

ICS

CCS 点击此处添加中国标准文献分类号

团体标准

T/CMEAS XXXX-XXXX

临床级人脐带间充质干细胞细胞库建库的 质量控制管理规范

Quality control and management practices for establishing a clinical
grade human umbilical cord mesenchymal stem cell library

（征求意见稿）

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

中国医药教育协会发布

目 次

前言 II

1 范围 1

2 规范性引用文件 1

3 术语和定义 1

4 质量控制基本要求 2

 4.1 场地与设施 2

 4.2 设备和耗材 3

 4.3 人员管理 3

 4.4 生命伦理 3

5 操作规范 4

 5.1 样本采集 4

 5.2 样本运输 4

 5.3 样本接收 5

 5.4 人脐带间充质干细胞分离与培养 5

 5.5 人脐带间充质干细胞换液 5

 5.6 人脐带间充质干细胞传代 6

 5.7 人脐带间充质干细胞冻存 6

 5.8 人脐带间充质干细胞复苏 7

 5.9 人脐带间充质干细胞制剂制备 7

 5.10 人脐带间充质干细胞运输 7

6 质量控制 7

 6.1 质控内容 7

 6.2 质控分类 10

附录 A（规范性）样本捐献供者知情同意书 11

附录 B（规范性）人脐带供者健康信息采集表 12

附录 C（规范性）临床级人间充质干细胞质量控制检测表 13

参考文献 15

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些部分可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由北京兴德通医药科技股份有限公司提出。

本文件由中国医药教育协会归口。

本文件起草单位：中国医学科学院组织工程研究中心、中国科学院生物物理研究所、首都医科大学附属北京同仁医院、中日友好医院、武汉大学中南医院、浙江大学医学院附属第一医院、中国医学科学院血液病医院、郑州大学第一附属医院、安徽医科大学第一附属医院、武汉大学人民医院、青岛大学附属医院、河北中石油中心医院、北京兴德通医药科技股份有限公司、北京瑗格干细胞科技有限公司、微能生命科技集团有限公司、北京吉源生物科技有限公司、海南国际医药创新联合基金会、中国医药教育协会临床研究工作委员会。

本文件主要起草人：梁潇、张爱玲、赵春华、殷勤伟、赵秀丽、黄建英、李立杰、安文强、彭爽、卢小伟、薛冰华、李莎莎、尹侃、李润泽、杨永革、李薇、刘爽、郝祖慧、郑伟燕、赵妍敏、姜尔烈、宋永平、曹伟杰、王伟、杨明珍、金凤波、黄絮、陈国忠、赵娟。

声 明：本文件的知识产权归属于中国医药教育协会，未经中国医药教育协会同意，不得印刷、销售。任何组织、个人使用本文件开展认证、认定等活动应经中国医药教育协会批准授权。

临床级人脐带间充质干细胞细胞库建库的质量控制管理规范

1 范围

本文件规定了临床级人体来源脐带间充质干细胞库相关的生命伦理、临床级人脐带间充质干细胞库建设、机构设置、操作规范和安全管理的的基本方法。

本文件适用于人体来源脐带间充质干细胞细胞库建库的质量控制管理，不适用于基因改造的人体来源脐带间充质干细胞。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

- GB 3095 环境空气质量标准
- GB 19489 实验室 生物安全通用要求
- GB 50346 生物安全实验室建筑技术规范
- GB 50457 医药工业洁净厂房设计标准
- GB 50591 洁净室施工及验收规范

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

临床级人脐带间充质干细胞 `clinical grade human umbilical cord mesenchymal stem cells`
符合质量要求，可用于临床研究和应用的人脐带间充质干细胞。

3.2

伦理审查委员会 `ethical review committee`
负责对科学研究中涉及的伦理道德问题进行评估和审查的专门组织。

3.3

科学审查委员会 `scientific review committee`
负责对生物样本采集和使用的方案进行科学性审查的专门组织。

3.4

知情同意 `informed consent`

具有完全民事行为能力的自然人在重复获取信息并准确理解其内容后，作出接受或不接受样本采集的决定，此决定不受恐吓、利诱或其他不当行为的影响。

3.5

样本 specimen

在特定时间从受试者或捐献者中采集的器官、组织、细胞等样本。

3.6

样本采集 harvest

从供体获得组织、细胞等生物样本的过程。

3.7

人脐带间充质干细胞 human umbilical cord mesenchymal stem cells

从人体组织脐带分离得到,也可通过分化或转分化等方式获得的一类贴壁培养后呈成纤维细胞样形态(纺锤形和梭形)、可在体外自我更新并具有成骨、成脂、成软骨等分化能力的干细胞。

