

团体标准

《干细胞外泌体载药技术规范》

（征求意见稿）

编制说明

标准起草工作组

2024年5月

一、工作简况

（一）任务来源

根据2024年全国标准化工作要点，加强质量支撑和标准引领，深入推进国家标准化发展纲要各项重点任务实施，以标准有力引领现代化产业体系建设，推动标准化更好服务经济社会高质量发展。依据《中华人民共和国标准化法》和《团体标准管理规定》（国标委联[2019]1号）的相关要求，中国商业经济学会批准立项并联合相关单位共同制定《干细胞外泌体载药技术规范》团体标准。

（二）制定背景

干细胞外泌体技术是一种新兴的生物技术，利用干细胞外泌体（一种由干细胞释放的微小囊泡）作为药物递送载体，具有独特的优势，如更强的增殖能力、极低的免疫原性和来源方便等。该技术已在免疫调节、组织修复、促进造血、再生医学等多个领域展现出潜在的治疗作用。随着干细胞外泌体技术的不断发展，其在医药领域的应用前景日益广阔。据统计，全球已开展数百项与干细胞外泌体相关的临床试验，涉及骨关节炎、肺损伤、糖尿病等多种疾病的治疗。同时，干细胞外泌体在美容抗衰领域也显示出巨大的应用潜力。

制定标准《干细胞外泌体载药技术规范》的目的和意义主要体现在以下几个方面：

一、规范行业操作：通过制定具体的操作流程、质量控制和检验方法，为干细胞外泌体载药技术的研发和应用提供标准化的指导，确保行业内的操作符合统一规范。

二、提升产品质量：通过规定外泌体的制备、纯化、载药以及质量控制等关键环节的技术要求，确保干细胞外泌体载药产品的质量和安全性，降低不良事件的发生率。

三、保障患者权益：规范化的干细胞外泌体载药技术可以确保患者使用的产品安全有效，保障患者的权益和利益。

四、促进技术创新：鼓励企业按照规范进行技术创新和研发，推动干细胞外泌体载药技术的不断进步，以满足日益增长的临床需求。

五、加强行业合作与交流：通过制定标准，加强行业内部的合作与交流，

共同推动干细胞外泌体载药技术的健康发展。

（三）起草过程

3.1 标准研制阶段

2023年12~2024年3月，起草组通过企业调研，了解企业实际生产情况，并组织收集、整理相关标准化资料、专业文献等，经成分分析、研讨、论证后编写完成《干细胞外泌体载药技术规范》立项申请书及标准框架相关内容，并向中国商业经济学会提出标准立项申请。

3.2 标准立项阶段

2024年3月18日，中国商业经济学会正式发布了《干细胞外泌体载药技术规范》团体标准立项通知，并在全国团体标准信息平台进行公示。

3.3 标准起草阶段

2024年3~2024年5月，依据《中华人民共和国标准化法》、《国务院关于深化标准化工作改革方案》等文件的要求，按照团体标准的制修订程序组织有关技术人员成立标准起草工作组，通过相关信息化手段进行多次内容讨论和交流，并向相关单位和专家咨询，在广泛听取各方意见和充分论证的基础上，对标准初稿进行了完善和修改后经起草组确认，同意作为征求意见稿，公开征求意见。

二、编制原则

在标准制定过程中，标准起草工作组按照GB/T 1.1—2020 给出的规则编写，主要遵循以下原则：

（1）协调性：保证标准与国内现行国家标准、行业标准协调一致。

（2）规范性：严格按照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》给出的规则起草，保证标准的编写质量。

（3）适用性：结合生产企业管理实践和产品的主要环境影响，提出对企业产品的具体质量要求和生产经营规范。

三、主要技术内容及其确定依据

本文件规定了干细胞外泌体及载药技术的术语和定义、制备工艺流程、技

术要求、检测方法、质量控制、安全与环保要求。

本文件适用于干细胞外泌体载药技术的研发及检测。

本文件给出了干细胞外泌体的术语和定义。将干细胞外泌体定义为：由干细胞分泌的小囊泡，直径通常在30~150纳米之间，携带多种生物活性分子，包括蛋白质、核酸和脂质等，可在细胞间传递信息和影响靶细胞的功能。

制备工艺流程

a) 干细胞培养与扩增

选取适合的干细胞来源，如胚胎干细胞或诱导多能干细胞，进行体外培养。利用适当的培养基和培养条件，如控制温度、湿度、气体组成等，使干细胞增殖扩增。

b) 干细胞分化与外泌体收集

通过添加特定的生长因子或培养条件，促使干细胞向特定细胞类型分化。在分化过程中，干细胞会释放出外泌体，通过离心、超滤或其他分离技术收集这些外泌体。

c) 外泌体纯化与鉴定

通过进一步离心、过滤或色谱等方法纯化收集到的外泌体，去除杂质和细胞碎片，随后对外泌体进行鉴定，包括形态观察、粒径分析、蛋白质标志物检测等，确保其符合外泌体的特征。

