

人源干细胞产品非临床研究技术指导原则

国家药品监督管理局药品审评中心

二〇二四年一月

目录

一、概述	1
(一) 前言	1
(二) 适用范围	1
二、总体考虑	2
(一) 研究目的	2
(二) 基本原则	2
1. 具体情况具体分析	2
2. GLP 要求	3
3. 随机、对照、重复	3
(三) 制定非临床研究策略时的重要关注点	3
1. 非临床研究考虑因素	3
2. 受试物	4
3. 动物种属/模型选择	5
4. 给药方式/途径	7
5. 整合试验	7
三、基本内容	7
(一) 药理学研究/概念验证	7
(二) 药代动力学研究	8
(三) 非临床安全性研究	9
1. 安全药理学	9
2. 一般毒理学	10

3. 成瘤性和致瘤性	12
4. 免疫毒性和免疫原性	15
5. 遗传毒性	16
6. 生殖毒性	16
7. 制剂安全性	16
8. 其他	16
四、注释	16
五、参考文献	17

一、概述

（一）前言

干细胞是一类具有自我更新和多向分化潜能的细胞，在疾病治疗方面具有应用潜力。近年来，随着干细胞技术的发展、认知的深入和经验的积累，干细胞治疗已逐步成为生物医学领域的一大热点。

为规范和指导人源干细胞产品（以下简称干细胞产品）非临床研究和评价，在《细胞治疗产品研究与评价技术指导原则（试行）》《基因修饰细胞治疗产品非临床研究技术指导原则（试行）》基础上，根据目前对干细胞产品的科学认识，制定本指导原则，提出对干细胞产品非临床研究和评价的特殊考虑和要求。

随着技术的发展、认知程度的深入和相关研究数据的积累，本指导原则将不断完善和适时更新。

（二）适用范围

本指导原则主要为按照药品管理相关法规进行研发和注册申报的人源干细胞产品的非临床研究提供技术指导。

本指导原则中的人源干细胞产品是指起源于人的成体干细胞（adult stem cells, ASCs）、人胚干细胞（embryonic stem cells, ESCs）和诱导多能干细胞（induced pluripotent stem cells, iPSCs），经过一系列涉及干细胞的体外操作（一般包括扩增、基因修饰、诱导分化、转分化等）获得的干细胞及

其衍生细胞产品。

二、总体考虑

（一）研究目的

非临床研究是药物开发的重要环节。干细胞产品的有效成分是具有生物学功能且具有不同程度分化潜力的细胞，与常规治疗药物相比，其治疗机制、体内活性和毒性可能存在明显差异，细胞与人体的相互作用也更具有种属特异性，因此，与常规治疗药物相比，干细胞产品的非临床研究具有其特殊性。

干细胞产品非临床研究的主要目的是：（1）对拟定的作用机制进行概念验证，考察有效性潜力，明确其在拟定患者人群中使用的生物学合理性；（2）研究干细胞体内命运和行为；（3）根据潜在风险因素，阐明毒性反应特征，预测人体可能出现的不良反应，确定临床监测指标，为制定临床风险控制措施提供参考信息。应通过开展非临床研究，收集用于获益-风险评估的信息，以确定拟开发产品在目标患者人群中预期具有合理的、可接受的获益-风险比，同时为临床试验的设计和风险控制策略的制定以及产品上市提供支持性依据。

（二）基本原则

1. 具体情况具体分析

由于干细胞产品的物质组成和作用机制与小分子药物、

大分子生物药物不同，所以传统、标准的非临床研究试验方法可能不完全适用于干细胞产品。干细胞产品种类多、差异大、情况复杂、风险程度不同，因此，不同产品所需的非临床研究内容和具体试验设计应遵循“具体情况具体分析”的原则。

2. GLP 要求

干细胞产品的非临床安全性研究一般应当在经过药物非临床研究质量管理规范（GLP）认证的机构开展，并遵守 GLP。当某些特殊情况下无法遵守 GLP 时，例如采用非常规动物模型、在概念验证或生物分布试验中整合安全性检测指标、检测某些特殊指标等，应最大限度地按 GLP 原则进行试验，确保试验质量和数据的完整性及可追溯性。