3.8

人脐带间充质干细胞分离 isolation of amplification of human umbilical cord mesenchymal stem cells

从供者脐带中分离出间充质干细胞的过程。

3.9

人脐带间充质干细胞制备 preparation of amplification of human umbilical cord mesenchymal stem cells

人脐带间充质干细胞从新鲜组织样品分离,经过一系列规范处理达到入库标准的过程。

3.10

人脐带间充质干细胞冻存 cryopreservation of human umbilical cord mesenchymal stem cells

使人脐带间充质干细胞暂时脱离生长状态而保存其干细胞特性的低温冷冻过程。

3.11

人脐带间充质干细胞复苏 thawing human umbilical cord mesenchymal stem cells

使人脐带间充质干细胞从脱离生长状态重新获得生长活力的过程。

3.12

干细胞制剂 stem cell-based medicinal products

用于治疗疾病或改善健康状况的、以某种类型干细胞为主要成分、符合相应质量及安全标准、且具有明确生物学效应的干细胞制品。

3.13

干细胞质量控制 stem cell quality control

为达到临床级人脐带间充质干细胞入库质量要求所采取的操作技术和管理程序。

4 质量控制基本要求

4.1 场地与设施

4.1.1 临床级人脐带间充质干细胞制备机构选址应符合 GMP 要求，空气质量标准应符合 GB 3095 标准分级二级标准。

4.1.2 临床级人脐带间充质干细胞制备机构实验室或厂房应由具有洁净实验室设计建设资质的工程公司设计与建造，并应符合 GB 19489、GB 50457、GB 50591 规定。建设完成后，各功能区域的洁净级别应由专业机构进行检测并出具合格证明。

4.1.3 干细胞制备功能区应按临床级人脐带间充质干细胞制备工艺进行各区域设计，符合 GMP 和《干细胞制剂质量控制及临床前研究指导原则》要求。干细胞制备机构应配备独立质量检测实验室，并符合 GB 19489、GB 50346 规定。

4.2 设备和耗材

4.2.1 临床级人脐带间充质干细胞的制备机构应优先选用符合 GMP、《干细胞通用要求》和《干细胞制剂质量控制及临床前研究指导原则》要求，获得国家资质认证的设备、仪器、耗材和试剂。

4.2.2 临床级人脐带间充质干细胞的制备机构应对设备、仪器、耗材和试剂供应商进行资质审核认证，要求供应商提供产品质量报告和批次检验报告，并对耗材及试剂进行质量抽检，避免采购质量不合格的产品。

4.2.3 临床级人脐带间充质干细胞的制备机构设备和仪器正式使用前应做安装确认（IQ）、运行确认（OQ）和性能确认（PQ），并定期进行第三方校准，不得使用有安全隐患的仪器操作样本及细胞制品。

4.2.4 临床级人脐带间充质干细胞的制备机构应对设备与仪器进行编号建档，并建立标准操作流程（SOP），确保使用、运行、保养、维修记录完整可追溯，对于关键工艺相关设备参数应进行实时监测，及时对状态异常的设备进行校对和维修。

4.3 人员管理

4.3.1 临床级人脐带间充质干细胞制备机构应分别设立干细胞制备负责人、质量管理负责人和质量授权人岗位。由法人授权任命，任职资质应符合 GMP 和《干细胞制剂质量控制及临床前研究指导原则》要求，定期接受岗位专业培训，制备技术负责人与质量管理负责人、质量授权人不得相互兼任。

4.3.2 临床级人脐带间充质干细胞制备和质控技术人员应具备的健康要求：HBsAg 和针对 HAV、HCV、HIV 及梅毒的抗体检测应为阴性，并且（矫正）视力正常，无色盲、色弱。

4.3.3 临床级人脐带间充质干细胞制备和质控技术人员须半年接受体检一次，有呼吸道感染或发热等疾病状态下不得进入洁净操作区，需完全康复后方可恢复岗位操作。

4.3.4 临床级人脐带间充质干细胞制备和质控技术人员上岗前应经过专业培训，内容包括但不限于干细胞理论与实践、生命伦理、干细胞法律法规、GMP 管理、GCP 资质、制剂基本知识、细胞培养基础、生物安全、仪器设备使用与维护方法、物料管理与清洁卫生、岗位职责、操作规范等内容。

4.4 生命伦理

4.4.1 临床级人脐带间充质干细胞制备机构应成立伦理审查委员会，伦理审查委员会由医药学、伦理学、法学等专家以及无利害关系的社区代表等人员组成，负责相关伦理问题的审查和评价。同时应按照国家法律法规和行业要求，建立干细胞伦理准则和相应的伦理操作规范，以保护样本提供者的权益和安全。

