



张宇, 中源协和细胞基因工程股份有限公司联席总裁, 武汉光谷中源药业有限公司总经理, 国家干细胞工程产品产业化基地研究员, 天津医科大学基础医学院双聘教授, 天津市干细胞再生医学转化重点实验室主任, 天津市血液细胞治疗技术重点实验室执行主任、高级工程师。从事细胞基因治疗技术转化工作近20年, 主持研发的MSC新药VUM02、VUM03注射液获得国家药监局IND批件11项, 获得美国FDA孤儿药资格认定2项; 参加或主持国家重点研发计划干细胞、新冠、重大慢性疾病等领域重点专项及欧盟EU、德国教育部BMBF、德国研究基金会DFG等资助的细胞技术相关研究项目, 累计在STTT、eClinicalMedicine等国际权威杂志上发表论文20余篇, 申请发明专利20多项, 担任《药学进展》等杂志编委, Stem Cell Res Ther、iScience等杂志审稿人。

## 间充质干/基质细胞新药商业化生产与质量控制

张云<sup>1,2,3</sup> 齐奇<sup>1,2,3</sup> 侯瑞珍<sup>1,2,3</sup> 杨文玲<sup>1,2,3</sup> 张宇<sup>1,2,3\*</sup>

(<sup>1</sup>国家干细胞工程产品产业化基地, 天津 300384; <sup>2</sup>天津市干细胞再生医学转化重点实验室, 天津 300384;

<sup>3</sup>中源协和细胞基因工程股份有限公司, 天津 300384)

**摘要** 随着间充质干/基质细胞(MSCs)药物在中美获批上市, 建立稳定、可放大且符合GMP要求的商业化生产工艺及质量控制体系至关重要。该文综述当前生产工艺的优化方向与技术挑战, 并探讨质量控制体系的构建要点, 为保障MSCs药物临床应用的安全有效提供参考。工艺优化是控制成本与满足临床需求的关键。重点包括: 采用无血清化学成分限定培养基, 减少批间差异; 开发微载体悬浮培养等新型生物反应器, 实现自动化、封闭式连续生产, 支撑规模化扩增; 优化收获、洗涤与灌装流程, 维持细胞活性并提高工艺稳健性。质量控制需构建覆盖全链条的风险管理体系, 严格执行物料与放行标准, 从多维度确保产品安全、有效与质量均一。同时, 应通过稳定性研究明确有效期与贮藏条件, 保障商业化阶段的质量可控与供应可靠。

**关键词** 间充质干细胞新药; 商业化生产; 质量控制

## Commercial Production and Quality Control of Mesenchymal Stem/Stromal Cell-Based New Drugs

ZHANG Yun<sup>1,2,3</sup>, QI Qi<sup>1,2,3</sup>, HOU Ruizhen<sup>1,2,3</sup>, YANG Wenling<sup>1,2,3</sup>, ZHANG Yu<sup>1,2,3\*</sup>

(<sup>1</sup>State Industrial Base for Stem Cell Engineering Products, Tianjin 300384, China; <sup>2</sup>Tianjin Key Laboratory of Stem Cell Translational Regenerative Medicine, Tianjin 300384, China; <sup>3</sup>Vcanbio Cell & Gene Engineering Corp., Ltd., Tianjin 300384, China)

**Abstract** With the approval of MSCs (mesenchymal stem/stromal cells)-based drugs in China and the United States, establishing a stable, scalable, and GMP-compliant commercial production process along with robust quality control system is of paramount importance. This article reviews the current optimization directions and tech-

收稿日期: 2025-09-03

接受日期: 2025-10-21

\*通信作者。Tel: 022-58775766, E-mail: zhangyu@vcanbio.com

Received: September 3, 2025

Accepted: October 21, 2025

\*Corresponding author. Tel: +86-22-58775766, E-mail: zhangyu@vcanbio.com

nical challenges in production processes and discusses key aspects of building a quality control system, providing references to ensure the safety and efficacy of MSCs drugs in clinical applications. Process optimization is crucial for cost control and meeting clinical demands. Key focuses include: adopting serum-free, chemically defined media to reduce batch-to-batch variability; developing novel bioreactors such as microcarrier-based suspension culture systems to enable automated, closed, and continuous production, thereby supporting scalable expansion; and optimizing harvesting, washing, and filling processes to maintain cell viability and enhance process robustness. Quality control requires establishing a risk management system covering the entire supply chain, strictly implementing material and release standards, and ensuring product safety, efficacy, and quality consistency from multiple dimensions. Additionally, stability studies should be conducted to define the shelf life and storage conditions, ensuring quality control and supply reliability during the commercial phase.

**Keywords** mesenchymal stem cell-based new drug; commercial production; quality control

## 1 间充质干/基质细胞概述及研究进展

间充质干/基质细胞(mesenchymal stem/stromal cells, MSCs)是源于发育早期中胚层的多能干细胞,最初在骨髓中被发现,随后在脂肪、牙髓、经血、脐带、胎盘等多种成体组织中成功分离,也可通过胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESCs)/诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs)分化而成。因其具有多向分化潜能、支持造血干细胞植入、免疫调节和自我复制等特性, MSCs在再生医学等领域日益受到关注。

自2006年起,国际细胞与基因治疗协会(International Society for Cell and Gene Therapy, ISCT)陆续发表多篇重要文章,推动了对MSCs认识的不断深化<sup>[1-4]</sup>。2006年, ISCT首次提出MSCs的最低鉴定标准,包括贴壁生长、特定表面标志物表达以及多向分化能力,为后续研究奠定了基础<sup>[1]</sup>。随后科学界对其作用机制的理解逐步演变:早期(约2006~2012年)主要关注其分化能力,认为通过直接分化为目标细胞修复组织;随后研究显示,植入的MSCs体内存活时间短,疗效更多源于旁分泌作用;近年来直至2025年,认知进一步深化,包括术语从“间充质干细胞”向“间充质基质细胞”过渡,标准从“鉴别”转向“功能”,并更强调细胞异质性与功能效价评估。为统一表述,下文均使用“间充质干细胞”或“MSCs”。

