



基于干细胞的再生医学产品研究进展与监管现状

卢加琪, 刘伯宁*, 罗建辉*

国家药品监督管理局药品审评中心, 北京 100022

* 联系人, E-mail: liubn@cde.org.cn; luojh@cde.org.cn

收稿日期: 2018-10-15; 接受日期: 2018-10-25; 网络版发表日期: 2018-12-06

国家科技重大专项“重大新药创制”课题(批准号: 2015ZX09501008)资助

摘要 随着干细胞基础研究与临床应用的快速发展, 近年来针对重大及难治疾病治疗的再生医学产品不断涌现。干细胞具有自我增殖与分化的特性, 再生医学产品复杂、多样, 细胞性质与风险各异, 其研究制备及临床试验中存在较高的变异性和不确定性(如细胞生存、分化、迁移、定植等过程中培养、诱导条件或个体化方面的差异)。因此, 基于干细胞的再生医学产品按照药物监管极具挑战性。文章总结了国际上已上市干细胞药物的研究进展, 比较了再生医学监管领域美国FDA、欧盟EMA、日本PMDA的监管法规和技术指导原则, 重点探讨了干细胞产品药学审评的一般考虑, 以期为国内干细胞药物的研发与评价提供参考。

关键词 再生医学产品, 干细胞, 间充质干细胞, 胚胎干细胞, 诱导多能干细胞, 细胞疗法, 药物评价

干细胞是一类具有不同程度自我更新和分化潜能的细胞。根据来源, 干细胞可分为胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESCs)、诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs)和成体干细胞(adult stem cells, ASCs)等。根据分化能力, 干细胞可分为单胚层多能干细胞(multipotent stem cells)、三胚层多能干细胞(pluripotent stem cells)和全能干细胞(totipotent stem cells)。再生医学指对人体细胞、组织或器官进行替换、修复或再生, 用来重建或增强机体生理功能的治疗手段。目前基于干细胞的再生医学产品, 已经在骨髓移植^[1]、老年黄斑变性、神经退行性疾病、I 型糖尿病等治疗领域得到广泛的应用^[2,3]。

与此同时, 干细胞的体内治疗也存在着异常分化、致瘤性、免疫原性等多种风险。因此, 国际上主

流的监管机构制定了具体技术指导原则, 对基于干细胞的再生医学产品开展临床试验进行严格的监管。近年来美国FDA对干细胞诊所加强了管理, 对使用未被FDA批准的干细胞产品的诊所采取了包括现场检查、警告信、永久禁令等多种措施。如2017年8月, 由于使用未经FDA批准的干细胞产品用于帕金森症患者治疗, 且生产过程未遵循cGMP要求, 美国佛罗里达州的US Stem Cell Clinic LLC of Sunrise诊所收到了FDA的警告信(<https://www.fda.gov/ICECI/EnforcementActions/WarningLetters/2017/ucm573187.htm>)。2018年, 针对给患者使用未批准干细胞产品的乱象, 美国FDA对US Stem Cell Clinic LLC of Sunrise诊所和California Stem Cell Treatment Center公司发出永久禁令(<https://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnounce->

引用格式: 卢加琪, 刘伯宁, 罗建辉. 基于干细胞的再生医学产品研究进展与监管现状. 中国科学: 生命科学, 2019, 49: 18–27

Lu J Q, Liu B N, Luo J H. Research progress and regulatory perspectives for stem cell-based regenerative medicine products (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2019, 49: 18–27, doi: 10.1360/N052018-00138

[ments/ucm607257.htm](https://www.fda.gov/oc/ohrt/ucm607257.htm)). 在中国, 针对2011年前临床治疗领域的“干细胞乱象”, 2015年原国家卫计委和食药监总局颁布了《干细胞制剂质量控制及临床前研究指导原则(试行)》、《干细胞临床研究管理办法(试行)》等指导原则, 用于规范和促进国内干细胞产业健康发展.

为此, 本文回顾了已上市干细胞类产品的研发历程, 比较了国际上主流监管机构(美国FDA、欧盟EMA、日本PMDA)对再生医学产品的监管法规和指导原则, 并着重对干细胞产品药学评价进行探讨, 以期后续此类产品按照“药品”进行研发与评价提供参考.

1 欧美日已上市干细胞产品

近年来欧洲、美国、日本等国家和地区的药品监管部门批准上市了一系列干细胞产品, 主要包括造血干细胞、软骨细胞、皮肤组织和间充质干细胞等. 下文着重对2009~2016年间部分已上市干细胞产品及其制备工艺进行总结, 以期对国内干细胞产品的研发起到借鉴作用.

1.1 Holoclar

Holoclar是意大利凯西制药(Chiesi Farmaceutici)研发的自体人角膜上皮细胞(含角膜缘干细胞). 2015年, EMA批准本品作为首个干细胞类先进治疗产品(advanced therapy medicinal product, ATMP)上市. 用于治疗由物理或化学灼伤导致的单侧或双侧中度至重度膜缘干细胞缺乏症(limbal stem cells deficiency, LSCD), 含有细胞的人纤维蛋白膜植入患者受伤眼睛后, 预计一年内可再生出透明角膜^[4].

Holoclar采用患者未受损角膜组织经酶解后, 利用小鼠(*Mus musculus*)滋养层(3T3-J2细胞)扩增培养后制备“中间细胞库”, 移植前再铺于人纤维蛋白膜上进行二次培养. Holoclar再生能力的评价主要依据角膜缘干细胞标志物 $\Delta Np63\alpha$ (转录因子p63的主要异构体)的表达水平. 安全性控制方面, 患者组织的病毒检测(HIV, HBV, HTLV等)及小鼠滋养层细胞3T3-J2的检定作为主要风险点考虑; 由于Holoclar终产品制备后应在36 h内移植, 外源因子(无菌、支原体)的控制需要细胞培养环节中控与快速放行检测相结合来实现; 此外, 关

于成瘤风险, 需要对Holoclar进行软琼脂克隆形成试验和染色体核型分析等检测结果来评判^[5].

