控、  
2 对细胞库和收获液的分析检验、对生产关键节点无菌、支原体、内外源病毒的检  
3 测与控制等。

4 (2) 做好上下游材料批号和标识管理，建立完善的可追溯系统，同时关注  
5 生产过程中的细胞鉴别检测，确保干细胞产品质量属性合格。

6 (3) 尽量采用连续、密闭式生产工艺，减少生产过程中的环境暴露环节，  
7 避免污染风险。

8 (4) 设立过程控制指标和废弃指标，对中间体进行检定或质量监测，如对  
9 基因修饰的细胞或细胞因子诱导分化的细胞进行外源基因的转导效率或细胞分  
10 化情况、细胞表型和基因型的检定等。

11 (5) 进行全面的生产工艺开发与验证，开展系统的变更可比性研究，结合  
12 产品特性和工艺开发持续进行质量特性研究，充分表征细胞形态、活力、遗传稳  
13 定性、成瘤性/致瘤性、细胞表型特征(包括预期和非预期细胞群)和功能等，尤  
14 其关注影响产品质量的杂质水平及安全性影响。

## 15 五、生产用材料

16 生产用材料包括干细胞产品生产过程中使用的所有原材料和辅料。原材料包  
17 括起始原材料(生产用细胞、辅助细胞、体外基因递送与修饰系统)和其它原材  
18 料(如培养基和细胞因子等生化试剂、细胞分离和组合装置等耗材)。辅料的使用  
19 应符合药典要求和关联审评审批的有关要求。生产用材料直接关系到产品质量，  
20 需参考《中国药典》的相关要求<sup>(9,10)</sup>进行风险评估和质量控制。

### 21 (一) 原材料

#### 22 1. 起始原材料

##### 23 1.1 生产用细胞

24 按照药品开发的干细胞产品，一般来源于供者(自体或异体)，也可能来源  
25 于细胞库。干细胞的来源和相关操作应符合国家相关法律法规和伦理<sup>(11~13)</sup>的要

1 求，其使用应取得所有人知情同意和授权。生产干细胞产品应建立稳定的生产用  
2 细胞来源，并确保质量的一致性。需根据产品特点建立合理的供者筛查程序和标  
3 准，综合评估生产细胞应用的安全性与合理性。

#### 4 1.1.1 供者筛查

5 供者筛查是干细胞产品控制风险的重要手段。合理的供者筛查程序和标准对  
6 防范病毒污染、组织排异、遗传疾病等风险十分必要。对于细胞库来源的干细胞  
7 产品，生产用细胞供者应为体细胞/配子的供体。供者的病原微生物筛查方面，  
8 尤其对用于同种异体干细胞临床研究的供者，可参考采供血的相关要求<sup>(14)</sup>，如  
9 筛查供者是否存在 HBV、HCV、HIV、梅毒螺旋体等感染。实际开发应用中，还应  
10 根据供体健康/疾病史或区域流行病区生活逗留、组织细胞特异性的易感病原体  
11 等具体情况适时增加相应的筛查项目，并列入验收标准。对于自体来源的干细胞  
12 供者，可根据来源的组织或器官、干细胞制剂的特性以及临床适应证等对供体的  
13 质量要求和筛查项目和标准进行适当调整，应确定生产程序等是否会增加供体中  
14 可能存在的病原体传播风险，并说明采取的预防措施（为防止病毒或其他外源性  
15 因子传播给自体受者以外的其他人）。为了保证病原体筛查结果的可靠性，对供  
16 者进行筛查的机构应具备相关资质，供者筛查过程中尽量采用监管机构批准的血  
17 源筛查试剂盒检测病原体，检测方法应经过适用性确认，关注检测方法灵敏度对  
18 病原微生物的检出能力。通用型干细胞产品制备时必须考虑窗口期对病原微生物  
19 筛查的影响。组织排异方面风险，可参考输血供体的相关要求进行考虑，比如收  
20 集供者的 ABO 血型、HLA-I 类和 II 类分型资料等，需证明供体与受体(病人)的  
21 组织分型相匹配，同时需提供检测方法和依据<sup>(8)</sup>。对于使用干细胞产品的患者，  
22 应结合先进的分析检测技术充分评估引入遗传性疾病的风险。

#### 23 1.1.2 供者细胞

24 供者细胞获取、保存、运输和入厂检验等步骤应经过充分研究，明确标准操  
25 作规程和关键质量控制参数，制定完善规范的同源性追溯系统和干细胞供应质量  
26 保证体系，应完成必要的验证。

27 用于获取供者细胞的程序（例如手术，若可能应指明使用的器械）、收集场  
28 所的名称和位置、以及运输条件（如运输到加工场所进行进一步生产）等信息应

1 予明确。操作步骤应进行设计、研究与必要的验证，确保供者细胞获取的工艺稳  
2 定和质量一致。供者细胞分离工艺，可能对干细胞产品质量有影响，对变化分离  
3 工艺研究中建议采用具有代表性的供者来源的细胞，处理过程中关注进行细胞鉴  
4 别、成活率及生长活性、外源致病微生物和基本的干细胞特性检测（如适用）。  
5 对供者细胞储存和运输稳定性进行研究，对运输容器的性能进行验证和定期确认。  
6 采集到的细胞入厂时，根据工艺要求、产品特点，应进行细胞类型、数量、表型、  
7 活力、微生物等方面相应的检测，如细胞类型鉴别可通过相关的基因型和/或表  
8 型标志物进行鉴定和确认，标志物阳性的细胞比例可以作为预期细胞群指标评估  
9 的依据。应选择合理的成品质量相关的指标，可适当纳入收集细胞质量放行标准  
10 中。

