

## 人源干细胞制剂微生物污染控制及相关规范

陈翠珠<sup>1,2</sup>, 黄长发<sup>1,2,3,4</sup>, 李倩<sup>5</sup>, 吴泽<sup>1,2</sup>, 曹春然<sup>5</sup>, 吴志宏<sup>1,2</sup>

中国医学科学院北京协和医院<sup>1</sup> 临床医学研究所<sup>2</sup> 转化医学国家重大科技基础设施<sup>3</sup> 骨科, 北京 100730

<sup>4</sup> 中国医学科学院 北京协和医学院研究生院, 北京 100730

<sup>5</sup> 北京市药品检验研究院 国家药品监督管理局创新药物安全研究与评价重点实验室, 北京 102206

通信作者: 吴志宏, E-mail: wuzh3000@126.com

**【摘要】** 人源干细胞制剂及相关产品在国内外已广泛用于难治性疾病的临床试验及治疗, 由于干细胞制剂制备过程复杂, 目前微生物检测法难以满足干细胞制剂安全性检验相关需求, 特别是医疗机构内的放行检验, 因此研发新的替代方法使干细胞制剂能够安全及时用于临床迫在眉睫。本文从干细胞制剂原材料选择、制备过程、放行检验、治疗过程以及留样检验过程阐述干细胞制剂涉及的微生物检测环节及相关制度规范, 以期为人源干细胞制剂临床应用中的微生物质量控制提供依据。

**【关键词】** 干细胞; 临床治疗; 微生物; 质量控制

**【中图分类号】** R329.2; R943

**【文献标志码】** A

**【文章编号】** 1674-9081(2025)06-1429-08

**DOI:** 10.12290/xhyxzz.2024-0586

## Microbial Contamination Control and Related Standards for Human Stem Cell Preparations

CHEN Cuizhu<sup>1,2</sup>, HUANG Changfa<sup>1,2,3,4</sup>, LI Qian<sup>5</sup>, WU Ze<sup>1,2</sup>, CAO Chunran<sup>5</sup>, WU Zhihong<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Institute of Clinical Medicine, <sup>2</sup>National Infrastructures for Translational Medicine, <sup>3</sup>Department of Orthopaedics, Peking Union Medical College Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100730, China

<sup>4</sup>Graduate School, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100730, China

<sup>5</sup>Beijing Institute for Drug Control, Key Laboratory for Safety Research and Evaluation of Innovative Drugs, State Drug Administration, Beijing 102206, China

Corresponding author: WU Zhihong, E-mail: wuzh3000@126.com

**【Abstract】** Human stem cell preparations and related products have been widely utilized in clinical trials and treatments for refractory diseases both domestically and internationally. Due to the complexity of the preparation process for stem cell preparations, current microbial detection methods struggle to meet the safety testing requirements, particularly for release testing within medical institutions. Therefore, it is imperative to develop novel alternative methods to ensure the safe and timely clinical application of stem cell preparations. This article elaborates on the microbial testing procedures and relevant regulatory standards involved in stem cell preparations, covering aspects such as raw material selection, preparation processes, release testing, therapeutic application,

陈翠珠、黄长发对本文同等贡献

基金项目: 中国医学科学院医学与健康科技创新工程 (2021-I2M-1-052)

引用本文: 陈翠珠, 黄长发, 李倩, 等. 人源干细胞制剂微生物污染控制及相关规范 [J]. 协和医学杂志, 2025, 16 (6): 1429-1436.

doi: 10.12290/xhyxzz.2024-0586.

and sample retention testing. The aim is to provide a foundation for microbial quality control in the clinical use of stem cell preparations.

**【Key words】** stem cells; clinical therapy; microbe; quality control

**Funding:** Medical and Health Science and Technology Innovation Project of Chinese Academy of Medical Sciences (2021-12M-1-052)

Med J PUMCH, 2025,16(6):1429-1436

人源干细胞制剂是指用于治疗疾病或改善健康状况、以不同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细胞制剂<sup>[1]</sup>。因其对疑难重症患者的治疗前景光明，已得到各国政府和学术机构的普遍重视。干细胞根据来源可分为胚胎干细胞、成体干细胞和诱导多能干细胞，根据分化潜能可分为全能干细胞、多能干细胞和单能干细胞。目前，临床用干细胞制剂主要来源于脐带、骨髓、脂肪组织等，属于成体干细胞范畴。国外已有 12 款间充质干细胞制剂获批用于临床治疗<sup>[2-4]</sup>，其中韩国 5 款，欧盟 2 款，日本 2 款，美国、伊朗和印度各 1 款，另有多项研究处于临床试验阶段，涉及到呼吸系统<sup>[5-6]</sup>、骨骼系统<sup>[7-8]</sup>、肝脏<sup>[9-10]</sup>、肾脏<sup>[11-12]</sup>、神经系统<sup>[13-14]</sup>、免疫系统<sup>[15-16]</sup>等多个领域。我国已将干细胞研究纳入《“健康中国 2030”规划纲要》和《“十四五”生物经济发展规划》中，通过药品临床试验登记与信息公示平台查询可知，2013 年至今关于间充质干细胞的临床试验共计 45 项，其中 8 项已完成临床研究，37 项处于在研状态<sup>[17]</sup>。

