ICS 11.020.20
CCS C 50

T

团　　体　　标　　准

T/CAPA 17.2—2026

临床研究 人源间充质干细胞 通用准则
第 2 部分：制备

2026-10-10 发布　　2026-10-10 实施

中国整形美容协会 发布

目　次

前言 III
引言 IV
1 范围 1
2 规范性引用文件 1
3 术语和定义 1
4 缩略语 2
5 一般要求 2
5.1 人员 2
5.2 设备 3
5.3 原辅料 3
5.4 制备方法 4
5.5 制备环境 4
6 制备流程 4
6.1 组织采集 4
6.2 原代细胞分离与培养 4
6.3 细胞扩增 5
6.4 细胞冻存 6
6.5 制剂制备 7
7 质量管理 7
7.1 质量检测 7
7.2 文件管理 7
7.3 生产异常、偏差、纠正与预防措施 8
7.4 风险管理 8
7.5 持续改进 9
参考文献 10

前 言

本文件按照GB/T 1.1—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》的规定起草。

本文件是T/CAPA 17《临床研究 人源间充质干细胞 通用准则》的第2部分。T/CAPA 17已经发布了以下内容：

——第1部分：制备平台建设；

——第2部分：制备；

——第3部分：质量检测与控制；

——第4部分：采集；

——第5部分：存储；

——第6部分：运输；

——第7部分：研究参与者知情同意；

——第8部分：供者知情同意。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利，本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中国整形美容协会干细胞研究与应用分会提出。

本文件由中国整形美容协会归口。

本文件起草单位：上海市东方医院（同济大学附属东方医院）、国家干细胞转化资源库、上海干细胞临床转化研究院、上海市干细胞临床诊疗工程研究中心、同济大学、四川大学华西口腔医院、襄阳市第一人民医院（湖北医药学院附属襄阳市第一人民医院）、浙江大学、中国人民解放军海军军医大学、昆明市延安医院、湖北医药学院、中山大学中山眼科中心（中山大学附属眼科医院）、武汉光谷中源药业有限公司、上海同金干细胞科技有限公司、上海泰闪科技有限公司、北京葆来生物科技有限公司、海南省细胞医疗科技有限公司、东莞粤港澳干细胞生物科技有限公司、中山康天晟合生物技术有限公司、南京比瑞生物科技有限公司、上海萌薇生物医疗科技有限公司、天士力医药集团股份有限公司、北京百普赛斯生物科技股份有限公司、博雅干细胞科技有限公司。

本文件主要起草人：刘中民、康九红、贾文文、白志慧、魏宇双、汤红明、赵庆辉、朱邯豫、田卫东、项春生、王越、孟明耀、张秋芳、柳夏林、张宇、裴斌、鲁济真、曹虹霞、于亚飞、李雪阳、张勤、谭凤鸣、袁军、朱羚、章保平、王根辈、李豪楠、陈胜枚、郑天慧、张磊。

引 言

T/CAPA 17《临床研究 人源间充质干细胞 通用准则》构建了覆盖干细胞临床研究全链条的标准化体系，对保障研究合规性、细胞质量稳定性及供者与研究参与者合法权益具有核心指导意义，为行业规范化发展提供统一技术依据与操作遵循，拟由八个部分构成。

——第1部分：制备平台建设。目的在于确立制备平台场地、环境、设施设备的合规要求，为后续环节提供基础保障。

——第2部分：制备。目的在于规范细胞分离、培养、扩增等全流程工艺，保障细胞安全性、有效性与一致性。

——第3部分：质量检测与控制。目的在于明确全环节检测项目与方法，为干细胞质量提供验证依据。

——第4部分：采集。目的在于规范九类样本专属采集流程，保证干细胞源头质量与供者权益。

——第5部分：存储。目的在于明确存储场地、设备及全流程操作要求，维持细胞质量稳定性。

——第6部分：运输。目的在于规范运输温控、包装、监控要求，保障细胞流转过程中质量稳定。

——第7部分：研究参与者知情同意。目的在于明确知情同意基本原则与实施程序，保护研究参与者合法权益。

——第8部分：供者知情同意。目的在于规范供者知情同意核心条款与操作流程，确保样本采集合规与供者权益。

临床研究 人源间充质干细胞 通用准则 第 2 部分：制备

1 范围

本文件规定了临床研究用人源间充质干细胞制备的一般要求、制备流程和质量管理。

本文件适用于临床研究用人源间充质干细胞制备的实验室或机构。

注：适用于临床研究用是指符合《生物医学新技术临床研究和临床转化应用管理条例》规定的用于疾病预防或治疗的临床研究。

2 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/T 29252—2012 实验室仪器和设备质量检验规则