### 11 1.1.3 细胞种子和细胞库

12 细胞种子的技术要求如药典通则所述，应来源清楚、合法合规、检定全面。  
13 人胚干细胞和诱导多能干细胞均应建立细胞系/株（cell line）后作为细胞种子  
14 使用，可参照ICH Q5D和《生物制品生产检定用动物细胞基质制备及检定规程》  
15 对适合的供者细胞和生产用细胞种子进行建系、建库和检定等，商业化生产规模  
16 的建库频率依据产品自身特性和批产量等确定。

17 每个细胞库（MCB和WCB）的历史、来源、派生、特征，以及进行检测的频  
18 率均应说明。MCB检测一般涉及产品的微生物学特征，包括无菌性、支原体、外  
19 源性病毒因子的体内和体外检测，包括对人体细胞进行CMV、HIV-1和2、HTLV-  
20 1和2、EBV、B19、HBV和HCV检测（若适用），或其他特定病原体。对于暴露  
21 于牛或猪来源的组分（例如血清、血清组分、胰蛋白酶）的细胞系，建议包括对  
22 牛和/或猪来源的外源性因子的检测。细胞鉴别包括通过细胞系的物理或化学特  
23 征（即表型、基因型或其他标志物）区分特定细胞的检测。细胞库的纯度应包括  
24 对任何污染细胞的鉴别和定量、生长活性（包括冻存后的复苏活性）、增殖能力  
25 等，还应检测与产品治疗性质相关的细胞活性（例如iPSC的多能性）和细胞分化  
26 情况。经基因编辑的干细胞产品，需重点关注基因物质的转导效率、基因进入细  
27 胞后的整合情况、调控元件、细胞的表型和基因型、目的基因的遗传稳定性、转  
28 导用基因物质的残留量，以及病毒复制能力回复突变等。还有其他的一些信息，

1 对判断产品安全性也有帮助，比如：使用的培养条件，包括在生产期间使用的所  
2 有培养基和试剂/组分的记录，以及相关检验报告单（COA）的副本；MCB的冷  
3 冻保存、储存和恢复，包括有关细胞密度、冷冻小瓶数量、储存温度和细胞库位  
4 置的信息；多次传代后MCB的遗传和表型稳定性，以及冷冻保存后细胞的活力。  
5 若有两级细胞库系统（MCB和WCB），建议对WCB进行以下检测：体外外源性  
6 病毒因子检测；细菌和真菌灭菌；支原体；和代表性的鉴别试验（例如Southern  
7 印迹、流式细胞仪）。对于正在临床试验中使用的干细胞样品，制备完成时，应  
8 从细胞分化角度应对样品进行表观和遗传的稳定性评估。

9 在细胞基质鉴定和检测中使用更先进方法和技术改进时，应开展新旧方法的  
10 全面对比验证和检测桥接研究，证明新方法的专属性、灵敏度和精密度至少与现  
11 有方法相当。

#### 12 1.1.4 传代稳定性

13 干细胞在传代过程中可能存在不稳定性，产生细胞异质性，因此无论是建库  
14 干细胞还是非建库干细胞，均需对传代稳定性进行充分规范的研究。传代稳定性  
15 研究时的传代条件应能代表实际临床/商业化生产工艺，重点关注内外源因子污  
16 染、细胞干性、多能性、成瘤/致瘤性等的变化，明确体外生产限传代次和临床  
17 使用代次。传代稳定性的研究项目常包括细胞 STR 鉴别、数量、形态、活率、群  
18 体倍增时间、纯度、端粒酶活性等生长特性稳定性，也包括染色体核型和全基因  
19 测序遗传稳定性，还包括碱性磷酸酶染色/鼠畸胎瘤试验、免疫荧光法或 PCR 法  
20 检测多能性基因表达等干性稳定性等。

#### 21 1.2 辅助细胞

22 在生产过程中若使用其它辅助细胞，也应符合来源清晰可追溯、安全性风险  
23 可控、建立细胞库分级管理的基本原则，这些辅助细胞可能残留于干细胞终产品，  
24 应作为杂质，对其风险进行研究控制。如对于体外培养建立人胚干细胞及诱导  
25 多能细胞的人源或动物源的饲养层细胞、诱导分化用内胚层样细胞等，应需明确  
26 其选择依据与合理性。根据外源性细胞在人体使用可能的相关风险因素，对细胞  
27 来源的供体、细胞分离、培养和建系过程应能清楚溯源，对引入外源致病微生物  
28 的风险等进行分析评估和检测控制，对可能涉及细胞失活处理的工艺，如辐照或



1 添加药物等，以及辅助细胞的添加量和残留量，应经过研究与验证，证明其不会  
2 对产品造成安全性和功能方面的影响。辅助细胞可进行建库管理，并按药典细胞  
3 库检验要求进行全面检验，特别是对人源或动物源特异病毒的检验。应结合辅助  
4 细胞的性能等考察不同代次的辅助细胞库细胞的稳定性。

### 5 1.3 体外基因递送与修饰系统

6 经基因修饰和重编程技术获得的干细胞产品，其上游生产均涉及体外基因递  
7 送与修饰系统的参与，基因递送与修饰系统的材料选择（含病毒包装细胞）、载  
8 体设计、工艺过程和质量控制等药学专业技术要求建议参照相关技术指南。