3. 随机、对照、重复

试验应遵循随机、对照、重复的原则。

（三）制定非临床研究策略时的重要关注点

1. 非临床研究考虑因素

干细胞具备自我更新和多向分化潜能，细胞类型多样，细胞本身具备体内存续、增殖和/或分化、细胞间相互作用等能力。由于细胞本身生物学特性、制备工艺的复杂性、给药方式的多样性等因素，各类型干细胞产品的风险程度也可能不同。在非临床研究中需要考虑以下因素(包括但不限于)：细胞来源、生物学特性、作用机制；生产过程(如体外培养、

纯化、诱导分化、扩增、基因修饰/改造等); 终产品中不同分化阶段细胞的数量/比例; 终产品中可能残留的非目的细胞(如未分化细胞、非预期分化细胞等)、非细胞成分(如杂质、外源因子等); 临床拟用人群、给药方式、预期的药理作用靶部位; 细胞在受者体内的迁移、定植、分化、存续等; 细胞的免疫原性和受者对细胞的免疫反应; 成瘤性和致瘤性的风险等。此外, 对于已有人体数据的干细胞产品, 还可结合人体信息综合评估预期的人体风险和获益。

涉及基因修饰的干细胞产品还需考虑以下因素(包括但不限于): (1) 基因修饰的目的、方式、技术; (2) 基因转导/编辑效率; (3) 载体自身风险; (4) 基因修饰脱靶风险; (5) 基因修饰对细胞表型和生物学特性的影响; (6) 对于导入目的基因, 还应考虑目的基因的表达情况和表达产物的生物学作用。

2. 受试物

非临床研究所用受试物应能代表临床拟用样品。体外、体内非临床研究所使用的样品均应符合相应开发阶段的质量标准要求。若后续制备工艺发生变更, 应阐明非临床研究所用样品与临床试验拟用样品的异同及其对人体有效性和安全性的可能影响, 必要时开展变更前后样品的非临床桥接研究。

当无法采用临床拟用产品进行动物试验而采用动物源

替代产品开展试验时，动物源替代产品应与临床拟用产品采用相似的生产工艺，并对可能影响有效性和安全性的关键质量参数进行对比研究，以评估替代产品与临床拟用产品的相似性及其对非临床数据预测性的影响。目前，对于不同种属来源的干细胞之间的相似性的研究尚不充分，尚缺乏统一的相似性评价标准。因此，采用从动物源替代产品非临床试验中获得的数据进行临床转化时，存在一定的不确定性。

3. 动物种属/模型选择

应尽可能选择相关动物种属/模型进行非临床体内研究。动物种属/模型的选择应该具有科学合理的依据。选择相关动物时需要考虑产品特性和临床拟用情况，包括但不限于以下因素：（1）动物对人源干细胞及其分化后细胞的生物学反应与预期的人体反应的相似性；（2）动物对人源干细胞的免疫耐受性；（3）动物的解剖学和病理生理学特征与拟定适应症人群的相似性；（4）临床拟用给药途径/给药方式的可行性；（5）涉及基因修饰的干细胞产品，还应考虑动物对目的基因或基因表达产物的敏感性、表达产物在动物体内的生物学效应。

采用疾病动物模型开展的研究可以同时提供干细胞产品的药理活性和毒性信息，也可以模拟临床患者的病理生理状态，因此，必要时可考虑采用疾病动物模型进行非临床研究。

免疫功能正常的动物给予人源干细胞后，可能出现免疫应答反应，导致细胞被过早或快速清除，此种情况下，可考虑采用免疫缺陷或免疫系统人源化的动物模型开展非临床研究。免疫缺陷动物包括遗传性免疫缺陷动物模型、经免疫抑制剂/物理照射方法构建的免疫抑制动物模型等，可根据情况进行合理选择。

需要关注的是，每种动物种属/模型均有其优点和不足，没有一种动物种属/模型可全面预测干细胞产品在患者人群中的有效性和安全性。因此，在选择动物种属/模型时，应评估所采用的动物种属/模型与人体的相关性和局限性。若有多种相关动物种属/模型，且这些动物种属/模型可提供互补的证据，建议采用多种动物种属/模型开展研究。当缺少相关动物种属/模型时，基于细胞和组织的模型（如二维或三维组织模型、类器官和微流体模型等）可能为非临床有效性和安全性的评估提供有用的补充信息。