4.4.2 临床级人脐带间充质干细胞制备机构应设有科学审查委员会。科学审查委员会应由生物和医学领域的专家组成，负责对生物样本采集和使用的方案进行科学性审查。

4.4.3 临床级人脐带间充质干细胞制备机构应设有生物安全评审委员会。生物安全评审委员会应由生物学家、医务人员、技术人员和实验室管理人员等各方面的专家或工作人员组成，制定符合《WHO 生物

安全手册》和 GB 19489 规定的生物危害评估方案、生物安全事故应急预案等安全管理措施；负责人脐带间充质干细胞制备的生物安全政策和安全操作规范的审查，避免不必要的操作，保护供者及样本安全。

4.4.4 临床级人脐带间充质干细胞制备机构的工作人员应当对风险及收益进行有效评估，确保样本提供者或其近亲属对项目信息在当时科学技术条件下充分知情、形成全面和准确的认识，自愿做出是否同意采集样本的决定，并签署知情同意书。样本捐献供者知情同意书应符合附录 A 的规定。

4.4.5 采集人员、医务人员、制备质控操作人员和管理人员应当对样本提供者的个人信息采取保密措施，防止有意或意外泄露，若确需提供信息，需要经有关申请程序并提交伦理委员会批准同意方可实施。违反法律规定的，应依法追究民事责任、行政责任和刑事责任。

5 操作规范

5.1 样本采集

5.1.1 供者健康

5.1.1.1 临床级人脐带间充质干细胞采集制备方应对人脐带供者夫妻双方的基本信息与健康信息进行详细采集与记录，同时做好对供者的隐私保护，相关记录存档保留至少 30 年。

5.1.1.2 人脐带供者夫妻双方应无血液系统疾病、内分泌系统疾病、恶性肿瘤史、性传播疾病及高危人群史、吸毒史、一般传染性疾病或其他遗传疾病；HIV、HBV、HCV、TP、HTLV、EBV 与 CMV 抗体与核酸检测应为阴性。供者夫妻双方健康调查和采集登记表应符合附录 B 的规定。

5.1.2 采集场所

5.1.2.1 人体组织样本的采集场所或环境一般为洁净手术室，无菌采集。

5.1.2.2 新生儿脐带血、脐带样本的采集场所应达到Ⅱ级标准洁净手术室要求。

5.1.3 采集方法

5.1.3.1 新生儿脐带血采集方法：新生儿脐带血采集应由经严格专业培训的护士或助产士职称以上医务人员进行操作；待新生儿娩出后，断脐结扎。用蘸有 75%医用酒精的消毒纱布快速擦拭胎盘远端脐带；采血针穿刺消毒部位脐静脉，引流脐带血至脐带血采集袋，待采集的脐血管塌陷、发白后或脐带血停止流动时即可结束采集；旋紧采血袋软管旋塞，或做热合密封处理，并贴上条形码作为唯一标识。

5.1.3.2 新生儿脐带组织采集方法：新生儿脐带组织采集应由经严格专业培训的护士或助产士职称以上医务人员进行操作；胎儿娩出后，在距胎儿脐部 5cm 至 8cm 处，用止血钳分别夹住脐带上下两端，用蘸有 75%医用酒精的消毒纱布擦拭脐带，消毒剪刀于两钳中间断脐；胎盘端方向取至少 15cm 无针孔的脐带，手术线结扎脐带样本两端，截取脐带样本置于无菌采集瓶中，同时加入样本保存液以浸没脐带组织；采集瓶密闭包装，并贴条形码作为唯一标识。

5.2 样本运输

5.2.1.1 样本运输人员应是经过专业培训合格的人员，对样本运输应制定规范及应急预案，并对样本运输全程做记录，包括但不限于运输的方式、条件、路径、时间、人员、地址及样本信息，相关记录存档保留至少 30 年。

5.2.1.2 样本运输过程中须防渗漏、防辐射、抗震动、耐压、耐热等，样本包装需贴上条形码作为唯一标识。

5.2.1.3 样本运输须采用平稳、安全、快速的运输途径。

5.2.1.4 新生儿脐带（血）或胎盘样本的运输温度为 2℃~8℃，运输时间不超过 12 小时。

5.3 样本接收

5.3.1.1 样本接收人员应是经过专业培训合格的人员，应遵从安全与准确的原则对样本接收制定规范及应急预案，并对样本接收过程进行记录，相关记录存档保留至少 30 年。

