

不同组织来源间充质干细胞的差异研究 与监管法规未来变化趋势

徐 婧

天士力生物医药股份有限公司 上海 201203

摘 要: 本研究综合对比了不同来源(骨髓、脂肪及脐带等)的间充质干细胞(Mesenchymal stem cells, MSC)在药理学特性、生产工艺及临床应用方面的差异。不同来源的MSC在细胞表面抗原、增殖能力、组织分化能力和免疫调节功能等方面都有差别,临床应用的适应症方面也有不同。此外,本文对2025年和MSC相关的新法规及鉴定标准等进行了简要介绍,为预测未来监管法规的变化趋势提供参考。

关键词: 间充质干细胞; 组织来源差异; 药理学差异; 临床适应症差异; 法规变化

引言

干细胞是一类具有自我更新和多向分化潜能的细胞,其中成体干细胞主要包括造血干细胞和间充质干细胞两类。间充质干细胞(MSC)来源于胚胎发育早期中胚层,为一种具备自我更新、多向分化潜能且经体外规模化扩增仍能保持其生物学特性的成体干细胞,因其多向分化潜能、旁分泌作用、免疫调节作用、细胞间物质运输作用、表观遗传学相关作用等方面的作用,已被应用于多种疾病的治疗。

MSC来源丰富,除最早的骨髓来源外,还可以从脂肪组织、华通氏胶、脐带血、牙髓及角膜基质等组织中获取,但总体来说分为两大类:成人来源及围产期来源。不同来源的间充质干细胞在药理学特性及有效适应症方面都有差异,因此在注册申报中,监管部门也会针对不同的组织来源MSC有不同的审核重点。

一、不同来源MSC的药理学特性差异

MSC可以来源于成人的骨髓、脂肪组织、血管及内脏组织(成人来源),也可以来源于胎儿的脐带血、脐带组织、羊膜、羊水或胎盘组织等(围产期来源)。这些来自不同组织的MSC具有相似的特征,如在体外培养中外观类似成纤维细胞,类似的细胞表面抗原特征及在体外培养条件下可以分化为成骨细胞、脂肪细胞和软骨细胞的能力等。但是近年来,更多更深入的研究表明,来源不同的MSC在以下各方面均有差异:

作者简介: 徐婧(1988.05--),女,汉族,安徽霍邱人,学历:博士,单位:天士力生物医药股份有限公司,研究方向:创新型生物药注册。

(一)组织来源的生物学特性差异

细胞表面抗原差异:

根据国际细胞治疗协会(ISCT)于2006年制定的MSC最低鉴定标准, MSC中表达CD105、CD73和CD90的细胞应超过95%,表达CD45、CD34、CD14、CD11b、CD79a、CD19或HLA-II类分子的则不应超过2%。该标准与MSC的来源无关。

随着对于不同来源MSC研究的深入,研究者对比骨髓来源、脂肪组织来源及脐带华通氏胶来源的MSC发现,以上所有来源的MSC表面抗原CD10/CD29/CD44/CD73/CD90/CD105/HLA-ABC表达均为阳性,CD14/CD45/CD235a/CD271/HLA-DR/VEGFR2均为阴性,没有显著差异,但CD34/CD133/CD146/SSEA-4/MSCA-1/CD271/HLA-DR则有明显差异,如脂肪组织来源MSC中CD34表达量较高(>10%),CD146在脐带MSC中有明显表达(>20%)等^[3]。Camilleri等通过对于脂肪MSC的研究发现,CD140B、CD271和CD273三种表面抗原在骨髓来源MSC及脂肪组织来源MSC中表达有差异。

不同来源的MSC表面抗原差异可见下表1。

细胞特性对比:

1) 增殖能力

细胞活性中的群体倍增时间是干细胞产品的重要质量标准,不同来源的MSC,其群体倍增时间有差异。不同对比研究均显示,和脐带来源及脂肪组织来源MSC相比,骨髓间充质干细胞的群体倍增时间较长。

此外,Kern等的研究显示,骨髓来源MSC的最大传代数为P7,脂肪组织来源MSC的最大传代数为P8,而脐带组织来源MSC可达到P10代以上。但长时间体外培养可能会增加MSC恶性转化和致癌风险,作为药品生产的

表1 不同来源MSC细胞表面标志物差异

	骨髓来源MSC	脂肪来源MSC	脐带血来源MSC
阳性	CD13, CD44, CD73 (SH3), CD90, CD105 (SH2), CD166, STRO-1, CD106, CD133	CD9, CD13, CD29, CD44, CD54, CD73 (SH3), CD90, CD105 (SH2), CD106, CD146, CD166, HLA I, CD49d, STRO-1	CD44, CD54, CD90, CD105 (SH2), CD166, CD146
阴性	CD14, CD34, CD45	CD11b, CD14, CD19, CD31, CD34, CD45, CD79a, CD133, CD144, HLA-DR	CD14, CD34, CD45, CD31