1.2 Strimvelis

Strimvelis为葛兰素史克公司研发的人自体CD34阳性造血干细胞, 由逆转录病毒转导该细胞表达腺苷脱氨酶(ADA), 2016年EMA批准其用于治疗ADA缺乏性重度联合免疫缺陷症(ADA-SCID)^[6]. 本品系通过逆转录病毒转导将ADA基因导入患者的骨髓中分离出的CD34阳性造血干细胞, 静脉输注患者. CD34阳性干细胞一部分会分化生成表达ADA的正常淋巴细胞, 一部分将归巢至骨髓.

1.3 Prochymal

Prochymal为美国Osiris公司研发的异体骨髓来源间充质干细胞, 2010年在美国完成了多中心临床试验, 2012年加拿大卫生监管部门批准其用于治疗激素药物无效的儿童急性重症移植物抗宿主疾病(GvHD). Prochymal系健康成人的骨髓间充质干细胞, 并采用含胎牛血清的培养基进行扩增后冻存储备^[7-9]. 同时, 本品在进行针对克罗恩病、急性心肌梗死等其他适应症的临床试验^[10].

1.4 MACI

MACI系Genzyme Europe B.V公司研发的基质诱导的自体软骨细胞移植技术(MACI). 2016年美国FDA批准MACI用于修复成年患者膝盖症状性全层缺损. MACI系患者自身膝盖的健康软骨组织在猪胶原蛋白膜上体外培养6周得到. 每一个MACI植入细胞薄片含有 $5 \times 10^5 \sim 10 \times 10^5 \text{ cell/cm}^2$, 通过手术植入受损部位后使用纤维蛋白胶固定细胞^[11].

1.5 ChonDrocelect

ChonDrocelect系比利时TiGenix公司的自体软骨细胞药物, 2009年EMA批准其作为先进治疗医药产品上市, 用于股骨踝关节单一缺损的关节修复治疗. 经手术取出患者健康软骨, 通过对软骨细胞培养约3~4周, 当细胞表达基质蛋白、蛋白聚糖和软骨细胞相关基因时, 软骨细胞悬液植回患者受损关节覆盖生物膜, 软骨细胞将附着于骨头并逐渐产生软骨(<https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/chondrocelect>)^[12].

1.6 HeartSheet

2015年日本药局方有条件并限时批准了Terumo公司的自体骨骼肌成肌细胞产品HeartSheet。该产品将自体成肌细胞培养后做成片层结构,在开胸手术时贴在心脏表面,仅在严重心力衰竭的病人采用标准治疗无效时使用。使用该产品的病人必须具有严重心力衰竭症状(纽约心脏协会定义的III级或IV级和左心室射血分数(left ventricular ejection fractions, LVEF) <35%),并且应用其他治疗方式无效^[13]。

除了已上市产品,截至2018年已有较多干细胞治疗产品进入II/III期临床试验(部分临床试验总结见表1),预计未来5~10年将有数个治疗疑难疾病的干细胞产品上市。

2 国际上基于干细胞的再生医疗产品监管现状

2.1 美国FDA的干细胞产品监管

美国FDA采用经典的“法规-监管-指导原则”三级监管体系。其下属的生物制品评价与研究中心(center for biologics evaluation and research, CBER)专门设立了组织和先进疗法办公室(office of tissues and advanced therapies, OTAT)对组织、细胞和基因治疗产品进行监管,形成了20余年的再生医学产品监管经验^[14]。法规层面,美国公共健康服务法案(PHS Act 361)第361部分针对自体来源、最小化处理和同源使用的组织细胞产品,第351部分针对异体来源、复杂处理和非同源使用的治疗性细胞产品^[15]。2005年,美国21世纪联邦法案中1271部分(21 CFR 1271)生效,详细规定了组织细胞产品注册、供者筛查、生产过程控制、组织操作规范等内容。人体细胞、组织和细胞/组织治疗产品在21 CFR 1271中定义为含有或由用于植入、移植、输注或转移到人类受体的人体细胞或组织组成的物质。按照风险等级, HCT/Ps被分为需要和不需要上市审批两种类型:仅受361规定的HCT/Ps产品不需要上市前审批,但需上市前在FDA注册,并证明该产品不会导致传染病传播,在临床试验开展过程中FDA也将密切关注,随时对存在非最小化处理和非同源使用的临床试验进行监督^[16]。符合PHS Act 351规定范围的产品必须按照研究型新药申报临床试验

(IND),并需上市前审批(BLA)^[17]。考虑到细胞产品的安全性,20多年来CBER针对供体筛选、移植手术操作、不同组织类型(血液、胰岛、心脏、软骨等)、适应症、偏差处理等各方面都制定了详细的指导原则。综合来看,CBER着重考察干细胞产品的供体来源、原材料质量、生产工艺过程控制和产品的深度质量分析。FDA近期针对再生医学治疗发布的指导原则和概要见表2。

为了促进干细胞治疗的发展,美国FDA在2016年12月出台了21世纪治疗法案,该法案针对再生医学先进疗法(regenerative medicine advanced therapy, RMAT)引入了加快审批程序。对于治疗危重疾病的再生医学疗法,若初步临床证据提示可能解决临床未满足的需求,可以获得RMAT资格认定从而加速审批,缩短整个产品研发时间。这些产品包括细胞治疗产品、治疗性组织工程产品、人体细胞组织产品和某些基因疗法等。截止到2017年12月29日,FDA一共接到43个RMAT认定请求,其中13个获得了RMAT认定授权^[15]。

