

关于细胞治疗产品药学研发中成瘤性和致瘤性 风险评价与控制的思考

徐慧楠

国家药品监督管理局药品审评检查大湾区分中心, 广东 深圳

收稿日期: 2025年7月30日; 录用日期: 2025年8月29日; 发布日期: 2025年9月5日

摘 要

随着包括免疫细胞、干细胞等细胞治疗新兴生物技术产品临床转化加速, 其成瘤性及致瘤性安全风险备受关注。由不同厂家生产的不同类型的细胞治疗产品在原材料、生产工艺等方面差异较大, 需根据具体风险评估情况制定相应策略。相较于已终末分化的体细胞产品, 具有多向分化的干细胞成瘤性风险较高, 生产工艺如培养工艺因遗传不稳定、体外培养突变累积及肿瘤细胞残留等会引入额外的风险, 体外基因修饰系统的使用也存在病毒载体插入突变、基因编辑工具引发基因重排等隐患。本文基于已有的科学经验及国内外相关指南, 围绕药学相关内容对细胞治疗产品的成瘤性致瘤性风险进行讨论, 通过对这些潜在风险的剖析, 为细胞治疗产品成瘤性、致瘤性控制策略提供参考, 助力研究成果快速转化。

关键词

细胞治疗产品, 成瘤性, 致瘤性, 药学研发

Chemistry, Manufacturing and Controls Considerations for Tumorigenicity and Oncogenicity on Cellular Therapy Products

Huinan Xu

Guangdong-Hong Kong-Macao Greater Bay Area Center for Drug Evaluation and Inspection of NMPA,
Shenzhen Guangdong

Received: Jul. 30th, 2025; accepted: Aug. 29th, 2025; published: Sep. 5th, 2025

Abstract

With the accelerated clinical translation of emerging cellular products, including immune cells and

文章引用: 徐慧楠. 关于细胞治疗产品药学研发中成瘤性和致瘤性风险评价与控制的思考[J]. 药物资讯, 2025, 14(5): 313-319. DOI: 10.12677/pi.2025.145037

stem cells, their safety risks of tumorigenicity and oncogenicity have attracted much attention. Different types of cell therapy products produced by various manufacturers vary significantly in terms of raw materials, production processes, etc., and corresponding strategies need to be formulated based on the specific risk assessment results. Compared with terminally differentiated somatic cell products, stem cells with multi-directional differentiation have a higher risk of tumorigenicity. Production processes such as culture processes can introduce additional risks due to genetic instability, accumulation of mutations in *in vitro* culture, and residual tumor cells. The use of *in vitro* gene modification systems also has hidden dangers, such as insertional mutations of viral vectors and gene rearrangements caused by gene editing tools. Based on existing scientific experience and relevant global guidelines, this paper discusses the tumorigenic and oncogenic risks of cellular products, focusing on chemistry, manufacturing and controls consideration, to provide references for the tumorigenicity and oncogenicity control strategies of cellular products and facilitate the rapid translation of research results.

Keywords

Cellular Therapy Product, Tumorigenicity, Oncogenicity, Chemistry, Manufacturing and Controls