9 体外基因递送与修饰系统常采用整合型和非整合型的载体。整合型载体应用  
10 较为广泛，如慢病毒和逆转录病毒，但其随机整合现象可能导致插入突变，干扰  
11 内源基因的表达调控，这些病毒可能在终末分化的细胞中被异常再激活，成瘤风  
12 险可能更高。非基因整合型的重编程方法，如腺病毒、腺相关病毒和仙台病毒可  
13 介导转录因子基因在宿主中瞬时表达，通过影响细胞形态诱导细胞产生多潜能性，  
14 基因组整合风险较低，但仍需关注应用此类重编程技术生产干细胞产品的成瘤性、  
15 非预期免疫反应、介导转录因子的病毒残留相关毒性等。另外，相对终末分化的  
16 免疫细胞，干细胞成瘤风险可能更高，需充分评估体外基因递送与修饰系统在干  
17 细胞产品中的应用对干细胞终产品和临床安全性等的影响。

## 18 2. 其它原材料

19 干细胞产品的原材料可以参照《中国药典》相关要求<sup>(7)</sup>进行原材料选择和供  
20 应商审核。应充分考虑原材料使用的必要性、安全性和合理性，以及大规模产品  
21 生产时的供应连续性，部分原材料处在不断更新优化过程中，优先选择风险等级  
22 低，如采用药用级的原材料，明确原材料来源、组成、用途、用量和质量控制等  
23 情况，具备原材料来源证明、检验报告书、包装说明书、TSE/BSE分析声明等文  
24 件。若生产工艺中使用研究级试剂（如培养基、转录因子、化学小分子等），应  
25 明确试剂的来源、生产工艺和性能的信息，并建立质量鉴别程序，其中包括安全  
26 性检测（无菌性、内毒素、支原体和外源性因子）、功能分析、纯度检测和含量  
27 分析（例如残留溶剂检测），以证明试剂中无潜在有害物质，并且生产使用时应  
28 满足无菌、无支原体、低内毒素的相关要求。检测的范围将取决于特定试剂在生

1 产工艺中的使用方式，还需考虑到技术发展对新外源因子的认知。对于可能影响  
2 产品质量和安全性（如致细胞突变）的所有原材料，需在最终产品或工艺的合理  
3 阶段对残留进行评估和控制，并结合临床使用剂量确定需要控制的残留限度。有  
4 些高风险原材料可能需要开展动物体内的安全性评估。生产中应避免使用β-内  
5 酰胺类抗生素，若其他环节不可避免使用抗生素，应明确抗生素选择依据、残留  
6 控制和安全性评估等信息。

7 干细胞产品生产中应量避免使用人源或动物源性材料，尽可能采用组成成分  
8 明确的非动物源性试剂，在早期研发筛选无人源或动物源性物料生产工艺。若必  
9 须人源或动物源性物料（如自体血清或自体血浆），应充分说明其来源生物、销  
10 售商/供应商、原产国、生产工艺和质量标准等信息，并设定合理的内控检测项  
11 目和可接受标准，严格控制外源因子污染（如外源病毒和朊病毒）和免疫原性等  
12 风险。对于由于使用人源或动物源性材料，导致最终制剂被引入TSE/BSE的潜在  
13 风险，应始终保持警觉。

14 有些干细胞产品可能与其他医疗器械、活性植入性医疗器械、基质、微囊等  
15 材料形成组合产品，应符合药械组合产品的相关要求，需对组分进行详细描述和  
16 论证，说明每种成分的批准状况，并评价其安全性和预期用途的适用性，同时需  
17 进行适当类型的生物相容性研究，并评估对其他器械检测是否充分，对控制器械  
18 组件的任何硬件和软件的检测是否充分。

19 生产过程中与中间样品直接接触的容器和密闭系统（培养瓶、一次性管路、  
20 生物反应袋、滤器等）应经过严格的筛选，关注防止微生物污染和批次间交叉污  
21 染，开展耗材适用性和生物安全性评估，并基于风险评估开展充分的耗材相容性  
22 和密封性的研究。

## 23 （二）辅料

24 按照药品开发的干细胞产品所用辅料的来源、用量和质量控制应基于风险评  
25 估的原则，经处方筛选等进行充分研究和验证，证明其使用的必要性、安全性和  
26 合理性，应符合现行版《中国药典》通则“生物制品生产用原材料及辅料质量控  
27 制”的相关要求，尽量选择低风险的辅料，优先选用药用级辅料。对于高风险等

1 级的辅料，应在产品研发的早期评价使用这些辅料的必要性，并寻找其他替代物  
2 或替代来源，必要时，新型辅料应开展适当的非临床安全性研究。

## 3 六、生产工艺

4 干细胞产品工艺复杂，批间差别可能和一般药物不同。对于按药品开发的干  
5 细胞产品，其生产工艺的研究应尽量遵循药品生产工艺的一般规律，关注对生产  
6 工艺与产品质量关系的研究，加强对工艺残留去除的影响研究与验证，建立稳健  
7 可靠的生产工艺。

### 8 (一) 工艺开发

9 自研发早期需要逐步地明确生产工艺步骤和操作参数限定范围，以及生产过  
10 程控制、可接受标准和废弃标准等，保持工艺相对稳定可靠，逐步确定产品目标  
11 产品质量概况（QTPP）和关键质量属性（CQA）。干细胞产品生产工艺一般包括上游  
12 的细胞培养工艺和下游的制剂工艺，工艺流程可能包括细胞的复苏、扩增、诱导分  
13 化、基因递送与修饰、收获、罐装、冷冻、存储、运输等中的几项工艺步骤。应  
14 明确生产规模和批次、批量的定义，关注上下游工艺规模的匹配性。如工艺过程  
15 中存在合批或分批的情况，需要开展充分的研究并制定相应的原则。