DB32/T 3544—2019 临床级人体组织来源间充质干细胞质量控制管理规范

T/SRA 005—2021 临床级骨髓间充质干细胞制备及质量控制

ISO 10993-1 医疗器械的生物评估 第 1 部分：在风险管理过程中对生物安全评估的要求和一般原 则（Biological evaluation of medical devices—Part 1：Requirements and general principles for the evalua -tion of biological safety within a risk management process） CNAS-GL040 仪器验证实施指南

ICH Q9 质量风险管理（Quality Risk Management）

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件

3.1

间充质干细胞 mesenchymal stromal/stem cell，MSC

来源于骨髓、脂肪、脐带等组织，具有自我更新和多向分化潜能的成体干细胞，能够分化为脂肪细胞、骨细胞、软骨细胞等多种细胞类型，具有免疫调节和组织修复等特性。

3.2

原代细胞分离 primary cell isolation

从原始的组织或器官样本中直接获取目标细胞的过程。

3.3

细胞制剂 cell-based medicinal product

以某种来源的间充质干细胞为主要成分，符合相关质量及安全标准，具有明确生物学效用的干细胞制品。

3.4

细胞传代 cell passaging

培养的细胞从原培养容器中分离、稀释，接种到新的培养器皿中并添加新的培养基继续培养的过程。

3.5

细胞扩增 cell expansion

通过体外培养技术使细胞数量增加的过程。

注：贴壁细胞扩增包含传统培养方法和规模化扩增培养方法，即二维培养的细胞扩增和三维培养的细胞扩增。

4 缩略语

下列缩略语适用于本文件。
CCP：关键质控点（Critical Control Point）
CPP：关键工艺参数（Critical Process Paramaters）
CQA：关键质量属性（Critical Quality Attribute）
DMSO：二甲基亚砜（Dimethyl Sulfoxide）
PAT：过程分析技术（Process Analytical Technology）
QbD：质量源于设计（Quality by Ddesign）
SOP：标准操作程序 （Standard Operating Procedure）
2D 培养：二维（two-dimensional）培养
3D 培养：三维（Three-Dimensional）培养

5 一般要求

5.1 人员

5.1.1 人员配置

干细胞制备机构应设立干细胞制备负责人、质量管理负责人和质量受权人，相应的岗位负责人应具备与职责相关的专业知识（细胞生物学、检验医学、药学、生物化学等），应获得研究生学历并持续从事干细胞研究或细胞治疗相关行业 5 年以上。制备负责人、质量管理负责人与质量受权人不应相互兼任。