为保障细胞类产品在临床安全规范使用，用于临床治疗的干细胞目前已按照药品制剂进行管理。一款干细胞制剂应用于临床前需经过制备、质量控制、临床前研究（体外及体内试验）到临床试验的

全过程，其中，干细胞制剂的制备包括从供体获取干细胞、进行体外分离、纯化、培养等操作。由于干细胞制剂制备过程复杂、消毒灭菌工艺特殊，且使用干细胞制剂的患者免疫功能往往较弱，感染后果严重，因此制备及临床应用过程中的风险控制尤为重要。除需关注环境、操作流程、人员素质等因素外，还应关注到整个流程的微生物感染控制。目前，传统微生物检测方法（如培养法）因耗时过长且灵敏度低，无法满足干细胞制剂快速放行的需求。近年来，宏基因组测序和质谱技术等新兴检测方法能够在更短时间内识别多种病原微生物，为干细胞制剂的微生物检测提供了新的解决方案。本文梳理干细胞制剂的原材料选择、制备、放行检验、治疗以及留样检验等若干环节，阐述干细胞制剂临床应用发展过程中的微生物感染检测及相关规范，以期为干细胞制剂临床应用提供依据，并为微生物检测新方法开发指明方向。

1 干细胞临床应用中的微生物污染控制环节

干细胞临床应用涵盖原材料采集、制剂制备、放行检验、治疗等关键环节，各环节微生物污染控制方法及参考规范详见表 1。

表 1 干细胞临床应用过程中的微生物污染控制方法及参考规范

Tab. 1 Microbial contamination control methods and reference standards in stem cell clinical applications

微生物污染控制环节	控制方法	参考规范
原材料采集	细菌检测-培养法（呼吸信号法）；支原体检测-PCR 法；病毒检测-PCR 法；内毒素检测-鲎试剂法	《细胞治疗产品生产用原材料的质量管理规范》《中华人民共和国药典 2020 版》第三部“生物制品通则”，《中华人民共和国药典 2020 版》第四部“细菌内毒素检测法”“支原体检查法”“无菌检查法”“血液制品生产用人血浆病毒核酸检测技术要求”“细胞类制品微生物检查法”，《人源干细胞产品药学研究与评价技术指导原则（试行）》
制剂制备	细菌检测-培养法（呼吸信号法）；支原体检测-PCR 法，培养法；病毒检测-PCR 法；内毒素检测-鲎试剂法	《干细胞制剂质量控制及临床前研究指导原则（试行）》《干细胞制剂制备质量管理自律规范》《人源干细胞产品药学研究与评价技术指导原则（试行）》
放行检验	微生物检测-呼吸信号法（快速微生物培养法）；支原体检测-PCR 法；内毒素检测-鲎试剂法	“药品微生物检验替代方法指导原则”《细胞类制品微生物检查法（公示稿）》第一版，《细胞类制品微生物检查指导原则第二版》公示稿，《细胞和基因治疗产品快速无菌检查法的验证技术要求》
临床治疗	检验科检测	参照国家卫生健康委临床检验中心标准

PCR（polymerase chain reaction）：聚合酶链式反应

1.1 干细胞治疗产品生产用原材料微生物污染控制

中国医药生物技术协会于 2023 年 7 月发布的《细胞治疗产品生产用原材料的质量管理规范》<sup>[18]</sup> 规定,生产用原材料指的是在生产过程中与细胞治疗产品直接接触,但不在终产品中存在的材料,包含多组分复杂混合物,如盐类、缓冲液、培养基、添加因子,以及血清和血清替代类、重组蛋白类、组织提取蛋白类等。这些材料会对细胞治疗产品的安全性和有效性造成影响,因此防止病源微生物的引入和传播等措施有助于细胞治疗产品的质量控制。国家药典委员会在《中华人民共和国药典》第三部(下文简称“药典第三部”)中对生产用原材料的定义与上述规范相似,排除了生物制品生产的起始原材料<sup>[19]</sup>。但国家药品监督管理局药品审评中心于 2023 年 4 月发布的《人源干细胞产品药学研究与评价技术指导原则(试行)》中对干细胞制剂生产用原材料的定义范围则较广,包含了起始原材料和其他原材料,起始原材料包括生产用细胞、生产辅助细胞、体外基因修饰系统;其他原材料包括培养基、添加因子、其他生化试剂等<sup>[20]</sup>。这表明,干细胞制剂的质量控制不仅涵盖了起始原材料的无菌性,还涉及更加广泛的微生物污染防控要求。

前两者主要强调对其所定义的原材料的无菌要求,例如,供应商需提供病毒去除工艺的验证,确保动物源性原材料不含病原体<sup>[18-19]</sup>。对于人源性原材料,则需按照国家标准<sup>[18-19]</sup>进行病毒检测,使用者还需确认材料的适用性,包括无菌性、内毒素、支原体等方面的检测,以确保生产安全性。对于血清类材料,如牛血清和人血浆,需参照药典第三部的相关标准进行检测<sup>[21-22]</sup>。在实际操作中,随着技术的进步还应进一步加强新兴检测技术的开发应用,以更好地满足干细胞制剂的微生物控制需求。