5.3.1.2 样本接收时应注意：

- 样本接收时，接收人员应做好自我防护工作，接触样本之前应佩戴手套与口罩，并对接收场所进行消毒。
- 接收样本后应先观察样本容器外包装的外观，检查有无破损。
- 检查外观后，工作人员应检查样本采集信息记录表是否齐全，同时确认记录表上信息是否填写完整，检查信息记录表信息是否与样本信息一一对应，样本及记录表上应贴有一致对应的条形码，做到样本与供者信息相对应，确认无误后进行接收。
- 样本接收后，使用 75%医用酒精消毒清理容器外表面，如不能及时对样本进行处理，需把样本保存在 2℃~8℃条件下，最长时间不超过 12 小时。
- 样本量应能够满足制备和检测的最低要求。
- 样本接收后应及时将信息反馈给样本发送方。
- 间充质干细胞制备方应制定样本拒收标准，按照样本拒收标准处理样本，并及时通知有关部门或负责人，同时做好相应记录。

5.4 人脐带间充质干细胞分离与培养

5.4.1 基本要求

临床级人脐带间充质干细胞分离与培养的基本要求如下：

- 临床级人脐带间充质干细胞分离与培养应在符合 GMP、《干细胞通用要求》和《干细胞制剂质量控制及临床前研究指导原则》要求的车间内进行。
- 所有操作需事先制定标准规范，由经专业培训的技术人员严格遵照执行，并进行记录登记，相关记录存档保留至少 30 年。
- 分离与培养过程中应标识干细胞的名称、代次、批次、操作日期、培养条件、操作人员姓名等信息。
- 所使用试剂应尽量采用符合国家 GMP、《中华人民共和国药典》2020 版、《干细胞通用要求》和《干细胞制剂质量控制及临床前研究指导原则》要求的药品辅料或已获批的药品，应出具产品质量合格报告，并对各批次试剂进行质量抽检。
- 尽可能避免人源或动物源性血清及蛋白，不得使用同种异体人血清或血浆。如必须使用动物血清，应确保其无特定动物源性病毒污染。如果使用人血白蛋白，应使用获得国家药品监督管理部门批准的人用药品。严禁使用海绵体状脑病流行区来源的牛血清。
- 细胞制备过程中不得使用青霉素或 β -内酰胺（ β -Lactam）类抗生素。

5.4.2 分离与培养方法

新生儿脐带组织剥取华通氏胶，以组织块贴壁法或胶原酶消化法分离新生儿脐带间充质干细胞。采用贴壁法进行新生儿脐带间充质干细胞原代培养。

5.5 人脐带间充质干细胞换液

5.5.1 临床级人脐带间充质干细胞换液操作需严格遵照 GMP、《干细胞通用要求》和《干细胞制剂质量控制及临床前研究指导原则》要求，保证无外源微生物污染，相关操作均进行记录并存档保存至少 30 年。

5.5.2 换液时间及频次需根据人脐带间充质干细胞生长情况及培养基状态进行判断，以保障人脐带间充质干细胞生长所需营养物质水平，并消除代谢物毒害作用。

5.5.3 换液操作时吸弃培养瓶中原有的部分或全部培养液，再加入新鲜培养液。首次换液需要在镜下观察到原代细胞完全贴壁和延展后方可进行。

5.5.4 培养基成分应符合临床级人脐带间充质干细胞分离与培养基本要求，尽量采用已获国家批准的临床级产品或药品辅料。

5.6 人脐带间充质干细胞传代

5.6.1 临床级人脐带间充质干细胞传代操作应严格遵照 GMP、《干细胞通用要求》和《干细胞制剂质量控制及临床前研究指导原则》要求，保证无外源微生物污染，相关操作均进行记录并存档保存至少 30 年。

5.6.1.1 临床级人脐带间充质干细胞资源库三级库

三级细胞库管理包括细胞种子、主细胞库（MCB）及工作细胞库（WCB）的管理。主细胞库（MCB）最多不得超过两个细胞代次。工作细胞库（WCB）必须限定为一个细胞代次。MCB 和 WCB 必须在 GMP 车间内完成。

细胞库系统的建立、维护和检定应符合《中华人民共和国药典》三部（2020 版）生物制品通则：生物制品生产检定用动物细胞基质制备及质量控制的要求。

细胞库中细胞基本的质量要求，是需有明确的细胞鉴别特征，无外源微生物污染。

5.6.1.2 临床级人脐带间充质干细胞资源库二级库

在某些特殊情况下，也可采用细胞种子及主细胞库（MCB）二级管理，但须得到国家药品监督管理部门的批准。主细胞库（MCB）最多不得超过两个细胞代次。MCB 必须在 GMP 车间内完成。

