

本文引用:河南省细胞生物学会干细胞专业委员会,中国研究型医院学会临床数据与样本资源库专业委员会.经血源子宫内层干细胞资源库建立标准专家共识[J].新乡医学院学报,2020,37(9):801-812. DOI:10.7683/xyxyxb.2020.09.001.

【标准·方案·指南】

经血源子宫内层干细胞资源库建立标准专家共识

河南省细胞生物学会干细胞专业委员会

中国研究型医院学会临床数据与样本资源库专业委员会

摘要: 干细胞以其显著的修复再生能力和免疫调控作用,赋予了人类医学新的希望,给很多难治性疾病带来了新的选择。作为干细胞家族的主要成员,间充质干细胞的基础研究和临床应用研究最为深入,已经被广泛应用到再生医学的临床疾病治疗领域。女性经血来源的子宫内层干细胞作为众多间充质干细胞中的一种,其高增殖能力、多分化潜能、免疫学特性、遗传稳定性、取材方便性、来源广泛且同一优质的供体可连续多次采集、不受采集时间、地点及医疗条件的限制等特性,使之成为了具有广阔应用前景的干细胞资源。这类干细胞的制备和储存可极大地丰富干细胞库的种类,增强我国干细胞领域的研发实力,提高我国干细胞研究技术水平及我国干细胞和生物治疗技术的国际竞争力,为干细胞基础与临床应用研究提供可靠和丰富的细胞资源。因此,河南省细胞生物学会干细胞专业委员会联合中国研究型医院学会临床数据与样本资源库专业委员会组织细胞治疗、伦理、生物样本库等学科专家反复调研、论证,编写此共识。经血源干细胞的命名不一致,为规范名称,共识建议统一命名为经血源子宫内层干细胞(MenSCs)。此共识内容涵盖了成年健康女性志愿者 MenSCs 的收集、处理、存储、应用等相关技术流程、规范和标准及相关伦理、法规等问题,旨在推动以公益捐赠为导向的“MenSCs 资源库”的建立,为干细胞技术研究、产品开发、临床应用奠定良好的物质基础,积极推动干细胞在临床医学上的转化应用,服务全民健康,助力健康中国。

关键词: 干细胞;间充质干细胞;经血源子宫内层干细胞;干细胞资源库;共识

中图分类号: R329 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-7239(2020)09-0801-12

干细胞赋予了人类医学新的希望,给很多难治性疾病带来了新的选择。近年来,国家相继出台政策大力推动干细胞新药的研发和申报。“60 d 临床试验默示许可”的新药审批新制度,给我国干细胞新药的研发和申报提供了新的发展机会^[1-3]。国家高度重视干细胞研究与产业发展,在国家的大力支持下,我国有望结束干细胞上市药物的空白,疾病的治疗也会迎来更多的选择^[4-6]。开发、筛选、储存最佳药用种子细胞资源,支持干细胞新药、新技术临床转化与应用,有助于推动干细胞产业健康、有序、可持续发展。

当前,国际上获批上市的干细胞新药绝大多数属于间充质干细胞,国内获得受理的干细胞新药绝大多数也采用间充质干细胞。随着对间充质干细胞生理特性、功能以及临床研究的逐渐深入,这类干细胞已经被广泛应用到再生医学的临床疾病治疗领域,包括心肌缺血的修复、烧伤组织创面修复、1 型和 2 型糖尿病胰岛素缺乏的治疗、血管再生及神经退行性疾病的改善治疗等^[7-11]。

围产期组织如脐带、胎盘中含有丰富的间充质干细胞,且已经被广泛应用到疾病的治疗研究中。2020 年 1 月国内新增的 7 项干细胞临床研究备案项目中不乏围产期组织来源的干细胞,截至 2020 年 9 月,获批的 10 个干细胞新药研究中,有 6 个采用了围产期组织来源的间充质干细胞。此外,目前国内完成备案的 74 项干细胞临床研究中,30 多项采用了围产期组织来源间充质干细胞。围产期组织来源间充质干细胞的特性赋予了其巨大的临床应用前景,但其样本采集受到新生儿出生时间、采集时机、需要专业医疗机构及医疗人员采集等严格限制,且供体个体差异较大,标准难以统一,供体筛选的成本和难度均较大,已成为干细胞技术产业化的重大局限因素^[12-17]。因此,个体差异小,可对优质供体进行多次采集的干细胞资源无疑将助推干细胞领域的深入研究和产业化发展。

女性经血来源的子宫内层干细胞是众多间充质干细胞中的一种,目前有 10 余种关于经血源干细胞的命名,尚无统一规范名称^[18]。在此共识中,建议统一命名为经血源子宫内层干细胞(menstrual blood-derived endometrial stem cells, MenSCs)^[19-20],

其高增殖能力、多分化潜能、免疫学特性、遗传稳定性、取材方便性、来源广泛且同一优质的供体可连续多次采集及不受采集时间、地点及医疗条件的限制等特性,使之成为了具有广阔应用前景的干细胞资源^[21-22]。中国有数亿健康成年女性,经过筛查的合格供体可以连续多次提供月经血,从而“保证”了大量健康供体来源的优质子宫内膜干细胞资源^[23-24]。

有临床报道证实, MenSCs 移植对杜氏肌营养不良^[25]、充血性心力衰竭^[20,26]及宫腔粘连^[27]等均有明显改善作用。截至2020年6月,国家卫生健康委员会已完成6项宫血干细胞临床备案项目,分别为:宫血干细胞治疗肝功能衰竭的临床研究和宫血干细胞治疗新型冠状病毒导致的急性肺损伤(肺炎)的临床研究(浙江大学医学院附属第一医院)、宫血干细胞治疗乙型肝炎后肝硬化失代偿期的临床研究(树兰医院)、应用自体经血源间充质干细胞修复宫腔粘连的临床研究(中国医科大学附属盛京医院)、宫血干细胞治疗轻度阿尔茨海默病的安全性和初步有效性的临床研究(浙江医院)及宫血干细胞治疗酒精性肝硬化失代偿期的临床研究(海南省人民医院)。上述临床研究项目的备案与开展不仅表明 MenSCs 有巨大的应用前景与市场,也说明建立子宫内膜干细胞相关标准的紧迫性和必要性。

MenSCs 的制备和储存可极大地丰富干细胞库的种类,增强我国干细胞领域的研发实力,提高我国干细胞研究技术水平,提高我国干细胞及生物治疗技术的国际竞争力,为干细胞基础与临床应用研究提供可靠和丰富的细胞资源。基于此,河南省细胞生物学会干细胞专业委员会联合中国研究型医院学会临床数据与样本资源库专业委员会组织细胞治疗、伦理、生物样本库等学科专家反复调研、论证,对中国成年健康女性志愿者 MenSCs 的收集、处理、存储、应用等相关技术流程、规范和标准及相关伦理、法规等问题达成初步共识,旨在推动以公益捐赠为导向的 MenSCs 资源库的建立,为干细胞技术研究、产品开发、临床应用奠定良好的基础,积极推动干细胞在临床医学上的转化应用,服务全民健康,助力健康中国。

1 本共识的目的与适用范围

1.1 目的 本共识以成年健康女性的经血为样本来源,以规范分离、扩增、储存 MenSCs 的技术流程为主要目的,以建立公益性志愿者来源的 MenSCs 资源库、推进细胞治疗技术研究、开发及其在临床医学