#### 16 1. 细胞培养工艺

17 干细胞产品的质量特性主要在细胞培养阶段形成，此外，细胞培养体系和各  
18 步骤工艺参数均可能对来源不同的细胞的生长分化特性、生物学功能和表观遗传  
19 特性产生影响，因此应进行全面的工艺研究。细胞培养工艺风险变量因素包括种  
20 子细胞库、细胞分离（机械法、酶法）、培养容器（贴壁平层培养工艺的细胞汇  
21 合度与传代/收获时机，生物反应器培养工艺的微载体选择、反应器参数）、培养  
22 体系、接种/传代密度及生长动力条件等，还包括起始细胞、感染复数、诱导体  
23 系和分化体系等，每个工艺阶段中关键生产用材料/组分添加量、添加条件（时间、  
24 温度）、离心洗涤条件和次数等。细胞培养工艺的质量考察因素包括细胞活力（活  
25 细胞率、传代代次、倍增时间），细胞特性（形态、表型和基因型、分化情况、  
26 生物学功能）、纯度、转导效率、重编程效率、病毒载体回复突变、多能性、成

1 瘤/致瘤性、非预期细胞/影响、遗传学和表观遗传学监控等。干细胞产品的基因  
2 组积累的癌症及遗传病有关的基因突变风险可通过测序方法辅助分析。

## 3 **2. 制剂工艺**

4 制剂处方和工艺应根据临床用药要求,并结合产品自身的特性等进行充分研  
5 究后确定。目的细胞成分是决定产品有效性的重要组分。制剂研究应说明处方组  
6 成,明确细胞密度或细胞浓度等 CQA,明确最终制剂是新鲜细胞还是冻存细胞,  
7 制剂游离细胞形式还是与基质结合,或是冻存细胞复苏后经洗涤等工艺处理再给  
8 予患者等。若最终产品以冷冻状态运输到临床研究中心,则应在包括对产品运输  
9 方式的说明,并提供表明产品可被解冻的一致结果的数据,鼓励采用先进的带有  
10 在线监测的程序降温设备开展不同降温程序研究。

11 可根据生产批量、罐装过程对细胞活力的影响选择合理的制剂灌装工艺。如  
12 制剂需要冻存,应开展制剂的复苏工艺研究,如冻存细胞复苏后经洗涤等工艺处  
13 理再给予患者,还应开展洗涤工艺研究,并关注操作过程的安全性风险和刚复苏  
14 细胞对洗涤工艺的耐受性。对于新型给药装置和给药方式,需保证给药准确度。  
15 在输入人体前,细胞制剂在医院的处理时间和存放的条件也应该明确规定。若自  
16 体或同种异体细胞产品在注射前进行辐照以消灭复制能力以降低致癌风险,则应  
17 提供数据以证明细胞在辐照后丧失复制能力,但仍保持其所需的特性。在干细胞  
18 产品回输的临床操作规程中,重点关注防范不同类型细胞自身的风险性和临床使  
19 用过程中污染、感染和病原传播的风险。

## 20 **3. 工艺过程控制**

21 干细胞产品的生产的全过程应通过合理可行的工艺控制参数和中间体控制  
22 限度进行监控。这些工艺控制参数和中间体控制限度包括了明确工艺步骤的培养  
23 时长、生产周期和细胞限传代次、生产中每个步骤的时间控制范围等等。由于干  
24 细胞产品一般无法进行终端除菌和除病毒工艺,外源因子污染风险高,生产过程  
25 中应在适当环节控制微生物安全性指标(包括无菌、支原体、内毒素等)。另外,  
26 有效的隔离措施对防止不同供者来源制品或不同批次产品的混淆、差错等有重要  
27 意义。考虑到细胞在生产工艺过程中存在动态可变性,对于可以表征细胞形态、  
28 活力、成瘤/致瘤性、表型特征(包括预期和非预期细胞群)、功能、遗传稳定,

1 以及产品稳定性的质量参数，建议在关键生产环节或中间产物进行中间过程控制，  
2 设置可接受标准，为纠偏限度提供依据。

3 采用基因转导与修饰操作的风险较高，应予重点关注，制定严格的风险控制  
4 点。应明确转导方式、遗传操作方法和条件、目的基因转导效率、在染色体的整  
5 合情况，并论述合理性。采用病毒载体的，还应对病毒复制回复突变、插入突变  
6 等情况进行研究和验证。对体外基因转导与修饰前、后的细胞表型、基因型、功  
7 能、特性，以及工艺相关杂质和非目标细胞群的变化趋势等，应重点进行研究、  
8 表征和/或验证，以确定工艺的稳健性。

#### 9 4. 工艺变更

10 和其他药品一样，干细胞产品的制备工艺也会在生命周期中发生变更，这些  
11 变更的目的是对产品的工艺进行优化或提高质量。需全面研究这些变更对干细胞  
12 产品的安全性、特性、纯度和生物学活性等方面的影响，进行工艺变更前后的  
13 可比性研究。对于干细胞产品，可比性研究的内容应该覆盖到变更前后的原材料  
14 比对、工艺过程比对以及中间品/终产品的质量属性变化等，重点关注变更内容、  
15 分析方法检测应能分辨产品质量属性变更以及产品的开发阶段等，可以参考 ICH  
16 Q5E<sup>(15)</sup> 设置合理的可比性研究检测指标及可接受标准，将各阶段代表性批次纳入  
17 进行研究，关注检测项目的全面性、预设对比研究标准设置的合理性、检测方法  
18 的有效性和检测结果分析的客观性等。对于开发过程中可能存在多个阶段的生产  
19 工艺，如非注册临床样品制备工艺、非临床样品制备工艺、临床试验用样品制备  
20 工艺、商业化生产工艺，应具体说明各阶段工艺之间的差异，并对变更前后的工  
21 艺开展可比性研究，分析工艺变更对产品质量的影响，如有必要应进一步提供非  
22 临床或人体比对研究数据。一般情况下在确证性临床试验开展前完成所有预期变  
23 更。