当前间充质干细胞药物的研发与应用正展现出蓬勃的发展态势,多项研究证实MSCs可用于治疗移植物抗宿主病(graft-versus-host disease, GVHD)、多发性硬化症、骨关节炎、心脏疾病等适应症,且安全性良好<sup>[5-8]</sup>。此外, MSCs可作为基因或药物递送的载体,用于特定疾病的靶向治疗。目前全球范

围内已有十余种该类药物成功获批上市,例如美国FDA(Food and Drug Administration)批准的Ryoncil和日本PMDA(Pharmaceuticals and Medical Devices Agency)批准的Temcell用于治疗急性GVHD;韩国获批上市的Cartistem用于治疗退行性关节炎和膝关节软骨损伤。而我国国家药品监督管理局(National Medical Products Administration, NMPA)于2025年1月批准的艾米迈托赛注射液适应症为急性GVHD,这一进展标志着我国在间充质干细胞药物领域实现了0到1的突破,未来产业化和商业化向着更高的目标稳步迈进。

## 2 间充质干细胞药物生产与质量控制的主要特点

作为一种“活”的药品,干细胞治疗药品的化学、制造与控制(chemistry, manufacturing, and controls, CMC)开发是其成药过程中的核心挑战。尤其在复杂的生产工艺和严格的质量控制方面,可借鉴源于ICH Q8<sup>[9]</sup>质量源于设计(quality by design, QbD)理念,并参考图1所示的药物开发整体思路进行工艺设计与开发。该方法以预先定义的目标产品质量概况(quality target product profile, QTPP)为导向,基于可靠的科学原理和风险管理,深入理解并控制产品与工艺参数,是提升开发效率、保障产品质量与安全性,并最终推动其从研发走向临床应用与上市的关键路径。

随着上述越来越多的MSC药物获批上市,以及监管机构对于该产品的认知越来越深刻,近些年我国相继出台了相关的技术指导原则等指南,主要见表1。

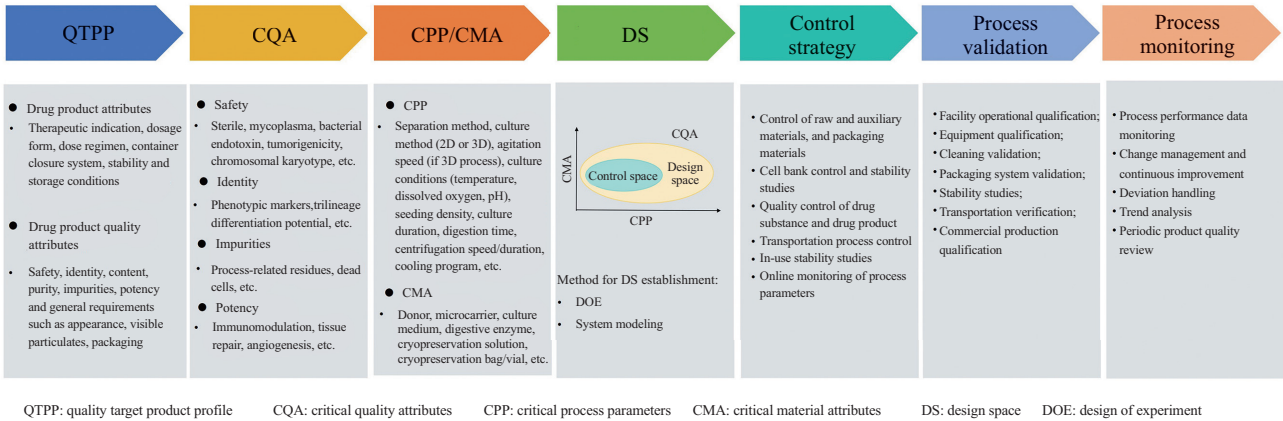


图1 基于QbD原则的间充质干细胞药物生产工艺开发流程图

Fig.1 Flowchart of MSCs drug manufacturing process development based on QbD principles

表1 间充质干细胞药物生产工艺与质量研究相关法规和指导原则

Table 1 Regulations and guidelines for mesenchymal stem cell drug manufacturing process and quality control

日期 Date	名称 Title	发布单位 Issuing organization
2003.03	《人体细胞治疗研究和制剂质量控制技术指导原则》	CDE
2015.07	《干细胞制剂质量控制及临床前研究指导原则(试行)》	NHC、NMPA
2017.12	《细胞治疗产品研究与评价技术指导原则(试行)》	NMPA
2018.03	细胞治疗产品申请临床试验药学研究和申报资料的考虑要点	CDE
2019.10	细胞治疗产品申报临床试验药学研究问题与解答(第一期)	CDE
2020.04	《药品生产质量管理规范(2010年修订)》生物制品附录	NMPA
2022.01	《细胞治疗产品生产质量管理指南(试行)》	CFDI
2023.04	《人源干细胞产品药学研究与评价技术指导原则(试行)》	CDE
2025.01	《细胞治疗产品生产检查指南》	CFDI
2025.03	《中国药典》2025年版三部	ChP Commission

NMPA: 国家药品监督管理局; CDE: 国家药品监督管理局药品审评中心; CFDI: 国家药品监督管理局食品药品审核查验中心; NHC: 国家卫生健康委员会; ChP Commission: 国家药典委员会。

NMPA: National Medical Products Administration; CDE: Center for Drug Evaluation, National Medical Products Administration; CFDI: Center for Food and Drug Inspection of the National Medical Products Administration; NHC: National Health Commission of the People’s Republic of China; ChP Commission: Chinese Pharmacopoeia Commission.