MSC需要完成相应的传代稳定性研究。

2) 组织分化能力

根据ISCT的MSC最低鉴定标准, MSC应可以分化为脂肪细胞、骨细胞及软骨细胞。但不同来源的MSC其分化潜能有一定差异, 如下表:

表2 不同来源的MSC分化潜能差别

间充质干细胞来源	分化潜能
骨髓来源MSC	脂肪细胞、星形胶质细胞、心肌细胞、软骨细胞、肝细胞、系膜细胞、肌肉细胞、神经元、成骨细胞、基质细胞、胚胎组织
脂肪组织来源	脂肪细胞、软骨细胞、骨细胞、肌肉细胞
胎儿来源MSC	脐带血来源: 脂肪细胞、软骨细胞 华通氏胶(脐带): 多巴胺神经元、软骨细胞 羊水来源: 神经干细胞(形成神经组织)、脂肪细胞、成骨细胞、软骨细胞、肝细胞 胎盘来源: 胰岛细胞

有研究显示, 脂肪来源MSC和骨髓来源MSC相比, 成脂分化能力较高, 但成骨分化能力较低^[20], 且相比于骨髓和脐带来源MSC, 脂肪来源MSC成脂肪分化能力更强。脐带来源MSC的成骨分化能力甚至强于骨髓来源MSC。

3) 免疫调节功能

MSC分泌的细胞因子可在某些慢性炎症性疾病的治疗中发挥重要作用^[23]。不同组织来源的MSC分泌的细胞因子有明显差异。

有研究表明, 在体外培养条件下, 脐带MSC分泌的脑源性神经营养因子(BDNF)和TGF- β 要显著高于脂肪MSC, 而脂肪MSC分泌的SDF-1 α 更多^[24]。另外, 对不同来源MSC分泌的细胞因子进行免疫沉淀分析, 发现脂肪来源MSC分泌的蛋白质更多与细胞组织相关(如细胞质发育), 而骨髓来源的MSCs分泌的蛋白质则更多地与细胞发育、上皮-间质转化及趋化性相关, 胎儿来源的MSC(包括胎盘和脐带血)分泌的蛋白质与组织发育和分化关系更为密切^[25]。

(二) 不同组织来源MSC药学生产要求差异

来源不同的MSC, 因其药学生特性的差异, 在起始物料控制及生产工艺方面也会有相应差别, 这些差异在注

册审评中往往是审评老师关注的重点:

1) 起始物料控制

供者筛查是干细胞产品质量风险控制的重要手段。

脐带组织来源MSC供体虽为胎儿, 但易受到母体病毒传染, 应对母体传染病情况进行筛选, 并采集母体静脉血, 使用病原筛查试剂盒进行病原微生物检测;

脂肪组织来源的间充质干细胞受到供体BMI影响, 肥胖人群(BMI ≥ 30)的脂肪组织来源MSC的功能特性会发生改变且更易衰老^[27], 导致其治疗功能下降, 因此需要将供体的BMI纳入筛选标准中;

而骨髓来源的MSC明显受到供体年龄的影响, 会随着供者年龄的增加而呈现更多的衰老表型, 包括形态学的改变、衰老标志物表达升高、增殖能力减弱等, 因此需要对供体年龄设置相应筛选标准^[28]。

2) 生产工艺控制

不同来源的MSC分离生产工艺有差别。骨髓、外周血和滑液来源的MSC通常使用Ficoll密度梯度离心方法分离, 而脐带、胎盘、牙髓和脂肪等组织来源的MSC通常使用胶原酶或胰蛋白酶消化分离, 或通过非酶解的细胞爬片方法得到^[30]。在注册申报阶段, 分离生产工艺需要进行相应的方法学验证。

(三) 不同组织来源MSC注册申报药学研究优化建议

基于以上论述, 建议针对不同来源MSC在起始物料控制、细胞表面抗原、增殖能力、分化能力及免疫调节能力方面的差异, 制定相应的质量标准; 针对不同来源MSC在生产工艺方面的差异, 进行相应的方法学研究, 寻求最合适的生产工艺。

二、不同来源间充质干细胞的临床适应症选择差异

MSCs的组织来源是否会影响其临床应用的适应症范围? 基于以上药学方面的差异, 特别是分化能力及细胞因子相关的不同, 来自骨髓、脂肪组织和脐带组织的间充质干细胞在治疗神经系统疾病、代谢/内分泌相关疾病、生殖功能障碍、皮肤烧伤、肺部疾病等的疗效可能是有差异的。

2022年, Hoang等在Nature上发表了一篇综述, 综合了Clinical trials上登记的临床试验情况及大量发表的

临床数据,对不同来源的MSC在不同疾病治疗中临床应用的情况进行了分析,认为骨髓来源MSC更适用于神经损伤如脑/脊髓损伤类疾病,脂肪来源MSC适用于生殖系统疾病及皮肤再生治疗,脐带MSC则可能是肺部疾病和急性呼吸窘迫综合症治疗的良好选择,而心血管疾病(如心力衰竭)的治疗效果和MSC来源的关系尚不明朗。