细胞库系统的建立、维护和检定应符合《中华人民共和国药典》三部（2020 版）生物制品通则：生物制品生产检定用动物细胞基质制备及质量控制的要求。

5.6.2 人脐带间充质干细胞一般在达到 80%~90%融合度可进行传代操作，传代操作应密度适宜、及时，迅速。

5.6.3 传代所使用消化酶应符合临床级人脐带间充质干细胞分离与培养的基本要求，尽量采用国家已批准的临床级产品。如必须使用动物源性消化酶，应确保其无特定动物源性病毒污染。

5.7 人脐带间充质干细胞冻存

5.7.1 临床级人脐带间充质干细胞冻存操作应严格遵照 GMP、《干细胞通用要求》和《干细胞制剂质量控制及临床前研究指导原则》要求，保证无外源微生物污染，相关操作均进行记录并存档保存至少 30 年。

5.7.2 操作注意事项如下：

——经制备数量达到冻存要求的人间充质干细胞系可进行冻存操作，冻存细胞需加入适当的冻存保护液，遵循程序降温原则，并在液氮中进行保存。

——冻存液成分应符合临床级人脐带间充质干细胞分离与培养的基本要求，尽量采用国家已批准的临床级产品或药品辅料，二甲基亚砷含量不得超过 10%，如必须使用动物源性血清，应确保其

无特定动物源性病毒污染，严禁使用海绵状脑病流行区来源的牛血清。

- 冻存细胞应标明干细胞名称、培养条件、代次、批次、操作人员、冻存日期等信息，并具有唯一标识。
- 液氮冻存应使用符合要求的液氮容器，气相冻存，由专人负责，保证液氮充足，温度恒定。

5.8 人脐带间充质干细胞复苏

5.8.1 临床级人脐带间充质干细胞复苏操作应严格遵照 GMP、《干细胞通用要求》和《干细胞制剂质量控制及临床前研究指导原则》要求，保证无外源微生物污染，相关操作均进行记录并存档保存至少 30 年。

5.8.2 操作注意事项如下：

- 自液氮容器中取出装有脐带间充质干细胞的冻存管，迅速核对信息并检查盖子是否旋紧。
- 将冻存管立即投入 37℃ 水浴锅中，轻摇冻存管使其在 1 分钟内全部融化，消毒剂擦拭冻存管外部，移入无菌操作台内。
- 快速转移干细胞悬液至含有培养基的无菌离心管内，离心洗涤至少 2 次，加入新鲜培养基重悬细胞，混合均匀，转移至培养瓶，置于 CO₂ 培养箱培养。
- 复苏细胞应标明细胞名称、代次、批次、培养条件、操作人员，复苏时间等信息。

5.9 人脐带间充质干细胞制剂制备

5.9.1 临床级人脐带间充质干细胞制剂制备应严格遵照 GMP、《干细胞通用要求》和《干细胞制剂质量控制及临床前研究指导原则》要求，保证无外源微生物污染，相关操作均进行记录并存档保存至少 30 年。

5.9.2 临床级人脐带间充质干细胞制剂主要成分应为质量合格的临床级人脐带间充质干细胞，其余成分应符合《中华人民共和国药典》2020 版对药品辅料的要求，并避免对人间充质干细胞的渗透压、状态、功能等特性产生影响。

5.9.3 临床级人脐带间充质干细胞制剂制备完成到临床使用前应在 2-8℃ 洁净条件下暂存，保存时间不应超过 12 小时。使用前干细胞制剂应为均质状态，无明显絮状沉淀，细胞存活率 ≥ 90%。

5.10 人脐带间充质干细胞运输

5.10.1 根据干细胞的使用要求，选择合适的承载细胞的容器、运输方式、运输条件、运输设备和运输路线，由专人负责，制定保障措施，保证临床级人脐带间充质干细胞生物学特性、安全性、稳定性和有效性。

5.10.2 运输条件的控制应包括但不限于温度范围、振荡、无污染、设备性能和包装等。

5.10.3 干细胞的运输应全程记录，包括但不限于干细胞运输的方式、条件、路径、时间、人员、地址及干细胞信息等，记录存档保存至少 30 年。

6 质量控制

6.1 质控内容

6.1.1 各级细胞库应检测的内容

临床级人脐带间充质干细胞资源库主细胞库应进行细胞鉴别、细菌/真菌检查、分枝杆菌检查、支原体检查、内外源性因子病毒检测（细胞形态观察及血吸附实验、体外不同细胞接种培养法、动物体内接种法、逆转录病毒检查、种属特异性外源病毒因子的检查、牛源性病毒检测、猪源性病毒检测、其他特定病毒的检测）、染色体检查、成瘤性检查、致瘤性检查等相关检测。临床级人脐带间充质干细胞资