随着工艺技术的不断进步(如自动化、封闭式系统、无血清培养基开发、生物反应器、微载体等)和质量控制方法(如更灵敏、更具预测性的效力检测),以及相关的指导原则和技术指南日益完善,我国MSCs药物的产业化前景将更加广阔。

3 间充质干细胞药物的生产工艺控制

一个完整的间充质干细胞药物生产工艺控制体系通常涵盖以下主要关键流程(以脐带来源的间充质干细胞为例),见图2。

基于上述生产工艺流程,需对制备过程的每个环节实施严密监控与精准控制,有效管控关键工艺

参数(critical process parameters, CPP),从而显著提升制备过程的成功率与一致性,最大限度地减少批间差异,最终确保持续、稳定地产出符合既定质量标准的高质量产品。

3.1 供者材料的筛选

骨髓、脂肪、牙髓及脐带等组织可作为间充质干细胞的来源。在选择供者时,除筛查传染病等基本要求外,还应综合考虑供者年龄、体质量指数(body mass index, BMI)、性别以及细胞采集部位等因素,以制定更全面的评估与筛选标准。

以脐带组织作为起始原材料为例,由于个体间存在显著差异,需结合工艺验证及临床试验数据逐



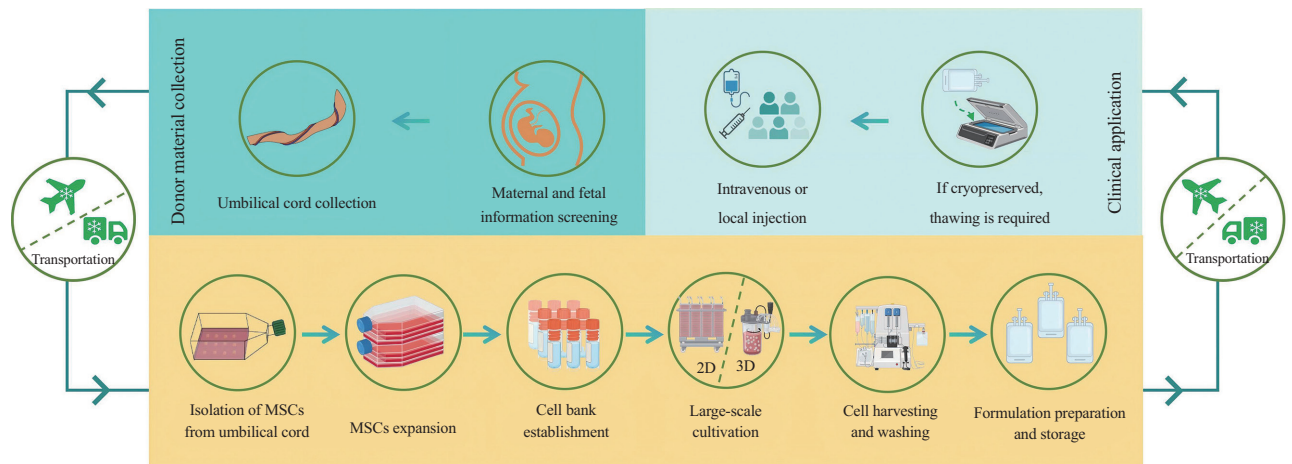


图2 间充质干细胞的生产工艺流程图

Fig.2 Manufacturing process flow diagram of MSCs

表2 脐带供者筛选要求示例

Table 2 Examples of cord donor screening requirements

供者 Dondor	筛选项目 Screening item	建议的筛选要求 Recommended screening requirements
Maternal	Maternal age	Can be limited to within 35 or 40 years old
	Gestational age	36-42 weeks of gestation, with normal fetal development
	Mode of delivery	Cesarean section
	Health status	No infectious diseases, no family history of genetic disorders, no malignant tumors, and no serious complications during pregnancy
Fetus	Fetal sex	As samples from different sexes may exert different biological functions, the sex of the donor can be limited based on specific clinical indications
	Fetal body mass	Fetal mass can be set within a certain range, e.g., >3 kg

步完善供者筛查标准。表2是对脐带组织作为供者的筛选标准示例。

此外，在采集脐带时可同步采集脐带血样本进行染色体核型分析，确保原材料核型正常。该预筛查措施有助于早期识别异常，有效降低生产成本，避免资源浪费。

3.2 分离方法的选择

不同来源的间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)因其组织结构和细胞外基质组成的差异，在分离方法上具有显著区别，而分离工艺的优化直接影响到所获细胞的纯度及其生物学性能。

以脐带组织为例，目前分离脐带MSCs主要有两种经典方法：组织块贴壁法与酶消化法。(1) 组织块贴壁法：该方法属于物理机械分离法，避免了酶消化可能带来的细胞损伤，更有利于保持细胞原有的

生物学特性；但其细胞迁出效率偏低，且初始培养周期较长，一般需7~14天方可观察到明显细胞迁出。

(2) 酶消化法：该方法细胞获取速度快，原代得率较高；但过度消化或酶活性控制不当可能损伤细胞膜，影响细胞功能；此外，酶的批次差异和操作波动易导致细胞产量和状态不稳定。两者各具优缺点，实际应用中需根据工艺研究结果进行选择。

除脐带外，骨髓、脂肪和牙髓也是MSCs的常见来源。骨髓来源MSCs通过骨髓穿刺获取，常用密度梯度离心法分离；脂肪来源MSCs通过抽脂或脂肪切除获得，多采用酶消化法；牙髓来源MSCs则从健康牙齿牙髓中提取，可选用组织块贴壁法或酶消化法进行原代培养。因此，针对不同组织来源的MSCs，选择适宜的分离方法是确保获得高质量细胞的关键前提，需综合考量组织特性、操作可行性、产能等因素。

### 3.3 间充质干细胞的扩增培养

**3.3.1 培养体系的筛选控制** 在细胞培养中严格控制并减少动物源或人源性物质的使用是确保产品安全性和一致性的核心原则,其中尤以胎牛血清的替代最为关键。鉴于血清存在显著的批次间差异、潜在的病原体污染风险以及可能导致工艺不稳定和最终产品质量难以标准化等问题,其使用应被严格管理。《细胞治疗产品研究与评价技术指导原则(试行)》<sup>[10]</sup>中指出,原则上要求避免使用血清。若经充分论证认为某阶段必须使用血清,需提供详尽的风险评估和合理性研究报告,并严格遵守以下要求:①绝对禁止使用疫病流行区来源的动物血清;②仅允许使用经过严格来源追溯、全面安全性验证(包括但不限于内毒素、病毒、支原体等检测)且符合药典标准的血清。