同源动物模型（即在同一动物种属中使用动物源替代产品来模拟人类细胞产品的动物模型）可能可以为概念验证提供支持性信息，在无法采用临床拟用产品进行动物试验（应提供依据）的情况下可以考虑采用。然而，由于动物干细胞和人类干细胞之间的差异性，从该模型获得的研究数据在预测人体反应方面存在不确定性，因此对该动物模型中获得的数据应进行谨慎分析。

4. 给药方式/途径

非临床研究中的给药方式/途径应能最大程度模拟临床拟用给药方式/途径。如果在动物试验中采用其他的给药方式/途径，应阐明其科学性和合理性依据。

某些情况下，干细胞产品可能涉及干细胞产品以外的其他材料(如生物材料、细胞支架、特殊给药设备等)的应用，也可能与其他医学干预措施联合使用(如手术、组织提取操作、免疫抑制)，这些材料或干预措施可能会与干细胞产品相互作用，且这些材料或干预措施之间也可能发生相互作用。此种情况下，非临床研究应尽可能模拟临床给药方案。

5. 整合试验

基于干细胞产品特点、相关动物种属/模型的可获得性，某些非临床试验可整合在其他试验中进行。例如，如果可行且科学合理，在疾病动物模型的药效学试验中伴随考察毒理学指标，将药代动力学试验整合至药效学试验和/或毒理学试验中。整合试验设计有助于阐明药代动力学、药效、毒性的相关性。

三、基本内容

(一) 药理学研究/概念验证

应通过药理学试验阐述干细胞产品的可能作用机制以及在拟定患者人群中使用的生物学合理性。试验设计应考虑干细胞产品的作用机制、给药方式、产品特性和存续时间等

因素。

干细胞产品的药理学研究通常包括体外和体内试验。体外试验应对细胞的表型和功能特性进行研究，如细胞增殖能力、分化潜力、分泌能力以及其他生理功能活性等。若涉及基因修饰或其他改造，还应研究这些修饰或改造对细胞生理、行为和功能活性的潜在影响。体内试验应尽可能在与人类疾病相关的疾病动物模型中验证细胞产品可发挥预期的药理学作用。疾病动物模型和主要终点的选择应结合细胞的药理学作用机制和拟用的患者人群综合考虑。对于涉及组织再生/修复的产品，应关注对长期效应的评估。

体外和体内试验应足以全面验证产品的设计理念。

（二）药代动力学研究

干细胞产品的药代动力学研究信息对提示其有效性和安全性至关重要。应参考《细胞治疗产品研究与评价技术指导原则(试行)》中对细胞治疗产品药代动力学的一般要求，采用相关动物种属开展药代动力学试验，以阐明干细胞产品在体内的命运和行为。根据产品特性，检测与药效和毒性相关的药代动力学行为，如生物分布、迁移、定植、增殖、分化、存续性等。疾病动物模型可能对评估干细胞产品的分布特征更有意义，鼓励在药效学试验中伴随生物分布研究。生物分布试验设计时应考虑到干细胞的体内命运是一个多步骤过程，应动态观察干细胞的生物分布特征，可采用的技术

方法有影像技术、聚合酶链式反应（polymerase chain reaction, PCR）技术、免疫组化技术、原位杂交技术等，试验设计需要考虑技术方法的适用性和优缺点。

涉及基因修饰的干细胞产品还应参考 ICH S12 指导原则对目的基因的存续、表达（部位、水平、持久性）以及表达产物的生物学活性进行必要的研究。

（三）非临床安全性研究

在制定非临床安全性研究策略时，除参考《细胞治疗产品研究与评价技术指导原则（试行）》中对细胞治疗产品的一般要求外，还应根据每个产品的特点，按照基于风险的原则具体问题具体分析，除参考本指导原则“二、总体考虑”项下“1.非临床研究考虑因素”小节内容外，还应考虑的因素包括已有的非临床/临床数据、类似产品的有效性和安全性信息等。