1.2 干细胞治疗产品制备过程中的微生物污染控制

干细胞制剂制备过程中的微生物污染控制包括对供者的筛选、采集过程的标准操作、接收/制备/储存/放行检验/运输等过程的无污染控制。为保证干细胞制剂在临床的安全使用,应严格控制每一个可能引入污染的环节<sup>[1,20,23]</sup>: (1) 在供者筛选和采集过程中,需对供者的健康状况进行详细评估。对于干细胞供者,需筛查既往病史、家族史、当前健康报告,必要时还应包括出入疫区等其他情况的报告及样本检测。检测项目包括但不限于人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)、乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)、丙型肝炎病毒(hepatitis C virus,

HCV)、人类 T 细胞白血病毒(human T-cell leukemia virus, HTLV)、埃布斯坦-巴尔病毒(Epstein-Barr virus, EBV)、巨细胞病毒(Cytomegalovirus, CMV)及梅毒螺旋体(treponema pallidum)等。对干细胞供者进行评估,以预防传染性疾病和明确的遗传性疾病通过干细胞制剂进行传播。采集过程中采集人员应注意无菌操作,所用物料及试剂保证无菌,存储环境及交接过程保证无菌。(2) 接收及制备流程包括干细胞的富集、分离、纯化、扩增、传代、诱导、收获、分装、冻存以及细胞系细胞库的建立、向功能性细胞定向分化,不仅应保证每一个环节的无菌操作,还应注意接收和制备过程中所用培养基、辅料和包装材料等物料的选择标准。(3) 严格执行细胞储存、复苏、分装、标记、放行及运输过程中的无菌、无病毒、无支原体及低内毒素原则<sup>[24]</sup>。

为规范干细胞制备过程以保证干细胞质量控制,国家出台了相应文件。2015 年 8 月,原国家卫生计生委、食品药品监管总局联合发布《干细胞制剂质量控制及临床前研究指导原则(试行)》<sup>[23]</sup>,该指导原则提出了适用于各类可能应用于临床的干细胞(除已有规定的造血干细胞移植外)在制备和临床前研究阶段的基本原则。2016 年,中国医药生物技术协会发布的《干细胞制剂制备质量管理自律规范》<sup>[1]</sup>提出了制备机构开展干细胞制剂制备应遵守的基本原则,也为对制备机构开展干细胞制剂制备的能力评价提供了依据。国家药品监督管理局药品审评中心于 2023 年 4 月发布的《人源干细胞产品药学研究与评价技术指导原则(试行)》<sup>[20]</sup>为人源干细胞产品上市申请阶段的药学研究提供了技术指导。通过上述法规和指导文件,干细胞制剂制备过程中的微生物污染控制更加系统化和规范化,进一步确保了干细胞产品在临床应用中的安全性。

1.3 干细胞制剂放行检验过程中的微生物污染控制

《中华人民共和国药典》第四部(下文简称“药典第四部”)中要求药品、生物制品等应进行至少 14 d 的微生物培养以检测其是否无菌<sup>[25]</sup>。然而细胞类制品效期短、剂量少,目前的微生物检测方法很难满足需求。随着微生物分析技术的发展,制药领域引入了多种快速微生物检测方法,如药典第四部通则 9201“药品微生物检验替代方法指导原则”<sup>[26]</sup>中介绍的检测培养生长信号技术、直接检测微生物技术、结合预培养和直接检测的复合技术。快速微生物检测方法在药品质量控制方面的应用历史较短,在检测的广谱性、灵敏度等方面积累的数据有限,因此应用前



需进行充分评估。国家药典委员会于 2021 年 10 月 26 日发布了《细胞类制品微生物检查法（公示稿）》第一版<sup>[27]</sup>，又于 2022 年 12 月 1 日发布了《细胞类制品微生物检查指导原则第二版》公示稿<sup>[28]</sup>，以满足细胞类制品放行的快速微生物（细菌/真菌）检测需求。该准则建议采用呼吸信号法代替原有的微生物培养技术，可将微生物培养时间缩短至 3~7 d 完成。上海医药行业协会于 2022 年 6 月 28 日发布了《细胞和基因治疗产品快速无菌检查法的验证技术要求》团体标准<sup>[29]</sup>，并于 2022 年 7 月 28 日实施，对鉴定的菌种、时间及性能评价进行规定，说明可将微生物培养时间缩短至 3~7 d。然而，细胞制剂到达临床试验机构后很难维持 7 d 的活力，因此开发新的微生物检测方法迫在眉睫。

#### 1.4 干细胞临床治疗过程中的微生物污染控制及留样检验

干细胞临床治疗过程中的微生物污染控制主要是在机体发热等有感染可能性的情况下采集相应部位标本送检，若临床检测微生物阳性则采取相应治疗原则进行治疗，同时院内干细胞制剂放行检测实验室对留样标本进行检测，以评估临床感染阳性患者致病微生物来源。干细胞制剂放行检验的实验室留样标本一方面用于干细胞制剂临床治疗过程中感染患者的致病微生物溯源检测，一方面长期留存用于致瘤基因等的检测。这种留样检验机制为临床使用干细胞制剂提供了重要安全保障，有助于更全面地监控治疗过程中的微生物污染风险及溯源。