也有研究表明,不同来源MSC在红斑狼疮、骨科/牙科疾病中的临床特性没有明显差异。

由于骨髓来源MSC的获取需要通过具有侵入性且伴随疼痛感的骨髓穿刺,而围产期组织(如脐带血、华通氏胶等)中MSC的采集不具有侵入性且更伦理障碍更低,已成为间充质干细胞类药物的重要来源。2024年,CDE网站公布已获得临床批件的间充质干细胞药物共有22个,其中有13个为人脐带间充质干细胞。

但作为药品,首先需要考虑的不仅仅是细胞获取的难易程度,更需要考虑针对相应适应症的有效性及其安全性。鉴于不同来源MSC的药学特性及临床应用实践结果的差异,建议在进行相关MSC药物研发时,对组织来源、药学特性和相应的适应症进行匹配。

三、MSC监管法规未来变化趋势

MSC类药物的研发和应用正处于快速发展阶段,随着2024年12月FDA批准了Ryoncil上市申请,2025年1月CDE几乎同步批准了艾米迈托赛注射液的上市许可,2025年可以被称为MSC药物的“元年”,会有越来越多的MSC药物从实验室走向市场,相关法规和指导原则等也会进一步修订完善。以下为2025年实施或征求意见的一些新的监管法规及鉴定标准,可作为后续MSC药品研发的指导及参考。

(一) 寻求不同注册路径

长久以来,国内MSC类药物实行“双轨制”管理,即同时由国家药品监管机构将其作为药品进行管理,也由国家卫生健康委员会将其作为医疗技术,以研究者发起的临床研究(即IIT研究)这种形式进行备案管理。长久以来,作为医疗技术管理的干细胞药物要求完成研究后不得直接进入临床应用、不得收费、不得广告,这使得其商业研发价值大为降低。

2025年2月1日,海南省正式实施了《海南自由贸易港博鳌乐城国际医疗旅游先行区生物医学新技术促进规定》,明确了先行区生物医学新技术需通过临床研究验证安全性和有效性,并符合伦理原则后,可以进行转化应用并进行价格备案,完成医疗技术的商业转化,为MSC类药物的商业化提供了新的转化路径。

(二) 间充质基质细胞概念引入

ISCT自2006年首次提出MSC的最低定义标准后,随

着研究的进一步深入和大量MSC临床试验的开展,学术界对于2006版的MSC定义标准提出了大量质疑,包括分化试验的方法易被误读,定义中未纳入组织来源的发育学溯源,以及最重要的,对于“间充质干细胞”这个命名的概念引起的混乱需要进行澄清。

因此,2025年ISCT开展了三轮改良Delphi调查,对2006版MSC定义进行了更新。经历多轮审议后,2025年版MSC共识定义包括9个项目,其中明确要求将“间充质干细胞(mesenchymal stem cells)”改为“间充质基质细胞(Mesenchymal stromal cells,缩写仍为MSCs)”,如果作者需要使用“干细胞(stem)”术语(如将其称为“间充质干细胞”),则必须提供相应的试验方法证明其干性。此外在第6条要求,MSCs的来源对于表征其特征非常重要;任何组织都可以作为其干性特征的来源。

新的ISCT标准对间充质基质细胞的定义进行了明确,同时也明确了来源对于MSC特征的重要性。

(三) 先进治疗药品被定义

2025年6月10日,CDE组织起草了《先进治疗药品的范围、归类 and 释义(征求意见稿)》并发布征求意见稿,将包含间充质干细胞药物在内的细胞治疗药物、基因治疗药物等定义为“先进治疗药品”并进行了分类。目前国际上多个主要监管机构针对这类药品均进行明确界定并进行独立评审,如FDA将之定义为“细胞与基因治疗产品”,EMA和WHO称之为“先进治疗产品”。目前国内尚无针对细胞及基因治疗产品的审评优惠政策,但随着先进治疗药品概念的明确,可以期待后续相关政策及审评指导原则的进一步公布。

参考文献

- [1]黄庆雷,沈丽,邓钺.间充质干细胞作用机制的研究进展.中国科学:生命科学2019年第49卷第2期:108~128
- [2]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).2023年4月
- [3]潘筱颖,许永德等.低氧和氧化应激对不同来源间充质干细胞旁分泌的差异性影响.中国组织工程研究2024,Vol. 28 Issue (19): 3024-3030.
- [4]细胞产业关键共性技术国家工程研究中心.《脐带间充质干细胞制备及质量控制规范(T/CIET 413-2024)》2024年4月22日
- [5]王亚萍,高天芸,王斌.人骨髓间充质干细胞增殖衰老不依赖于内源性反转录病毒的介导.中国组织工程研究,2026,Vol. 30 Issue (1): 10-20.