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

随着细胞治疗、基因治疗等新兴生物技术产品临床转化进程的不断加快,临床试验申报数量逐年攀升,与传统重组蛋白及抗体类药物相比,这类产品的风险特征存在显著差异。一方面,活细胞药物、病毒载体等新型治疗产品自身具备的持续增殖或基因整合潜能,大大增加了成瘤和致瘤的风险;另一方面,不同类型、不同企业研发的细胞治疗产品,在原材料来源、生产工艺、制剂形式及治疗领域等诸多方面都存在明显不同,这就往往需要结合具体情况开展评估,并基于风险制定相应的评估策略。2010年版世界卫生组织(WHO)《技术报告系列 987》在将动物细胞培养物用作生物合成生产基质并对细胞库特征进行评估的背景下,对成瘤性和致瘤性作出了定义:成瘤性指的是接种到动物模型中的细胞群体在接种部位通过增殖和/或通过转移在远处部位产生肿瘤的能力;致瘤性则描述的是残留组分(如化学物质、病毒、病毒核酸)导致宿主细胞形成肿瘤的能力[1]。当前,细胞治疗产品常见的成瘤性/致瘤性风险主要源于外源因子污染、残余宿主细胞及DNA/RNA、载体插入突变、细胞异常分化等多方面因素。因此,风险控制需从原材料质控、工艺开发、制剂研究等全链条进行综合评估。然而,现有的申报资料普遍存在风险识别系统性不足、评估方法适配性欠缺、控制策略科学性薄弱等问题。本文主要基于目前积累的科学经验,以及ICH和国内外已发布的相关指南等,从药学研究角度,浅析生物制品成瘤性/致瘤性风险的引入机制、风险评估和控制策略,期望能为细胞治疗产品成瘤性、致瘤性的评估与控制提供一定参考,助力研究成果的快速转化。

2. 成瘤性和致瘤性风险来源

目前常见的细胞治疗产品的起始细胞类型主要包括已终末分化的体细胞、由成体组织来源的干细胞和具有多种分化潜能的多能干细胞(PSC) [2]。细胞治疗产品的成瘤性和致瘤性风险与其产品的供者细胞质量、不同分化状态的细胞来源、生产过程中采用的细胞培养方式、给药方式以及目标患者人群等均相关,需要根据以上特点基于风险综合考虑。

2.1. 起始细胞引入的成瘤性和致瘤性风险

与已终末分化的体细胞相比,具有多种分化潜能的干细胞具有遗传不稳定、增殖能力强等特点,整体成瘤性风险较高。干细胞主要包括间充质干细胞和多能干细胞。间充质干细胞是一种组织干细胞,通常被认为源自中胚层,其干性主要体现在能够分化为成骨细胞、脂肪细胞和软骨细胞[3]。多能干细胞包含胚胎干细胞和诱导多能干细胞,相较于组织来源的成体干细胞,其具有更强的分化能力和自我更新能力,具有向三个胚层分化的能力。

已有大量研究证实,未分化的PSC具有潜在的成瘤性,残留的未分化PSC可能会形成畸胎瘤(含三个胚层组织的肿瘤)。尽管存在形成畸胎瘤的潜能,但由于临床案例仍较为有限,PSC衍生畸胎瘤的恶性潜能尚不明确。迄今为止,仅报道了1例病例:一名2型糖尿病患者接受诱导多能干细胞(iPSCs)衍生的 β 细胞治疗后,在2个月内于注射部位出现了衍生的畸胎瘤,并伴有局部淋巴结转移[4]。考虑到此类风险,应尽量优化工艺减少制剂中残留的未分化PSC,并尽可能采用灵敏的方法对残留的未分化细胞进行研究和控制。根据各文献对各类正常细胞中未分化PSC检测限的统计,微滴数字PCR和高效培养方法展现出更优的检测限,可达到0.001%[5]。目前指导原则尚未对分析方法的具体要求进行明确,但各国指南中总体均建议尽量选用灵敏方法进行研究,期望随着技术的发展,可以建立起统一的灵敏、稳健的监测方法。