无血清培养基(*serum-free media*, SFM)已成为细胞培养的必然趋势和主流方向。目前主流的SFM体系主要包括以下两类。①含人源成分的培养基:例如基于人血小板裂解液(*human platelet lysate*, hPL)的培养基。这类培养基避免了动物源性风险,但仍存在人源病毒污染的可能性、批次间差异较大,并且对供者筛选和病原体检测要求较高。②完全无血清化学成分限定培养基(*chemically defined media*, CDM):所有组分均为化学成分明确、浓度确定的物质,不含蛋白质或仅包含明确定义的重组蛋白。CDM具有批次间一致性高、生物安全性更优、工艺可控性强等优势,这些特点使其在推动间充质干细胞向高质量、规范化药物发展过程中发挥着关键作用。

需要注意的是,研究指出,细胞在长期使用化学成分限定培养基培养时,随着传代次数的增加,可能存在成瘤性风险<sup>[11]</sup>。因此,针对特定细胞类型及其应用目标,筛选和优化合适的无血清化学成分限定培养基,仍是当前间充质干细胞药物生产工艺中的关键挑战。

**3.3.2 培养工艺的选择** 目前应用于临床研究的成熟MSCs工艺多基于二维(2D)平面培养,主要借助多层细胞培养瓶、细胞工厂等容器进行扩增。该类培养方式技术相对成熟,所获得的细胞产品已能够满足临床治疗的需求。例如,在美国FDA获批上市的骨髓来源间充质干细胞产品Ryoncil采用了基于细胞工厂的2D扩增工艺<sup>[12]</sup>。然而,2D培养方式仍存在

一定的局限性,包括培养表面积限制、操作开放度高(人工干预多,污染风险大)以及扩增规模受限等问题。

基于微载体的生物反应器悬浮培养,即三维(3D)培养技术,其核心优势体现在以下几方面。①更接近体内的细胞微环境:3D培养可模拟细胞在体内的三维结构,有助于维持细胞更“自然”的功能状态,如细胞外基质(*extracellular matrix*, ECM)的分泌。②功能与特性的提升:研究显示3D培养能够更真实地模拟体内微环境,显著增强MSCs的活力、增殖能力及其功能<sup>[13]</sup>。③生产效率大幅提高:有研究证实3D培养在单位空间内可实现远高于2D工艺的细胞产量,并可通过工艺放大(*scale-up*)高效实现临床级或商业级的大规模扩增<sup>[14]</sup>。不过3D培养目前仍面临技术复杂度高、标准化程度低、成像与取样困难等挑战。将小规模优化的3D工艺扩大至临床级生产仍存在技术难点,尤其在保证细胞产品均一性与质量稳定性方面。

综上所述,间充质干细胞的2D与3D培养技术均具有显著优势与固有局限,在实际工艺开发中,培养方式的选择并非简单的二选一,而应基于核心目标,综合考量样本来源与初始产能、目标产能与工艺可放大性、工艺验证与质量研究数据、成本效益以及监管要求等多方面因素,以作出科学合理的决策。

### 3.4 间充质干细胞的收获

**3.4.1 干细胞收获工艺:从开放手工到自动化密闭系统的工艺升级转变** 在干细胞治疗产品的生产过程中,细胞收获环节是决定产品安全性和一致性的关键步骤。传统上细胞收获普遍通过手工方式采用消化酶处理,该过程多处于开放或半开放环境,人为操作环节繁杂,显著增加了微生物污染和细菌内毒素、微粒引入的风险,是工艺无菌保证体系的薄弱环节。同时手工操作的固有差异不可避免地导致细胞收获率、活性及均一性存在批次间波动,为后续生产放大和产品质量控制带来严峻挑战。

基于间充质干细胞药物开发对安全性、可放大性、可重复性、成本效益等核心诉求,转向自动化密闭式的收获系统已成为工艺升级与法规强化的必然趋势。

**3.4.2 干细胞制剂形态选择:新鲜制剂与冻存制剂的双轨演进** 干细胞制剂的最终保存状态直接影响其临床应用模式、可及性与成本结构,目前主要

采用两种状态: 新鲜制剂和冻存制剂。①新鲜制剂: 通常指消化收获后直接使用或经短暂处理(洗涤、浓缩)后, 于2 °C~8 °C冷链条件下保存的细胞悬液产品。其有效期非常有限, 从几小时至数天不等, 时效性要求极严苛。以定制化生产方式为主, 其强时效性和定制特性导致临床应用弹性低、供应链压力大、规模化生产成本高, 在广泛临床应用场景中面临显著局限。②冻存制剂(cryopreserved/“off-the-shelf” formulations): 将细胞进行程序化冷冻后, 置于-80 °C超低温冰箱或液氮(气相/液相)中长期冻存的产品。在充分验证的稳定性数据支持下, 有效期可达半年甚至数年, 具备稳定的产品货架期, 属于通用现货型产品。使用时于临床治疗中心进行快速标准化“床旁复苏”, 解冻后立即使用。此形态高度灵活, 适应局部注射(如关节腔)和全身性静脉输注等多种给药途径, 能最大程度满足医患对便捷性和及时性的需求。

因冻存制剂支持大规模集中生产、集中检测, 摊薄单位成本, 可显著提升生产的规模效应和运营效率。作为解决细胞治疗“可及性瓶颈”的关键策略, “现货型药物”的商业形态正日益被监管机构、临床专家和产业界所重视和认可。目前美国FDA获批的Ryoncil和中国获批上市的艾米迈托赛注射液均采用冻存制剂的形式。

## 4 间充质干细胞药物的质量控制

应将ICH Q9<sup>[15]</sup>的质量风险管理理念, 全面贯穿于间充质干细胞药物质量控制的全过程, 以主动保障产品在整个生命周期中的质量稳定与可控。