上的转化应用为主要目标;同时,本共识也规定了健康女性 MenSCs 资源库相关的建设、运行和管理的基本要求。

1.2 适用范围 本共识适用于拟开展健康女性 MenSCs 研究与应用的医疗机构、科研机构、生物样本资源库、青年志愿者组织及相关管理机构,适用于 MenSCs 资源库的建设及健康女性经血样本的采集、处理、储存和使用。

2 术语和定义

成体干细胞(somatic stem cells):位于各种分化组织中未分化的干细胞,这类干细胞具有有限的自我更新和分化潜力。

子宫内膜干细胞(endometrial stem cells):一类存在于子宫内膜组织,具有多向分化潜能,非造血干细胞的成体干细胞。这类干细胞具有向多种间充质细胞(如成骨、成软骨及成脂肪细胞等)或非间充质细胞分化的潜能,并具有独特的细胞因子分泌功能。

经血源子宫内膜干细胞(menstrual blood-derived endometrial stem cells):从女性月经血脱落的子宫内膜组织中分离的干细胞,也可称为子宫内膜干细胞。

经血源子宫内膜干细胞资源库(menstrual blood-derived endometrial stem cells bank):指接收、储存、处理、分发样本的实体活动,用于储存 MenSCs 的专门机构,干细胞资源库包含其地理位置以及与其运营相关的所有活动。

样本(specimen):在特定时间从受试者或捐献者处获得的器官、组织、月经血等标本。对于某些人类样本,样本可以代表个体。

样本编码(sample coding):指根据编码规则对样本进行编号的过程。

样本接收区(sample acceptance zone):指样本送达时用于初步检查、清点接收、核对信息、贴标签分类或样本转移前进行包装、清点等样本预处理的缓冲区域。

干细胞制备(stem cells preparation):指干细胞样本经过一系列规范操作达到入库标准的过程。

干细胞分离(stem cells isolation):指从机体组织或器官中分离出干细胞的过程。

原代培养(primary culture):指直接从机体取下细胞、组织和器官后立即进行培养。

传代培养(subculture):当原代培养成功后,将细胞重新接种至新的培养器皿的培养基中进行的培

养过程。

干细胞冻存 (stem cells cryopreservation):使干细胞暂时脱离生长状态而低温保存其细胞生物特性的方法。

液氮箱/罐 (liquid nitrogen container):用于储存干细胞的一种深低温冷冻设备。

冻存管 (cryopreservation tube):在干细胞冻存过程中用于储存细胞的无菌小管。

细胞冻存液 (cell cryopreservation medium):指由特殊配方制备而成用于细胞冻存的无菌液体。

细胞复苏 (cell recovery):指把冻存的细胞恢复生长并保持原有特性的方法。

检验室 (test room):用于检验干细胞形态、微生物、内毒素、活性、分子标志物等干细胞质量与特性的专门区域。

干细胞存储室 (stem cell storage room):为干细胞提供符合低温保存条件的专门区域。

实验室生物安全 (laboratory biosafety):指实验室的生物安全条件和状态不低于允许水平,并符合相关法规和标准对实验室生物安全责任的要求,避免实验室人员、来访人员、社区及环境受到不可接受的损害。

化学安全 (chemical safety):使用化学品时遵守一定的规范并有相应的紧急预案应对事故,防止危险化学品事故的发生或将事故的影响或损失降至最低。

知情同意 (informed consent):指具有完全民事行为能力、在充分获取信息并准确理解其内容后,作出参与研究的决定,此决定不受恐吓、利诱或其他不当行为的影响。

生命伦理 (bioethics):生命科学和卫生保健领域人行为的道德规范和原则。

伦理审查委员会 (ethical review committee):指专门负责对科学研究中涉及的伦理道德问题及供者权益问题进行评估和审查的组织。

科学审查委员会 (scientific review committee):指专门对生物样本的采集和使用方案进行科学性审查的组织。

生物安全委员会 (institutional biosafety committee):负责指导、评估、监督细胞库的生物安全相关事宜的专门组织。

干细胞质量控制 (stem cell quality control):指为达到干细胞入库质量要求所采取的技术操作过程和及相关行为活动。

干细胞制剂 (stem cell-based medicinal products):用于治疗疾病或改善健康状况的、以某种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干细胞制品。

体系 (system):指相互关联或相互作用的一组要素。

管理体系 (management systems):指建立方针和目标并实现这些目标的体系。

质量管理体系 (quality management system):为实现质量管理的方针目标、有效开展各项质量管理活动而建立的管理体系。相关文件包括质量手册、程序文件、标准操作规程和记录。

3 MenSCs 资源库

3.1 MenSCs 资源库的基本概念 MenSCs 是指从健康女性经血中提取的子宫内膜干细胞。MenSCs 资源库是指将按照一定的供体筛查程序、样本筛查程序和一系列严格的收集、提取、扩增、质检等程序制备的不同代次的 MenSCs 作为储存目的物,并按照国家相关法律法规进行储存和应用的一个转化医学资源平台,为科学研究或捐赠者本人 MenSCs 资源提供储存服务。

3.2 MenSCs 资源库的基本分类 干细胞资源库(后文统称干细胞库)分为3级管理,即初级干细胞库(pre-master cell bank, PCB)(种子干细胞库)、主干细胞库(master cell bank, MCB)及工作干细胞库(working cell bank, WCB)^[28]。

PCB:初级细胞又称细胞种子(seed cell),指来源于单一个体的组织或细胞经过一定方式培养而成的、性质均一的细胞群体。PCB是指分装于一定数量、并在一定条件下贮存初级细胞的容器集合。PCB贮存的细胞经检定合格后可用于制备MCB^[28-29]。

MCB:由PCB的细胞培养至特定倍增水平或传代水平,经1次制备获得的、性质均一的细胞群体,分装于一定数量并在一定条件下贮存的容器集合。MCB贮存的细胞经检定合格后可用于制备WCB或细胞制剂^[28]。

WCB:由MCB的细胞培养至特定倍增水平或传代水平,并经一次制备获得的性质均一的细胞群体,分装于一定数量并在一定条件下贮存的容器集合。WCB的贮存细胞经检定合格后可用于制备细胞制剂^[28]。

细胞库系统的建立、维护和检定应当符合《中

华人民共和国药典》^[30]的要求。从干细胞供体来源上又可划分为自体 MenSCs 资源库和捐献者 MenSCs 资源库 2 类。自体 MenSCs 资源库是指捐献志愿者自行承担相关费用,自费储存自体 MenSCs 并有权决定其用途的私人储存方式;捐献者 MenSCs 资源库是指志愿者自愿捐献自体 MenSCs 资源,供科学研究、技术开发需要或有需求的患者疾病治疗。

3.3 MenSCs 资源库设立审批 MenSCs 资源库设立需要获得科学技术部中国人类遗传资源管理办公室的行政许可,符合人类遗传资源管理暂行办法,并建立全程可追溯、可监控的细胞存储管理体系^[31]。

4 MenSCs 资源库建立的基础要求

4.1 选址要求 (1) 干细胞库的选址应远离居民楼,同时远离化工污染、电磁辐射污染、噪声污染、核污染等区域。选择政府规划的生物医药园区为宜^[32]。(2) 干细胞库可以选择共用的建筑物,整体的布局应满足设计建造要求。要严格按照国家颁布的《医药工业洁净厂房设计规范》的公告进行规划建设,同时干细胞库开展业务必须经执业验收及注册登记,并领取干细胞库执业许可证后方可进行^[33]。(3) 干细胞库宜选择较低楼层,楼板的承重应 $>250 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2}$,楼层高度 $>4.5 \text{ m}$ 为宜(实验室净高 $2.4 \sim 2.6 \text{ m}$,技术夹层 $1.2 \sim 1.4 \text{ m}$)^[33]。(4) 干细胞库的选址应符合生产质量管理规范(good manufacturing practices, GMP)要求,空气质量标准应符合 GB 3095 标准分级二级标准。(5) 干细胞库的选址及建造应符合《生物安全实验室建筑技术规范》(GB 50346—2011)中的二级生物安全实验室的建造要求。(6) 干细胞库非洁净区的建设应符合《洁净室施工及验收规范》(GB 50591—2010)的要求^[34]。