#### 24 (二) 工艺验证

25 与一般药品相比，干细胞产品的批间差异可能较大，工艺验证较为困难，但  
26 仍需保证产品一致性和质量可控性。上市阶段应采用商业化生产规模下的生产工  
27 艺进行连续多个批次干细胞产品的生产，并对各批次工艺和产品质量进行全面表

1 征，确认各工艺的稳健性和产品质量的一致性，工艺验证过程中建议关注关键生  
2 产阶段对产品的基因型不稳定性、成瘤/致瘤性和表型特征(包括预期和非预期细  
3 胞群)的体外评估，确保产品的安全性。另外，应完成关键原材料生产工艺验证、  
4 中间体存储条件和时间验证、培养基/缓冲液制备和放置条件验证、过滤器验证、  
5 运输验证、无菌模拟灌装验证、清洁验证和容器密封完整性验证等。

6 和一般药品一样，干细胞产品在早期临床试验时一般尚未进行生产工艺验证，  
7 但应在临床试验前明确生产用原辅料的质控标准，同时采取适当的工艺过程监测  
8 和控制措施，以确保工艺符合临床试验样品的安全性要求。用于支持上市许可申  
9 请的确证性临床试验样品，应能代表上市产品，其生产工艺必须进行工艺验证以  
10 证明生产工艺可确保生产的一致性。商业化规模工艺验证应关注实际同时生产最  
11 大产能的挑战研究，考虑人员、设备、物料、环境、检测等整体运行能力对最大  
12 产能的支持能力。不同批次工艺性能和产品质量的变化趋势数据应详细记录，  
13 开展全生命周期中的持续工艺确认。

## 14 七、质量研究与质量控制

### 15 (一) 质量研究

16 干细胞产品具备多样性、变异性、复杂性等特性，质量研究应选择代表性的  
17 生产批次和合适的生产阶段样品(包括初始分离的细胞或细胞种子、细胞库、中  
18 间产品、原液和制剂成品等)进行研究，质量研究内容应尽量覆盖细胞特性分析、  
19 理化特性分析、纯度分析、安全性分析和有效性分析等方面，尽可能采用一系列  
20 先进、正交的分析技术，且分析方法应经过研究确认，确保方法适用可靠。

#### 21 1. 细胞特性分析

22 **细胞形态：**细胞的形态学分析对于处在不同生长发育阶段的细胞具有一定的  
23 指示作用，光学显微镜(可结合特异性染色)是常见的观察细胞形态方法。

24 **细胞活性：**干细胞产品通常是活的细胞治疗产品，可通过细胞活率、活细胞  
25 数、群体倍增时间、细胞周期等对细胞活性进行综合评价。

1           **细胞鉴别：**对细胞群体进行鉴别是确保干细胞产品纯度的重要方式，一般通  
2 过短串联重复序列（short tandem repeats, STR）图谱、中期染色体核型分析  
3 及同工酶谱分析或种属遗传多态性基因分析等方法对不同细胞交叉污染进行评  
4 价，也可通过表面标志物及特定基因进行分析鉴别。

5           **细胞标志物检测：**细胞表达特定的标志物是细胞特性的一部分，常通过选择  
6 多种表面标志物对细胞类型、多能性、谱系、终末分化和/或功能测定进行干细  
7 胞产品的表征，相关分析检测方法应经过规范验证。 mRNA 标记物与蛋白质标记  
8 物表达的有效相关性如果经验证，可使用基于 mRNA 的标记物辅助进行细胞表征。

## 9   2. 理化特性分析

10           一般理化特性分析需结合产品类型和制剂特征开展研究，可包括外观、颜色、  
11 澄清度、pH、可见异物、渗透压摩尔浓度、装量等项目。

## 12   3. 细胞纯度分析

13           干细胞产品在生产过程中可能会引入非细胞杂质（如理化杂质）、细胞碎  
14 片或非功能所需细胞，影响产品生物学特性方面的纯度和均一性，可能带来安  
15 全性风险。对于这些非目的细胞成分，在工艺中应予以去除，在质量研究中予  
16 以检测，并进行定性/定量控制。

17           通常纯度分析的研究项目可能包括：活细胞比率、细胞亚群比率、功能性细  
18 胞比率、非目的细胞群体比率等。对于一些细胞与非细胞成分的制剂组合型产品，  
19 除细胞外还包含非细胞成分（如基质、支架等），需重点评估非预期细胞及非细  
20 胞成分等杂质。

21           **3.1 生物学安全性：**是指细胞内在的、由其生物学特性所决定的，和外在的、  
22 诱发其生物学特性发生改变相关的安全性问题。在对干细胞生物学安全性进行评  
23 价时，应尽可能考虑相关细胞的临床适应症、给药途径、剂量等与临床治疗直接  
24 相关的因素，并利用合适的体内、体外试验模型对相关的生物学安全性进行有效  
25 评估。干细胞生物学安全性包括成瘤性和致瘤性、异常免疫反应和异常分化等。

26           **成瘤性（Tumorigenicity）、致瘤性（Oncogenicity）：**应考虑干细胞产品  
27 的成瘤和致瘤风险，特别是高代次的，或经过体外复杂处理和修饰的自体来源以

1 及各种异体来源的干细胞产品。对于人胚干细胞和诱导多能干细胞来源的干细胞  
2 衍生产品，应特别关注终产品成瘤性和致瘤性检测，分析与未分化多潜能细胞的  
3 去除和终产品 ESCs/ iPSCs 残留水平的关系。