## 2 干细胞制剂现行微生物检测方法

目前，用于微生物检测的方法主要为培养法和基因检测法，其中，培养法是鉴定微生物的金标准，但其耗时长，不适用于在细胞类产品放行检验。基因检测法快速灵敏，可满足放行检验对时间的要求，但对于检测阳性结果，无法区分微生物是否存活。

### 2.1 培养法

药典第四部通则 1101 “无菌检查法”<sup>[25]</sup>是制剂无菌检测的最基本方法，广泛适用于各种药物制剂的无菌检测需求，通则 1101 分别介绍了直接接种法和薄膜过滤法检测细菌和真菌，要求细菌/真菌培养不少于 14 d 才能最终判定结果。为缩短微生物检出所用时间，药典第四部在“细胞类制品微生物检查法”<sup>[27-28]</sup>中基于常规微生物培养方法提出快速微生物检测法，即呼吸信号法，其可将微生物培养时间缩短

至 7 d，虽然这在一定程度上缩短了培养时间，但仍难以满足细胞制剂放行检验的需求。

药典第四部通则 1143 “细菌内毒素检测法”<sup>[30]</sup>中推荐采用鲎试剂检测或量化由革兰阴性菌产生的细菌内毒素，以判断供试品中细菌内毒素的限量是否符合规定。细菌内毒素检测包括凝胶法和光度测定法，后者又包括浊度法和显色基质法，可使用其中任何一种方法对供试品进行检测，当测定结果存在争议时，以凝胶限度试验结果为准。通则 1143 细菌内毒素检测可分为多种方法，但其原理均是采用鲎试剂检测内毒素含量，只是最终判定方法不同。采用鲎试剂进行内毒素检测时应排除供试品干扰作用，当无法排除样品对检测的干扰作用则需寻求新的内毒素检查方法，如重组 C 因子法、微量凝胶法等。药典第四部通则 9251 “细菌内毒素检查法应用指导原则”<sup>[31]</sup>对内毒素检测方法应用选择作出进一步说明，并指出新的检测方法——重组 C 因子法的适用条件以及具体实施方案。

药典第四部通则 3301 “支原体检查法”<sup>[32]</sup>建议采用培养法和指示细胞培养法（DNA 染色法）对支原体进行检测。支原体检测培养法需 28 d 才能最终判定结果，指示细胞培养法需要传代，大概 10 d 才能最终判定结果。细胞培养中，支原体污染常见且难以去除，培养法和指示细胞法耗时太长，应研发新的支原体检测方法用于干细胞制剂的微生物污染检测。

### 2.2 基因检测法

微生物基因检测是一种快速、准确、灵敏度高的方法。药典第四部通则 9204 “微生物鉴定指导原则”中，对微生物采用核酸检测法与常规培养法进行比较评估，认为可将基因检测法用于干细胞制剂微生物检测，但检测结果无法区分微生物是否存活<sup>[33]</sup>。药典第四部通则 9108 “DNA 测序技术指导原则”<sup>[34]</sup>指出，测序技术可用于鉴定动植物类药材、动物源性原材料与辅料、微生物、生物制品中菌毒株、动物细胞基质等的检测；通则 1001 “聚合酶链式反应法”<sup>[35]</sup>指出，该方法采用特异性引物可用于特定微生物检测；通则 1021 “细菌 DNA 特征序列鉴定法”<sup>[36]</sup>主要用于细菌分类鉴定和聚类分析；通则 3306 中“血液制品生产用人血浆病毒核酸检测技术要求”对来源于人的 HBV、HCV 和 HIV 病毒核酸基因检测方法进行阐述<sup>[37]</sup>，认为聚合酶链式反应（polymerase chain reaction, PCR）等病毒核酸检测方法优于抗体等病毒检测方法，不同来源病毒需采用不同引物进行核酸检测。目前已有研究者采用 PCR 方法检测支原体，并与中国药典推荐方法进行比较，认为采用 PCR 方法检测支原体是对

药典方法的重要补充，然而截至目前，该方法并未被纳入药物制剂的标准支原体检测方法中<sup>[38]</sup>。相比传统培养法，PCR 等基因检测法以其快速、灵敏、准确的特性被逐渐用于药品制剂微生物检测（表 2）。

尽管基因检测法无法区分微生物是否存活，但放行检验对时间要求严格，可先采用 PCR 等基因检测方法，若结果为阴性则说明无微生物感染，若检测结果阳性可采用培养法进行确认。

3 小结与展望

由于干细胞临床治疗涉及诸多伦理问题，各国对于干细胞技术及相关制度存在较大差异。目前，欧洲、美国和日本在干细胞临床治疗方面的技术和制度较为完善。例如，欧洲药典主要推荐采用常规培养方法检测微生物<sup>[39]</sup>，推荐采用生物发光技术<sup>[40]</sup>、核酸扩增技术<sup>[41]</sup>、流式细胞术<sup>[42]</sup>等将干细胞制剂预培养后用于快速放行检验，并将 PCR 法作为支原体检测的常规推荐方法。美国药典于 2019 年提出在常规无菌检查无法用于短效期制品微生物检测时，可采用快速微生物检查法<sup>[43]</sup>进行检测，并于 2022 年提出了新的微生物检测方法的验证方式<sup>[44]</sup>。日本干细胞临床治疗一直走在世界前列，2010 年，日本修改了《使用人类干细胞的临床研究指导原则》<sup>[45]</sup>；2014 年，日本实施了《再生医学安全法》<sup>[46]</sup>和《药品和医疗器械法》<sup>[47]</sup>，为干细胞临床治疗保驾护航。