### 4.1 生产用原材料及辅料质量控制

间充质干细胞治疗产品的安全性与有效性高度依赖于严格的原材料与辅料控制, 可参考《中国药典》2025年版三部<sup>[16]</sup>0234《生物制品生产用原材料及辅料质量控制》的要求对原辅料进行管理和控制。根据原材料的来源、生产以及对产品潜在的毒性和外源因子污染风险等将生产用原材料按风险级别从低到高划分等级。

4.1.1 起始原材料的质量控制 对于脐带、骨髓、脂肪等起始原材料, 必须经过严格的供者筛查, 包括传染病、遗传病、肿瘤等项目, 并建立规范的供者筛查与检测标准以及供者材料的质量标准。所有检测项目应符合《细胞治疗产品生产质量管理指南(试

行)》<sup>[17]</sup>和《细胞治疗产品生产检查指南》<sup>[18]</sup>等相关指导原则和指南的要求。组织样本采集后, 需详细记录采集方法、储存条件、运输温度及时间, 确保物料全程处于受控状态, 避免污染或活性损失。

4.1.2 关键物料及辅料的质量控制 在细胞产品生产过程中, 凡与细胞直接接触且可能直接影响产品质量的物料, 均应视为关键物料, 包括培养基、消化酶、培养容器(如培养瓶、培养袋、细胞工厂等)、移液管、离心管等, 并须实施严格的质量控制。其中, 细胞培养中常用的氯化钠注射液、复方电解质注射液、人血白蛋白属于已上市药品, 风险较低, 可依据企业自建标准进行简化检测, 项目包括无菌、支原体、细菌内毒素及理化性质等; 重组蛋白、化学成分明确的培养基、消化酶等属于中等风险物料, 应建立适当的质控标准, 并严格进行全项检验; 而含有人源或动物源成分的试剂(如胎牛血清)通常被视为高风险物料, 需进行全面质量检定。例如胎牛血清应按照《中国药典》2025年版三部<sup>[16]</sup>3604《新生牛血清》的要求完成全项检测, 包括蛋白质含量、血红蛋白及病毒检查等。其他来源的动物源性物料还需严格控制批间差异, 并提供完整的组分分析报告(certificate of analysis, COA)、TSE/BSE(transmissible spongiform encephalopathy/bovine spongiform encephalopathy)安全性声明以及无外源因子证明等文件。

辅料是指细胞治疗产品制剂过程中所使用的辅助材料, 如DMSO冻存保护剂、氯化钠注射液稀释剂等。根据其来源、生产工艺以及潜在的毒性和安全性影响, 辅料应基于风险等级进行分类管理。对于高风险辅料, 应优先选用已获得辅料登记号的品种, 并执行较普通物料更为严格的控制标准, 实施严格的质量管理。对于没有上市药品的原辅料参考表格3进行质量控制。

4.1.3 包装材料质量控制 细胞类成品制剂的内包装一般为其包装材料, 新鲜制剂的包装材料一般采用具有医疗器械资质的一次性塑料血袋或瓶, 冻存制剂的包装材料优先选择具有包材登记号的冻存袋、冻存管、冻存瓶等, 在最终确定和使用任何包装材料前, 必须通过科学验证确认其与所包装的细胞制剂具有良好的物理和生物相容性, 以确保产品安全有效。

实施严格的全生命周期质量管控, 结合风险分



表3 可能涉及的不同风险等级生产用关键原辅料的质量控制要求示例

Table 3 Examples of quality control requirements for key materials for production involving different risk levels

原辅料的名 称 Raw mate- rial/excipient name	原辅料的 选择 Selection criteria	风险等 级评估 Risk level as- sessment	上市许 可证明 Mar- keting authori- zation certifi- cate	通过药品GMP 符合性检查 Compliance check with drug GMP	辅料注册或 备案证明 Excipient registra- tion/record certificate	分析报告 COA	批签发 合格证 Batch release certifi- cate	按国家标准或企业 内控标准全检 National standards and enterprise inter- nal control standards	外源因 子检查 Exog- enous factor inspec- tion	来源证 明 Source certifica- tion/proof of origin	不含TSE/BSE 声明 TSE/BSE free statement	供应商 审计 Supplier audit
Culture medium	Chemically defined medium is preferred.	Level 3	—	—	—	√	—	√	—	—	—	√
	Medium containing human-derived or blood- derived components (if selected).	Level 4	—	—	—	√	—	√	√	√	—	√
	Medium containing FBS (fetal bovine serum) (if selected)	Level 4	—	—	—	√	—	√	√	√	√	√
	For 3D culture, micro- carriers that are first approved and registered with CDE in China and have obtained US FDA DMF filing numbers for pharmaceutical excipi- ents are preferred	Level 4	—	—	√	√	—	√	If animal- de- rived, testing is re- quired	If animal- derived, must be provided	If animal- derived, must be provided	√
Digestive enzyme	Recombinant protease is preferred	Level 3	—	—	—	√	—	√	—	—	—	√
Cytokine	Recombinant cytokines are preferred	Level 3	—	—	—	√	—	√	—	—	—	√
Formulation/ cryoprotec- tant (contain- ing DMSO)	Pharmaceutical ex- cipients that are first approved and registered with CDE in China and have obtained US FDA DMF filing numbers are preferred	Level 3	—	—	√	√	—	√	—	—	—	√

“√”为对每批原材料使用前的质控要求; “—”为不要求项目。

“√” indicates the quality control requirement for each batch of raw materials before use; “—” indicates that the item is not required.