2.2 欧洲EMA的干细胞产品监管

欧洲药品监督管理局(EMA)将采用新兴技术的医学治疗产品归类为一种特殊药品,即先进治疗医学产品(ATMPs),包括细胞产品、基因产品和组织工程产品等。针对尚未满足临床需求的疾病研发的ATMPs,EMA出台了多种加速审批路径,包括特殊情况(1993)、有条件批准上市(2005)、加速评估(2005)、EMA与FDA平行科学讨论(parallel scientific advice between EMA and FDA)和生产试验批适应性注册项目(the adaptive licensing pilot programme, 2014)等^[18]。审评方式上,EMA鼓励和申请者的早期交流,并与申请者开展合作,对ATMPs产品加速审评,结合实际进行监管。近十年EMA也发布了几个实用性较强的指导原则和回顾性文章,介绍了对细胞产品在药学、非临床、临床研究方面的详细监管考虑,其中一部分列于表3。

2.3 日本PMDA的干细胞产品监管

干细胞治疗产品监管方面,日本位于亚洲前列。2014年9月,日本RIKEN研究所完成了世界首例自体iPS来源的视网膜色素上皮细胞移植治疗黄斑变性^[19],并于2017年完成了首例iPS细胞的异体移植。根据日本法规,“再生医学产品”包括可用于预防或治疗疾病的

表 1 临床试验阶段的干细胞产品

Table 1 The stem cell products in phase I/II/III clinical trials

临床试验发起者	适应症	干细胞种类	临床试验阶段
Tetec AG	膝关节相关疾病	自体软骨细胞	III
Neuralstem Inc.	肌萎缩侧索硬化症	人脊髓来源干细胞	II
Viacyte Inc.	1型糖尿病	hESC来源的胰腺内胚层细胞	I / II
Asterias Biotherapeutics	脊髓损伤	hESC来源的少突胶质前体细胞	I / II
美国德克萨斯大学医学中心	缺血性心肌病	间充质干细胞和心脏干细胞的混合物	II
法国Caen大学医院	眼咽肌营养不良	自体人肌母细胞	II/III
中国科学院动物研究所	干性老年黄斑变性	hESC来源的视网膜色素上皮细胞	I / II
美国国立卫生研究院	严重再生障碍性贫血、骨髓增生异常等	脐带血造血干细胞	I / II
斯坦福大学	膝关节炎	人脂肪间充质干细胞	III

表 2 美国FDA再生医学治疗相关指导原则

Table 2 Regenerative medicine-related guidance documents by FDA

指导原则	概要
人体细胞、组织以及基于细胞和组织产品的偏差报告, 终版(2015)	说明了必须调查和报告HCT/P偏差的人员, 必须报告的内容以及向FDA提交偏差报告的时间. 提供了可报告以及不可报告事件的示例
关于人体细胞、组织、细胞和组织构成产品的监管考虑: 最小化处理和同源性使用, 终版(2017)	提供FDA现有法规中最小化处理和同源性使用的定义, 帮助理解监管标准如何适用于HCT/P. 告知相关方在本指导原则发布的36个月内, FDA将酌情提出某些低风险HCT/P的IND和BLA申请要求
用于再生医学先进疗法(RMAT)的器械评估, 草案(2017)	对再生医学先进疗法需要的医疗器械进行规定, 包括FDA如何简化和优化器械和细胞-组织组合产品申报的监管要求
重大疾病再生医学疗法的加速审批程序, 草案(2017)	提供了快速审批通道和突破性治疗认定方案, 描述了再生医学疗法新的加速审批项目中FDA的审评考虑

表 3 欧盟EMA再生医学治疗相关指导原则和审评考虑

Table 3 Regenerative medicine-related guidance documents and considerations by EMA

指导原则	概要
对已上市先进治疗医学产品的安全性和有效性跟踪评估和风险管控指导原则(EMA/149995/2008)	对于已上市先进治疗医学产品的临床监控, 包括药物警戒、风险管理计划、安全性和有效性跟踪评估等
对体外培养的含有软骨细胞的膝关节软骨修复产品的思考(EMA/CAT/CPWP/568181/2009)	提供了针对含有自体软骨细胞的膝关节软骨修复产品的药学、非临床和临床研究要点
组织工程产品临床试验方面的考虑(EMA/CAT/573420/2009)	对组织工程产品的治疗预期、药代动力学、临床使用剂量、疗效终点、临床试验设计和临床试验安全性方面的考虑
先进治疗医学产品风险评估指导原则(CAT/CPWP/686637/2011)	介绍针对先进治疗医学产品(ATMPs)的风险识别和评估方法

可重构、修复人体结构和功能的细胞或基因治疗方法. 这个概念与欧盟的先进治疗医学产品(ATMPs)类似. 日本将再生医学产品作为第三类产品(非药物和医疗器械)单独管理, 由专门的细胞和组织产品办公室(office of cellular and tissue-based products)审评, 干细胞临床试验计划通过伦理委员会, 经厚生劳动省(min-

istry of health, labor and welfare, MHLW)审评通过方可进行. 目前在日本干细胞临床试验开展较多的为自体骨髓产品、自体外周血产品和自体脂肪组织产品. 日本2014年颁布了再生医学促进法案, 对药品医疗器械法案(PMD. Act)进行了修改以适应再生医学产品特点, 同时颁布了再生医学安全性修订案. 再生医学安

表 4 日本PMDA将再生医学治疗产品按照风险分类举例^[20]

Table 4 Regenerative medicine-related guidance documents and considerations by EMA^[20]