我国药典指出，现有的微生物培养法虽然耗时长但仍是微生物鉴定的金标准，核酸检测等方法已用于快速微生物检测。然而核酸鉴定方法只能鉴定特定群类的微生物，当鉴定多种病毒及支原体时需进行多次检测，增加了成本和工作量。目前，国内外尚缺乏成熟的方法用于同时检测干细胞制剂多种微生物，因而

迫切需要开发用于细胞类产品放行检验的新方法。宏基因组测序可直接提取样本所有核酸进行扩增测序以鉴定污染的微生物，主要步骤包括：样本采集、样本前处理、核酸提取和质量分析、扩增建库和测序、数据分析、报告解读等<sup>[48]</sup>。与传统微生物检测方法相比，宏基因组测序具有通量高、无需培养、可检测痕量微生物、能够精确预测基因功能等优点。该方法可同时鉴定包括病毒、支原体、细菌和真菌的所有微生物<sup>[49]</sup>，1 d 即可完成，在耗时和微生物鉴定种类上均可达到要求。然而该方法操作要求严格且成本较高<sup>[50]</sup>。质谱分析技术同样具有无需分离微生物、时间短、灵敏度/特异度高、同时可检测多种病原体等特点，该方法主要是通过检测待测病原体蛋白图谱，并与数据库中参考微生物蛋白图谱比对，从而获得待测病原体信息的方法，目前已广泛用于临床微生物检测<sup>[51]</sup>。然而，宏基因组测序技术和质谱检测技术目前均未用于干细胞制剂微生物污染检测中。建议未来逐步完善以上方法，将其标准化后用于干细胞制剂放行检验，并根据药典第四部通则 9201 “药品微生物检验替代方法验证指导原则”<sup>[26]</sup>评估上述方法用于干细胞制剂放行检验的可行性。总之，细胞类产品放行检验对时间要求高，传统微生物培养方法不适用于放行检验，PCR 检测、宏基因组测序、质谱分析技术等需进一步纳入现有干细胞制剂检测体系中进行测试与应用，并建立相应的标准和制度，以保证此类方法在干细胞制剂质检中的规范使用。

**作者贡献：**陈翠珠、黄长发负责文献收集、撰写和修订论文；李倩、吴泽、曹春然负责论文修订；吴志宏负责论文选题设计、终审定稿。

**利益冲突：**所有作者均声明不存在利益冲突

表 2 微生物检测方法特点及应用比较

Tab. 2 Characteristics and comparative applications of microbial detection methods						
方法	检测时间	灵敏度	特异度	成本	特点	适用阶段
传统培养法	14 d 或更长	中等	高	低	对培养基要求低，适合检测广谱微生物	原材料选择、制备过程、留样检验、长期监测
PCR 等常规基因检测法	数小时至 1 d	高	中等	高	快速检测，灵敏度高，但无法区分微生物是否存活	制备过程、放行检验、治疗过程
宏基因组测序*	1 d	极高	高	非常高	能同时检测多种微生物，适合复杂样本	放行检验、快速评估感染源
质谱分析技术*	数小时	高	高	高	快速检测、无需培养，适合广泛应用	制备过程、放行检验、治疗过程

