

《人类血来源的自然杀伤细胞（NK 细胞）制剂制备质量管理规范》团体标准草案编制说明

一、工作简况

1. 任务来源

按照《中国食品药品企业质量安全促进会团体标准管理办法（试行）》的有关规定和要求，由深圳市中佳生物医疗科技有限公司立项申请，中国食品药品企业质量安全促进会于 2024 年 11 月组织专家按程序审议后予以立项。

2. 目的、意义及必要性

在当前的医药生物技术行业中，自然杀伤细胞（NK 细胞）因其在癌症治疗和免疫调节中的潜力而受到广泛关注。NK 细胞是人类免疫系统的重要组成部分，能够识别并消灭肿瘤细胞和病毒感染细胞，而不需事先对特定抗原进行识别。随着科学研究的深入，NK 细胞疗法在临床试验中显示出对多种癌症类型的治疗潜力，这推动了 NK 细胞制剂的制备和应用。

然而，随着 NK 细胞疗法从实验室走向临床应用，行业面临着一系列挑战和问题。首先，行业标准的缺失导致了产品质量参差不齐。NK 细胞制剂的生产过程复杂，涉及细胞采集、培养、扩增、分离纯化等多个环节，每一步都对最终产品的安全性和有效性产生重大影响。在缺乏统一和明确的行业标准的情况下，不同生产商的产品质量往往无法得到保证，这不仅影响了 NK 细胞制剂的临床疗效，也可能带来潜在的安全风险。其次，标准的缺失限制了 NK 细胞制剂的临床应用和市场发展。在医疗产品的研发和应用过程中，严格的质量管理体系是获取药品监管部门批准的关键。缺乏行业标准不仅使得产品难以通过药监部门的审批，也使医生和患者对 NK 细胞制剂的安全性和有效性产生疑虑，从而限制了其在临床上的广泛应用。

为了解决这些问题，制定统一的 NK 细胞制剂制备标准显得尤为重要。通过建立标准，可以为整个行业提供明确的制备控制标准，确保所有 NK 细胞制剂都达到一定的安全和效能标准。这不仅有助于提高治疗的效果和患者的安全，促进其在临床上的广泛应用具有重要意义，也有助于推动 NK 细胞疗法的商业化进程，让更多的患者受益，同时提升我国在该领域的国际竞争力，从而更好地服务于人类健康。

3. 团体标准起草单位和主要起草人

立项申请单位：深圳市中佳生物医疗科技有限公司

本标准牵头起草人：刘佳

4. 参与单位

珠海贝索细胞科学技术有限公司，天津灏洋华科生物科技有限公司，深圳中旭细胞再生

医学研究有限公司，湖南华科生物科技有限公司，中山大学，深圳理工大学，湖南中医药大学，深圳市第二人民医院，深圳市第三人民医院，中国检验检疫科学研究院粤港澳大湾区研究院，广州瑞铂茵健康科技有限公司，广州市天河诺亚生物工程有限公司，紫程瑞生会（北京）生物技术发展有限公司，深圳华大基因细胞科技有限责任公司，中检陆桥（中山市）科技有限公司，炳盛荣（深圳）生物科技有限公司，深圳中佳生华生物科技有限公司，深圳市国重生物科技有限公司，深圳官芯生物科技有限公司，深圳市中安康华生物科技有限公司，朗天生物科技（深圳）有限公司，深圳市佳科生物科技有限公司。

二、主要工作

1. 起草阶段：

（1）本标准工作组于 2024 年 10 月 23 日参加了立项评审会。根据各专家意见，对标准草案进行了修改，同时专家建议邀请更多具备完整管理体系的科研机构以及相关专家一起参与制定。

（2）本标准于 2024 年 11 月 4 日成功立项。

（3）2024 年 11 月，征集相关领域企事业单位和专家参与到标准制定中，确定工作计划。一是制定时间表，设定起草流程的时间线，包括初稿完成、征求意见、审查、公示等关键时间点。

（4）2024 年 11 月，完善草案。基于中华人民共和国药典(2020 年版)、药品生产质量管理规范、干细胞制剂质量控制及临床前研究指导原则、药品 GMP 规范无菌药品附录、全国临床检验操作规程等文献和业界先进成熟的研发技术，以及各起草小组专家深厚的专业知识，完成标准草案的第一稿。

（5）2024 年 12 月，进入草案的修订完善阶段。特邀行业内的资深专家以及国家标准制定的资深专家，对草案进行专业评审，以确保草案在内容上的准确性、结构上的完整性以及标准上的一致性。

（6）在专家评审意见的基础上，对标准框架和主要技术内容进行了再次讨论与修改，并进一步规范标准文本格式，形成标准征求意见稿与编制说明。

2. 征求意见阶段：

2024 年 12 月中旬—2025 年 1 月中旬，公开征集意见。

三、标准编制原则和确定标准主要内容的依据

1. 标准编制原则

本标准的制定符合产业发展的原则，本着先进性、科学性、合理性和可操作性的原则，以及标准的目标、统一性、协调性、适用性、一致性和规范性原则来进行本标准的制定工作。

本标准起草过程中，主要按 GB/T 11—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》进行编写。

本标准制定过程中，引用或参考了以下标准或文件：

（一）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/T 37864 生物样本库质量和能力通用要求

GB/T 38576-2020 人类血液样本采集与处理

GB 50073 洁净厂房设计规范

GB 50346 生物安全实验室建筑技术规范

GB 50591 洁净室施工及验收规范

（二）参考文献

[1] 中华人民共和国药典(2020年版)