4.2 干细胞库分区要求 干细胞库至少划分 5 个区域:实验室洁净区、实验室非洁净区、实验室细胞储存区、实验室辅助功能区和办公区^[32-36]。实验室的洁净区、非洁净区、细胞储存区要相对独立,且各分区独立通风,以确保各区域的空气质量互不影响。

4.2.1 实验室洁净区 样本分离室、细胞制备室、离心室、配液室、洁净库房、洁净走廊、更衣缓冲间。用于临床试验或临床研究的细胞应当在符合无菌生物制品生产要求的 GMP 标准的洁净条件下进行制备。实验室洁净区的实验台及椅子应为不锈钢材质,且所有焊口密封,无清洁死角。实验室的人流通道和物流通道应独立设置,避免混杂和交叉污染。

实验室的物料及废弃物应设专用传递窗,传递窗应具备消毒灭菌功能。细胞存储区入口应设置门禁,保证授权后双人双锁进入细胞存储区。用于临床试验或临床研究的细胞制备区域应当符合无菌生物制品生产要求的 GMP 标准。实验室墙壁、天花板和地板应光滑、易清洁、防渗漏并耐化学品和消毒剂的腐蚀,地板防滑。室内所有阴角、阳角均采用铝合金 50 内圆角铝,从而解决容易污染、积尘、不易清扫等问题。实验室门应带锁,可自动闭锁;实验室如有可开启的窗户,应设置纱窗;实验室的每扇门均有可视窗。实验室入口应设置洗手池,宜设置在进出缓冲间。洁净区应符合 GB 50591—2010 洁净室施工及验收规范。

4.2.2 实验室非洁净区 样本接收室、微生物限度检测室、流式细胞室、细胞检测室、聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)室(如需要)。非洁净区的走廊应设置紧急喷淋装置,每个功能区均设置洗眼器。实验台表面应能防水,耐酸碱、耐有机溶剂、耐热,耐用于消毒的相关化学物质。

4.2.3 实验室细胞储存区 细胞处置室、细胞库。

4.2.4 实验室辅助功能区 物料库房、危险品库房、气瓶供应室、纯水间、空调机房、实验器材/物料灭菌室、医疗废弃物灭菌室、医疗废弃物暂存室、化学废弃物暂存室、污水处理室、计算机机房。该区域应根据工作流程的方便设置在合适的位置,且独立通风,以确保不与实验室产生交叉污染。

4.2.5 办公区 办公室、会议室、档案室、监控室、值班室。办公区域与实验区域应进行物理隔离,工作人员由专用通道进入实验区。

4.3 通风及空调要求 (1) 通风与空调的设计应符合 GB 50243—2016 通风与空调工程施工质量验收规范。实验室宜设置机械通风,洁净区 C 级环境通风换气次数 $\geq 25 \text{ 次} \cdot \text{h}^{-1}$,非洁净区 D 级环境通风换气次数 $\geq 15 \text{ 次} \cdot \text{h}^{-1}$ ^[32-37]。(2) 实验室的通风系统应设置初、中、高效三级过滤,实验室的悬浮粒子(医药工业悬浮粒子测试方法 GB/T 16292—2010)、浮游菌[医药工业洁净室(区)浮游菌的测试方法 GB/T 16293—2010]、沉降菌[医药工业洁净室(区)沉降菌的测试方法 GB/T 16294—2010]应满足相应的国家标准。(3) 实验室非洁净区的样本处置区域,PCR 实验室区域应设立独立通风系统,供、排风符合临床基因扩增检验实验室要求。(4) 不同等级的洁净区、洁净区与非洁净区、洁净区与室外的压差均不小于 10 Pa,误差在 $\pm 3 \text{ Pa}$ 。(5) 洁净区缓

冲间的内、外2扇门应设置为互锁,2扇门的四周均应安装密封条,每次只能开启其中1扇门。(6)不同功能间之间的传递窗应设置为互锁,传递窗的四周应安装密封条,每次只能开启其中1扇窗^[37]。(7)实验室空调系统应符合GB 19489的规定,一般控制温度为18~27℃,相对湿度为30%~70%。(8)实验室建议采用A2型二级生物安全柜,如果采用全排型生物安全柜,应确保开关生物安全柜不会对房间压力产生影响。生物安全柜应远离门、远离能打开的窗、远离行走区、远离其他可能引起风压混乱的设备,保证生物安全柜气流参数在有效范围内。

4.4 其他系统要求 (1)消防系统:实验室消防系统设计应符合GB 50016要求。洁净区技术夹层、非洁净区宜安装火灾自动烟感报警装置、消防疏散警示标识、紧急逃生通道和安全出口(全封闭的玻璃门,并备有安全锤),安全出口设计应能够使仪器设备进出。实验室及干细胞库需设置消防给水系统,其设计应根据生产的火灾危险性建筑物耐火等级以及建筑物的体积等因素确定。保证消防装置时刻处于可用状态,此外还应确保安全通道畅通且有明确指示^[36]。(2)监控系统:应实时监控、记录和存储有控制要求的设施设备,如环境温湿度、环境二氧化碳浓度、房间压力、二氧化碳气瓶压力、二氧化碳培养箱温度及二氧化碳浓度、冰箱温度、液氮罐的液氮量等。对于监控数据超出标准范围的应能够报警通知到相关责任人^[36]。(3)电力供应系统:供电系统设计应符合GB 50052的规定。程控降温设备、低温冷冻设备、生物安全柜、送风机和排风机、照明、自控系统、监视和报警系统等,即断电直接影响干细胞质量的设备应配备不间断备用电源,电力供应至少应维持30 min^[36]。(4)气体供应系统:应有二氧化碳、氮气供应系统^[36]。(5)软件系统:MenSCs资源库应建立软件系统,用于完成样本的全生命周期的追溯管理^[36]。

4.5 仪器设备要求 实验室应配备必要的细胞制备、细胞质检、细胞存储、安全辅助设备。(1)细胞制备设备:二氧化碳培养箱(生物反应器)、倒置显微镜、低温冷冻离心机、程序降温仪、水浴锅等。(2)细胞质检设备:流式细胞仪、恒温培养箱、qPCR仪、酶标仪、普通显微镜、荧光显微镜、细胞计数仪、分光光度计、黏度计、微生物检测系统、超纯水仪、pH计、电子天平等。(3)细胞存储设备:4℃冰箱、-20℃冰箱、-80℃冰箱、液氮罐等。(4)安全辅助设备:生物安全柜、超净工作台、高压灭菌锅、烘箱等。

5 MenSCs资源库的建设流程

MenSCs资源库应按照GMP的要求建立标准操作流程及管理程序。

5.1 资源库的伦理审批与供体知情同意 按照国际伦理规范,健康女性MenSCs的物权归捐献月经血志愿者,采集前必须经过伦理委员会审批。样本采集方案、样本使用及研究方案、知情同意书等材料必须经过伦理委员会批准同意后才可使用。此外,任何研究方案等文件的修改均须再次获得伦理委员会批准才能实施,同时按照我国相关法规和伦理委员会的要求及时递交其他跟踪审查文件^[46,38-41]。