分类	使用细胞举例	治疗案例
I 类(高风险)	诱导多能干细胞(iPSC)、胚胎干细胞(ESC)、 基因编辑细胞	将基因改造后的iPSC细胞分化为视网膜色素 上皮细胞、异体移植
II 类(中风险)	自体成体干细胞	自体间充质干细胞移植治疗肝硬化
III类(低风险)	自体成体细胞	肿瘤免疫疗法

全修订案将再生医学治疗产品按照风险进行了分类^[20], 见表4。列为高风险的产品, 例如使用iPSC细胞的产品, 将递交至MHLW进行为期90天的审评, 审评期间MHLW必须就临床试验方案咨询健康科学委员会(health science council)。再生医学安全性修订案对未按照药品申报的医院日常细胞治疗临床研究也进行了规定, 包括对细胞生产场所和医院内部供者细胞收集、处理、治疗等流程进行了要求。其中规定, 每一个细胞生产场所均应告知PMDA或经PMDA批准或认证。在日本境内的医疗机构进行生产的, 需要告知PMDA。在日本境内的非医疗机构和境外机构进行生产的, 分别需要PMDA认证和批准。细胞生产环境、设备, 细胞制备工艺, 产品质量控制, 检验方法, 储存方式均应符合标准要求。MHLW或PMDA将根据细胞治疗实施的具体情况开展现场检查。与美国政策类似, 日本也设立了优先审评政策, 对治疗危重疾病的再生医学产品设置了有条件有时限批准, 只要产品的安全性能保障且显示初步有效, 即可有条件有时限批准上市, 方便患者尽早使用。上市后在临床使用过程中需评价和证实产品的有效性和安全性, 7年之内再次申请常规审批最终决定是否正式上市或撤市。

指导原则层面, 日本针对人体细胞和组织治疗产品监管建立了系统的指导原则, 包括原材料、良好组织工程操作、质量控制(分别针对自体、异体细胞/组织)等方面。相关指导原则中, 质控方面, 对供体筛选和原材料的控制进行了详细规定, 要求必须满足《生物原材料的标准》(2003年颁布, 2014年修订)。生产工艺方面, 发布了《细胞/组织产品的操作和使用基本原则》(2000)。质量研究方面, 发布了《自体细胞/组织产品质量和安全性保证指导原则》(2008)和《异体细胞/组织产品质量和安全性保证指导原则》(2008), 介绍了对人自/异体成体干细胞、iPS样细胞和胚胎干细胞的质量和安全性方面的考虑要点。安全性评估方面,

发布了《对PSC来源的和以iPSC为原材料的细胞和组织产品致瘤性的评估》(2013)。另外, PMDA针对日本国内研究较多的干细胞品种的审评出台了多个考虑要点指南文件, 包括治疗心力衰竭的细胞层、角膜上皮细胞层、角膜内皮细胞层、关节软骨修复、牙周组织修复、自体/异体iPSC来源的视网膜色素上皮细胞等。

2.4 中国干细胞产品监管

中国目前采用两个途径对“干细胞临床研究”进行监管, 其一是进行干细胞研究机构和临床研究项目的“双备案制”, 由国家药品监督管理局和卫生健康委员会联合管理。截至2018年9月, 完成“双备案”的干细胞研究机构总计102家, 备案开展临床研究项目共计23项。另外一个途径是申请人通过国家药品监督管理局药品审评中心提交药品申报资料进行药品临床试验申请。临床试验申请受理后由药品审评中心进行多专业技术审评, 技术审评通过后可按照拟定方案开展临床研究。经检索从2003年至今, 药监局已经批准了数个干细胞产品进入临床试验, 包括中国医学科学院基础医学研究所的骨髓原始间充质干细胞、北京源和发生物技术有限公司的间充质干细胞脑梗注射液、军事医学科学院野战输血研究所的脐带血巨核系祖细胞注射液、自体骨髓间充质干细胞注射液等^[21~25]。在中国, 随着《细胞治疗产品研究与评价技术指导原则(试行)》的颁布, 已经明确将干细胞产品纳入药品监管范畴。2015年针对中国干细胞临床试验缺乏有效监管文件的局面, 原卫计委和食药监总局制定了《干细胞临床研究管理办法》和《干细胞制剂质量控制及临床前研究指导原则》^[26,27], 对干细胞临床研究和质量控制进行了管理。但是上述指导原则仅提出了细胞治疗产品研发与评价的基本原则, 并未针对干细胞的特性与应用实现分类监管。《细胞治疗产品研究与评价技术

指导原则》^[28]较为详细地提出了细胞治疗产品研发、生产用原材料、制备工艺、质量控制、安全性评价、非临床研究和临床研究方面的要点。但是, 针对于干细胞产品的特定细胞类型、组织操作规范及临床适应症等, 中国监管部门尚未发布细化的指导原则或审评考虑要点。

3 干细胞产品药学评价考虑要点

与传统药品和其他细胞治疗不同, 干细胞产品具有自我更新和分化潜能, 其制备工艺涉及供体组织或细胞的获取、体外操作、移植手术等环节。这是此类产品与传统药物药学研发与评价的最主要区别。

根据现有科学认知和临床经验, 不同来源、不同分化成熟程度的细胞性质差异大, 相应的风险等级也不同。例如, 多潜能干细胞hESC和iPSC的安全性风险显著高于目前临床研究较为深入的成体干细胞(如间充质干细胞和造血干细胞)。同一组织来源的不同分化程度和基因操作程度的细胞产品风险程度也差异较大。移植过程中, 异体来源的细胞产品的安全性评估往往严于自体来源的产品^[17]。自体来源的产品为个体化治疗产品, 存在细胞制备时间/产量质量不能保证、质控标准难以确定等缺点。异体来源产品适用人群广、供者细胞质量相对稳定, 便于进行大批量生产和质量控制, 可相对减少由操作带来的治疗时间延误等问题, 但也存在免疫排斥等安全性问题^[29]。因此监管部门对此类产品评价主要基于风险认知和临床医疗实践积累的研究结果, 结合实际具体分析的审评原则^[15,30,31]。本文将从原材料控制、生产工艺、批次检验放行、细胞效价测定、稳定性方面探讨再生医学产品的药学研究与评价的一般规律。