5.1.2 人员资质

从事间充质干细胞制备的技术人员应具有生物学、医学或相关专业本科及以上学历，并接受过细胞培养、无菌操作及生物安全专项培训。

5.1.3 人员培训

应涵盖间充质干细胞制备专业知识、操作技能、安全防护等内容。制备机构应建立完善的培训机制，制定关键岗位培训计划，每年至少培训考核一次，合格后方可上岗。

5.1.4 人员健康

技术人员健康要求应符合《干细胞制剂制备与质检行业标准（试行）》的要求。

5.2 设备

5.2.1 细胞培养设备

5.2.1.1 细胞培养箱、生物反应器等细胞培养设备，为细胞生长提供稳定的环境。
5.2.1.2 血球计数板、细胞计数仪等细胞计数和细胞活率检测设备，宜具备检测细胞直径、截团率等功能。
5.2.1.3 倒置显微镜、荧光显微镜等观察细胞的设备，宜配备拍照系统，可观察细胞形态和融合度。
5.2.2 细胞冻存与复苏设备
5.2.2.1 可控速率冷冻仪、程序降温仪等控制降温速率的设备，可调控降温速率，保证细胞冻存程序正常。
5.2.2.2 液氮罐、高效气相液氮罐等细胞存储设备，可长期低温保存细胞。
5.2.2.3 水浴锅、无水复苏仪等细胞复苏的设备，可快速恒温解冻细胞。
5.2.3 通用设备
5.2.3.1 生物安全柜、隔离器等提供无菌操作环境的设备，可保障样本和操作人员的安全性。
5.2.3.2 离心机、密度梯度离心机等离心设备，宜具备温度控制功能。
5.2.3.3 4℃冰箱、-80℃冰箱等试剂保存和细胞暂存的设备。
5.2.3.4 应配备监控系统，对细胞培养箱、冰箱、高效气相液氮罐等关键设备运行状态实时监控、记录，及实时警报或远程警报异常情况。

5.2.4 设备验证

设备验证应符合 GB/T 29252 和 CNAS-GL040 的要求。

5.2.5 设备维护与管理

5.2.5.1 设备日常维护应包含定期清洁、消毒、润滑和紧固等，保持设备卫生、无菌，减少磨损并确保运行稳定。
5.2.5.2 处理故障时，应建立故障记录档案，及时维修并储备常用备件。
5.2.5.3 设备管理应建立全生命周期档案，涵盖申购、安装、使用、维护等信息，进行设备标识管理并记录使用情况。

5.3 原辅料

5.3.1 供者材料的采集与运输标准

参见 T/CAPA 17.4 和 T/CAPA 17.6。

5.3.2 制备用物料

5.3.2.1 培养基与添加物

依据《干细胞制剂质量控制及临床前研究指导原则（试行）》的要求，基础培养基应进行批次放行检测；宜选用化学成分明确、无异源成分的培养基。血清替代物等添加物应提供无菌、内毒素、支原体以及相关病毒检测合格证明。

5.3.2.2 消化酶

消化酶应有足够的纯度并符合无菌、无致病性微生物和内毒素的质量标准。若使用动物源成分消化酶，应进行残余量和相关病毒检测。

5.3.2.3 耗材与包装材料

无菌、无热源，符合 ISO 10993-1 生物相容性标准的要求。其他要求应符合 T/SRA 005 的要求。

5.3.3 物料的储存与管理

5.3.3.1 物料的储存

物料应按说明书要求分类储存，明确温度、避光及湿度要求，定期监测并记录环境参数。

5.3.3.2 物料的管理如下。

a) 有效期管理：所有物料应标注生产日期、有效期及开封后效期。定期检查，过期或变质物料应隔离并标识“禁用”。
b) 标识与追溯：物料入库时需赋予唯一编号，标签信息包括名称、批号、供应商、储存条件及有效期，关键物料应保留原厂检验报告。
c) 出入库管理：物料领用应填写申请单，双人复核名称、批号及数量，使用后剩余物料应密封并标注开封日期。
d) 实施“先进先出”原则，记录领用日期、数量、用途及操作人员。
e) 安全库存：根据制备计划及物料使用频率设定安全库存量，定期评估库存状态，避免短缺或积压。
f) 异常处理：储存期间若发现温度偏差、包装破损或污染，应立即隔离物料并评估质量影响，必要时报废。偏差事件应记录根本原因及纠正措施。

5.4 制备方法

5.4.1 制备工艺设计

关键工艺参数（CPP）：应基于关键质量属性（CQA）确定 CPP，明确原代细胞分离（酶浓度、消化时间）、扩增（接种密度、传代次数）、冻存（降温速率、DMSO 浓度）等关键参数范围。依据 QbD 原则，验证参数边界。如需变更工艺，应通过质量对比研究，或按临床研究备案程序管理，确保新工艺具有明显优势后，再正式变更。

工艺流程图：应绘制从供者材料接收至细胞制剂放行的全流程操作图，标注关键控制点（CCP）及质控节点。

5.4.2 SOP 制定

应编写涵盖整个工艺流程的 SOP 文件，细化操作步骤、风险控制点及应急措施。SOP 文件应标注版本号、当前版本审批与生效日期、修订历史，变更时开展可比性研究并备案。