样本捐献者在当时政策及科学技术条件下对资源库建设信息充分知情并形成全面和准确的认识,自愿做出是否同意采集样本的决定,并签署《知情同意书》。

采集人员、医务人员、制备及质量控制人员和管理人员应当对样本提供者的个人信息严格保密,不得有意或意外泄露。若确需提供信息,需要经申请程序并提交伦理委员会批准同意方可实施。违反法律规定的,应依法追究民事责任、行政责任,情节严重时追究刑事责任。

5.2 供体筛查 建立的供体筛查标准是对供体进行一系列健康的筛查,包括供体的既往病史、家族史、性别、年龄、血型、组织相容性抗原等遗传背景等。供体的健康状况与记录以书面报告的形式保存^[36,38]。MenSCs供体应无血液系统疾病、内分泌系统疾病、恶性肿瘤史、性传播疾病及高危人群史、吸毒史、一般传染性疾病或其他遗传疾病。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)、梅毒螺旋体(treponemipallidum, TP)、人类嗜T细胞病毒(human T-lympho-tropic virus, HTLV)、EB病毒(Epstein-Barr virus, EBV)、人乳头瘤病毒(human papilloma virus, HPV)与巨细胞病毒(cytomegalovirus, CMV)抗体与核酸检测均应为阴性。

5.3 样本采集及运输 成年女性月经期第2天或第3天,将月事杯消毒后置于阴道内,收集经血。月事杯取出后,将经血转移至保存液中保存,并标识清楚。

样本运输人员应是经过专业培训合格的人员,对样本运输应制定规范及应急预案,并对样本运输全程做记录,包括但不限于运输的方式、条件、路径、时间、人员、地址及样本信息,相关记录入档案保留

至少 30 a^[36]。

样本运输过程中须防渗漏、防辐射、抗震动、耐压、耐热等,样本包装需贴上条形码作为唯一标识^[36]。样本运输须采用平稳、安全、快速的运输途径。经血样本的保存和运输温度为 2~8℃,运输时间不超过 72 h^[19]。

5.4 样本接收 样本到达实验室后,由细胞制备人员和质量控制人员同时接收样本。接收样本后应先观察样本容器外包装有无破损并记录。检查外观后,工作人员再检查样本采集信息记录表是否齐全,同时确认记录表上信息已经填写完整,检查信息记录表信息与样本信息是否相符,确认无误后进行接收^[36]。

样本接收后,使用医用酒精消毒清理容器外表面,如不能及时对样本进行处理,需把样本保存在 2~8℃条件下,保存的最长时间从样本采集完成开始不超过 72 h。样本量应能够满足制备和检测的最低要求。样本接收后应及时将信息反馈给样本提供者。干细胞库应制定样本拒收标准,按照样本拒收标准拒收样本,并及时通知有关部门或负责人,同时做好相应记录^[36]。

5.5 样本分离与细胞制备 MenSCs 的分离与培养应在符合 GMP、《干细胞通用要求》(T11/CSSCR 001—2017)及《干细胞制剂质量控制及临床前研究指导原则》^[42]要求的实验室/工厂内进行。

所有操作需事先制定标准规范,由经专业培训的技术人员严格遵照执行,并进行记录登记,相关记录录入档案保留至少 30 a^[36,38]。

分离与培养过程中应标识干细胞的名称、代次、批次、操作日期、培养条件、操作人员姓名等信息,必要时留取影像资料^[36,38]。

生产用材料是指用于制备细胞产品的物质或材料,如含细胞采集物、培养基、各种添加成分、冻存液、基因修饰/改造用物质、辅料和各种培养用材料等。生产用材料直接关系到产品的质量,因此,应确定生产用材料的适用性及使用条件,建立规范的生产用材料的质量管理体系,包括使用风险的评估、对关键生产用材料的供应商的审计、建立生产用材料质量标准并制定质量放行检测机制等工作程序。所有生产用材料均应按照质量标准检测合格后放行使用,且检验记录应保存至少 10 a(或者保存至植入物的生命周期)^[36]。

所使用试剂应采用符合要求的药品辅料或已获批的药品,应出具产品质检合格报告,并对各批次试

剂进行质量抽检^[42]。尽可能避免人源或动物源性血清及蛋白,不得使用同种异体人血清或血浆。如必须使用动物血清,应确保其无特定动物源性病毒污染。严禁使用海绵体状脑病流行区来源的牛血清^[42]。应充分说明干细胞培养时所采用的抗体、细胞因子、化学物质以及其他培养物,应尽可能采用国家批准临床应用的产品。如上述成分的生产厂家已获国家监管部门批准临床应用,可以引用该批件。如上述成分的生产厂家未获批准临床应用,应参照国家对相应产品的质量控制要求,提供质量标准,并对每批产品提供详尽的质量检定报告^[42-43]。

月经血样本采用密度梯度离心法,通过人淋巴细胞分离液获取子宫内膜干细胞,贴壁法进行原代培养。制备人员严格按照标准操作规程进行子宫内膜间充质干细胞的分离、提取,按照规定详细地记录实验过程,提取结束后,取离心后的上清液交由质检人员进行支原体、细菌及真菌检验。同步进行转接实验,详细地记录实验室中干细胞的分离培养过程,由现场质量控制人员进行复核确认。

5.6 细胞库构建 子宫内膜干细胞入库时,如果微生物等其他检测结果滞后,应在不影响细胞质量的前提下对干细胞进行程序降温后保存于 -80℃冰箱,独立地暂时储存。待确认所有检测结果达到质量要求后,将经程序降温的干细胞放入液氮罐指定位置长期储存,并有严格的过程控制,保证记录的完整性,及时录入信息、填写档案^[32,36]。

6 MenSCs 资源库的质量控制

6.1 经血样本供体健康检验 采用血清酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)法检测 HIV 抗体、乙型肝炎表面抗原(hepatitis B surface antigen, HbsAg)抗体、HCV 抗体、TP 抗体、CMV-IgM 抗体、EBV 抗体。采用 PCR 对 HCV、HBV、HIV 病毒进行核酸检测。检测参考 2015 版《血站技术操作规程》,所有结果应为阴性^[44]。

6.2 原材料检验 尽可能避免人源或动物源性血清及蛋白,不得使用同种异体人血清或血浆。如必须使用动物血清,应确保其无特定动物源性病毒污染。严禁使用海绵体状脑病流行区来源的牛血清。参照《中华人民共和国药典》2015 年版 3 部生物制品中抗生素及牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)残留量检查法执行。MenSCs 制剂内应无抗生素残留,BSA 残留量应 $< 50 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[30]。