4 **异常免疫反应：**对于一些细胞制剂，特别是异体来源、经体外传代培养和特  
5 殊处理的自体或异体来源制剂，应当结合产品特性通过体外及动物试验评价其异  
6 常免疫反应。比如对细胞自身免疫相容抗原 HLAs 分子（ES 及 iPSC 分化后重新  
7 表达供体 HLA）、免疫共刺激分子、促炎因子（IFN， TNF）等的表达进行检测，  
8 对间充质增殖/活化异体免疫细胞（如总淋巴细胞增殖）的检测。

9 **非预期分化：**包括非靶细胞分化或非靶部位分化。建议开发特定的检测技术  
10 （比如 SPR 法检测标志物），研究、评估和监控干细胞产品非预期分化的可能性  
11 和影响，可结合目的细胞分化纯度进行具体分析。

12 **3.2 微生物学安全性：**是指干细胞产品需满足无细菌、真菌、支原体和病毒  
13 等微生物污染，以及无微生物代谢产物（以革兰氏阴性菌所产生的内毒素为代表）  
14 污染的质量要求。内、外源因子污染的监测可通过相关病原物（如核酸、蛋白、  
15 多糖）或微生物代谢物的直接检测，或体外细胞模型、敏感动物接种及鸡胚接种  
16 等方法对相关微生物存在和效应的间接分析来实现。

17 **无菌检测-细菌、真菌：**鼓励采用现行版药典培养法进行无菌检测，可依据  
18 工艺阶段、管理需要、临床应用需要等，采用不同时间针对不同工艺阶段的细胞，  
19 选择不同检测方法，如采用全自动细菌/分枝杆菌检测系统或革兰氏染色法镜检，  
20 或基于核酸或特定代谢物的快速检测方法。选用快速检测方法应进行适用性评估，  
21 并逐步完成全面的方法学验证和与药典法的比对，以证明检测能力相当。

22 **支原体检测：**鼓励依据药典中规定的培养法和指示细胞感染法（或称 DNA 染  
23 色法）相结合进行确证性支原体检测。需要时也可应用支原体核酸扩增方法作为  
24 快速检测方法，或针对不同工艺阶段的检测需求采取确证方法和快速方法相结合  
25 的方式进行支原体检测。常见的人源支原体通常由实验人员带入，如口腔支原体、  
26 人支原体、唾液支原体；动物来源的支原体通常经牛血清带入，如发酵支原体、



1 精氨酸支原体、莱氏支原体；在分离、消化细胞时使用胰蛋白酶可能带入猪鼻  
2 支原体。方法选择和验证时应予以考虑可能的污染来源。

3 **特定病毒和非特定病毒检测：**病毒污染是指来源于起始细胞等原材料或是生  
4 产过程中所引入的种属特异病毒（如人源病毒和动物源性病毒）、内外源性逆转  
5 录病毒，以及所有非特定病毒因子。根据产品特性于合适阶段进行相关检测，利  
6 用体内和体外方法，结合生产全过程综合评价产品的病毒污染风险。人源特定病  
7 毒可能包括 HIV、HBV、HCV、HTLV、TB、B19 等，相关检测以病原体核酸/抗体检  
8 测为主，尽量使用经批准的体外诊断试剂盒进行检测，相关检测方法应经过验证。  
9 如使用过牛血清，须进行牛源特定病毒的检测，可能包括牛副流感病毒、牛腺病  
10 毒、牛细小病毒、牛腹泻病毒和弧肠孤病毒等；如使用胰酶等猪源材料，可能需  
11 检测猪细小病毒、猪细小环病毒以及猪圆环病毒等；如胚胎干细胞和 iPS 细胞在制  
12 备过程中使用动物源性饲养层细胞（Feeder layer），须进行细胞来源相关特定  
13 动物源性病毒的全面检测。对于逆转录病毒和非特定病毒因子检测，可参照《中  
14 国药典》三部通则“生物制品生产检定用动物细胞基质制备及质量控制”的相关  
15 要求进行。

16 **病毒载体回复突变（具有复制能力的病毒，replication competent virus，**  
17 **RCV）：**对于使用复制缺陷型病毒进行体外转导获得的干细胞产品，存在病毒载  
18 体回复突变的可能。RCV 是影响产品安全性的主要风险之一，在产品设计和质量  
19 研究时应充分考虑。一般情况下，除在生产过程中对病毒（上清液、病毒生产终  
20 末期细胞）采用经验证的指示细胞培养法完成 RCV 标准检测以外，还应在放行检  
21 验中对细胞终产品采用经验证的快速方法进行 RCV 的检测放行，同时还应进行留  
22 样，必要时用指示细胞培养法进行终产品回溯检测分析，后期研究中也应持续监  
23 测 RCV。

24 **细菌内毒素检测：**建议采用现行版药典所建议的凝胶法和光度测定法，如有  
25 更好的方法经验证后可采用，比如改良的凝胶法（也称重组 C 因子法）。

#### 26 4. 生物学活性分析

27 干细胞是活细胞药物，其生物学作用是多靶点、多通路的，各类干细胞的生  
28 物学有效性可基本归类为诱导分化能力、免疫调控能力和组织再生能力。干细胞

1 生物学效力检测包括：相关生物活性物质的分泌（如重组蛋白、糖蛋白或脂蛋白、  
2 生长因子、酶及细胞因子等）、细胞及细胞外基质/结构的形成、细胞相互作用  
3 （如免疫激活或抑制）、细胞的迁移分化或自我更新潜能。

