

人体细胞治疗研究和制剂质量控制技术指导原则

一、序言

体细胞治疗是指应用人的自体、同种异体或异种（非人体）的体细胞，经体外操作后回输（或植入）人体的治疗方法。这种体外操作包括细胞在体外的传代、扩增、筛选以及药物或其他能改变细胞生物学行为的处理。经过体外操作后的体细胞可用于疾病的治疗，也可用于疾病的诊断或预防。体细胞治疗具有多种不同的类型，包括体内回输体外激活的单个核白细胞如淋巴因子激活的杀伤细胞（LAK）、肿瘤浸润性淋巴细胞（TIL）、单核细胞、巨噬细胞或体外致敏的杀伤细胞（IVS）等等；体内移植体外加工过的骨髓细胞或造血干细胞；体内接种体外处理过的肿瘤细胞（瘤苗）；体内植入经体外操作过的细胞群如肝细胞、肌细胞、胰岛细胞、软骨细胞等等。

由于体细胞治疗的最终制品不是某一种单一物质而是一类具有生物学效应的细胞，其制备技术和应用方案具有多样性、复杂性和特殊性，因此不能象一般生物制品那样制订出适合于每一种方案的具体标准，本指导原则只提出一个共同的原则，具体的申报资料和应用方案应根据本技术指导原则加以准备、申请和实施。对每个方案的整个操作过程和最终制品必须制定并严格执行（实施）标准操作程序，以确保体细胞治疗的安全、有效。

二、申报资料

（一）体细胞治疗制剂的名称、选题目的与依据、国内外研究现状或生产使用情况

1. 申请表
2. 体细胞治疗制剂的名称及命名依据
3. 选题的目的和立题依据
4. 国内外有关该制剂的研究现状、生产及临床应用情况（包括专利查询情况）
5. 临床应用的风险性评估

（二）体细胞的采集、分离和检定

1. 体细胞类型和供体的情况

（1）体细胞类型

须指出细胞来源是属于自体、同种异体、异种还是细胞系。必须提供细胞的组织来源及细胞类别的确证资料，其中包括形态生化或表面标志等。

（2）供体

若体细胞来源于同种异体，需说明供体的年龄、性别，供体必须符合国家对献血员的要求，并提供测试的方法及符合条件的依据。供体必须经过检验证明 HBV 抗原、抗 HCV、抗 HIV-1/2、梅毒抗体、细菌、霉菌均为阴性，必要时需说明供体的既往病史、家族史等临床资料。对于那些需通过激活体内免疫功能发挥作用或需体细胞在体内长期存活的体细胞治疗项目，除 ABO 血型外，还必须对供体做 HLA-I 类和 II 类分型检查，并证明与受体（病人）相匹配，同时提供检测方法和依据。

若体细胞来源于动物，必须提供动物的来源，遗传背景，健康证明（如重要病原体，包括人畜共患疾病的病原体），饲养条件，应用此类体细胞的必要性和安全性。

（3）细胞系

若采用细胞系进行体细胞治疗，应按国家相关规定进行主细胞库、种子细胞库及生产细胞库三级细胞库的建立及管理。应详细记述细胞的来源、鉴别标志、保存、预计使用寿命，在保存和复苏条件下稳定性的依据。生产细胞库不应含有可能的致癌因子，不应含有感染性外源因子，如细菌、霉菌、支原体及病毒。

2. 体细胞的采集

应对采集体细胞的技术方法的安全性、可行性、稳定性进行充分论证，应提供体细胞采集技术的标准操作程序，应说明采集体细胞的地址/环境，所用的设备和设施、保存和运输的环节和条件，预防微生物及病毒等有害因子污染的方法，预防共用设备和设施可能带来的交叉污染等措施。

3. 体细胞的分离

应详细规定分离体细胞用的方法、材料及设备，应提供在此过程中所用的各种材料的资料，如果是购买的原材料，应有供应商/制造商提供的产品说明及分析合格证明。

当应用单克隆抗体进行有关操作时，应参照国家药品管理局有关规定进行。

4. 体细胞的检定

在体细胞采集及分离过程中的适当阶段，应对体细胞进行质控检定，包

括采集与分离体细胞的收率、存活率、纯度、均一性等。应详细说明检定体细胞所用的方法、材料及设备，并制定合格标准。

（三）体细胞的体外操作

1. 培养基

（1）所有成分应有足够纯度（例如水应符合注射用水标准），残留的培养基或受者不应有明显影响。每个培养细胞的部门应保证所用的各种成分的质量都经过鉴定，并制定标准规格。若用商业来源的培养基，应由厂商提供全部培养基成分资料。