d) 药物装载

将所需药物与外泌体混合，在一定的条件下进行孵育，使药物被外泌体有效装载。装载过程中需控制药物的浓度、孵育时间和温度等参数。

e) 装载后处理与储存

药物装载完成后，对外泌体进行必要的后处理，如清洗、离心等，以去除未装载的药物和杂质，随后将装载药物的外泌体储存于适当的条件下，确保其稳定性和生物活性。

技术要求

干细胞外泌体的质量要求

a) 来源与鉴定

干细胞外泌体应来源于经过认证的、健康的、无疾病的干细胞培养物。外泌体的来源应进行严格的筛选和鉴定，确保其安全性和有效性。

b) 形态与大小

干细胞外泌体应呈现典型的囊泡结构，直径应在一定的范围内（如30~150纳米），且分布均匀，无明显的形态异常。

c) 纯度

干细胞外泌体应具有较高的纯度，不应含有明显的细胞碎片、杂质或其他污染物。外泌体的纯度应通过适当的方法进行验证，如密度梯度离心、超滤等。

d) 生物活性

干细胞外泌体应具有一定的生物活性，能够传递生物信息并影响靶细胞的功能，其生物活性应通过体外或体内实验进行验证，如细胞增殖实验、迁移实验等。

e) 稳定性

干细胞外泌体应具有良好的稳定性，在储存和运输过程中应保持其形态、大小和生物活性的稳定。稳定性的评估应包括在不同条件下的储存实验和加速稳定性实验。

f) 安全性

干细胞外泌体应无毒性、无感染性，应符合GB 19489及其他国家相关生物安全标准的要求。外泌体的安全性应通过无菌性检查、内毒素检测、过敏性试验等方法进行验证。

载药过程的技术要求

a) 药物选择与适配性

所选药物应与干细胞外泌体具有良好的相容性，不影响外泌体的稳定性和生物活性。同时，药物应能够有效载入外泌体中，且在载入过程中不发生化学变化。

b) 载药方法与效率

应明确描述载药的具体方法，包括药物的溶解、与外泌体的混合方式、孵育时间和温度等条件。载药效率应达到预定标准，确保足够量的药物被成功载入外泌体中。

c) 药物释放性能

载有药物的外泌体应具有良好的药物释放性能，能够在预定的时间内释放药物，且释放速率应符合治疗要求。

d) 载药过程的可重复性

载药过程应具有良好的可重复性，确保不同批次间药物载入量和释放性能的稳定性，应建立标准化的操作流程，并对关键参数进行严格监控。

e) 无菌操作与安全性

载药过程应在无菌条件下进行，以避免微生物污染。操作完成后，应对载有药物的外泌体进行安全性评估，包括但不限于无菌性检查、内毒素检测和生物相容性测试。

药物释放的控制要求

a) 释放速率

应明确干细胞外泌体载药在体外和/或体内的药物释放速率，释放速率应根据治疗需求和药物性质进行精确控制，确保药物在预期的时间内以适当的速度释放。

b) 释放稳定性

药物从干细胞外泌体中释放的过程应具有稳定性，即在相同的条件下，不同批次的外泌体载药应表现出相似的释放行为。对药物与外泌体的结合方式、外泌体的储存条件以及释放介质等进行严格控制。

c) 靶向释放

如预期药物需要在特定组织或细胞中释放，应提供证据表明干细胞外泌体载药能够实现靶向释放。

d) 触发释放机制

如药物释放是通过特定刺激（如pH变化、温度变化或酶解等）来触发的，应明确触发条件，并提供实验数据支持触发机制的有效性和可靠性。

e) 药物残留检测

在药物释放后，应对残留的药物进行检测，以确保药物已经完全释放或残留量在可接受的范围内。

检验方法

干细胞外泌体的鉴定方法

a) 形态学鉴定

利用透射电子显微镜（TEM）观察干细胞外泌体的形态。样品经过适当的固定和染色后，在电子显微镜下应能观察到典型的茶托型或一侧凹陷的半球形双层囊膜结构，且直径在30~150nm之间。

b) 粒径分布分析

采用纳米颗粒跟踪分析（Nanoparticle Tracking Analysis, NTA）技术测定干细胞外泌体的粒径分布，该方法可追踪纳米颗粒的布朗运动轨迹，从而得到颗粒的粒径大小和浓度信息。外泌体的粒径主峰应在30~150nm范围内。

c) 蛋白质标志物检测

通过蛋白质印迹法（Western Blot, WB）检测干细胞外泌体的特征性蛋白质标志物，如CD9、CD63、CD81等。这些蛋白质是外泌体膜上的常见成分，可作为外泌体存在的依据。

d) 综合鉴定

为确保鉴定的准确性，宜综合采用形态学鉴定、粒径分布分析、蛋白质标志物检测等方法进行干细胞外泌体的鉴定。

载药量的测定方法

a) 直接测定法

如药物本身具有特定的光谱吸收、荧光发射或其他可直接检测的物理化学性质，可直接利用这些性质对载入外泌体的药物进行定量测定，如使用紫外-可见分光光度法、荧光光谱法等来测定载药量。

b) 间接测定法

对于无法直接测定的药物，可以采用间接方法来推算载药量，常用的方法是利用放射性同位素或荧光标记的药物作为示踪剂，通过测定标记物的量来推算出载药量。

c) 色谱分析法

利用高效液相色谱法（HPLC）、气相色谱法（GC）等色谱分析技术，可分离并定量测定载入外泌体中的药物成分。

d) 质谱分析法

如液质联用 (LC-MS) 或气质联用 (GC-MS), 可提供更高的灵敏度和选择性, 用于精确测定载入外泌体中的药物量。

e) 标准曲线法

通过建立药物浓度与检测信号之间的标准曲线, 可根据检测信号推算出载入外泌体中的药物量, 需要事先制备一系列已知浓度的药物标准溶液, 并建立相应的检测信号与浓度的关系曲线。