析策略,是确保间充质干细胞产品安全、有效、质量稳定的核心前提。

## 4.2 中间品与成品的质量控制

间充质干细胞产品的质量控制通常贯穿于其整个生命周期,涵盖中间过程控制与成品放行控制两个关键环节。二者紧密衔接,共同构成完整的产品质量保证体系。

参考国际细胞治疗协会 (ISCT)对间充质干细胞的检测达成的共识<sup>[1-4]</sup>以及中检院相关权威公开文献<sup>[19]</sup>等,可制定不同阶段的质量控制项目。经典的间质干细胞药物质量控制流程见图3。

**4.2.1 细胞库建立过程的质量控制** 建立及运行高标准的间充质干细胞库,其质量控制是保障细胞安全性、有效性与一致性的核心。可参考《中国药典》

2025年版三部<sup>[16]</sup>0234《生物制品生产用动物细胞基质制备及质量控制》的要求对细胞库管理和检定。

细胞库可分为主细胞库(master cell bank, MCB)和工作细胞库(working cell bank, WCB)二级细胞库进行管理。基于生产工艺特征的不同,也可采用供者细胞库(donor cell bank, DCB)一级细胞库进行管理。建议参考药典对各级细胞库设置合理的质量标准,如主细胞库可重点进行微生物安全性(无菌检查、支原体检查、细菌内毒素检查以及细胞内、外源病毒因子检查等)、生物学安全性(染色体核型分析、端粒酶活性等)、鉴别(形态、表面标志物、三系分化能力等)等检测,工作细胞库除进行微生物安全性、生物学安全性检测外,还可进行生物学效力(免疫调节能力、细胞增殖能力、效能细胞因子分

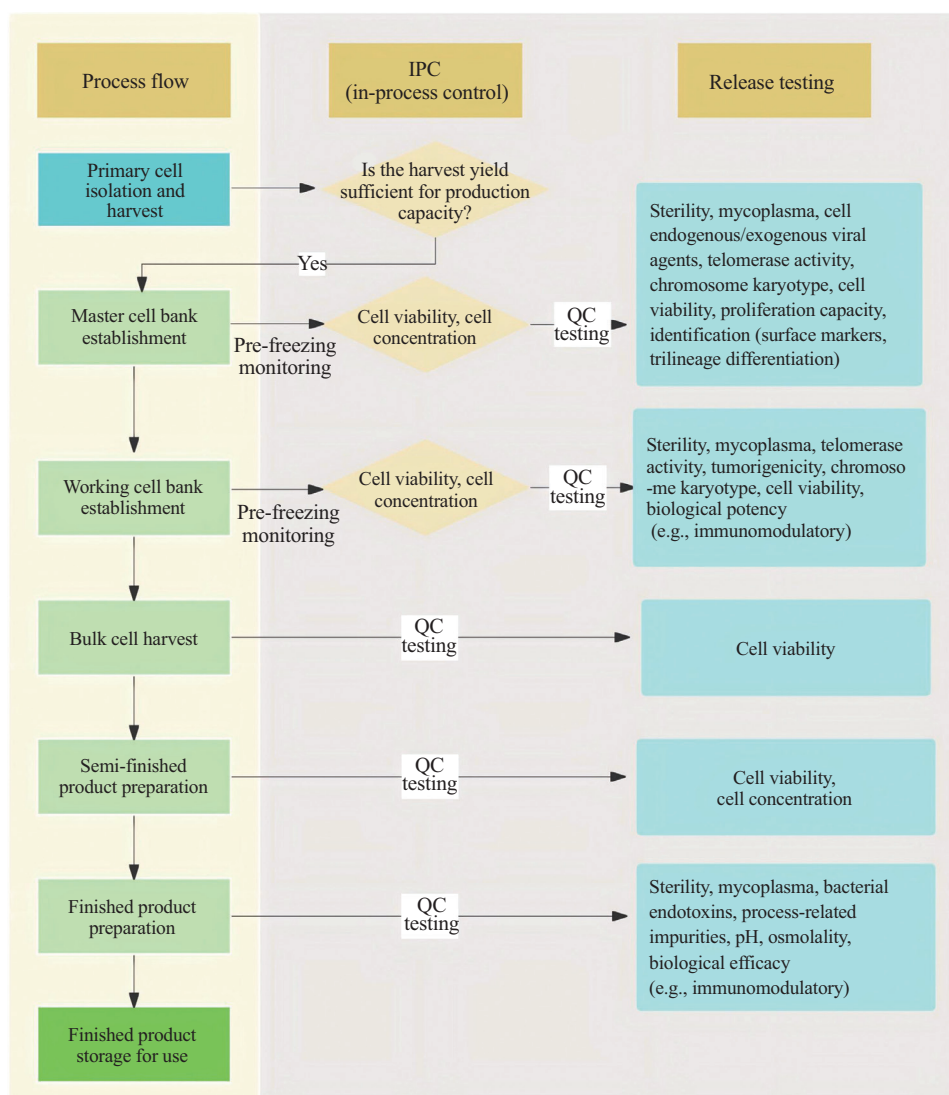


图3 间充质干细胞药物质量控制流程

Fig.3 Flowchart of quality control process for mesenchymal stem cell drugs



表4 细胞库检定项目建议  
Table 4 Recommended testing items and specifications for cell banks

检测项目 Test item	按二级库管理 Two-tiered bank management		按一级库管理 One-tiered bank management
	主细胞库 MCB (master cell bank)	工作细胞库 WCB (working cell bank)	供者细胞库 DCB (donor cell bank)
Cell identification	+	+	+
Bacteria and fungi test	+	+	+
Mycoplasma test	+	+	+
Test for cell-sustrate-derived and adventitious viral agents			
<i>In vitro</i> co-culture with various cell lines	+	+	+
<i>In vivo</i> inoculation in animals and chicken embryos	+	-	+
Retrovirus test	+	-	+
Species-specific virus test	(+)	-	(+)
Bovine-derived virus test	(+)	(+)	(+)
Other specific virus tests	(+)	(+)	(+)
Karyotype analysis	(+)	(+)	(+)
Telomerase activity test	(+)	(+)	(+)
Tumorigenicity test	(+)	(+)	(+)
Cell proliferation assay	(+)	(+)	(+)
Differentiation potential	(+)	-	(+)
Biological function tests	-	+	+

“+”为必检项目，“-”为非强制检定项目，“(+)”表示需要根据细胞特性、传代历史、培养过程等情况要求的检定项目。  
“+” indicates mandatory testing items, “-” indicates non-mandatory verification items, and “(+)” indicates items that require verification based on cell characteristics, passage history, culture process, etc.