6.3 MenSCs 制备过程中的质量检验

MenSCs 分离、培养、冻存及复苏过程中的检验项目、取样时间

及要求、所用检测方法、判断合格标准和所用方法依据等见表 1。

表 1 MenSCs 制备过程中的质量检验

检验项目	取样时间	取样要求	检测方法	合格标准	方法依据
细胞计数与存活率	传代前,冻存前	消化后的单细胞悬液	血细胞计数板 锥虫蓝拒染法	活细胞比例 $\geq 90\%$	参照《全国临床检验操作规程》第 3 版中白细胞计数方法 ^[45]
形态学观察	培养过程中,每日观察	培养过程中的细胞	倒置显微镜下观察	人问充质干细胞漩涡状贴壁生长,呈长梭形纤维细胞样,形态均一;细胞融合度达到 80% ~ 90% 应进行细胞传代或冻存。	见参考文献[46]
无菌检测	分离后、传代前、冻存前、复苏后	保存液、清洗液、培养基上清、冻存液(或含细胞)	培养法	阴性	参照《中华人民共和国药典》2015 年版 4 部通则 1101 无菌检测法 ^[30]
支原体	分离后、传代前、冻存前、复苏后	保存液、清洗液、培养基上清、冻存液(或含细胞)	培养法	阴性	参照《中华人民共和国药典》2015 年版 4 部通则 3301 支原体检测法 ^[30]
内毒素	冻存前	冻存液(或含细胞)	凝胶法	$\leq 0.5 \times 10^3 \text{ EU} \cdot \text{L}^{-1}$	参照《中华人民共和国药典》2015 年版 4 部通则 1143 细菌内毒素检查法 ^[30]
细胞表型	传代前	细胞总数 5×10^6 个	流式细胞术	CD73、CD90、CD105 阳性率 $\geq 95\%$; CD14/CD11b、CD19/CD79 α 、CD34、CD45、HLA-DR 阳性率 $\leq 2\%$ 。	见参考文献[46]

6.4 安全性评价 (1)生长活性检测:通过检测细胞倍增时间、细胞周期、克隆形成率以及端粒酶活性对 MenSCs 生长活性进行测定。各代数及批次 MenSCs 应处于指数生长期, G_0 期细胞数 $\leq 10\%$, 具有端粒酶活性。(2)分化能力检测:采用诱导分化培养基体外诱导, MenSCs 应能够分化为成脂、成骨和成软骨样细胞。成脂分化后经油红 O 染色法鉴定,成骨分化后经茜素红染色法鉴定,成软骨分化后经阿尔辛蓝染色法鉴定^[19]。(3)染色体核型检测:采用 G 带分析法进行测定, MenSCs 染色体数量应为 46(含 XX/XY), 无染色体缺失、异位和重排现象。参照《中华人民共和国药典》2015 年版 3 部 24 页^[30]。(4)致瘤性检测:动物实验测定 MenSCs 的致瘤性。采用免疫缺陷动物(裸鼠或重度联合免疫缺陷型鼠), 通过局部或静脉方式接种, 单只小鼠接种 MenSCs 数量 $\geq 10^6 \text{ kg}^{-1}$, 观察期 ≥ 12 周。体内致瘤实验严格遵照动物伦理要求执行, MenSCs 应无致瘤性。软琼脂克隆体外培养法, 应无克隆形成。(5)免疫调节功能检测:采用 ELISA 法和流式细胞术测定:a. 经炎症因子(γ -干扰素与肿瘤坏死因子- α)诱导后人间充质干细胞应表达吲哚胺 2,3-双加氧酶

(indoleamine 2,3-dioxygenase, IDO); b. 可抑制活化的人总淋巴细胞的异常增殖; c. 可抑制不同淋巴细胞亚群异常增殖; d. 应同时表达 IDO1、前列腺素 E_2 、白细胞介素(interleukin, IL)-6 和 IL-10。(6)急性毒性实验:无明显毒性反应, 小鼠单次静脉注射的最大细胞耐受量应 $\geq 2 \times 10^7 \text{ kg}^{-1}$ ^[42]。

6.5 批次质量检验 MenSCs 制备机构应对由同一供体、同一组织来源、同一时间、使用同一工艺采集和分离获得的干细胞制剂进行批次质量检验。当制备工艺、耗材、试剂、场地或规模等条件发生变化时, 制备机构应对多批次干细胞制剂进行质量检验, 确保工艺和质量稳定合格^[42-43]。

6.6 复核质量检验 MenSCs 制备机构应对每批干细胞制剂单独留样保存, 详细记录批号、代次、生产日期、来源等信息。定期由国家或地方相关部门授权的专业细胞检验机构或实验室进行 MenSCs 制剂的质量复核检验, 并出具检验报告。复核质量检验报告出具时间应在该批次 MenSCs 制剂临床放行之前, 并作为放行检验参考。

6.7 细胞制剂放行检验 MenSCs 细胞制剂须履行放行检验, 必须达到相应标准, 见表 2。

表2 MenSCs 细胞制剂放行检验项目、方法及合格标准和依据

检测项目	检测方法	合格标准	标准依据
颜色	比色法	乳白色或淡黄色细胞悬液	-
可见异物	可见异物检查法	不得检出	参照《中华人民共和国药典》2015年版4部药典通则0904 可见异物检查法 ^[30]
pH	pH 值测定法	6.0~8.0	参照《中华人民共和国药典》2015年版4部药典通则0631 ^[30]
渗透压	渗透压摩尔浓度测定法	285~310 mOsmol·kg ⁻¹	参照《中华人民共和国药典》2015年版4部药典通则0632 ^[30]
内毒素检测	细菌内毒素检查法	≤0.5×10 ³ EU·L ⁻¹	参照《中华人民共和国药典》2015年版4部通则1143 细菌内毒素检查法 ^[30]
无菌检测	培养法	阴性	参照《中华人民共和国药典》2015年版4部通则1101 无菌检测法 ^[30]
支原体	培养法	阴性	参照《中华人民共和国药典》2015年版4部通则3301 支原体检测法 ^[30]
细胞数量	血细胞计数板	标示装量的80%~120%	-
细胞存活率	锥虫蓝拒染法	≥90%	-
细胞表型	流式细胞术	CD73、CD90、CD105 阳性率≥95%； CD14/CD11b、CD19/CD79α、CD34、 CD45、HLA-DR 阳性率≤2%	见参考文献[46]

注：-：无参考依据。

7 MenSCs 资源库信息管理与数据共享

MenSCs 资源库应建立统一、完整的信息管理与数据共享平台,用于细胞样本信息的记录、储存、查询等^[36,38]。所有细胞样本信息(采集、处理、储存、使用信息、捐赠者相关信息)和临床数据均应记录于信息管理与数据共享平台。细胞样本信息管理与数据共享平台宜与其他相关数据系统(如样本库信息管理系统)兼容或关联,以便共享样本信息和数据;应根据不同工作人员的职责设置不同管理和访问权限,以确保信息安全;应满足样本追踪和检索的需求;应建立安全保障,防止黑客入侵、计算机病毒传播、数据损坏等意外情况;应根据实际需求制订备份周期,按周期对样本信息和数据进行备份,以应对信息和数据的意外损坏,并及时进行异地备份和历史备份;应通过技术手段,将采集到的各类数据,去除姓名、电话、住址等涉及个人隐私的信息,然后再经过加密算法存储到数据库中。确保即便第三方通过非法手段获取到了数据库中的信息也无法获取真实的用户隐私,从而最大程度地保护用户敏感信息不外泄。用户的敏感信息与脱敏信息之间,要求通过密钥及非对称式加密的形式进行关联,且采用物理隔离的方式分别存储,敏感信息存储在非网络环境中,以确保即便有人盗取了敏感信息也无法破译,即便破译了敏感信息但和实际的脱敏信息也无法关联,这样就保证了无论从哪一端获取到的数据都是不完整的、片段式的,如图1所示。所有涉及人类遗传资源及信息的数据,必须严格按照《中华人民共和国人类遗传资源管理条例》执行^[31]。