药物释放速率的测定方法

体外释放实验

体外释放实验可以用来模拟药物从干细胞外泌体中释放的过程。实验方法通常包括将载有药物的外泌体置于模拟生理条件的释放介质中, 在一定的时间点取样并测定释放出的药物量, 通过绘制药物释放曲线, 可以计算药物的释放速率。

a) 释放介质的准备

应选择与体内环境相近的释放介质, 如磷酸盐缓冲液 (PBS) 或模拟体液等, 以模拟药物在体内的释放环境;

b) 取样和时间点

在预定的时间点 (如每隔一段时间) 取样, 测定释放介质中的药物浓度, 时间点应足够密集, 以便准确描述药物释放曲线;

c) 药物浓度的测定

可以使用适当的方法 (如分光光度法、色谱法等) 测定释放介质中的药物浓度。

a) 药物释放曲线的绘制与分析

根据测定的药物浓度数据, 绘制药物释放曲线, 通过分析曲线的形状和斜率, 可以计算药物的释放速率, 并评估药物的控释性能。

b) 体内释放实验 (可选)

对于需要更准确模拟体内释放情况, 可以采用动物模型进行体内释放实验, 能够更真实地反映药物在体内的释放过程和药效。

c) 注意事项

在进行药物释放速率测定时, 应确保实验条件的稳定性和可重复性。同时, 应详细记录实验过程中的所有条件和操作步骤, 以便后续的数据分析和比对。

质量控制

a) 原材料质量控制

应确保所使用的干细胞来源清晰、无污染，并经过适当的筛选和鉴定。对培养基、生长因子和其他辅助材料进行严格的质量控制，确保其符合相关标准和规定。

b) 过程控制

在制备工艺流程的各个环节中，应严格控制温度、湿度、气体组成等关键参数，确保干细胞的正常扩增、分化和外泌体的产生，同时，对药物装载过程进行严密监控，确保药物的有效装载和稳定性。

c) 成品质量控制

对制备好的干细胞外泌体载药产品进行全面的质量检测，包括但不限于形态观察、粒径分析、蛋白质标志物检测、药物装载量测定、药物释放速率测定等，确保产品符合相关质量标准和规定。

d) 储存与运输控制

制定适当的储存和运输条件，如温度、湿度等，以确保干细胞外泌体载药产品在储存和运输过程中的稳定性和生物活性，同时，对产品进行定期的质量检测和评估，确保其在使用过程中始终保持优良的性能。

安全与环保要求

安全要求

a) 生物安全性

应确保干细胞外泌体的来源安全、无污染，并经过严格筛选和检测，以防止病原体、毒素或其他有害物质的污染。在制备、储存和运输过程中，应采取必要的生物安全防护措施，避免交叉污染。

b) 产品质量与安全

干细胞外泌体载药产品应符合国家相关药品质量标准和安全要求。在产品的制备、检验、储存和运输过程中，应严格遵守《药品生产质量管理规范》（GMP）和其他相关法律法规，确保产品的质量和安全性。

c) 操作人员安全

操作人员应接受专业培训，熟悉干细胞外泌体载药技术的操作流程和安全规范。在实验过程中，应穿戴适当的防护装备，如实验服、手套、护目镜等，以确保个人安全。

环保要求

a) 废弃物处理

在干细胞外泌体载药技术的制备、检验和使用过程中产生的废弃物，应按照相关环保法规进行妥善处理。废弃物应分类收集、存放，并定期交由专业机构进行无害化处理。

b) 环境监测与评估

应定期对制备环境进行监测和评估，确保环境质量符合相关标准和要求。如发现环境问题，应及时采取措施进行整改。

三、标准中如果涉及专利，应有明确的知识产权说明

本文件不涉及专利及知识产权问题。

四、采用国际标准和国外先进标准情况，与国际、国内同类标准水平的对比情况

本文件为首次自主制定，不涉及国际国外标准采标情况。本文件参考依据：

GB 19489 实验室 生物安全通用要求

五、与有关法律、法规和强制性国家标准的关系

本文件与相关法律、法规、规章及相关标准协调一致，没有冲突。

六、重大分歧意见的处理经过和依据

本文件在制定过程中未出现重大分歧意见。

七、贯彻标准的要求和措施建议

本文件发布后，应向相关企业进行宣传、贯彻，推荐执行该文件。

八、其他应当说明的事项

无。