4 研发者应明确产品与临床治疗相关的生物学效应和作用机制，开发能够代表  
5 产品作用机制的定量/半定量生物学活性测定方法<sup>(16)</sup>，尽可能采取多种互补的分  
6 析检测方法进行研究并完成方法学验证，比如，在可能需要具有功能和表型可塑  
7 性的混合细胞群情况下，效力测试应补充不同细胞群表型谱的数据。特殊情况下，  
8 还可开发生物学活性的替代指标，如在活体系统之外进行的非生物分析测定法  
9 （analytical assay），通过评估产品的免疫化学、生物化学和/或分子属性来  
10 提供广泛的产品表征数据。采用的分析测定法应开展替代方法与效力相关性研究，  
11 还应证明该测定法可以区分活性细胞与非活性物质或死亡细胞等形式产品，并进  
12 行充分的对照研究和方法学验证。有些干细胞及其衍生制品具有复杂的和/或不  
13 完全清晰的作用机理或具有多种生物学活性，细胞生物学功能表征须结合体外生  
14 物学效应和体内动物模型综合评价。

## 15 （二）质量标准

16 人源性干细胞产品的质量标准的制订应根据产品特点、生产工艺、质量研究  
17 和风险评估等进行确定，一般包括原液（如有）质量标准、半成品（如有）质量  
18 标准和制剂质量标准。考虑到部分干细胞产品批量有限、有效期短的特殊性，在  
19 经过充分研究的基础上，可通过加强过程控制和中间体的检测来简化放行检测  
20 （简化的放行检查必须至少包含鉴别和生物学效力检测），同时采用新型的放行  
21 检测方法辅助传统检测方法，但是检测方法应经过充分验证。

22 干细胞产品的质量标准检测项目应当建立在产品质量研究以及对生产工艺  
23 和生产过程充分理解的基础之上，同时兼顾产品的特性和当下的科学认知与共  
24 识。除了一般检测外观、装量、pH、无菌性、内毒素、支原体外，放行检查还  
25 应包括细胞数量/剂量（细胞数、功能细胞数等）、细胞活力、鉴别、纯度、生  
26 物学效力（定量/半定量功能测定、分子标志物等）、产品和工艺相关杂质、异  
27 常免疫反应等。基因修饰的情况下，应针对每批最终产品基因修饰细胞的百分

1 比、每个细胞的载体/质粒拷贝数进行检测。如果从最终产品中去除了外源遗传  
2 物质，可在放行时通过相关灵敏检测进行证明。对于使用复制缺陷型病毒转导  
3 的细胞，应证明不存在复制型载体（RCV）。产品和工艺相关杂质可结合稳定合  
4 理的工艺清除验证进行分析控制，对于终产品中有一定残留，且可能影响干细  
5 胞产品质量和安全有效性的工艺相关杂质（如 BSA、消化酶、磁珠、微载体等  
6 相关杂质（如有害细胞残留），应选择适用的方法进行质量放行控制。原则上  
7 应依据现行版药典中的生物制品无菌和支原体检查法进行终产品放行检测，必  
8 要时采用快速方法放行应进行方法学确认，在未能充分验证新型方法可以完全  
9 替代药典传统方法时，建议在使用新型检测方法进行放行检测的同时，留样采  
10 用药典传统方法进行平行检测，同时对检测结果后置可能出现的非预期结果制  
11 定处置方案。对于运输到医院后需要进行给药前再操作（比如容器的转换、物  
12 理状态的转变、与其他结构材料的联合、过滤与清洗等）的干细胞产品，建议  
13 再次设定质量标准项目，如细胞形态、颜色、活细胞数及比率、除细胞之外的  
14 其他外源性异物等，以及操作步骤的复核和标签核对等。可接受标准需根据临  
15 床前和/或临床研究时各批样品的数据、用于证明生产一致性批次的数据、稳定  
16 性研究数据和研发相关的数据等进行制定。经质量特性分析后建立的参考品应  
17 具备代表性和可溯源性，应采用经验证的分析检测方法进行参考品标定（含量  
18 标定和活性标定），并对产品开发各个阶段使用的参考品应开展稳定性研究，  
19 确定复验期和有效期。

20 分析检测方法的开发和验证应遵循药品开发的一般方法学规律，包括放行检  
21 测方法和过程控制检测方法。分析方法应随着研究的不断深入逐步完善并验证，  
22 以适应各阶段的质量控制要求。对基于自身产品建立的新方法应进行全面的验证，  
23 对采用药典的方法应进行适用性确认，如果药典方法经过修订或替代时，应进行  
24 对比研究以确认其合理性。比如采用快速、微量的新型检测方法对有效期短、样  
25 本量小的产品进行检测时，应对方法进行比较和评估，并在产品放行时采用两种  
26 检验方法进行相互验证。

## 1 八、稳定性研究

2 可参照中国药典《生物制品稳定性试验指导原则》<sup>(17)</sup>和ICH Q5C<sup>(18)</sup>的一般  
3 要求开展稳定性考察。

4 稳定性研究的目的是为了支持干细胞产品的储存、运输、使用，稳定性研究  
5 一般包括影响因素试验（温度、光照、机械力等）、加速试验、长期试验、运输  
6 试验和临床使用中稳定性试验。试验条件应充分考虑新鲜细胞和冻存细胞的区别，  
7 考虑干细胞产品保存、包装、运输、临床配伍和实际给药的特殊要求，考虑各个  
8 环节样品贮存的累积保存时间对最终产品稳定性的影响等。