5.5 制备环境

参见 T/CAPA 17.1。

6 制备流程

6.1 组织采集

参见 T/CAPA 17.4。

6.2 原代细胞分离与培养

6.2.1 原代细胞分离

6.2.1.1 脐带组织

剥离脐带中华通氏胶组织。若采用组织块贴壁法，将华通氏胶剪成 1mm³ ~3mm³ 的碎块后贴壁培养；若采用酶消化法，可选用胰蛋白酶、胶原蛋白酶或两者混合覆盖组织块，消化后经过滤离心获得脐带间充质干细胞。

6.2.1.2 脂肪组织

将去除杂质的脂肪组织剪成碎块，向碎块中加入适量的胶原酶，并放置在 37℃的恒温振荡器中振荡消化，消化后经过滤离心获得脂肪间充质干细胞。

6.2.1.3 骨髓组织

若采用全骨髓贴壁法，可将采集的骨髓液用缓冲液稀释后离心，去除脂肪层和上清液，获得骨髓间充质干细胞；若采用密度梯度离心法，可将骨髓液进行密度梯度离心后，吸取白膜层的单核细胞，用生理盐水洗涤后获得骨髓间充质干细胞。

6.2.1.4 牙髓组织

若采集样本为乳牙，将乳牙牙髓撕成丝状后采用组织块贴壁法贴壁培养，获得牙髓间充质干细胞；若采集样本为恒牙，剥离恒牙牙髓，将组织剪成小块，向组织块中加入消化酶并放置在 37℃的恒温振荡器中消化，消化后经离心获得牙髓间充质干细胞。

6.2.1.5 胎盘组织

无菌取胎盘组织并剪碎，用酶消化法分离原代细胞。离心弃去上清液，收集沉淀获得胎盘间充质干细胞。

6.2.1.6 宫血

将宫血过滤得到的子宫内膜组织直接剪碎成小块，加入消化酶消化后离心，收集沉淀获得宫血间充质干细胞。

6.2.1.7 羊膜组织

将羊膜组织去除表面杂质和血渍，剪成 1mm² ~3mm² 的小块；加入消化酶处理羊膜组织碎片，消化至组织块基本消失；过滤细胞悬液并离心后弃上清，收集沉淀获得羊膜间充质干细胞。

6.2.1.8 子宫内膜组织

将子宫内膜组织去除残留的血液和杂质，清洗子宫内膜组织后剪成 1mm³ ~3mm³ 小块，用酶消化法消化、离心后获得子宫内膜间充质干细胞。

6.2.2 原代细胞的培养

6.2.2.1 接种

若采用组织块贴壁法，将组织块均匀地铺在培养瓶中，加入适量的间充质干细胞培养基，使培养基刚好覆盖组织块；将培养瓶放置在 37℃、5%CO_2 的培养箱中静置培养。若采用酶消化法，细胞计数后按合适密度接种到培养瓶中，静置培养。

6.2.2.2 观察换液

若采用组织块贴壁法应每隔 2d 在显微镜下观察细胞的生长情况，每隔 4d~6d 换液。若采用酶消化法，应根据细胞对培养基的消耗判断换液频次。

6.2.2.3 传代培养

当细胞融合度达到 80%~90%时，应进行细胞传代。消化时间、接种密度等应经过工艺验证后严格控制。

6.3 细胞扩增

6.3.1 2D 培养的细胞扩增

6.3.1.1 细胞扩增方式选择

应根据扩增规模和细胞特性选择合适的扩增方式，包括但不限于培养皿、培养瓶和细胞工厂等。

6.3.1.2 通用的细胞工厂操作流程如下：

a) 环境准备：细胞工厂支架、管路、灌流系统等高压灭菌或使用无菌一次性耗材。

b) 细胞接种：根据工艺参数制备合适浓度的细胞悬液加入细胞工厂，通常从第一层开始，通过重力或泵驱动逐层向上填充液体。宜使用封闭式灌流系统自动化接种。

c) 扩增过程管理：应监控关键参数以管理细胞扩增过程，包括但不限于细胞形态、融合度和培养基 pH、葡萄糖含量、乳酸含量等，根据参数及时换液或补液；当细胞融合度达到 80%~90%时，应进行细胞传代。