（2）血清的使用

除能证明体细胞培养或激活需要血清外，应避免使用任何血清。不得使用同种异体人血清或血浆。如必须使用动物血清，应考虑每批血清都应对潜在的外源因子（包括人的病原体）进行检查、筛选。例如，牛血清应进行病毒和支原体污染的检查筛选等。

（3）人血液成份的应用

若培养基中含有人的血液成份，如白蛋白及转铁蛋白，应说明其来源、批号、质量检定合格报告，应尽可能用已批准上市的产品。

（4）条件培养基的应用

在体细胞培养中使用细胞培养来源的条件培养基时，有可能增加了制剂的危险性及降低产品的一致性。因此，尽可能确定条件培养基的必要成份，以及尝试用确定的试剂取代条件培养基。在应用条件培养基时应考虑以下几点：

①应详细提供条件培养基的来源、加工及使用说明。

②当用供者（人）细胞制备条件培养基时，应对供者按献血员标准进行传染因子的检查。

③当用自体细胞制备条件培养基时，应减少传播病毒性疾病的危险，病毒在体外扩增的能力亦应考虑。

（5）抗生素的应用

培养基中尽量避免使用内酰胺类抗生素。若采用青霉素类抗生素，应做青霉素皮试，该细胞制剂应标明加用的抗生素，并不得用于已知对该药过敏的患者。另外，应做不加抗生素的培养对照，以证明能够保持无菌。

(6) 其他成份

应充分说明体细胞培养和激活时所采用的有丝分裂原、抗体、细胞因子、化学物质，以及培养物。应尽可能采用国家批准临床应用的产品。如上述成份的生产厂家已获国家批准临床应用，可以引用该批件。如上述成份的生产厂家未获国家批准临床应用，应参照国家对相应产品的质控要点，提供质量标准，并对每批产品提供详尽的质量检定报告。

(7) 培养基的检定

对每批制成的培养基（例如已加入血清及生长添加物等）应进行无菌试验，以及对拟给病人用的体外培养细胞的激活及/或支持生长试验。

2. 生产过程

生产部门对制备工艺流程应有详细的标准操作程序和适时修订的程序。收获时应保留细胞及培养基样品，供检定用。若细胞培养技术有改进，则应评估对细胞得率、生物学效应、均一性及纯度的影响。

应叙述保证细胞批同一性和防止交叉污染的质量控制系统，以及适用于长期培养时定期进行的和在体外培养后输注前对所有培养物进行的质量控制系统。

3. 质量控制

应对所有成份分离、培养及最后处理细胞所用的器具进行质量控制。各种成份都应进行同一性及污染物检查。有生物活性的成份还应进行功能检定。批记录应予保存，该记录应反映制备每批体细胞的所有步骤，记载每一成份的批号及所有检定结果。

(四) 体细胞制剂的检定与质量控制

各批体细胞的检定包括为验证操作过程对最初数批体细胞所进行的检定及在操作过程做任何改变后进行的检定，以及确定安全性和生物学效应等对每批体细胞所进行的检定，应依据实施方案制定合格标准。

1. 每批体细胞的检定

(1) 得率及存活率：于回输前应进行体细胞得率及存活率检定。

(2) 每批细胞来源的确认：应注明供者的来源并加以标记或确定批号。

(3) 无菌试验：每批培养的体细胞在患者输注前均应进行无菌试验。建议在培养开始后 3~4 天起每间隔一定时间取培养液样品，包括患者回输前 24

小时取样，按现行版《中国药典》生物制品无菌试验规程进行。在患者使用前，取培养液及/或沉淀物用丫啶橙染色或革兰染色，追加一次污染检测。

进行长期培养的体细胞，应进行支原体检查。对大多数自体体细胞产品而言，有效期很短，因此有些试验（如支原体检测）可能对制品的应用来说耗时太长，但每批制品的留样检测是必需的，其结果可以为制品的质量控制提供完整资料。虽然单个病人应用的体细胞不会等到检测完成后再回输，但是如果留样发现阳性结果或发现几次阳性结果后，应及时对生产过程进行检查。如果在体细胞制备的早期发现有污染的情况，应终止该批体细胞制品的继续制备。如果某些检测结果在制品应用时还无结果，应说明可获得结果的时间。