9 试验样品：一般包括代表性原液（如有）、成品和需要临时或阶段性冷冻的  
10 中间细胞产品。

11 试验项目：一般包括生物学效力、细胞纯度、细胞特性、活细胞数、细胞活  
12 率、功能细胞数、微生物安全性指标以及辅料含量等，试验时间应能支持有效期  
13 拟定，考虑到干细胞产品的复杂性和变异性，一般不支持有效期外推。

14 申报临床阶段的稳定性数据能够支持临床试验开展即可。

15 申报上市时需提供拟定的多个代表性批次的稳定性数据以支持确定贮藏条  
16 件、使用条件和有效期，同时应明确产品的敏感条件、失活途径和失活速率等。

## 17 九、包装及密闭容器系统

18 包装及密闭容器系统的适用性评估对象是指直接接触制品的包装容器和密  
19 闭系统。应结合产品给药途径（静脉给药、局部给药、眼用制剂）、制剂性质（新  
20 鲜细胞、冷冻制剂）等选择合适的内包材（西林瓶、软袋等），参考相关指导原  
21 则<sup>(19)</sup>开展干细胞产品生产过程中的样品（采集的组织或细胞、制备过程中的细  
22 胞）和成品与直接接触包装材料的相容性研究，可选取小规格同材质的包装容器  
23 进行，但应涵盖拟包装制品的密度和体积范围；应开展可提取物/浸出物研究，  
24 并进行安全性评估。提取物的毒理学评估，应以良好的科学原则为基础，并考虑

1 具体的容器密封系统、药品处方、剂型、给药途径和给药方案（慢性或短期给药）  
2 等。

### 3 十、名词解释

4 **成体干细胞**：已经发育的胚胎组织或成人组织及出生伴随的附件组织（如脐  
5 带、胎盘）中，具有多向分化潜能的间充质干细胞（mesenchymal stem cell，  
6 MSC）、造血干细胞和各类前体细胞（progenitor cell），如神经干细胞（neural  
7 stem cell，NSC）等。

8 **人胚干细胞**：体外发育早期的囊胚（blastocyst）内细胞团中分离和建立的  
9 具有向三胚层分化潜能的干细胞，可在体外无限的自我更新，具有多能性。

10 **诱导多能干细胞（iPSC）**：是指利用病毒或非病毒载体技术对已分化的成体  
11 细胞进行重编程所获得的具有多向分化潜能的干细胞，具有类似于人胚干细胞  
12 的多能性。

13 **畸胎瘤（Teratoma）**：指多能干细胞注射到免疫功能障碍的小鼠体内，产生  
14 的一种多层良性肿瘤。科学界通过注射干细胞到小鼠体内验证所产生的畸胎瘤包  
15 含三个胚层细胞，进而测试是否建立了人胚干细胞系（hESC）。

16 **饲养层细胞（Feeder layer）**：是指自身不具有增殖能力，但通过细胞-细  
17 胞相互作用或分泌一定营养物质，用于支持其他细胞生长、扩增的细胞。

18 **批**：指在同一生产周期中，用同一来源、同一工艺过程制备出来的一定数量  
19 的一批制品，在规定限度内，批具有数量和质量均一性。

### 20 十一、参考文献

---

21 **【1】** NMPA. 细胞治疗产品研究与评价技术指导原则（试行）. 2017.

22 **【2】** FDA. Guidance for FDA Reviewers and Sponsors. Content and  
23 Review of Chemistry, Manufacturing, and Control (CMC)  
24 Information for Human Somatic Cell Therapy Investigational New  
25 Drug Applications (INDs). 2008.

- 1 【3】 FDA. Chemistry, Manufacturing, and Control (CMC) Information  
2 for Human Gene Therapy Investigational New Drug Applications  
3 (INDs). 2020.
- 4 【4】 EMA. Reflection paper on stem cell-based medicinal products.  
5 2011.
- 6 【5】 ICH Guidance on Quality of Biotechnological/Biological Products:  
7 Derivation and Characterization of Cell Substrates Used for  
8 Production of Biotechnological/Biological Products, (63 FR  
9 50244, September 21, 1998).
- 10 【6】 FDA. Deviation Reporting for Human Cells, Tissues, and Cellular  
11 and Tissue-based Products Regulated Solely Under Section 361  
12 of the Public Health Service Act and 21CFR Part 1271. 2017.
- 13 【7】 国家卫计委和国家食品药品监督管理局. 干细胞制剂质量控制及临  
14 床前研究指导原则（试行）. 2015.
- 15 【8】 卫生部. 人的体细胞治疗及基因治疗临床研究质控要点. 1993.
- 16 【9】 《中国药典》通则“生物制品生产用原材料及辅料质量控制”.
- 17 【10】 《中国药典》通则“生物制品生产检定用动物细胞基质制备及质量控  
18 制”.
- 19 【11】 科技部和卫生部. 人胚胎干细胞研究伦理指导原则. 2003.
- 20 【12】 卫生部. 涉及人的生物医学研究伦理审查办法. 2016.
- 21 【13】 国家食品药品监督管理局. 药物临床试验伦理审查工作指导原则.  
22 2010.
- 23 【14】 《中国药典》通则“血液制品生产用人血浆”.
- 24 【15】 ICH. Q5E Comparability of Biotechnological/Biological  
25 Products Subject to Changes in Their Manufacturing Process. 2004.
- 26 【16】 FDA 《Guidance for Industry; Potency Tests for Cellular and  
27 Gene Therapy Products》
- 28 【17】 《中国药典》通用技术要求“生物制品稳定性试验指导原则”.
- 29 【18】 ICH. Q5C Stability Testing of Biotechnological and Biological  
30 Products. 1995.
- 31 【19】 药品包装材料与药物相容性试验指导原则 YBB00142002.