6.3.2 3D 培养的细胞扩增

6.3.2.1 生物反应器选择

应根据扩增规模和细胞特性选择合适的生物反应器，包括但不限于搅拌式反应器、固定床反应器、中空纤维生物反应器等。

6.3.2.2 载体选择如下：

a) 应根据生物反应器选择合适的载体类型，确保载体与生物反应器匹配，如搅拌式反应器可选择轻质材料的可降解或非可降解球状微载体。

b) 应根据细胞与培养工艺选择合适的载体类型，考虑载体的材质、直径、表面积、孔隙率与孔径、表面化学、机械稳定性等。

c) 所选用载体应具备良好的生物相容性、化学稳定性、细胞生长支持能力、可操作性与安全性。

6.3.2.3 通用的生物反应器操作流程如下。

a) 细胞接种：应根据反应器类型和载体类型确定细胞接种数量和接种方式。

b) 培养参数设置：应根据细胞的生长要求和生物反应器的特点，设置合适的培养参数，参数的设置应综合考虑细胞培养过程中的溶氧、pH、能量物质以及代谢产物等因素，如葡萄糖消耗、乳酸代谢。

c) 监测与调控：应定期关注培养参数，宜使用在线监测设备实时监测关键参数，可根据监测结果，及时调整培养参数设置，以维持细胞的良好生长状态。

d) 培养基供应：应根据细胞的生长和代谢情况，持续或间歇地供应新鲜培养基，以提供充足的营养物质，并及时排出废液。

6.3.2.4 质量控制要点

在生物反应器的细胞培养过程中，应严格保持无菌状态，宜采用一次性封闭式管道进行无菌连接；同时，定期监测细胞制备过程中的培养参数，并评估不同批次的工艺稳定性。此外，还应定期维护、校验和清洁生物反应器及相关设备，确保其性能稳定可靠。

6.4 细胞冻存

6.4.1 冻存液的选择

综合考虑冻存液生产合规性、冷冻保护剂、细胞存活率保障、无菌及安全性、渗透压与 pH、DMSO 含量等，选择合适的冻存液。

6.4.2 冻存过程控制

6.4.2.1 冻存容器应标记相关信息，包括但不限于细胞名称、代数、冻存日期、冻存位置信息等。

6.4.2.2 冻存过程应严格遵循温度梯度控制（如程序降温仪或梯度降温盒）及标准化冻存程序验证，全程监测无菌操作环境、冻存容器密封性及温度稳定性。液相液氮储存温度约为－196℃；气相液氮储存温度通常保持在－150℃至－190℃之间，细胞储存温度应始终低于－130℃。

6.4.2.3 关键质控点包括：冻存前细胞活率≥90%、冻存中温度波动记录（实时监控）、解冻后功能评估，并确保符合生物样本存储的规范要求。

6.4.3 冻存细胞存储

冻存的细胞应及时转入待检细胞库暂存，检测合格后转入细胞库。具体见 T/CAPA 17.6。

6.5 制剂制备

6.5.1 一般要求

制备细胞制剂应符合 DB32/T 3544 的要求。

6.5.2 制备方法和流程

细胞准备：用溶媒液将收获的新鲜细胞或复苏的冻存细胞制成细胞悬液，应确保消化酶或冻存液残留低于检测限度。

分装：使用无菌的移液器或分装设备将混合后的细胞制剂分装到无菌的容器中，如西林瓶、注射器或输液袋等。

包装：对分装好的细胞制剂进行包装，确保包装材料的无菌和密封性。包装上应标明细胞制剂的名称、规格、数量、批号、有效期、存储条件等信息。

7 质量管理

7.1 质量检测

参见 T/CAPA 17.3。

7.2 文件管理

7.2.1 概述

间充质干细胞的制备文件管理应围绕“人员、设备、原辅料、制备方法、制备环境”各个环节展开，并由质控人员管理文件的编码、发放、销毁、版本变更等事宜。相关文件包括但不限于人员资质、人员培训记录、设备清单、设备的管理控制文件、原辅料质量检验报告、原辅料出入库登记、制备记录模板、环境监测记录模板等文件。制备标准部分仅针对制备流程核心环节做详细规范。