图1 干细胞资源库信息管理系统示意图

8 MenSCs 资源库的质量体系

8.1 质量管理体系的建立

干细胞库应按照《药品生产质量管理规范(2010年修订)》^[47,49]、美国血库协会标准^[50]及ISO 9001标准建立质量管理体系^[51],需符合《临床细胞治疗技术平台设置基本要求》(DB 31/T 687—2013)和《干细胞通用要求》(T11/CSSCR 001—2017)^[36,38]。干细胞库建立须符合以下质量管理体系:(1)应建立与法规和业务相适应的管理机构,有组织机构图,并赋予相关人员的职责及权限。(2)应当设立独立的质量管理部门,履行质量保证和质量控制的职责。质量管理部门可以分别设立质量保证部门和质量控制部门。(3)管理层应制定质量方针并形成文件,质量方针应阐述机构的质量目标和承诺。管理层应确保这一质量方针被理解、实施,并在组织的所有层级贯彻。(4)应建立符合干细胞质量管理要求的质量目标,将干细胞库有关安全、有效和质量可控的所有要求,系统地贯彻到干细胞制备、控制及产品放行、贮存、发运的

全过程中,确保制备和存储的干细胞符合预定用途和注册要求。(5)应建立质量计划,质量计划是为了实现某一质量目标而制定的具体操作规程、资源配备、衡量方法和指标等。质量计划应形成书面文件,其内容应与员工充分沟通,并使员工了解:他们的工作任务同时体现了业务目标和质量目标。(6)每月应召开月度质量会议,分析汇总1个月的质量体系运行情况;每12个月应对所有的质量要素进行内审(自检),可在12个月的周期内进行多次审核,审核质量体系运行的符合性;每年应进行管理评审,审核质量体系运行的有效性,提出下一步改进方案。根据需要可委托第三方对干细胞库进行质量审核,以及接受有关管理部门的审计。(7)应进行质量风险管理,在整个产品生命周期中采用前瞻或回顾的方式,对质量风险进行评估、控制、沟通、审核。(8)如果干细胞库因业务需要委托第三方完成生产或检验任务,要对第三方的资质进行评审,评审的依据是满足干细胞库建设的相关法律、法规要求。

8.2 质量体系文件化 干细胞库应建立质量手册、程序文件、标准(管理/操作/技术)规程、记录4级文件管理系统及相关支持性文件^[52-54]。干细胞库编制质量管理手册的主要目的是传达企业质量方针、程序和要求,保证企业质量体系有效运行,证明企业质量体系与顾客或认证机构所要求的质量体系标准相符合。程序文件是规定某项活动或过程的途径的文件。管理规程是质量体系运行过程中的管理类文件,包括生产管理标准、质量管理标准、验证管理标准等。操作规程是质量体系运行过程中的操作类文件,包括岗位操作规程、检验操作规程、清洁规程、更衣规程等。技术规程是质量体系运行过程中的技术类文件,包括工艺规程、质量标准、验证方案、验证报告等。支持性文件包括规章制度、红头文件、通知/公告、外源性文件等。记录是质量体系运作过程中产生的各种原始记录及报告。建议将标准(管理/操作/技术)规程分类管理,分类的原则应与法规要求及实际业务相匹配。

8.3 人员管理 MenSCs资源库建立单位应设立相应组织,由专人或兼职人员负责。应设立伦理审查委员会。伦理审查委员会由熟悉干细胞制备或研究的伦理学、医学、生物学、法学等专家以及无利害关系的社区代表人员组成。伦理审查委员会对MenSCs相关伦理问题进行审查和评价。伦理审查委员会负责建立干细胞库的伦理准则和相应的操作规范,并在科学的前提下对样本相关研究项目或其

他使用方案进行伦理审查,对已通过审查的项目或正在进行的项目进行伦理监督与审查,以保护样本提供者的权益和安全。

应设立科学审查委员会。科学审查委员会由生物学、医学、药学等领域专家组成。科学审查委员会应负责对样本采集、干细胞制备、保存、运输及使用等方案进行科学性审查。

应设立生物安全委员会。生物安全委员会由生物学、医学、技术人员及实验室质量管理人员等各方面的专家和工作人员组成。生物安全评审委员会负责对干细胞库的生物安全制度、安全操作规范进行审查。

应设立干细胞制备技术负责人、质量管理负责人和质量授权人岗位,并由法人授权任命,任职资质应符合GMP要求,制备技术负责人与质量管理负责人、质量授权人不得相互兼任。制备技术负责人应当具有相应的专业知识(如微生物学、细胞生物学、免疫学、生物化学等),至少具有3a从事生物制品或细胞治疗产品生产或质量管理的实践经验。质量管理负责人和质量授权人应当具有相应的专业知识(如微生物学、细胞生物学、免疫学、生物化学等),至少具有5a生物制品或细胞治疗产品生产、质量管理的实践经验,从事过生物制品或细胞治疗产品质量保证、质量控制等相关工作。

干细胞制备技术员应具有制剂基本知识、生物安全知识、GMP理论基础和至少1a以上细胞培养工作经历,同时应具有生物学或相关专业大专以上学历。

干细胞质量控制检验技术员应具有制剂基本知识、质量管理和GMP理论基础,有医学检验或药企质量相关工作经验,同时应具有生物学或医学检验相关专业本科以上学历,并取得检验资格证书。

干细胞库所有工作人员应无传染性疾病,并且(矫正)视力正常,辨色力正常。应每年进行1次健康检查。

干细胞库工作人员上岗前应经过专业培训,培训形式应包含内部培训与外部培训。内容包括但不限于干细胞理论与实践、生命伦理、干细胞法律法规、GMP、制剂基本知识、细胞培养基础、生物安全、仪器设备使用与维护方法、物料管理与清洁卫生、干细胞库管理、岗位职责、操作规范等内容,外部培训经由相关行政部门组织,所有培训需经考试合格并取得相关资质后方可上岗。

8.4 仪器设备管理 设备的设计、选型、安装、改造

和维护必须符合预定用途,应当尽可能降低产生污染、交叉污染、混淆和差错的风险,便于操作、清洁、维护,以及必要时进行的消毒或灭菌。应当建立并保存设备采购、安装、确认的文件和记录。

应建立完整的仪器设备档案,包括但不限于:仪器设备标识(铭牌、固定资质编号、实验室编号);制造商的名称、制造商的联系人、电话;说明书、产品合格证、保修卡;仪器设备安装验收相关记录;当前的位置;接收时的状态(例如新品,使用过,修复过);仪器设备性能验证记录(检定、校准、检测、期间核查);仪器设备的使用及维护保养记录;设备的损坏、故障、改动或修理记录。

各部门负责人对仪器设备的使用人员进行培训,培训合格后授权使用该仪器,并指定仪器设备责任人负责管理。

实验室应建立设备使用、清洁、维护和维修的操作规程,填写并保存相应的操作记录。

对国家指定的计量器具和对检测结果有直接影响的仪器设备定期送具备资质的有关计量机构(该计量机构为能证明其资格、测量能力和溯源性的实验室)进行检定或校准,物理量应溯源至国家计量基准。

对于特殊仪器设备,国家暂时未颁布计量检定或校准规程,无法溯源到国家测量基准的,可由生产厂家或第三方机构进行检测。

对于国家暂时未颁布计量检定或校准规程,生产厂家也不能进行检定或校准,应通过内部核查对仪器设备的状态予以确认;对于检测结果的准确性或有效性无显著影响的仪器设备,也可以通过内部核查进行状态确认。

8.5 物料管理 采购部门应对物料的供应商进行评审,评审的内容包括但不限于:生产企业及供应商的基本信息(企业法人、营业执照、代理产品的授权证明、税务登记证、企业质量认证情况)、产品质量情况(生产经营许可证及注册证、产品认证情况、产品执行标准、供应产品的合格率)、供货质量(供货能力、供货周期、运输方式);售后服务情况(售后服务的及时率)等。物料到达后,应由物料管理人员进行初验,检查生产商、供应商的资格和物料的外包装、质量证明文件等基本信息。初验合格的物料置于待检区,并通知质量控制人员进行检验。质量控制人员检测完毕后出具检测报告,交至仓库管理员。如检测情况不合格,则需填写《物料不合格报告》交至采购员处,贴上禁用标识。仓库对于物料存放应