干细胞的体外扩增培养和诱导分化过程是引入成瘤性致瘤性风险的另一个重要因素。由于给药剂量的需求,干细胞类产品需要在体外大量扩增并进行分化培养。在长时间的体外培养过程中,细胞容易出现因复制应激和DNA损伤导致的异常基因组积累[6],常见的突变类型包括大到染色体核型水平遗传异常,如整条染色体或染色体片段的增减,或是略小一些的亚显微水平遗传异常以及在DNA序列水平的单核苷酸变异、插入和缺失等。核型异常有数值型非整倍体和结构型非整倍体,部分突变可能分辨率较低但发生较为频繁,例如在超过20%的细胞系中,均发现一个位于染色体臂20q的着丝点附近存在小的、可变的区域变化,这种变化难以通过单纯的G显带核型分析检测到,需要借助分辨率更高的方法[7][8]。既往研究发现,染色体20q11.21区域拷贝数的增加能够为hPSC提供生存优势,其中包含BCL2L1基因产物BCL-XL展示出抗细胞凋亡活性[9]。另外一些针对肿瘤相关点突变频发位置的研究发现,重要抑癌基因TP53是多能干细胞中发生高频变异的基因,其变异会导致p53蛋白失活[10]。除TP53外,后续研究还陆续发现了更多高频发生的点突变,如CCND2、PCM1、MYH9、HIF1A、BCL9等,这些基因在COSMIC癌症基因普查数据库中被归类为具有已记录癌症相关活性的基因。根据FDA在2024年4月发布的《Safety Testing of Human Allogeneic Cells Expanded for Use in Cell-Based Medical Products》,对于连续细胞系或高度扩增的基因编辑细胞需要进行全基因组测序,并且推荐读取深度至少为50X,以确保能检测到可能影响肿瘤形成的突变(如p53原癌基因突变等)[11]。通过各种基质,携带的突变基因能够赋予变异细胞生长优势,比如更快的生长周期、阻断分化或阻断细胞凋亡,进而使突变在体外扩增过程中逐渐累积。一篇文献结合突变获得机制提出,优化培养条件和培养方案能够改善长时间体外培养过程中PSC的遗传变异情况,具体包括在低氧条件下降低突变率,添加外源性核苷酸以减少复制应激导致的基因组损伤等[12]。因此,建议在研发产品过程中,对工艺条件进行相关摸索和优化,在传代稳定性研究中充分考虑细胞培养间隔、培养持续时间、传代次数等因素,基于遗传稳定性的特征合理制定产品的培养工艺和限传代次。与具有全能分化潜能的PSC细胞相比,多能干细胞(MSC)扩增能力有限,普遍认为其本身具有的成瘤性风险较小,在体外低代次培养中通常不会出现染色体异常和端粒酶缩短的情况。但仍有研究表明,不同的培养条件会导致MSC的染色体发生变化,例如目前体外扩培工艺中,为减少外源因子风险,常采用组分明确的无血清培养基替代常规含血清培养体系,其中添加了多种促进细胞增殖的组分,

如各类细胞生长因子、激素或小分子化合物等。研究显示,当无血清培养基中含有的细胞生长因子如 PDGF-BB、EGF 和 bFGF 水平升高到一定浓度时,能促使原本软琼脂克隆阴性的 hMSCs 转为阳性,且在培养一定代次后,基因表达模式会发生不可逆的改变[13]。针对此类遗传学或表观遗传的检测方法正处于快速发展阶段,目前主要的分析方法包括染色体核型分析、OGM 技术、单核苷酸多态性以及 NGS 测序技术等。各类分析方法都存在局限性,可根据变异区域的大小和定性/定量的目的,选择多种分析方法结合进行评价。在实际的评价中,可能发现的遗传异常与成瘤性和致瘤性的相关性尚不明确,可以结合传代稳定性研究和体内外成瘤性致瘤性研究进行风险分析,必要时纳入产品质控项目。

部分类型的起始细胞在取样时可能掺杂了肿瘤细胞,如肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)类产品,在制剂中存在肿瘤细胞残留的可能性,进而存在大量回输后引发继发性淋巴恶性肿瘤的风险。因此,建议建立较为灵敏的方法,根据肿瘤的类型选择合适的表面标志物,对肿瘤细胞的残留进行分析。