7.2.2 制备记录与审核管理

7.2.2.1 记录制度

应建立制备过程记录制度，要求操作人员准确、及时记录细胞制备过程的详细步骤、试剂耗材、设备等信息，并按要求填写供者材料交接、仪器设备使用、物料领用、相关产品交接（如细胞入库、质量检测样本等）等制备相关文件，由复核人员签字确认。

7.2.2.2 审核制度

应建立批记录审核制度，审核内容包含但不限于：批次来源、制备时间范围、制备人员名单、所使用的主要仪器设备和试剂的信息以及该批次细胞产品的质量检测报告和相关文件等，并由相关责任人签字确认。

7.2.3 文件的保存与归档

纸质文件应存放于干燥、通风、防火、防虫的环境中，避免损坏或丢失，保存期限至少30年；电子文件需定期备份，电子签名需符合《中华人民共和国电子签名法》，存储于安全介质上并设置访问权限和加密措施。

7.3 生产异常、偏差、纠正与预防措施

7.3.1 生产异常与偏差识别

应参考正常参数范围，建立针对制备工艺各个环节的生产异常和偏差识别的标准与方法，包括但不限于组织样本接收后检测结果异常、细胞培养扩增过程中异常、冻存前细胞活率检测异常、设备运行状态异常等。

7.3.2 异常与偏差报告机制

建立规范的异常与偏差报告机制，操作人员识别异常和偏差后2h内，应规范填写记录并上报相关部门和人员，接收人员收到报告后确认并审查记录内容。

7.3.3 纠正与预防措施

针对7.3.2发现的偏差与异常，分析原因后制定纠正措施，实施后再次检测确保纠正措施见效；预防措施应与异常和偏差发生原因一致。

7.4 风险管理

7.4.1 体系建立

按照ICH Q9质量风险管理的原则，建立针对制备全流程的风险管理体系，内容包括但不限于原材料采购、细胞培养、质量检测等环节。

7.4.2 风险识别

应依据风险管理体系，识别可能影响细胞质量、安全性及生产效率的潜在风险因素，如频繁人员进出会影响洁净区环境，进一步影响细胞安全性。

7.4.3 风险评估

针对识别出的风险，方法评估其发生的可能性及可能造成的影响程度，确定风险等级。直接影响到细胞质量且不可逆的列为高风险，例如培养基污染；间接影响到细胞质量，通过后续措施可以防控的列为中风险，例如生物安全柜动态监测超标；不影响细胞质量的列为低风险，例如实验记录版本号没有及时更新。

7.4.4 风险控制

应根据风险评估结果，制定并实施相应的风险控制措施，如针对高风险步骤实施双人复核制度；建立实时监控系统，在线监测关键参数（PAT）；制定应急响应预案，确保风险快速处置等。

7.4.5 风险监控

应建立持续的风险监控机制，定期评估风险控制措施的有效性，如定期核查人员进出记录，限制非必要人员进入洁净区。

7.5 持续改进

间充质干细胞制备的持续改进是一项系统工程，旨在不断提高细胞产品的质量、安全性、产量和效率，同时降低成本并保证合法合规。改进方向包括但不限于制备工艺优化使技术人员操作效率增加、细胞扩增方式优从而获得更大量的细胞、细胞冻存与复苏方法优化以保持更好的细胞活性等。

参 考 文 献

[1] 中华人民共和国药典

[2] 细胞治疗产品研究与评价技术指导原则（试行）（国家药监局药审中心）

[3] 干细胞制剂制备与质检行业标准（试行）（中国整形美容协会）

[4] 细胞治疗产品生产质量管理指南（试行）（国家药品监督管理局食品药品审核查验中心通告 2022 年第 4 号）

[5] 人源干细胞产品药学研究与评价技术指导原则（试行）（国家药监局药审中心）

[6] 细胞治疗产品生产检查指南（国家药监局核查中心）

[7] 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）

[8] AABB Standards for Cellular Therapy Services, 9th Edition.