原材料方面, 首要考虑外源因子的污染风险。供者组织和细胞应建立筛查标准和流程, 对可能引入安全风险的病原体类型(如TSE、HIV)和供者行为进行风险评估^[32]。同时, 对供者应进行身体状况评估和信息回顾, 其健康状况应满足移植需要。在人组织的准备、保存等处理过程中, 应具备防止污染/交叉污染的措施。供体组织获取流程、组织缺血时间、保存方式、运输容器和运输方式均应按照标准操作流程规范操作。生产过程中如使用到病毒包装细胞、滋养层细胞等应建立细胞库, 并按照药典要求进行检定。若使

用了鼠滋养层细胞, 应检定鼠源病毒。建库过程使用的牛血清和猪源胰酶等试剂应检测牛源病毒、猪源病毒等。细胞库的传代稳定性应包括不同代次细胞的倍增时间、核型分析等, 必要时应检定逆转录病毒和致癌性^[33]。生产过程中加入的所有试剂, 包括生长因子、培养基等, 均应经过检验并具有质量检验报告。对于非药用研究级试剂, 特别是一些磁珠、抗体、重组蛋白等, 应确定无外源病毒污染, 纯度和效价合格, 从而保证安全性。

生产工艺方面, 干细胞类产品的生产环境、人员、设备、物料、操作和偏差处理等方面均应遵从GMP规范。自体细胞产品应具有规范的编码和标记系统等防止不同病人细胞混淆的措施。干细胞产品的操作过程通常为适应于研究需要而留取适度的调整空间, 细胞磁珠分离、离心收集、病毒转导和流式细胞检测等所有操作应建立标准操作流程, 确保操作可重复, 生产工艺稳定可控。干细胞培养的关键工艺参数主要包括细胞倍增时间、细胞密度、培养代次、灌流/微流器流速^[34]、培养基更换频率、细胞培养pH和溶解氧等, 这些参数与干细胞的干性维持和分化状态密切相关^[35,36]。细胞生产通常采取连续生产方式, 应保证全过程无菌, 因此开放式培养的细胞污染风险高于密闭系统培养。培养过程中设备的清洁度和耗材的材质、生物相容性等对细胞产品的安全性有着重要影响。另外, 细胞培养的时长应设立合理范围, 防止时间过短细胞数量不足或过度扩增导致干细胞的增殖分化能力偏移。干细胞终产品的终末分化细胞和干细胞/祖细胞的比例应控制至适合研究需要及培养操作应允的合理范围。由于个体差异, 自体细胞产品的批间一致性较难保证, 针对不同个体的产品剂量往往有差异, 但应具备合理计算依据, 需要在研究积累中逐步缩小变异, 提高产品预见性, 保证治疗的有效性和安全性。细胞产品申报临床时应具有初步工艺验证的结果, 后续应对偏差、差错情况进行总结, 临床试验期间和上市后应持续进行工艺验证, 临床阶段工艺变更应基于改进操作过程, 提高产品质量, 保障安全性和有效性。

质量研究和质量控制通常包括细胞特性、功能、纯度和安全性等方面^[37]。细胞产品的质量控制应从起始原材料开始, 在严格筛选基础上, 采用过程控制与终产品检验放行相结合的研究策略。细胞的安全性检测是基础, 常规项目应包括无菌、支原体、内毒素和

外源病毒检测等。根据《中国药典》方法, 支原体和无菌检测一般需要较长的检测周期, 因此终产品若制备后需尽快使用, 应建立快速放行检测方法, 并留样用于回顾性复核检测。在此情况下过程控制里中间品的检测对于终产品质量保证至关重要。Holoclar产品的质控提示, 最好能对生产全过程设立多个检测时间点, 增强过程中间控制。终产品放行检测中, 应对终产品的纯度和杂质(如磁珠等非细胞颗粒)进行分析, 建立与临床疗效和安全性相关的检测项目^[38]。细胞特性方面, 干细胞产品的鉴别包括形态观察(定性和定量)、活性细胞的表面标志物鉴定(流式细胞术和免疫荧光等方法)^[39]、基因蛋白表达谱分析等, 美国FDA推荐对一种细胞进行不止一个标志物的检测。如造血干细胞的表面标志物表达谱可一定程度上表征细胞体内分化能力和功能^[40]。对于存在多种活性细胞成分或不同分化阶段细胞类型的产品, 可检测其主要细胞类型的表面标志物, 确定主要细胞组成和纯度。在特定情况下, 干细胞产品中主要活性细胞的纯度并非越高越好, 因为其他细胞类型的存在及辅助性作用有可能提高主要活性细胞的分化能力和功能^[41]。根据FDA相关指导原则, 终产品的细胞活力通常要求大于70%。功能方面, 干细胞产品的效价(potency)测定比较复杂。大多数产品的细胞数量有限、货架期较短, 而细胞活性往往需要从多个作用机制层面评价, 需开发多种方法, 常常难以获取足够数量细胞进行多种检验方法的开发和验证。同时由于细胞异质性和患者个体差异, 建立细胞产品的参比品也较困难。因此效价检测方法和放行标准是