泌能力等)检测,同时制定相应的质量标准。如采用一级库则需进行上述全部质量检测。表4列出了基于药典要求在不同级别细胞库管理模式下,对各级别细胞库鉴定建议的项目。

严格规范建库操作与系统执行标准化检定,是保障间充质干细胞产品质量的核心关键。建库过程中需建立并严格遵守标准操作程序,确保细胞来源清晰、工艺稳定、数据可追溯。同时,通过一系列标准化检定项目,全面评估细胞产品的安全性、有效性及批次间均一性。二者紧密结合,共同构成MSCs产品质量控制的坚实基础,为临床研究与转化应用提供可靠保障。

4.2.2 成品制剂的质量控制 MSCs制剂的关键检测项目涵盖无菌检查、支原体检测、细菌内毒素检查等安全性指标,以及细胞活率测定和生物学效力评价等有效性指标。此外,为确保持续符合产品质量标准,还需依据《中国药典》2025年版三部<sup>[16]</sup>0102《注射剂的相关要求》,对装量、pH值及渗透压摩尔浓度等进行严格检测。包括以下几个方面。

(1) 安全性检查。安全性检查(无菌、支原体和内毒素)可依据《中国药典》2025年版三部<sup>[16]</sup>进行,如涉及到需要快速放行的,则须在经过全面的方法学验证后方可替代。除上述安全性指标外,还应依据产品特性和法规要求考虑增加特定病毒(如牛源、人源病毒)的检测,检测结果需符合药典相关要求。

(2) 功能性检测。①细胞活率:通常使用锥虫蓝染色或AO/PI双荧光染色法结合细胞计数仪进行检测,确保活率符合规定标准(如≥80%)。②生物学效力(potency assay):对产品关键质量属性进行评估时,须选择能直接反映产品作用机制的生物学检测方法。如可通过T细胞增殖抑制实验、免疫因子分泌分析等对免疫调节能力进行评价;促血管新生能力可通过MSCs对血管生成能力/因子分泌能力进行评价,此指标对缺血适应症尤为关键;组织修复因子分泌量可通过ELISA等方法进行评估。所有需放行的检测方法必须经验证,并证明其具备良好的专属性、准确度与精密度等。同时应依据工艺验证及质量研究数据建立适宜的生物学效力验收标准。生物学效

力参数可在IND(Investigational New Drug)和临床试验阶段不断完善,在NDA(New Drug Application)上市申报时必须提交相关指标,以更好地反映产品的治疗机理和保障对应的临床疗效。

(3) 其他检测。①装量检查:确保每个容器中的实际装量符合标示装量范围(通常使用重量法或体积法进行抽检)。②pH值:在指定温度(如室温或产品使用温度)下,使用经过校准的pH计测量制剂的pH值,应在规定范围内。③渗透压摩尔浓度:通常采用冰点下降法测定,确保制剂的渗透压符合规定的要求。如新鲜制剂一般处于与生理环境等渗的条件,渗透压可控制在280~320 mOsmol/kg范围内;但冻存制剂中因辅料中含有DMSO,为高渗型细胞悬液,浓度一般在1 000 mOsmol/kg以上。④可见异物检查:根据《中国药典》2025年版三部<sup>[16]</sup>0904《可见异物检查法》进行检查,这对输注用产品尤为重要。

#### 4.3 运输管理

制剂的运输一般可委托具有专业冷链运输资质的第三方承运商完成,运输过程中的温度和时限监控记录完整,温度和时限符合规定要求。制剂运输到医院进行复融后,应严格控制复苏后的保存时限。

#### 4.4 医院接收与复苏后管理

对于冻存制剂,医护人员应经过产品的复苏培训,严格按照产品说明书或经批准的标准操作规程进行标准化复融操作(如37℃水浴快速复苏、复苏时间、注意事项等),操作过程需规范以最大限度保证细胞活性,并尽量采用无水型自动智能化细胞复苏设备。

根据ICH M4Q(R2)<sup>[20]</sup>的要求,如制剂需要复溶或配制使用,应提供支持复溶或配制后使用期间贮藏条件及使用期限合理性的相关信息。

#### 4.5 产品追溯系统

应当建立完善的细胞产品标识与追溯系统,确保从供者材料运输、接收至产品生产、检验、放行、储存及使用的全过程,能够清晰区分不同来源的产品,有效防范混淆、交叉污染与差错。该系统须实现从供者至患者,并可自患者反向追溯至供者的双向全程可追溯性,以符合监管要求,强化质量控制和风险管理,最终保障细胞产品的质量可靠与临床用药安全。

## 5 稳定性研究

可依据ICH Q5C<sup>[21]</sup>、《中国药典》2025年版三部<sup>[16]</sup>9402《生物制品稳定性研究指导原则》,结合间充质干细胞的特有生物学特性,系统且科学地设计稳定性研究方案。目前,干细胞治疗产品的稳定性研究通常涵盖长期稳定性、加速稳定性、运输稳定性和使用稳定性等多个方面,旨在为产品的贮存条件、运输要求、使用方式与有效期制定提供充分依据。

## 6 结语

细胞治疗产品的制备与应用流程复杂,涉及多环节紧密衔接,必须确保全链条遵循质量源于设计原则和风险控制原则,并实现全程可追溯。因此,建立和实施一套科学、严谨、具备可追溯性的间充质干细胞药物生产与质量控制体系,是推动细胞治疗产品产业化与临床转化的基础。从供者筛选到终产品放行,从原辅料管控到生产环境监测,每一环节的质量保障均至关重要。通过持续优化工艺、深化对关键质量属性的认知、完善分析验证方法以及强化过程控制,才能制备出安全、有效、质量可控且批次间一致的细胞治疗产品。

随着技术的持续突破,未来MSCs药物的商业化生产与质控将与AI和自动化平台深度融合:以前瞻性的智能化设计引领研发方向,以精准可靠的自动化执行实现制造过程,并以全链条数字化追溯体系保障透明度。这不仅能够确保细胞药物安全、有效及质量稳定,推动产品成功获批上市,还将显著降低生产成本,使细胞治疗成为一种可及、可负担的常规医疗手段,惠及中国和全球患者。

## 参考文献 (References)

- [1] DOMINICI M, LE BLANC K, MUELLER I, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement [J]. *Cytotherapy*, 2006, 8(4): 315-7.
- [2] KRAMPERA M, GALIPEAU J, SHI Y, et al. Immunological characterization of multipotent mesenchymal stromal cells: the International Society for Cellular Therapy (ISCT) working proposal [J]. *Cytotherapy*, 2013, 15(9): 1054-61.
- [3] GALIPEAU J, KRAMPERA M, BARRETT J, et al. International Society for Cellular Therapy perspective on immune functional assays for mesenchymal stromal cells as potency release criterion for advanced phase clinical trials [J]. *Cytotherapy*, 2016, 18(2): 151-9.