源库工作细胞库应进行细胞鉴别、细菌/真菌检查、分歧杆菌检查、支原体检查、内外源性因子病毒检测（细胞形态观察及血吸附实验、体外不同细胞接种培养法、牛源性病毒检测、猪源性病毒检测、其他特定病毒的检测）、染色体检查、成瘤性检查、致瘤性检查等相关检测。生产终末细胞应进行细胞鉴别、细菌/真菌检查、分歧杆菌检查、支原体检查、内外源性因子病毒检测（细胞形态观察及血吸附实验、体外不同细胞接种培养法、动物体内接种法、逆转录病毒检查、牛源性病毒检测、猪源性病毒检测、其他特定病毒的检测）、染色体检查等相关检测。

6.1.2 临床级人脐带间充质干细胞生物学特性

6.1.2.1 细胞形态检测

显微镜下观察，人间充质干细胞漩涡状贴壁生长，呈长梭形纤维细胞样，形态均一。

6.1.2.2 表面标志物检测

采用流式细胞术进行测定，人间充质干细胞表面标志物 CD73、CD90、CD105 阳性率不低于 95%；CD14、CD31、CD34、CD45、HLA-DR 阳性率不高于 2%。

6.1.2.3 分化能力检测

采用体外条件培养基诱导培养下，人脐带间充质干细胞应能够分化为成脂肪、骨、软骨细胞。成脂分化经油红 O 染色法鉴定，成骨分化经茜素红染色法鉴定，成软骨分化经阿尔辛蓝染色法鉴定。

6.1.2.4 染色体核型检测

采用 G 带分析法进行测定，人脐带间充质干细胞染色体数量为 46（含 XX/XY），无染色体缺失、异位和重排现象。

6.1.2.5 免疫调节功能检测

采用 ELISA 技术和流式细胞术测定经炎症因子（IFN- γ 与 TNF- α ）诱导后人间充质干细胞中吲哚胺 2, 3-双加氧酶（IDO）的表达和功能，以及对于活化的人总淋巴细胞的增殖和对不同淋巴细胞亚群增殖能力的影响。临床级人间充质干细胞经诱导应表达 IDO，并可抑制人淋巴细胞增殖。

6.1.3 临床级人脐带间充质干细胞安全性

6.1.3.1 无菌检测

参照《中华人民共和国药典》2020 年版四部通则 1101 无菌检查法执行，对临床级人脐带间充质干细胞样本采集、运输、分离、培养、冻存、复苏等生产制备环节进行留样（保存液、清洗液、培养基上清、冻存液等）检测。细菌和真菌检测结果都应为阴性。

6.1.3.2 分歧杆菌检测

6.1.3.2.1 参照《中华人民共和国药典》2020 年版三部生物制品生产检定用动物细胞基质制备及质量控制中规定取至少 107 个活细胞用培养上清液制备细胞裂解物，按照无菌检查法（通则 1101）进行分歧杆菌检查。

6.1.3.2.2 取细胞裂解物接种于适宜的固体培养基（如罗氏培养基或 Middlebrook 7H10 培养基），每个培养基接种 1ml 并做 3 个重复，并同时以不高于 100CFU 的草分歧杆菌菌液作为阳性对照。将接

种后的培养基置于 37℃ 培养 56 天，阳性对照应有菌生长，接种供试品的培养基未见分枝杆菌生长，则判为合格。

6.1.3.3 支原体检测

参照《中华人民共和国药典》2020 年版四部通则 3301 支原体检查法执行，对临床级人脐带间充质干细胞样本采集、运输、分离、培养、冻存、复苏等生产制备环节进行留样（保存液、清洗液、培养基上清、冻存液等）检测。支原体检测结果都应为阴性。

6.1.3.4 细胞内外源致病因子检测

采用血清 ELISA 检测法或核酸检测法，对临床级人脐带间充质干细胞样本采集、运输、分离、培养、冻存、复苏等生产制备环节进行留样（保存液、清洗液、培养基上清、冻存液、细胞等）检测。HIV 抗体、HBsAg、HCV 抗体、TP 抗体、CMV-IgM、HTLV 抗体、HPV 抗体、HHV 抗体、EBV 抗体检测应为阴性；HCV、HBV、HIV 病毒核酸检测应为阴性。

6.1.3.5 内毒素检测

参照中国药品检验标准操作规程 2019 年版细菌内毒素检查法执行，对临床级人脐带间充质干细胞样本采集、运输、分离、培养、冻存、复苏等生产制备环节进行留样（保存液、清洗液、培养基上清、冻存液等）检测。各类样本中的内毒素检测值应 ≤ 0.5 EU/mL。