细胞制剂药学评价的难点。目前细胞产品多采用直接或间接生物活性测定方法。在EMA发布的人体细胞医疗产品的指导原则(EMEA/CHMP/410869/2006)中, 可以基于关键标志物的表达水平进行细胞活性评估, 包括细胞表面标志物、激活因子和基因表达谱等, 也可使用能够模拟临床上组织修复/再生的动物模型进行体内实验对细胞活性进行评价。此外, 特定条件下的生理响应, 如细胞分化为特定细胞类型和组织特异性蛋白(细胞外基质)的分泌也可作为细胞活性的评价方式。自体细胞的个体差异显著, 应建立相对稳定的效价检测方法, 合理设定效价限度, 同时应尽可能建立体外活性和临床效果之间的联系。干细胞产品申报临床时, 尚处于早期研发阶段, 较难确定关键质量属性, 放行检测标准由研发者根据产品生产经验和临床需要制定, 以能够表征产品的安全性和有效性为最终目的^[42]。其中, 三种常见干细胞的质量研究项目见表5。

稳定性研究方面, 申请人在干细胞产品申请临床试验的各阶段应提供细胞制剂的稳定性数据, 包括生产过程相关物料(如病毒、胶原蛋白膜等)的稳定性和终产品的稳定性。稳定性研究计划应包括产品的无菌、鉴别、纯度、效价等指标, 研究可采取渐进式方法。临床I期实验中, 应关注产品的细胞活力、鉴别和无菌检测, 明确从生产放行到患者使用时间段中产品质量稳定。冻存的中间细胞和终产品应合理设定有效期。产品的运输稳定性研究主要针对细胞收集场地到生产地址期间的运输过程和生产地址至临床使用地点之间的运输过程。应关注运输中产品无菌、细胞活

表5 胚胎干细胞、诱导多能干细胞、间充质干细胞的质量标准

Table 5 The specifications of embryonic stem cells, induced pluripotent stem cells and mesenchymal stem cells

质量标准	胚胎干细胞 ^[43]	诱导多能干细胞 ^[44,45]	间充质干细胞 ^[46]
鉴别	细胞形态、STR、同工酶、细胞标志物(流式细胞法)、种属鉴定及种属间细胞交叉污染检测、染色体核型检查(计数、G显带)	同胚胎干细胞	细胞形态、STR图谱分析、染色体核型分析(G带、FISH等)、细胞因子分泌、细胞标志物等
干性及多能性检测	碱性磷酸酶染色、免疫荧光和PCR法检测多能性基因(<i>Oct4</i> , <i>Sox2</i> , <i>Klf4</i> , <i>c-Myc</i> , <i>Nanog</i> 等)的表达; 类胚胎分化能力、畸胎瘤分化能力、外胚层分化能力、中胚层分化能力、内胚层分化能力	碱性磷酸酶染色、免疫荧光和PCR法检测多能性基因; 类胚胎分化能力、畸胎瘤分化能力, 向三个胚层分化能力	阳性指标CD73, CD90, CD105, CD29, 阴性指标CD34, CD45, CD19, CD14, HLA-DR; 根据不同适应症选择: 成软骨、成骨、成肌、成血管、成脂诱导分化潜能(例如成软骨能力表征包括微球形成、阿辛蓝染色等)、免疫调控能力等
活性	细胞存活率、细胞群体倍增时间和生长曲线、端粒酶活性等		
安全性	细菌、真菌、支原体检查, 细胞内、外源因子检查, 内毒素检测, 致瘤性分析, 载体拷贝数(诱导多能干细胞)		

力、细胞是否聚集等情况和运输的时间、温度记录情况。

4 结语

随着干细胞基础科研与临床转化的突破,国际上干细胞产品的监管经验逐渐丰富,至今已有十余种干细胞产品按照药品上市。中国的干细胞基础科研具备国际领先水平,近年来国内干细胞产业发展迅速^[47],多个干细胞产品已经在临床上展现出了较好的应用前景^[25]。如何通过规范性技术指导文件促进干细胞产业健康发展,将干细胞治疗按照药品规范管理^[27],已经成为行业关注的焦点。

结合国内外干细胞产品研发与监管现状,目前中国的干细胞研究具备较好的科研基础,但其产业化开发与欧、美、日、韩等地区存在明显差距。因此,药品监管部门应在此类产品“临床转化”过程中扮演更为重要的角色,鼓励研究者将此类产品按照“药品”进

行规范研究与临床试验。一方面,提前介入并规范指导干细胞产品的研发过程,对临床急需的产品实行“优先审评”,加快干细胞药物的研发和临床转化。另一方面,应对缺乏可靠的风险控制措施、存在明显临床风险的干细胞临床研究及时叫停,最大程度保证受试者的安全。此外,技术评价部门可借鉴国外相关指导原则,尤其是对已上市干细胞产品的评价与监管经验,针对近期国内干细胞产品申报热点(间充质干细胞等),明确并公开技术评价要点。例如,药学评价突出结合产品特点(自体/异体、多能干细胞/成体干细胞、体外操作改变/转化等),综合临床价值及研发阶段进行要求等^[37]。当前,随着中国进入老龄化人口社会,临床上对于再生医学产品的需求日益增强,干细胞产品在此领域具有显著的治疗优势。相信随着中国药品审评审批改革的深入,通过基础科研、工业界和监管方的三方合力,越来越多的干细胞产品会按照“药品”进行研发与监管,最终应用临床惠及广大病患。