1. 安全药理学

干细胞及其分化的功能细胞和/或其分泌的活性物质、处方中非细胞成分等可能会对中枢神经系统、心血管系统、呼吸系统等产生影响。在首次临床试验前，应结合细胞产品的特性、细胞在体内的分布特征评估其对中枢神经系统、心血管系统、呼吸系统的潜在影响。经评估存在安全性担忧时，应考虑进行安全药理学试验，若无法进行，应说明理由。这些试验可结合在一般毒理学试验中，若结合进行，需按安全

药理学试验的要求进行设计。在必要时，可能需要开展补充和追加的安全药理学研究。

2. 一般毒理学

一般毒理学试验主要用于评价干细胞产品的全身毒性和局部毒性、急性毒性和长期毒性或延迟毒性、剂量和效应关系等。应基于干细胞产品的生物学特性、可能的风险因素和安全性担忧，采用基于风险、科学导向的灵活设计方案。

2.1 动物种属选择

关于毒理学试验动物种属的选择，应基于干细胞产品的风险大小、相关动物种属/模型的可获得性等因素综合分析，总体目标是尽可能最大程度地阐明干细胞产品的安全性特征，为人体安全性提供有价值的预测信息。在可行的情况下，尽量考虑获得两种相关动物种属的非临床安全性信息；若不可行，需提供不可行的科学合理的依据。在某些情况下，基于品种的特点和对同类品种已有的安全性认识，一种动物种属的毒理学试验可能也是能接受的，但是应提供科学合理性依据。动物种属选择的考虑因素参考本指导原则“二、总体考虑”项下“3.动物种属/模型选择”的建议。

通常在一般毒性试验开展前，应探索与人体相关的潜在动物种属/模型，基于充分的科学合理的信息，来支持动物种属的选择。

通常采用雌雄两种性别动物进行试验。若采用单性别进

行试验，应提供合理性依据。

2.2 分组和剂量设计

通常情况下，一般毒理学试验中的给药剂量应包括多个剂量。合适的剂量间距，有助于评估毒性反应-剂量关系的陡峭程度和 I 期临床剂量递增方案的设计。高剂量一般期望获得明显毒性反应的相关信息，通常为药效学最高剂量的一定倍数或拟推荐临床最高剂量的一定倍数。最高剂量的设置可能会受到动物模型、给药部位容量/大小、给药途径和制剂最高浓度等限制，可选择最大可行剂量作为最高剂量。

需结合处方组成和生产工艺，设置合适的对照组，以帮助确定试验中发现的不良结果是否与受试物相关。

2.3 给药方案

试验中的给药方案应最大程度地模拟临床拟用给药方案，给药途径、给药频率和试验期限应能反映临床使用情况。结合产品的预期存续特点和在动物中的药代动力学特征设置合适的给药次数、给药频率和试验期限，并确保试验中动物暴露于受试物和/或表达产物。

2.4 检测指标

对于在体内可能长期存续发挥作用的产品，建议一般毒理学试验中设置多个剖检时间点，以评估可能的急性期反应和长期存续导致的长期毒性或延迟毒性。除常规观察指标外，还需结合产品特点 and 风险，选择合适的检测指标。对于系统

给药的干细胞产品，应关注异位组织形成的风险。当形成异位组织时，应考虑其类型和发生率、解剖位置和起源。必要时应采用免疫组化等方法对异位组织的细胞来源进行分析评估。

3. 成瘤性和致瘤性

干细胞产品、干细胞产品中残留的未分化细胞或转化细胞可能会存在致癌性风险，致癌性是干细胞产品安全性评价的重点关注内容，但是标准的啮齿类动物致癌性试验不适用于干细胞产品，需采用成瘤性和致瘤性试验评估干细胞产品的致癌性潜力。成瘤性和致瘤性试验应采用临床拟用产品进行试验，不可采用动物源替代产品。

3.1 成瘤性（Tumorigenicity）风险

干细胞产品的成瘤性系指动物接种细胞后由接种细胞本身形成肿瘤的可能性，即接种的细胞自身形成肿瘤的可能性。

干细胞产品的成瘤性风险来源包括但不限于：终产品、终产品中残留的未分化细胞、终产品中其它未知的未分化完全细胞具有较高的增殖和分化能力，在体内可能具有形成肿瘤的风险；基因修饰、长时间体外培养等操作可能导致细胞的基因、表观遗传学改变，使细胞可能具有转化为肿瘤细胞的风险。