\* 目前临床尚未用于干细胞制剂微生物污染检测，但应用前景广阔；PCR：同表 1

## 参考文献

- [1] 中国医药生物技术协会. 干细胞制剂制备质量管理自律规范 (征求意见稿) [EB/OL]. (2020-11-12)[2024-12-04]. <https://wenku.baidu.com/view/710c38e26beae009581b6bd97f1922791688bef7.html>.  
China Medicinal Biotechnology Association. Self discipline norms for quality management of stem cell preparation (draft for comments) [EB/OL]. (2020-11-12)[2024-12-04]. <https://wenku.baidu.com/view/710c38e26beae009581b6bd97f1922791688bef7.html>.
- [2] Golchin A, Farahany T Z. Biological products: cellular therapy and FDA approved products [J]. *Stem Cell Rev Rep*, 2019, 15 (2): 166-175.
- [3] Shukla V, Seoane-Vazquez E, Fawaz S, et al. The landscape of cellular and gene therapy products: authorization, discontinuations, and cost [J]. *Hum Gene Ther Clin Dev*, 2019, 30 (3): 102-113.
- [4] Fernández-Garza L E, Barrera-Barrera S A, Barrera-Saldaña H A. Mesenchymal stem cell therapies approved by regulatory agencies around the world [J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2023, 16 (9): 1334.
- [5] Curley G F, O'Kane C M, McAuley D F, et al. Cell-based therapies for acute respiratory distress syndrome: Where are we now? [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2024, 209 (7): 789-797.
- [6] Martínez-Muñoz M E, Payares-Herrera C, Lipperheide I, et al. Mesenchymal stromal cell therapy for COVID-19 acute respiratory distress syndrome: a double-blind randomised controlled trial [J]. *Bone Marrow Transplant*, 2024, 59 (6): 777-784.
- [7] Chaverri D, Gallardo-Villares S, Pinto J A, et al. Treatment of non-hypertrophic pseudoarthrosis of long bones with a Tissue Engineered Product loaded with autologous bone marrow-derived Mesenchymal Stromal Cells: Results from a phase IIa, prospective, randomized, parallel, pilot clinical trial comparing to iliac crest autograft [J]. *Injury*, 2024, 55 (7): 111596.
- [8] Orozco Delclós L, Soler Rich R, Arriaza Loureda R, et al. Efficacy and safety of autologous or allogeneic mesenchymal stromal cells from adult adipose tissue expanded and combined with tricalcium phosphate biomaterial for the surgical treatment of atrophic nonunion of long bones: a phase II clinical trial [J]. *J Transl Med*, 2024, 22 (1): 493.
- [9] Wang Y H, Li M Y, Yang T, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation for the treatment of acute-on-chronic liver failure: protocol for a multicentre random double-blind placebo-controlled trial [J]. *BMJ Open*, 2024, 14 (6): e084237.
- [10] Li Z H, Wang J Y, Li X L, et al. Mesenchymal stem cell-regulated miRNA-mRNA landscape in acute-on-chronic liver failure [J]. *Genomics*, 2023, 115 (6): 110737.
- [11] Guo Q T, Li P, Chen M L, et al. Exosomes from human umbilical cord stem cells suppress macrophage-to-myofibroblast transition, alleviating renal fibrosis [J]. *Inflammation*, 2024, 47 (6): 2094-2107.
- [12] Vaes J E G, Onstwedder S M, Trayford C, et al. Modifying the secretome of mesenchymal stem cells prolongs the regenerative treatment window for encephalopathy of prematurity [J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25 (12): 6494.
- [13] Jeon J, Cha Y, Hong Y J, et al. Pre-clinical safety and efficacy of human induced pluripotent stem cell-derived products for autologous cell therapy in Parkinson's disease [J]. *Cell stem cell*, 2025, 32 (3): 343-360.
- [14] Jiang S Z, Wang H, Yang C X, et al. Phase 1 study of safety and preliminary efficacy of intranasal transplantation of human neural stem cells (ANGE-S003) in Parkinson's disease [J]. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2024, 95 (12): 1102-1111.
- [15] Wang L J, Li F, Wang L T, et al. Exosomes derived from bone marrow mesenchymal stem cells alleviate rheumatoid arthritis symptoms via shuttling proteins [J]. *J Proteome Res*, 2024, 23 (4): 1298-1312.
- [16] Alip M, Wang D D, Zhao S N, et al. Umbilical cord mesenchymal stem cells transplantation in patients with systemic sclerosis: a 5-year follow-up study [J]. *Clin Rheumatol*, 2024, 43 (3): 1073-1082.
- [17] 药品临床试验登记与信息公示平台. 检索词“间充质干细胞” [EB/OL]. [2024-12-04]. <http://www.chinadrugtrials.org.cn/clinicaltrials.searchlist.dhtml>.  
Drug Clinical Trial Registration and Information Disclosure Platform. Search term “mesenchymal stem cells” [EB/OL]. [2024-12-04]. <http://www.chinadrugtrials.org.cn/clinicaltrials.searchlist.dhtml>.
- [18] 中国医药生物技术协会. 细胞治疗产品生产用原材料的质量管理规范 [S/OL]. (2023-07-04)[2024-12-04]. <https://www.doc88.com/p-78973250716791.html>.  
China Medicinal Biotech Association. Specification of quality management for ancillary materials present during the production of cellular therapeutic products [S/OL]. (2023-07-04)[2024-12-04]. <https://www.doc88.com/p-78973250716791.html>.
- [19] 国家药典委员会. “生物制品通则”中“生物制品生产用原材料及辅料的质量控制” [M] //Anon. 中华人民共和国药典. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 3-8.  
Chinese Pharmacopoeia Commission. Quality control of raw materials and auxiliary materials used in the production of biological products in the “general principles for biological products” [M] //Anon. Report and Interpretation of Metagenomic Resistance Genes. Beijing: China Medical Science Press, 2023: 3-8.
- [20] 国家药品监督管理局药品审评中心. 人源干细胞产品药学研究与评价技术指导原则 (试行) [S/OL]. (2024-



10- 12 ) [ 2024- 12- 04 ]. <https://www.docin.com/p-4746422952.html>.

National Medical Products Administration Drug Evaluation Center. Guiding principles for pharmaceutical research and evaluation of human stem cell products ( trial ) [ S/OL ]. ( 2024- 10- 12 ) [ 2024- 12- 04 ]. <https://www.docin.com/p-4746422952.html>.

[ 21 ] 国家药典委员会. 通则 3604 “新生牛血清” [ M ] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典-四部. 北京: 中国医药科技出版社, 2020; 367.

Chinese Pharmacopoeia Commission. General rule 3604 “newborn bovine serum” [ M ] //Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People’s Republic of China-Part IV. Beijing: China Medical Science Press, 2020; 367.

[ 22 ] 国家药典委员会. “生物制品通则”中“血液制品生产用人血浆” [ M ] //国家药典委员会. 中华人民共和国药典-三部. 北京: 中国医药科技出版社, 2020; 21-23.

Chinese Pharmacopoeia Commission. In the “general rules for biological products”, it is stated that “human plasma is used in the production of blood products” [ M ] //Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People’s Republic of China-Part III. Beijing: China Medical Science Press, 2020; 21-23.