6.1.3.6 异常免疫学反应检测

采用流式细胞术以及 ELISA 技术测定异体来源人脐带间充质干细胞对于活化的人总淋巴细胞的增殖和对不同淋巴细胞亚群增殖能力的影响，以及对淋巴细胞相关细胞因子分泌的影响。淋巴细胞亚群应无异常增殖，细胞因子表达水平应无异常增加。

6.1.3.7 致瘤性检测

采用免疫缺陷动物（裸鼠或 SCID 鼠），通过局部或静脉方式接种人脐带间充质干细胞，评价人脐带间充质干细胞致瘤性。体内致瘤试验严格遵照动物伦理要求执行，单只小鼠接种人脐带间充质干细胞数量 ≥ 106 细胞/kg，观察期 ≥ 12 周。临床级人脐带间充质干细胞应无致瘤性。

6.1.3.8 培养基及其他添加成分残余量检测

参照《中华人民共和国药典》2020 年版三部生物制品中抗生素及牛血清白蛋白（BSA）残留量检查法执行。临床级人脐带间充质干细胞制剂内应无抗生素残留，BSA 残留量应 < 50 ng/mL。

6.1.4 临床级人脐带间充质干细胞稳定性

6.1.4.1 存活率检测

采用台盼蓝拒染法进行细胞存活率测定，各代数及批次临床级人脐带间充质干细胞活细胞比例 $\geq 90\%$ 。

6.1.4.2 生长活性检测

通过检测细胞倍增时间、细胞周期、克隆形成率以及端粒酶活性对人脐带间充质干细胞生长活性进行测定，各代数及批次临床级间充质干细胞应处于指数生长期，G0 期细胞数 $\leq 10\%$ ，具有端粒酶活性。

6.1.4.3 细胞纯度和均一性检测

采用人脐带间充质干细胞表面标志物流式检测以及人基因组 DNA 短片段重复序列（STR）测序进行检定。各代数及批次临床级人脐带间充质干细胞表面标志物表达应符合流式检测比例要求，单一细胞系的临床级人脐带间充质干细胞各代数及批次细胞 STR 检测结果应保持一致。

6.1.4.4 生物学有效性

采用体外条件培养基诱导培养下，人脐带间充质干细胞应能够分化为成脂肪、骨、软骨细胞。成脂分化经油红 O 染色法鉴定，成骨分化经茜素红染色法鉴定，成软骨分化经阿尔辛蓝染色法鉴定。

6.2 质控分类

6.2.1 批次质量检验

临床级人脐带间充质干细胞制备机构应对由同一供体、同一组织来源、同一时间、使用同一工艺采集和分离获得的干细胞制剂进行例行批次质量检验。当制备工艺、耗材、试剂、场地或规模等条件发生时，制备机构应对多批次干细胞制剂进行质量检验，确保工艺和质量稳定合格，记录入档保存至少 30 年。质量控制检测表应符合附录 C 的规定。

6.2.2 放行质量检验

每一批次临床级人脐带间充质干细胞制剂在临床使用前应在完成例行质量检验的基础上，由干细胞临床研究机构质检平台进行快速和简化的质量检测，应包括但不限于活率、细胞表型、细菌、病毒、支原体和内毒素含量等，确认制剂合格后方可申请临床放行使用。相关记录报告应入档保存至少 30 年。

6.2.3 复核质量检验

临床级人脐带间充质干细胞制备机构应对每一批次干细胞制剂单独留样保存，详细记录批号、代数、生产日期、来源等信息。定期由国家或地方相关部门授权的专业细胞检验机构或实验室进行临床级人脐带间充质干细胞制剂的质量复核检验，并出具检验报告，入档保存至少 30 年。复核质量检验报告出具时间应在该批次临床级人脐带间充质干细胞制剂提出临床放行申请之前，并作为放行检验参考。

附 录 A

(规范性)

样本捐献供者知情同意书

样本捐献供者知情同意书应符合表 A.1 的要求。

表 A.1 样本捐献供者知情同意书

如有问题或疑问可与下列人员联系

如您对样本采集有任何问题，请联系：

项目负责人：XXX，电话：XXXXXXXXXX

如果您对您的权利有任何疑问，请联系：

伦理审查委员会负责人：XXX 电话：XXXXXXXXXX

同意：是/否

姓名：出生：_____年_____月

请仔细阅读以下内容，并慎重考虑。如果同意，请签名：

我同意：

- 提供_____样本；
- 将从我所提供的样本分离间充质细胞，并进行扩增，并用于病人；
- 扩增的间充质细胞，冷冻保存，经过相应机构批准方可用于病人；
- 我的样本所产生的间充质干细胞及其所获得的临床数据可被不同类型的研究机构应用、研究，其中包括公司；我同意不在此产生的具有商业价值的产品中获利；
- 一旦样本被收集，我将无法取回样本或从科学数据库中取回有关样本的信息。