[2] 药品生产质量管理规范

[3] 干细胞制剂质量控制及临床前研究指导原则

[4] 药品GMP规范无菌药品附录

[5] 全国临床检验操作规程

2. 标准编制的主要内容

（一）基本原则

本章节阐述了NK细胞制剂的制备过程中对各个操作环节以及人员、物料、场地、设备等严格要求，从原料确保生产的规范性。

(二) NK 细胞制备

本章节主要介绍了 NK 细胞的采集和分离、NK 细胞制剂的制备要求以及 NK 细胞制剂的质量控制三个方面的内容。

(1) NK 细胞的采集和分离：

- 1) 制备机构需建立供者采集标准，并具备相应资质，推荐使用静脉血采集方案。
- 2) 采集外周血后，需分离单个核细胞（PBMC），并在采集、处理和运输过程中避免冷冻和冷藏。
- 3) 应在符合洁净级别的操作间分离 PBMC，并进行细胞计数及存活率测定。
- 4) 传染性病毒检测阳性患者的 NK 细胞制备应在感染性样本制备区进行，并在操作后彻底清场。
- 5) 样本送达时应附有详细的细胞制备申请单，包括患者信息、临床诊断、实验室检测结果、治疗方案和知情同意书。

(2) NK 细胞制剂的制备要求：

- 1) 制备应遵循验证后的操作规程，并记录相关操作。
- 2) 操作人员在感染性样本操作区内应穿戴专用防护服。
- 3) 应标识细胞培养耗材及培养箱，并采取措施避免交叉污染。
- 4) 检查领用的包装材料，并核对相关信息。
- 5) 使用的试剂应符合质量要求。
- 6) 细胞扩增过程中应准确计数，并根据质量要求调整细胞浓度及培养时间。
- 7) NK 制剂的收获分为新鲜剂型和冻存剂型，冻存应使用全封闭冻存袋。
- 8) 每批次细胞培养结束后，应进行清场。
- 9) 建立 NK 细胞制剂批号编制规程，并建立出入登记记录制度。
- 10) 避免偏离工艺规程或操作规程的偏差，如有偏差，应按偏差处理操作规程执行。

(3) NK 细胞制剂的质量控制：

- 1) 制备机构应具备检测能力，配备专业技术人员和设备，建立质量标准和检验操作规程。
- 2) 对于直接回输的 NK 制剂，应加强全过程质量控制，并设置合理的取样点。
- 3) 如培养基添加成分可能影响质量或安全性，应检测残余量。
- 4) 开展质量检测，由有资质的人员进行，可委托第三方检测，并由质量负责人审核。
- 5) 建立留样操作规程，留样至少保存至使用结束后三个月。
- 6) 质量控制的技术要求包括细胞形态、回输数量、终产品中 NK 细胞免疫表型、细胞活率、无菌试验和支原体检测、内毒素、杀伤作用等。

(三) 质量控制的检验方法

本章节制定了 NK 细胞制剂制备质量控制的方法，这些检验方法确保了 NK 细胞制剂在形态、数量、免疫表型、活率、无菌性、内毒素水平和杀伤作用等方面的质量控制。

(1) 细胞形态

体外二维悬浮培养条件中，静息状态下呈不规则形悬浮生长；激活后形态变大变长，用倒置显微镜进行观察。

(2) 回输数量

使用全自动细胞计数仪精确计数

(3) 终产品中 NK 细胞免疫表型

按流式细胞仪应用手册上机检测，CD3、CD16、CD56 均为胞外染色，圈出 NK 细胞群 CD3-CD16+CD56+，得到的检测结果用软件综合分析，具体参考其软件使用说明。

(4) 细胞活率

使用台盼蓝检测 NK 细胞是否存活。活细胞不会被染成蓝色，而死细胞会被染成淡蓝色。

(5) 无菌试验和支原体检测

真菌、细菌和支原体按照《中华人民共和国药典(2020 年版)》检验。人类免疫缺陷病毒按照 WS 293 检验。乙型肝炎病毒、人类嗜 T 细胞病毒、人类疱疹病毒、人巨细胞病毒按照《全国临床检验操作规程》检验。丙型肝炎病毒按照 WS213 检验。梅毒螺旋体按照 WS273 检验。

(6) 内毒素

内毒素按照《中华人民共和国药典(2020 年版)》检验。

(7) 杀伤作用

按照流式细胞术的检测规程，流式细胞仪检测共孵育细胞中 CFSE 阳性靶细胞中 7-AAD 阳性细胞比例，得到的检测结果用软件综合分析，具体参考其软件使用说明。

四、与我国有关法律、法规和其它标准的关系

1. 国内医学伦理批准

此标准相关的数据已在医学研究登记备案信息系统中进行备案，此外，本研究遵循所有相关伦理规定。

2. 国内外标准

目前国内外均未检索到 NK 细胞制剂制备阶段的相关标准。

五、重大分歧意见的处理经过和依据

无重大分歧意见。

六、贯彻标准的要求和措施建议

在本标准通过审核、批准发布之后，由相关机构组织力量对本标准进行宣贯，在行业内

进行推广。建议本标准自发布 1 个月之后开始实施，并在实践中不断修改、完善标准条款。