[ 23 ] 中华人民共和国国家卫生健康委员会办公厅, 食品药品监管总局办公厅. 关于印发干细胞制剂质量控制及临床前研究指导原则 ( 试行 ) 的通知 [ EB/OL ]. ( 2015-08-21 ) [ 2024- 12- 04 ]. <https://www.puh3.net.cn/lcgxybjzx/info/1013/1081.htm>.

Office of the National Health Commission of the People’s Republic of China, Office of the State Food and Drug Administration. Notice on issuing guiding principles for quality control and preclinical research of stem cell preparations ( trial ) [ EB/OL ]. ( 2015-08-21 ) [ 2024- 12- 04 ]. <https://www.puh3.net.cn/lcgxybjzx/info/1013/1081.htm>.

[ 24 ] Wang J, Gao S, Zhao Y F, et al. Manufacture and quality control of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cell sheets for clinical use [ J ]. Cells, 2022, 11 ( 17 ): 2732.

[ 25 ] 国家药典委员会. 通则 1101 “无菌检查法” [ M ] //国家药典委员会. 中华人民共和国药典-四部. 北京: 中国医药科技出版社, 2020; 156-159.

Chinese Pharmacopoeia Commission. General rule 1101 “aseptic inspection method” [ M ] //Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People’s Republic of China-Part IV. Beijing: China Medical Science Press, 2020; 156-159.

[ 26 ] 国家药典委员会. 通则 9201 “药品微生物检验替代方法指导原则” [ M ] //国家药典委员会. 中华人民共和国药典-四部. 北京: 中国医药科技出版社, 2020; 494-497.

Chinese Pharmacopoeia Commission. General rule 9201 “guiding principles for alternative methods of microbial testing of drugs” [ M ] //Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People’s Republic of China-Part IV. Beijing: China Medical Science Press, 2020; 494-497.

[ 27 ] 国家药典委员会. 《细胞类制品微生物检查法 ( 公示稿 ) 》第一版 [ EB/OL ]. ( 2021- 10- 26 ) [ 2024- 12- 04 ]. <https://www.chp.org.cn/#/business/standard>.

Chinese Pharmacopoeia Commission. Microbial inspection method for cellular products ( public draft ), first edition [ EB/OL ]. ( 2021-10-26 ) [ 2024-12-04 ]. <https://www.chp.org.cn/#/business/standard>.

[ 28 ] 国家药典委员会. 《细胞类制品微生物检查指导原则第二版》公示稿 [ EB/OL ]. ( 2022-12-01 ) [ 2024- 12- 04 ]. <https://www.chp.org.cn/#/business/standard>.

Chinese Pharmacopoeia Commission. Draft of guidelines for microbial inspection of cellular products, second edition [ EB/OL ]. ( 2022-12-01 ) [ 2024-12-04 ]. <https://www.chp.org.cn/#/business/standard>.

[ 29 ] 上海医药行业协会. 细胞和基因治疗产品快速无菌检查法的验证技术要求: T/SHPPA 012-2022 [ S ]. 上海: 上海医药行业协会, 2022.

Shanghai Pharmaceutical Industry Association. Validation technical requirements for rapid sterility testing method of cellular and gene therapy products: T/SHPPA 012- 2022 [ S ]. Shanghai: Shanghai Pharmaceutical Industry Association, 2022.

[ 30 ] 国家药典委员会. 通则 1143 “细菌内毒素检测法” [ M ] //国家药典委员会. 中华人民共和国药典-四部. 北京: 中国医药科技出版社, 2020; 178-181.

Chinese Pharmacopoeia Commission. General rule 1143 “bacterial endotoxin detection method” [ M ] //Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People’s Republic of China-Part IV. Beijing: China Medical Science Press, 2020; 178-181.

[ 31 ] 国家药典委员会. 通则 9251 “细菌内毒素检查法应用指导原则” [ M ] //国家药典委员会. 中华人民共和国药典-四部. 北京: 中国医药科技出版社, 2020; 515-516.

Chinese Pharmacopoeia Commission. General rule 9251 “guiding principles for the application of bacterial endotoxin testing method” [ M ] //Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People’s Republic of China-Part IV. Beijing: China Medical Science Press, 2020; 515-516.

[ 32 ] 国家药典委员会. 通则 9201 “药品微生物检验替代方法验证指导原则” [ M ] //国家药典委员会. 中华人民共和国药典-四部. 北京: 中国医药科技出版社, 2020; 494-497.

Chinese Pharmacopoeia Commission. General rule 9201 “guidelines for validation of alternative methods for microbial testing of drugs” [ M ] //Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People’s Republic of China-Part IV. Beijing: China Medical Science Press, 2020; 494-497.