（4）体细胞的纯度与均一性

在体细胞回输前，应证明其纯度和均一性已达到可应用水平。

对于经过数代培养的体细胞应进行细胞的鉴定及无污染检查，以保证未被其他类型细胞污染或取代。

对于体细胞体外操作中所用的非人用成份应测定其成品中的含量，并制定相应的限量指标。

（5）生物学效应

如有可能，应尽量检测每批体细胞的生物学效应，例如体细胞具有的某种生物学功能，分泌某种产物的能力，表达某种标志的水平等。

2. 体细胞制剂的检定（申报临床前完成）

检定项目：

（1）体细胞制品的得率和存活率：

（2）体细胞制品的纯度和均一性或特征性表面标志：

（3）体细胞制品的生物学效应；

（4）体细胞制品外源因子的检测包括：

- 细菌
- 真菌
- 支原体
- 病毒
- 内毒素

(5) 体细胞制品其他添加成份残余量的检测（如牛血清蛋白、抗体、血清、抗生素、固相微粒等）。

3. 体细胞制剂的制造及检定过程，及原始记录和中国药品生物制品检定所的复核检定报告。

4. 体细胞制剂的稳定性

根据稳定性的实验结果确定有效期，说明体细胞制剂的保存条件、保存液的成份与配方。如果体细胞在处理之前、处理当中或处理之后需由一地运到另一地，应说明运输条件对保存体细胞存活率和功能的影响，应确保运输过程中体细胞制品达至上述检定标准。应提供运输容器能适用运输材料的合格证明。若体细胞制品经冻存后继续用于病人。应在冻融或再扩增后进行上述检定，达到检定标准。

(五) 体细胞治疗的临床前试验

1. 安全性评价

(1) 生长因子依赖性细胞，对其生长行为必须予以监测，若某细胞株在传代过程中失去对该生长因子的依赖，不能再予以使用。

(2) 对同种异体细胞的移植，必须从免疫学方面提供其安全性依据。

(3) 对异种细胞，必须提供该异种细胞在体内存活的时间及安全性的依据。

(4) 毒性试验

尽可能模拟临床回输方式，高于临床用量的相同组织类型的动物体细胞制品回输入动物体内，观察其毒性反应、过敏反应、局部刺激反应。对特殊来源的体细胞，按具体情况制定毒性反应的评价方法。

(5) 致癌试验

对于某些长期培养的体细胞，应进行致癌性试验。

①体外试验：软琼脂克隆形成试验

②体内试验：采用裸鼠试验，按国家药品监督管理局有关细胞株检定和质量控制要求进行，应证明经体外处理后已失去生长和增殖能力。

(6) 对于体细胞终制品所用的附加物，应视为体细胞制品的一部分，应做动物毒性试验。

2. 有效性评价

(1) 体细胞的表型

应提供该类体细胞的形态学、表面标志等，该体细胞应具有预期的功能如分泌某种产物（或因子），可通过体外试验加以检测。

(2) 体外试验

检测体细胞制品的生物学效应如细胞毒效应、免疫诱导/增强或抑制效应、造血细胞增殖能力等。

(3) 体内试验

如果有可能以动物模型来进行，临床前试验应测定体细胞制品在体内生物学功能及其治疗效果。

若某种体细胞治疗方法，因种属特异性等原因无法用动物模型体内试验来证实其有效性，应做特别说明，并提供和引证有效性的其它依据。

(六) 体细胞治疗临床试验方案

1. 临床试验方案除参照国家有关临床研究的规定外，必须包括所选用的病种、病人的年龄范围、性别、疾病的发展阶段（临床分期）、试用的病例数、事前制定病例选择与淘汰的标准。

2. 给药的方式、剂量、时间及疗程。如果通过特殊的手术条件导入治疗制品，必须提供详细的操作过程。

3. 评估疗效的客观标准，包括临床指和实验室检测项目。

4. 评估毒副作用及其程度的标准及终止治疗的标准、以及监控毒副作用必须的临床与实验室检测的项目。

(七) 研制及试用单位及负责人资格认证

提供研究与临床单位的全部主要研究人员和临床工作人员（包括负责医师、护士和实验室操作人员）的工作简历及从事与实施该项体细胞治疗方案有关的经验。提供研究单位从事符合 GMP 生产临床制品的条件和证明以及临床单位实施该方案的医疗条件。

(八) 体细胞治疗伦理学考虑

详细要求参见国家药品监督管理局颁发的 GCP 有关规定。