参考文献

- 1 Zhang J P, Cheng T, Zhang X B. Hematopoietic stem cell gene therapy: progress and challenges (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2017, 47: 1323–1335 [张健萍, 程涛, 张孝兵. 造血干细胞基因治疗: 进展与挑战. *中国科学: 生命科学*, 2017, 47: 1323–1335]
- 2 Mason C, Dunnill P. A brief definition of regenerative medicine. *Regen Med*, 2008, 3: 1–5
- 3 Zang L, Cheng Y, Mu Y M. Basic and clinical study of stem cell treatment for diabetes mellitus in China (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2018, 48: 909–916 [臧丽, 程愈, 毋义明. 我国干细胞治疗糖尿病的基础与临床研究. *中国科学: 生命科学*, 2018, 48: 909–916]
- 4 Pellegrini G, Ardigò D, Milazzo G, et al. Navigating market authorization: the path Holoclar Took to become the first stem cell product approved in the European Union. *Stem Cell Transl Med*, 2018, 7: 146–154
- 5 Rama P, Matuska S, Paganoni G, et al. Limbal stem-cell therapy and long-term corneal regeneration. *New Engl J Med*, 2010, 363: 147–155
- 6 Schimmer J, Breazzano S. Investor outlook: rising from the ashes; GSK's European approval of Strimvelis for ADA-SCID. *Hum Gene Ther Clin Dev*, 2016, 27: 57–61
- 7 Krampera M, Galipeau J, Shi Y, et al. Immunological characterization of multipotent mesenchymal stromal cells—the International Society for Cellular Therapy (ISCT) working proposal. *Cytotherapy*, 2013, 15: 1054–1061
- 8 Kurtzberg J, Prockop S, Teira P, et al. Allogeneic human mesenchymal stem cell therapy (remestemcel-L, Prochymal®) as a rescue agent for severe refractory acute graft-versus-host disease in pediatric patients. *Biol Blood Marrow Tr*, 2014, 20: 229–235
- 9 Locatelli F, Algeri M, Trevisan V, et al. Remestemcel-L for the treatment of graft versus host disease. *Expert Rev Clin Immunol*, 2017, 13: 43–56
- 10 Hare J M, Traverse J H, Henry T D, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-escalation study of intravenous adult human mesenchymal stem cells (prochymal) after acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*, 2009, 54: 2277–2286
- 11 Brittberg M, Recker D, Ilgenfritz J, et al. Matrix-applied characterized autologous cultured chondrocytes versus microfracture: five-year follow-up of a prospective randomized trial. *Am J Sports Med*, 2018, 46: 1343–1351
- 12 Vanlauwe J, Huylebroek J, Van Der Bauwhede J, et al. Clinical outcomes of characterized chondrocyte implantation. *Cartilage*, 2012, 3: 173–180
- 13 Konishi A, Sakushima K, Isobe S, et al. First approval of regenerative medical products under the PMD act in Japan. *Cell Stem Cell*, 2016, 18: 434–435

- 14 Fink D W. FDA regulation of stem cell-based products. [Science](#), 2009, 324: 1662–1663
- 15 Marks P, Gottlieb S. Balancing safety and innovation for cell-based regenerative medicine. [New Engl J Med](#), 2017, 378: 954–959
- 16 Charo R A, Sipp D. Rejuvenating regenerative medicine regulation. [New Engl J Med](#), 2018, 378: 504–505
- 17 Witten C M, McFarland R D, Simek S L. Concise review: The U.S. food and drug administration and regenerative medicine. [Stem Cell Transl Med](#), 2015, 4: 1495–1499
- 18 Corbett M S, Webster A, Hawkins R, et al. Innovative regenerative medicines in the EU: a better future in evidence? [BMC Med](#), 2017, 15: 49
- 19 Kamao H, Mandai M, Okamoto S, et al. Characterization of human induced pluripotent stem cell-derived retinal pigment epithelium cell sheets aiming for clinical application. [Stem Cell Rep](#), 2014, 2: 205–218
- 20 Konomi K, Tobita M, Kimura K, et al. New Japanese initiatives on stem cell therapies. [Cell Stem Cell](#), 2015, 16: 350–352
- 21 Pei X T. Stem cell and regenerative medicine research in Academy of Military Medical Sciences: retrospect and prospect (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2011, 41: 827–831 [裴雪涛. 军事医学科学院干细胞与再生医学研究回顾与展望. *中国科学: 生命科学*, 2011, 41: 827–831]
- 22 Cyranoski D. Trials of embryonic stem cells to launch in China. [Nature](#), 2017, 546: 15–16
- 23 Xu L, Chen H, Chen J, et al. The consensus on indications, conditioning regimen, and donor selection of allogeneic hematopoietic cell transplantation for hematological diseases in China—recommendations from the Chinese Society of Hematology. [J Hematol Oncol](#), 2018, 11: 33
- 24 Na T, Wang L, Hao J, et al. The quality control studies on human embryonic stem cells-derived retinal pigment epithelial cells (in Chinese). *Chin Bull Life Sci*, 2018, 3: 248–260 [纳涛, 王磊, 郝捷, 等. 人胚胎干细胞来源的视网膜色素上皮细胞质量控制研究. *生命科学*, 2018, 3: 248–260]
- 25 Zhu H, Hao J, Zhou Q, et al. Clinical-grade stem cell bank and stem cell products (in Chinese). *Chin Bull Life Sci*, 2016, 8: 895–901 [祝贺, 郝捷, 周琪, 等. 临床级干细胞库及干细胞制剂. *生命科学*, 2016, 8: 895–901]
- 26 Cyranoski D. China announces stem-cell rules. [Nature](#), 2015
- 27 Yuan B Z. The law-regulation-guidance regulatory system for stem cell-based medicinal products (in Chinese). *Chin Bull Life Sci*, 2016, 28: 949–956 [袁宝珠. 干细胞的“法规-监管-指导原则”体系. *生命科学*, 2016, 28: 949–956]
- 28 Center for drug evaluation, National Medical Products Administration, technical guidance for the research and review of cell therapy products. 2017 [CDE. 细胞治疗产品研究与评价技术指导原则. 2017]
- 29 Viganò M, Giordano R, Lazzari L. Challenges of running a GMP facility for regenerative medicine in a public hospital. [Regen Med](#), 2017, 12: 803–813
- 30 Kuriyan A E, Albini T A, Townsend J H, et al. Vision loss after intravitreal injection of autologous “stem cells” for AMD. [New Engl J Med](#), 2017, 376: 1047–1053
- 31 Neofytou E, O’Brien C G, Couture L A, et al. Hurdles to clinical translation of human induced pluripotent stem cells. [J Clin Invest](#), 2015, 125: 2551–2557
- 32 Food and Drug Administration, HHS. Eligibility Determination for Donors of Human Cells, Tissues, and Cellular and Tissue-Based Products. Final rule. Guidance for Industry. 2007
- 33 FDA. Guidance for human somatic cell therapy and gene therapy. *Hum Gene Ther*, 1998, 9: 1513–1524
- 34 Inamdar N K, Borenstein J T. Microfluidic cell culture models for tissue engineering. [Curr Opin Biotech](#), 2011, 22: 681–689
- 35 Chen L, Gage B K, Webber T D, et al. Initial cell seeding density influences pancreatic endocrine development during *in vitro* differentiation of human embryonic stem cells. [PLoS ONE](#), 2013, 8: e82076
- 36 Gao H, Li W. The day after the 7th day of the Creation: Breakthrough of human embryo *in vitro* culture (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2017, 3: 341–344 [高晖, 李卫. 创世之后: 人类胚胎离体培养的突破. *中国科学: 生命科学*, 2017, 3: 341–344]
- 37 Liu B N, Cao Y, Lu J Q, et al. Regulatory perspective for chemistry manufacturing and controls considerations in chimeric antigen receptor-modified T cell therapy (in Chinese). *Acta Pharmaceutica Sinica*, 2018, 53: 1637–1644 [刘伯宁, 曹越, 卢加琪, 等. 嵌合抗原修饰T细胞药理学评价的思考. *药学报*, 2018, 53: 1637–1644]
- 38 Clarke D, Harati D, Martin J, et al. Managing particulates in cellular therapy. [Cytotherapy](#), 2012, 14: 1032–1040
- 39 Kelly O G, Chan M Y, Martinson L A, et al. Cell-surface markers for the isolation of pancreatic cell types derived from human embryonic stem cells. [Nat Biotechnol](#), 2011, 29: 750–756
- 40 Lund T C, Boitano A E, Delaney C S, et al. Advances in umbilical cord blood manipulation—from niche to bedside. [Nat Rev Clin Oncol](#), 2015, 12: 163–174