分类分区管理,标识清楚,安全使用。库存物料标志包括合格、不合格、待验、退货物料等,分别用清晰明确的标识标记,按照规定区域存放,不得混放。

8.6 安全管理 细胞库应在员工入职时及入职后每年对员工进行安全相关知识培训(生物安全、卫生防护、清洁消毒、预防职业暴露、化学品安全、消防安全、实验室应急预案),并对培训进行考核、对培训效果进行评估^[55-56]。

细胞库入口须贴上生物危险标志,注明生物安全级别、负责人姓名和电话。禁止非工作人员进入实验室。外来人员参观实验室须经实验负责人批准方可进入。

工作人员进入实验室之前做好个人防护(实验服/洁净服、手套、工作鞋、护目镜、口罩、帽子),出实验室后应按照七步洗手法进行洗手。

建立卫生消毒管理制度,对仪器设备表面进行擦拭消毒;对空气进行臭氧及紫外线消毒;对非一次性器械及防护用品进行高温高压灭菌消毒;对医疗废弃物按照相应的法规要求进行处理。

应让实验室的工作人员充分了解化学品的毒性作用、暴露途径以及可能与操作和储存化学品有关的危害。可以从化学品生产商和(或)供应商那里得到有关的物质安全资料卡(material safety data sheets, MSDS)或其他有关化学危害的资料。

建立医疗废物管理制度,按照法规要求处置医疗废弃物(感染性、损伤性、病理性、化学性)。危险化学品(强酸、强碱、易燃、易爆等)应保持在危险化学品柜中,双人双锁管理。

压缩气体钢瓶和液化气容器应该安全地固定(放在气体钢瓶专用柜内),以确保钢瓶不会因为自然灾害而移动。

细胞库应建立污水处理装置,实验室排放的所有污水必须经过污水处理装置吸附及消毒,并且达到排放标准后方可排出。

8.7 样本/细胞追溯管理 干细胞库的样本(细胞)应有条码识别,从样本到达实验室直至细胞入库整个过程,有且只有1个编号,条码设置应符合GB/T 12905、GB/T 17172、GB/T 18347规则。

干细胞编码应以能清楚有效地区别不同来源、不同供体样本为原则。

待储存于液氮箱中的干细胞冻存容器必须附有耐低温的一维条形码。在样本库容量较大的情况下,可选择附有耐低温、防脱落的二维码的冻存管作为细胞储存使用,确保信息永不丢失。

应详细记录从样本接收到细胞入库全过程,包括人(操作人员、操作时间)、机(所使用的仪器名称、编号)、料(所使用的物料、物料批号)、法(制备工艺流程、参数)、环(制备房间、温湿度)、测(检测项目、检测结果)6个方面,并形成记录(生产/检测)。

附则

执笔人:曹毓琳、林俊堂

起草专家:曹毓琳、张兴鹏、滕睿頔、李 晗、杨 芬、刘彦礼、林俊堂

修改专家:林俊堂、曹毓琳、李 晶、郝建秀、周红梅

审核专家:田亚平、赵秀梅、张 毅、郑鹏远、史继静、康 谊、李华强、郭学军、王现伟、窦启锋、翁孝刚、程洪斌、王 敏

起草、修改和审核专家及单位(排名不分先后):

田亚平、赵秀梅、李 晶、郝建秀 解放军总医院/中国研究型医院临床数据与生物样本资源库专业委员会

周红梅 同济大学东方医院/中国研究型医院临床数据与生物样本资源库专业委员会

曹毓琳 北京臻溪谷医学研究中心/中国研究型医院临床数据与生物样本资源库专业委员会/河南省细胞生物学会干细胞专业委员会

林俊堂 新乡医学院/中国研究型医院临床数据与生物样本资源库专业委员会/河南省细胞生物学会干细胞专业委员会

刘彦礼、李 晗、杨 芬、王现伟 新乡医学院/新乡高新区中源干细胞研究院/河南省细胞生物学会干细胞专业委员会

张 毅 郑州大学第一附属医院/河南省细胞生物学会干细胞专业委员会

史继静 郑州第一人民医院/河南省细胞生物学会干细胞专业委员会

李华强 开封市中心医院/河南省细胞生物学会干细胞专业委员会

郭学军 濮阳油田总医院/河南省细胞生物学会干细胞专业委员会

翁孝刚 新乡医学院第三附属医院/河南省细胞生物学会干细胞专业委员会

田中伟 新乡医学院第一附属医院/河南省细胞生物学会干细胞专业委员会

王 敏 北京工商大学化学与材料工程学院

康 谊 河南省人民医院

郑鹏远 郑州大学第五附属医院

窦启锋 新乡医学院第一附属医院

程洪斌 北京武警总医院

胡守舵 北京市中西医结合医院

张海林 北京协和医院

王佰亮 中日友好医院

刘琨鹏 北京大学国际医院

程世翔 武警特色医学中心

赵宇红、张兴鹏、滕睿頔 北京臻溪谷医学研究中心/中国研究型医院临床数据与生物样本资源库专业委员会

参考文献:

- [1] 衡敬之,梅达成.对《药品管理法修正案(草案)》征求意见稿三大认证制度改革探讨[J].卫生软科学,2019,33(2):12-17.
- [2] 袁丽,杨悦.美国药物临床试验暂停机制研究[J].中国药学杂志,2017,52(9):787-792.
- [3] 吴旖婷,朱芒.药物临床试验默示许可制度探究[J].中国食品药品监管,2020(3):31-37.
- [4] 刘晓君.从《赫尔辛基宣言》透视医学研究规范[J].黑龙江医药科学,2013,36(3):80-81.
- [5] 张咸伟.《赫尔辛基宣言》涉及人类受试者医学研究伦理原则的解读[J].实用疼痛学杂志,2020,16(2):96-101.
- [6] 吴静,白桦,王思成,等.2013版《赫尔辛基宣言》评述[J].中国中西医结合杂志,2014,34(1):127.
- [7] BHARTIYA D,MOHAMMAD S A. Which stem cells will eventually translate to the clinics for treatment of diabetes[J]. *Stem Cell Res Ther*,2020,11(1):211.
- [8] HAN Y,LI X,ZHANG Y, et al. Mesenchymal stem cells for regenerative medicine[J]. *Cells*,2019,8(8):886.
- [9] MARANDA E L,RODRIGUEZ-MENOCAL L,BADIAVAS E V. Role of mesenchymal stem cells in dermal repair in burns and diabetic wounds[J]. *Curr Stem Cell Res Ther*,2017,12(1):61-70.
- [10] DING D C,SHYU W C,LIN S Z. Mesenchymal stem cells[J]. *Cell Transplant*,2011,20(1):5-14.
- [11] PERNET O,YADAV S S,AN D S. Stem cell-based therapies for HIV/AIDS[J]. *Adv Drug Deliv Rev*,2016,103:187-201.
- [12] 王佳一,李颖,刘晶.干细胞临床研究的伦理问题反思[J].医学与哲学,2019,40(16):6-10.
- [13] 汤红明,刘中民.关于推进干细胞临床研究的思考[J].中华医学科研管理杂志,2020,33(1):79-80.
- [14] 汪德海,李天君,高建恩,等.围产期干细胞库质量管理体系构建[J].中华细胞与干细胞杂志,2019,9(5):309-313.
- [15] 陈海丹.干细胞临床研究政策回顾和展望[J].自然辩证法通讯,2018,40(3):81-86.
- [16] 王剑萍,白莉华,马晨光,等.我国公立医院干细胞临床研究及其相关伦理委员会的现状[J].中国医学伦理学,2019,32(1):22-25.
- [17] JOLY Y,CHEN H,CHAN B, et al. Privacy and biobanking in China; a case of policy in transition[J]. *J Law Med Ethics*,2015,43(4):726-742.
- [18] CHEN L,QU J,XIANG C. The multi-functional roles of menstrual blood-derived stem cells in regenerative medicine[J]. *Stem Cell Res Ther*,2019,10(1):1.
- [19] LIU Y,NIU R,YANG F, et al. Biological characteristics of human menstrual blood-derived endometrial stem cells[J]. *J Cell Mol*