[ 33 ] 国家药典委员会. “生物制品通则”中“生物制品病毒安全性控制” [ M ] //国家药典委员会. 中华人民共和国

- 药典-三部. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 25-29.  
Chinese Pharmacopoeia Commission. In the “general rules for biological products”, “virus safety control of biological products” [M] //Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People’s Republic of China-Part III. Beijing: China Medical Science Press, 2020: 25-29.
- [34] 国家药典委员会. 通则 9108 “DNA 测序技术指导原则” [M] //国家药典委员会. 中华人民共和国药典-四部. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 492-493.  
Chinese Pharmacopoeia Commission. General rule 9108 “guiding principles for DNA sequencing technology” [M] //Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People’s Republic of China-Part IV. Beijing: China Medical Science Press, 2020: 492-493.
- [35] 国家药典委员会. 通则 1001 “聚合酶链式反应法” [M] //国家药典委员会. 中华人民共和国药典-四部. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 153-155.  
Chinese Pharmacopoeia Commission. General rule 1001 “polymerase chain reaction method” [M] //Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People’s Republic of China-Part IV. Beijing: China Medical Science Press, 2020: 153-155.
- [36] 国家药典委员会. 通则 1021 “细菌 DNA 特征序列鉴定法” [M] //国家药典委员会. 中华人民共和国药典-四部. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 155-156.  
Chinese Pharmacopoeia Commission. General rule 1021 “identification method of bacterial DNA characteristic sequence” [M] //Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People’s Republic of China-Part IV. Beijing: China Medical Science Press, 2020: 155-156.
- [37] 国家药典委员会. 通则 3306 “血液制品生产用人血浆病毒核酸检测技术要求” [M] //国家药典委员会. 中华人民共和国药典-四部. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 313-314.  
Chinese Pharmacopoeia Commission. General rule 3306 “technical requirements for detection of human plasma virus nucleic acid in blood products production” [M] //Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People’s Republic of China-Part IV. Beijing: China Medical Science Press, 2020: 313-314.
- [38] 张丽君, 于佳, 韦钦钦, 等. 支原体检测 PCR 法与药典方法的对比分析 [J]. 中国生物制品学杂志, 2020, 33 (12): 1436-1440.  
Zhang L J, Yu J, Wei Q Q, et al. Comparative analysis of PCR and method in Chinese Pharmacopoeia for mycoplasma examination [J]. Chin J Biol, 2020, 33 (12): 1436-1440.
- [39] European Directorate for the Quality of Medicines & Health-Care. EP11.0 2.6.27, Microbiological examination of cell-based preparations [M]. European Pharmacopoeia, 2023: 241-244.
- [40] European Directorate for the Quality of Medicines & Health-Care. EP11.0 5.1.6, Alternative methods for control of microbiological quality [M]. European Pharmacopoeia, 2023: 658-667.
- [41] European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare. EP 11.0 2.6.21, Nucleic acid amplification technology [M]. European Pharmacopoeia, 2023: 236-240.
- [42] European Directorate for the Quality of Medicines & Health-Care. EP 11.0 2.7.24, Flow cytometry [M]. European Pharmacopoeia, 2023: 308-310.
- [43] The United States Pharmacopoeial Convention. <1071> Rapid microbial tests for release of sterile short-life products: a risk-based approach [EB/OL]. [2024-12-04]. [https://doi.usp.org/USPNF/USPNF\\_M12457\\_02\\_01.html](https://doi.usp.org/USPNF/USPNF_M12457_02_01.html).
- [44] The United States Pharmacopoeial Convention. <1223? Validation of alternative microbiological methods [EB/OL]. [2024-12-04]. [https://www.drugfuture.com/pharmacopoeia/usp32/pub/data/v32270/usp32nf27s0\\_c1223.html](https://www.drugfuture.com/pharmacopoeia/usp32/pub/data/v32270/usp32nf27s0_c1223.html).
- [45] Kawakami M, Sipp D, Kato K. Regulatory impacts on stem cell research in Japan [J]. Cell Stem Cell, 2010, 6 (5): 415-418.
- [46] Ministry of Health Labour and Welfare, MHLW. The act on the safety of regenerative medicine, ASRM [Z]. Japan, 2014-11-25.
- [47] Ministry of Health Labour and Welfare, MHLW. The pharmaceutical and medical devices act [Z]. Japan, 2014-11-25.
- [48] 陈翠珠, 莎仁高娃, 徐英春. 宏基因组测序在微生物耐药研究中的应用进展 [J]. 标记免疫分析与临床, 2023, 30 (2): 357-360.  
Chen C Z, Sharengaowa, Xu Y C. The advancement of the metagenomic sequencing in the study of antibiotic resistance [J]. Lab Immun Clin Med, 2023, 30 (2): 357-360.
- [49] Janes V A, Matamoros S, Munk P, et al. Metagenomic DNA sequencing for semi-quantitative pathogen detection from urine: a prospective, laboratory-based, proof-of-concept study [J]. Lancet Microbe, 2022, 3 (8): e588-e597.
- [50] 李永军, 王雅杰. 宏基因组耐药基因的报告与解读 [J]. 现代医学与健康研究电子杂志, 2022, 6 (6): 89-92.  
Li Y J, Wang Y J. Report and interpretation of metagenomic resistance genes [J]. Mod Med Health Res Electron J, 2022, 6 (6): 89-92.
- [51] Tian L, Xu P, Chen J Y, et al. Comprehensive analysis of spatial heterogeneity reveals the important role of the upper-layer fermented grains in the fermentation and flavor formation of Qingxiangxing Baijiu [J]. Food Chem X, 2024, 22: 101508.

(收稿: 2024-07-28 录用: 2024-09-02 在线: 2024-12-09)

(本文编辑: 李娜)