- 41 Sneddon J B, Borowiak M, Melton D A. Self-renewal of embryonic-stem-cell-derived progenitors by organ-matched mesenchyme. *Nature*, 2012, 491: 765–768
- 42 Lipsitz Y Y, Timmins N E, Zandstra P W. Quality cell therapy manufacturing by design. *Nat Biotechnol*, 2016, 34: 393–400
- 43 Na T, Hao J, Zhang K H, et al. Quality assessment of seed cells of human embryonic stem cells to be used in clinical studies (in Chinese). *Chin Bull Life Sci*, 2016, 7: 731–742 [纳涛, 郝捷, 张可华, 等. 临床研究用人胚胎干细胞“种子细胞”的质量评价. *生命科学*, 2016, 7: 731–742]
- 44 Hayakawa T, Aoi T, Umezawa A, et al. A study on ensuring the quality and safety of pharmaceuticals and medical devices derived from processing of autologous human induced pluripotent stem(-like) cells. *Regen Ther*, 2015, 2: 81–94
- 45 Li X, Wang J Q, Zhou Q. Review of somatic cell reprogramming (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2016, 46, 4–15 [李鑫, 王加强, 周琪. 体细胞重编程研究进展. *中国科学: 生命科学*, 2016, 46: 4–15]
- 46 Sun R T, Chen Y Y, Wang H, et al. Preparation and qualification of umbilical cord-derived mesenchymal stem cells (in Chinese). *Chin Med Biotechnol*, 2013, 8: 401–417 [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. *中国医药生物技术*, 2013, 8: 401–417]
- 47 Gu Q, Wang J, Wang L, et al. Accreditation of biosafe clinical-grade human embryonic stem cells according to Chinese regulations. *Stem Cell Rep*, 2017, 9: 366–380

Research progress and regulatory perspectives for stem cell-based regenerative medicine products

LU JiaQi, LIU BoNing & LUO JianHui

Center for Drug Evaluation, China Drug Administration, Beijing 100022, China

Advances in stem cell therapy have led to the surge of regenerative medicine products for treating severe diseases worldwide in the recent years. Stem cells are capable of self-renewal and differentiation, and regenerative medicine products are remarkably complex and varied in their manufacturing processes including methods for cell culture, induction of differentiation and engraftment. The outcomes of the clinical trials of stem cell products also bear uncertainty partly due to the disparities among patients. Therefore it is challenging for the drug administrative agencies to regulate stem cell products. In this article, we review the research progress of the licensed stem cell-based products in the USA, Europe and Japan, along with the regulations and guidance documents of FDA, EMA and PMDA. We also summarize the considerations in evaluating the Chemistry, Manufacture and Control section of stem cell product applications. We hope our effort would contribute to the establishment of science-based regulatory policy in China, and provide the insights for the development and evaluation of regenerative medicine products.

regenerative medicine products, stem cell, mesenchymal stem cell, embryonic stem cell, induced pluripotent stem cell, cell therapy, drug evaluation

doi: [10.1360/N052018-00138](https://doi.org/10.1360/N052018-00138)