- [4] RENESME L, COBEY K D, LALU M M, et al. Delphi-driven consensus definition for mesenchymal stromal cells and clinical reporting guidelines for mesenchymal stromal cell-based therapeutics [J]. *Cytotherapy*, 2025, 27(2): 146-68.
- [5] ZHAO Y, LUO Y, SHI J, et al. Salvage treatment of steroid-refractory acute GVHD with the off-the-shelf product of human umbilical cord mesenchymal stromal cells: a multicenter, open label, phase Ib/Ia trial [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2025, 16(1): 345.
- [6] SADRI B, HASSANZADEH M, BAGHERIFARD A, et al. Cartilage regeneration and inflammation modulation in knee osteoarthritis following injection of allogeneic adipose-derived mesenchymal stromal cells: a phase II, triple-blinded, placebo controlled, randomized trial [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2023, 14(1): 162.
- [7] ABOUZID M R, UMER A M, JHA S K, et al. Stem cell therapy for myocardial infarction and heart failure: a comprehensive systematic review and critical analysis [J]. *Cureus*, 2024, 16(5): e59474.
- [8] ISLAM M A, ALAM S S, KUNDU S, et al. Mesenchymal stem cell therapy in multiple sclerosis: a systematic review and meta-analysis [J]. *J Clin Med*, 2023, 12(19).
- [9] INTERNATIONAL COUNCIL FOR HARMONISATION (ICH). ICH harmonised tripartite guideline: pharmaceutical development Q8(R2) [EB/OL]. (2009-08-05) [2025-09-03]. <https://database.ich.org/sites/default/files/Q8%28R2%29%20Guideline.pdf>.
- [10] 国家药品监督管理局药品审评中心. 细胞治疗产品研究与评价技术指导原则(试行)[EB/OL]. (2017-12-22) [2025-09-03]. <https://www.cde.org.cn/zdyz/domesticinfo?page=zdyzIdCODE=452c529b299638297210fe4a1294eb31>.
- [11] ZHANG K H, JIA C C, WU X L, et al. Growth factors in a culture medium may enhance tumorigenic potency of human mesenchymal stem cells [J]. *Chin Med Biotechnol*, 2021, 16(6): 481-91.
- [12] FDA. Approval history, letters, reviews, and related documents: RYONCIL [EB/OL]. (2025-01-17) [2025-09-03]. <https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/cellular-gene-therapy-products/ryoncil>.
- [13] THAKUR G, BOK E Y, KIM S B, et al. Scaffold-free 3D culturing enhance pluripotency, immunomodulatory factors, and differentiation potential of Wharton's jelly-mesenchymal stem cells [J]. *Eur J Cell Biol*, 2022, 101(3): 151245.
- [14] SODER R P, DUDLEY N R, DAWN B. Microcarrier-based clinical-grade manufacturing of therapeutic Wharton's jelly mesenchymal stromal cells [J]. *Cytotherapy*, 2024, 26(12): 1556-65.
- [15] INTERNATIONAL COUNCIL FOR HARMONISATION. ICH harmonised tripartite guideline: quality risk management Q9(R1) [EB/OL]. (2023-01-18) [2025-09-03]. [https://database.ich.org/sites/default/files/ICH\\_Q9%28R1%29\\_Guideline\\_Step4\\_2025\\_0115\\_0.pdf](https://database.ich.org/sites/default/files/ICH_Q9%28R1%29_Guideline_Step4_2025_0115_0.pdf).
- [16] 国家药典委员会. 中国药典2025年版三部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2025.
- [17] 国家药品监督管理局食品药品审核查验中心. 细胞治疗产品生产质量管理指南(试行)[EB/OL]. (2022-10-31) [2025-09-03]. <https://www.cfdi.org.cn/cfdi/resource/news/14938.html>.
- [18] 国家药品监督管理局食品药品审核查验中心. 细胞治疗产品生产检查指南[EB/OL]. (2025-01-13) [2025-09-03]. <https://www.cfdi.org.cn/cfdi/resource/news/16292.html>.
- [19] HAN X Y, NA T, ZHANG K H, et al. Quality evaluation for biological effectiveness of human mesenchymal stem cells [J]. *Chinese Journal of New Drugs*, 2018, 27(21): 2511-8.
- [20] INTERNATIONAL COUNCIL FOR HARMONISATION. ICH harmonised guideline the common technical document for the registration of pharmaceuticals for human use: quality M4Q (R2) [EB/OL]. (2025-05-14) [2025-09-03]. [https://view.officeapps.live.com/op/view.aspx?src=https%3A%2F%2Fdatabase.ich.org%2Fsites%2Fdefault%2Ffiles%2FICH%2520M4Q%2528R2%2529\\_Draft\\_Guideline\\_2025\\_0514.docx&wdOrigin=BROWSELINK](https://view.officeapps.live.com/op/view.aspx?src=https%3A%2F%2Fdatabase.ich.org%2Fsites%2Fdefault%2Ffiles%2FICH%2520M4Q%2528R2%2529_Draft_Guideline_2025_0514.docx&wdOrigin=BROWSELINK).
- [21] INTERNATIONAL COUNCIL FOR HARMONISATION. ICH harmonised tripartite guideline quality of biotechnological products: stability testing of biotechnological/biological products Q5C(R2) [EB/OL]. (1995-11-30) [2025-09-03]. <https://database.ich.org/sites/default/files/Q5C%20Guideline.pdf>.