- Med*,2018,22(3):1627-1639.
- [20] LIU Y, NIU R, LI W, *et al.* Therapeutic potential of menstrual blood-derived endometrial stem cells in cardiac diseases[J]. *Cell Mol Life Sci*,2019,76(9):1681-1695.
- [21] ZHU X, PÉAULT B, YAN G, *et al.* Stem cells and endometrial regeneration: from basic research to clinical trial[J]. *Curr Stem Cell Res Ther*,2019,14(4):293-304.
- [22] GARGETT C E, SCHWAB K E, DEANE J A. Endometrial stem/progenitor cells: the first 10 years[J]. *Hum Reprod Update*,2016,22(2):137-163.
- [23] 马颖,何援利. 两种方法分离子宫内层干细胞的比较[J]. *中国组织工程研究*,2013,17(6):1089-1093.
- [24] 马娜娜,王祥珍. 子宫内膜干细胞在妇科疾病中的研究进展[J]. *广东医学院学报*,2014,32(2):234-236.
- [25] SUN C, SERRA C, LEE G, *et al.* Stem cell-based therapies for Duchenne muscular dystrophy [J]. *Exp Neurol*, 2020, 323: 113086.
- [26] ZUO W, XIE B, LI C, *et al.* The clinical applications of endometrial mesenchymal stem cells [J]. *Biopreserv Biobank*, 2018, 16(2):158-164.
- [27] YAO Y, CHEN R, WANG G, *et al.* Exosomes derived from mesenchymal stem cells reverse EMT via TGF- β_1 /Smad pathway and promote repair of damaged endometrium[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2019,10(1):225.
- [28] 赵庆辉,周红梅,汤红明,等. 干细胞资源库及信息管理系统的标准化建设[J]. *转化医学杂志*,2018,7(1):17-19.
- [29] 黄靖香,张文涛,周勇刚,等. 种子细胞库的建立及应用[J]. *骨与关节损伤杂志*,2003,18(4):217-220.
- [30] 国家药监局,国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020.
- [31] 国务院. 中华人民共和国人类遗传资源管理条例:国令第717号[A/OL]. (2019-06-10) [2020-05-03]. http://www.gov.cn/zhengce/content/2019-06/10/content_5398829.htm.
- [32] 周红梅. 临床级干细胞库的建设与管理[J]. *协和医学杂志*, 2019,10(2):172-177.
- [33] 中华人民共和国住房和城乡建设部. 医药工业洁净厂房设计规范:GB50457—2008[S]. 北京:中国计划出版社,2009.
- [34] 中华人民共和国住房和城乡建设部,中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. 洁净室施工及验收规范:GB 50591-2010[S]. 北京:中国建筑工业出版社,2010.
- [35] 中国工程电子设计院,中华人民共和国住房和城乡建设部. 洁净厂房设计规范:GB50073—2013[S]. 北京:中国计划出版社,2013.
- [36] 季加孚. 生物样本库的能力建设与最佳实践[M]. 北京:科学出版社,2013.
- [37] 卜云婷,邢国华,宋淑萍,等. 高级别生物安全实验室传递窗的基本要求及性能分析[J]. *洁净与空调技术*,2019(3):86-90.
- [38] 中国医药生物技术协会生物样本库分会. 中国医药生物技术协会生物样本库标准:试行[J]. *中国医药生物技术*,2011,6(1):71-79.
- [39] 国家卫生和计划生育委员会. 涉及人的生物医学研究伦理审查办法:中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会令第11号[A/OL]. (2016-10-12) [2020-05-03]. <http://www.nhc.gov.cn/fzs/s3576/201808/14ee8ab2388440c4a44ecce0f24e064c.shtml>.
- [40] 姚莉. 临床医学科研与医学科研伦理探析[J]. *中国社会医学杂志*,2009,26(6):335-337.
- [41] 胡晋红. 医学研究知情同意过程及信息告知的伦理审查要点[J]. *药学服务与研究*,2014,14(3):166-169.
- [42] 国家卫生计生委,国家食品药品监管总局. 干细胞制剂质量控制及临床前研究指导原则(试行):国卫办科教发[2015]46号[A/OL]. (2015-07-31) [2020-05-03]. <http://www.nhc.gov.cn/qjjys/s3581/201508/15d0def66b734f338e31f67477136cef.shtml>.
- [43] 祝贺,郝捷,周琪,等. 临床级干细胞库及干细胞制剂[J]. *生命科学*,2016,28(8):895-901.
- [44] 尹湧华,孔玉洁,王美玉,等. 《血站技术操作规程(2015)版》研读[J]. *中国输血杂志*,2016,29(11):1303-1305.
- [45] 尚红,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 4版. 北京:人民卫生出版社,2015.
- [46] 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):315-317.
- [47] 中华人民共和国卫生部. 药品生产质量管理规范(2010年修订):中华人民共和国卫生部令第79号[A/OL]. (2011-01-17) [2020-05-03]. <http://www.nhc.gov.cn/wjw/bmgz/201102/e1783dd3e9684f0cb875d71170a96d17.shtml>.
- [48] 国家药品监督管理局. 《药品生产质量管理规范(2010年修订)》生物制品附录修订稿的公告:2020年第58号[A/OL]. (2020-04-23) [2020-05-03]. <https://www.nmpa.gov.cn/yaopin/ypgggtg/20200426172601351.html>.
- [49] 缪德骅. 药品生产质量管理规范实施指南[M]. 北京:化学工业出版社,2001.
- [50] YAZER M H, TRIULZI D J. AABB red blood cell transfusion guidelines: something for almost everyone [J]. *JAMA*, 2016, 316(19):1984-1985.
- [51] 柴邦衡,吴江全. ISO9001:2000质量管理体系文件[M]. 2版. 北京:机械工业出版社,2000.
- [52] 汪德海,李天君,高建恩,等. 围产期干细胞库质量管理体系构建[J]. *中华细胞与干细胞杂志:电子版*,2019,9(5):309-313. DOI:10.3877/cma.j.issn.2095-1221.2019.05.009.
- [53] 卢加琪,刘伯宁,罗建辉. 基于干细胞的再生医学产品研究进展与监管现状[J]. *中国科学(生命科学)*,2019,49(1):18-27.
- [54] 胡杰杰,胥坤. 干细胞药物制备全站系统的结构设计及分析[J]. *化工与医药工程*,2019,40(6):32-35.
- [55] 马丽丽. 剖析如何加强危险化学品安全管理[J]. *化工管理*, 2020(6):82-83.
- [56] 张祝启. 危险化学品泄漏事故的应急处置[J]. *化工管理*, 2020(14):71-72.