我已经阅读相关材料的内容，对于所产生的问题询问了有关人员，并得到答复。我知道提供样本是我自己的选择。

志愿者签名_____ 日期_____

志愿者收到复印件：_____是/否

附 录 B

(规范性)

人脐带供者健康信息采集表

人脐带供者健康信息采集表应符合表 B.1 的要求。

表 B.1 人脐带供者健康信息采集表

采集样本			
信息编码		采样日期	
参与者信息			
姓名	年龄/出生日期		
国家民族	过往疾病	☐ 有_____ ☐ 无	
身份证号码	联系电话		
联系地址	联系邮箱		
法定监护人信息			
姓名	年龄/出生日期		
国家民族	过往疾病	☐ 有_____ ☐ 无	
身份证号码	联系电话		
联系地址	联系邮箱		
化验结果			
血型	☐ A ☐ B ☐ O ☐ AB	RH	☐ + ☐ -
血常规	Hb(血红蛋白) g/L; WBC(白细胞) $\times 10^9/L$; PLT(血小板) $\times 10^9/L$		
HBsAg(乙肝表面抗原)	☐ + ☐ -	HBcAb(乙肝核心抗体)	☐ + ☐ -
HCV-Ab(丙肝抗体)	☐ + ☐ -	Anti-HIV(艾滋病抗体)	☐ + ☐ -
ALT(谷丙转氨酶)	☐ 正常 ☐ 异常	AST(谷草转氨酶)	☐ 正常 ☐ 异常
CMV-LGM (巨细胞病毒LGM抗体)	☐ + ☐ -	梅毒血清	☐ + ☐ -
地中海贫血 (参与者/产妇/配偶)	☐ + ☐ -	G-6PD 缺乏症 (参与者/产妇/配偶)	☐ + ☐ -
备注			

附 录 C
(规范性)

临床级人间充质干细胞质量控制检测表

临床级人间充质干细胞质量控制检测表应符合表 C.1 的要求。

表 C. 1 临床级人间充质干细胞质量控制检测表

检测项目	取样时间点	样品名称及数量	检测内容	检测结果	检测人信息	备注信息
细胞形态			采用显微镜进行镜检			
细胞鉴别			采用流式细胞术检测 细胞表面标志物			
细胞活率			台盼蓝拒染法检测			
生长活性			采用细胞计数、流式细胞术和端粒酶酶活试剂盒检测细胞倍增时间、克隆形成率、细胞周期，和端粒酶活性			
染色体核型			采用 G 带分析法进行测定			
纯度及均一性			采用流式细胞术和基因组STR测序技术进行测定			
无菌性检测			细菌和真菌检测			
分枝杆菌			分枝杆菌检测			
支原体检测			支原体检测			
细胞内外源致病因子检测			HIV 抗体、HBsAg、HCV 抗体、TP 抗体、CMV-IgM、HTLV 抗体、HPV 抗体、EBV 抗体检测；HCV、HBV、HIV 病毒核酸检测			
内毒素检测			采用鲎试剂盒检测法进行检定			
培养基及其他添加成分残余量			采用ELISA 和试剂盒测定BSA及抗生素残留			
异常免疫学反应			采用流式细胞术以及ELISA 技术进行测定			

			对人淋巴细胞增殖及 因子表达影响			
致瘤性检测			裸鼠或SCID 鼠体内致 瘤性试验			
分化潜能检测			成脂、成骨、成软骨三 向分化实验			
免疫调节能力			采用ELISA 技术和流 式细胞术进行测定IDO 表达及对人淋巴细胞 增殖的调节作用			

参考文献

- [1] 《药物临床试验质量管理规范》
 - [2] 《药品经营质量管理规范》
 - [3] 《中华人民共和国药品管理法》
 - [4] 《医疗卫生机构开展研究者发起的临床研究管理办法（试行）》
 - [5] 《人源性干细胞及其衍生细胞治疗产品临床试验技术指导原则（试行）》
 - [6] 《细胞治疗产品研究与评价技术指导原则（试行）》
 - [7] 《药品生产质量管理规范-细胞治疗产品附录》
 - [8] 《人源干细胞产品药学研究与评价技术指导原则（试行）》
 - [9] 《人源干细胞产品非临床研究技术指导原则（征求意见稿）》
 - [10] 《细胞治疗产品研究与评价技术指导原则（试行）》
-