干细胞产品的成瘤性风险大小取决于细胞的来源、表型、

分化状态、增殖能力、体外培养条件、体外处理方式/程度、注射部位和注射途径等。

多能干细胞（如 iPSCs 和 ESCs）与成体干细胞[如间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)、造血干细胞(hematopoietic stem cells, HSCs)]在肿瘤形成的固有风险方面存在明显差异。正常的成体干细胞通常没有固有的成瘤性，但如果在体外培养过程中发生转化，它们在体内也有可能形成肿瘤。多能干细胞具有形成畸胎瘤的固有特征，当在敏感解剖部位（例如中枢神经系统）形成畸胎瘤时，会引起安全性担忧。未分化的多能干细胞也可能产生恶性畸胎瘤。

3.2 致瘤性（Oncogenicity）风险

干细胞产品的致瘤性系指终产品通过临床拟用途径给予受者（受试者/患者）后，导致受者形成肿瘤的可能性，即终产品促使正常细胞转变为肿瘤细胞的可能性。

3.3 成瘤性和致瘤性非临床研究策略

在开展首次临床试验前，应基于干细胞产品的生物学特性（细胞成瘤的可能性）、体外处理方式/程度（培养传代次数、基因修饰等）、细胞存续特点、临床拟用给药途径等因素，评估干细胞产品的成瘤性和/或致瘤性风险。

目前评价干细胞产品成瘤性的体外试验包括但不限于：核型分析（用于评估遗传稳定性）、软琼脂克隆形成试验（用于检测转化细胞）、端粒酶活性检测（用于评估端粒酶活性

水平)、数字 PCR (用于检测未分化的 iPSCs 或 ESCs) 等。可根据产品特点选择合适的体外试验方法。

动物成瘤性和致瘤性试验是干细胞产品致癌性潜力评估的重要内容,但是应认识到其在相关动物模型选择及临床预测价值方面尚存在局限性。设计体内成瘤性和致瘤性试验时,干细胞产品应能在所选择的动物模型中存活足够长的时间以评价肿瘤形成的潜力,因此试验中需伴随评估植入细胞的存续情况。试验应设计合适的对照(如未分化细胞、部分分化细胞或阳性对照、溶媒对照等)以确立实验系统的敏感性和可靠性;设置合适的动物数量,使得足以对结果进行科学分析;应包含一个最大可行剂量;应至少包含临床拟用给药途径,以确保可将细胞产品递送到临床拟用靶部位(除下文所述在有合理依据时体内成瘤性试验可采用敏感给药途径外);试验期限应足以观察到肿瘤形成。(注释 1)

对于成瘤性和致瘤性风险较低的成体干细胞产品,通常应在首次临床试验前至少完成体外成瘤性评价;对于拟用于非晚期肿瘤适应症且风险较低的干细胞产品,通常在上市前完成体内成瘤性和/或致瘤性试验。

对于成瘤性和/或致瘤性风险较高的干细胞产品(例如多能干细胞产品、其他分化程度较低的干细胞产品、药学和/或已有非临床研究提示风险较高的产品等),在首次临床试验前,应完成体外成瘤性评价、临床给药途径或敏感给药途

径（如皮下注射、睾丸注射、肌腱注射、脊髓内注射等，应有合理依据）的体内成瘤性试验；若成瘤性试验出现阳性结果，或者一般毒理学试验中发现受者来源的癌前病变、可疑癌变等，首次临床试验前还应完成临床给药途径的致瘤性试验。若成瘤性试验结果为阴性，上市前完成临床给药途径的致瘤性试验。

当在动物成瘤性和/或致瘤性试验中观察到肿瘤发生时，需进行肿瘤细胞的种属来源分析，以明确其来自于接种的干细胞产品还是来自于受者，分析属于成瘤性还是致瘤性。

考虑到非临床评价方法在预测干细胞产品成瘤性和致瘤性风险方面的局限性，需在临床试验中对受试者进行长期随访，关注肿瘤形成风险。

对于拟用于肿瘤患者的人源干细胞产品，建议结合产品特性评估促进肿瘤进展的风险，必要时开展促瘤性试验。

4. 免疫毒性和免疫原性

干细胞产品需关注其诱导产生的免疫毒性，需采用合适的方法开展免疫毒性研究。

在非临床研究阶段，可根据产品的特性和风险评估考虑是否开展干细胞产品的免疫原性研究。对于涉及基因修饰的干细胞产品，其表达的蛋白质与天然产物相比结构可能发生改变，或基因修饰可能产生非预期的肽/蛋白质等，需评价免疫原性。可开展免疫原性发生机制/影响因素相关的体外研

究，尤其当体内免疫原性研究无法开展时（注释 2）。

5. 遗传毒性

干细胞产品通常不需要进行标准组合的遗传毒性试验。如果终产品中的非细胞成分与 DNA 或其他遗传物质存在直接的相互作用，需评估其遗传毒性风险，必要时开展试验。

对于涉及基因修饰的干细胞产品，需参考《基因修饰细胞治疗产品非临床研究技术指导原则（试行）》进行基因插入突变、基因编辑脱靶等风险评估。

6. 生殖毒性

干细胞产品应根据产品的特性、作用机制、临床适应症和临床拟用人群、一般毒理学试验中的发现、生物分布特征等信息评估潜在的生殖和发育毒性风险。干细胞产品生殖毒性试验的研究策略和风险评估可参考相关指导原则。

7. 制剂安全性

应根据干细胞产品的特点与临床应用情况考虑开展终产品制剂的刺激性、溶血性试验。

8. 其他

目前，干细胞产品的细胞来源、生产工艺、适应症定位、临床应用情况等方面存在较大的多样性，必要时，应基于产品特点及风险考虑开展或追加其他试验。

四、注释

注释 1：对于干细胞产品的成瘤性和致瘤性试验，目前

尚无国际公认的试验方法，尚需不断积累经验。但是，成瘤性和致瘤性试验的目的是为了提示干细胞产品的致癌性潜力，试验设计应达到能够敏感地检测到潜在的成瘤性和致瘤性的目标。关于成瘤性、致瘤性试验的试验期限，基于试验目的、动物模型寿命、不同给药途径下肿瘤发生的敏感程度等因素考虑，基于现有的认知，建议静脉给药途径的成瘤性和致瘤性试验的观察期限不短于 6 个月，若采用敏感的其他给药途径进行成瘤性试验，建议观察期限不短于 4 个月；但在可行的情况下延长观察期限可能更有利于成瘤性和致瘤性评价。

注释 2：非临床免疫原性研究通常指体内研究，如采用免疫功能正常的动物给予干细胞产品后检测免疫原性，通常可伴随在一般毒理学试验中开展。针对干细胞产品，有文献报道与免疫原性发生机制/影响因素有关的体外研究方法，例如检测干细胞表面的 MHC I 类和 MCH II 类分子、共刺激分子的表达情况，混合淋巴细胞共培养试验等，这些试验对预测和评估人体免疫原性风险也有一定参考价值。但是，这些方法尚处于研究中，尚未形成公认的方法，需继续积累经验。

五、参考文献

[1]NMPA. 细胞治疗产品研究与评价技术指导原则（试行）.2017 年.

- [2] NMPA. 人源干细胞产品药学研究与评价技术指导原则（试行）.2023.
- [3] NMPA. 基因修饰细胞治疗产品非临床研究技术指导原则（试行）.2021.
- [4] ISSCR. ISSCR Guidelines for stem cell research and clinical translation.2021.
- [5] EMA. Reflection paper on stem cell-based medicinal products.2011.
- [6] ICH. M3(R2): Guidance on nonclinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorization for pharmaceuticals.2009.
- [7] ICH. S12: Nonclinical biodistribution considerations for gene therapy products.2023.
- [8] FDA. Preclinical assessment of investigational cellular and gene therapy products.2013.
- [9] EMA. Guideline on quality, non-clinical and clinical aspects of medicinal products containing genetically modified cells.2021.
- [10] EMA. Guideline on human cell-based medicinal products.2008.
- [11] ICH. S5(R3): Detection of reproductive and developmental toxicity for human pharmaceuticals. 2020.

[12] ICH. S6(R1): Preclinical safety evaluation of biotechnology-derived pharmaceuticals.2011.

[13] WHO. Recommendations for the evaluation of animal cell cultures as substrates for the manufacture of biological medicinal products and for the characterization of cell banks(R).2018.