2.2. 基因修饰系统导致的成瘤致瘤风险

体外基因修饰系统能够有效地将遗传物质等转入特定目的细胞,在细胞治疗产品中用途广泛,包括修饰目的细胞的遗传物质、改变基因表达方式或调节细胞生物特性等。目前,基因修饰系统包括病毒载体类(如慢病毒、 γ -逆转录病毒、腺病毒、腺相关病毒)和非病毒载体类(如 DNA、RNA 以及特异性基因编辑工具,包括基于 CRISPR-Cas、锌指核酸酶(ZFN)或 TALEN 等)。不同的基因修饰系统可能引入的成瘤致瘤风险各不相同,主要相关的风险因素包括高风险基因元件的插入,以及在基因插入过程中由于错位等导致的致癌基因活化或抑癌基因失活等。已有部分关于 CAR-T 细胞疗法治疗后患者出现 T 细胞恶性肿瘤的报道,此前 FDA 披露了 22 例患者接受治疗后出现 T 细胞恶性肿瘤的案例,均发生在治疗后随访的 2 年内,并且其中有 3 例患者的活检恶性细胞中检测到了整合的 CAR 基因[14]。在一款通过慢病毒转导系统改造的 BCMA 靶向的 CAR-T 细胞治疗产品的临床研究中,发现一名男性患者在接受治疗后 5 个月,出现了相对快速生长的面部病变,面部活检结果显示出现了非典型 T 细胞浸润。对其活检细胞的整合位点分析结果显示,在 PBX2 基因的 3'UTR 中存在显性插入,同时鉴定出 TET2 功能丧失突变和 JAK3 激活突变,调查结果无法排除 CAR 整合导致成瘤性增强的可能性[15]。在披露的二次原发性肿瘤案例中,还包含了一例 T 细胞制造过程中 CAR 基因整合到单个白血病原始细胞中,其产物顺式结合到白血病细胞表面的 CD19 表位,使其无法被识别,并赋予 CTL019 耐药性,这提示了对生产过程和产品中非目的细胞持续关注的重要性[16]。CRISPR-Cas9 等可定点基因编辑的工具,相较于病毒类基因改造工具,插入位点的可控性更高,但其在编辑过程中涉及 DNA 双链断裂或修复,也有可能产生不可预测的基因片段重排或染色体畸变等,从而导致成瘤性风险增加。

3. 其他生产用原材料来源的成瘤致瘤风险

生产过程中使用的原材料成分残留也可能引入成瘤、致瘤风险,如培养过程中添加的滋养细胞、重组蛋白宿主 DNA 的残留等。滋养细胞如人慢性髓系白血病细胞 K562、小鼠胚胎成纤维细胞、EB 型细胞系(EBV-LCL)等作为高风险原材料,监管要求通常需要进行工艺开发研究以确认使用滋养细胞的必要性,但部分细胞治疗产品仍需使用滋养层细胞辅助培养。使用滋养细胞可能会引入成瘤性、致瘤性风险,企业需要对相应风险进行研究和控制。以 K562 细胞为例,K-562 是从一名 53 岁慢性粒细胞白血病患者的骨髓中分离出的淋巴母细胞,常用于 NK 细胞扩增,可显著提高 NK 细胞在体外的扩增效率。有研究表明,通过基因编辑使 K562 细胞稳定表达多种膜结合细胞因子(IL-15、4-1BBL 等),能够进一步提升 NK 体外扩增效率和产品纯度[17]。一方面,用于 K562 的基因修饰系统可能引入由基因修饰系统导致的成瘤致瘤性风险,应在适当阶段对基因编辑工具的残留进行评估;另一方面,K562 本身为肿瘤细胞,其完整

细胞的残留或细胞 DNA 等组分残留也可能带来相关风险。为减少 K562 完整细胞残留的风险，常用的控制手段包括在细胞制备工艺中加入辐照灭活工艺，伽马射线和 X 射线等电离辐射会诱导无法修复的 DNA 双链断裂，导致细胞凋亡且不影响细胞代谢，从而在能为 NK 细胞提供营养的同时，在 NK 扩增培养工艺中逐渐去除[18]。此前较多应用伽马射线进行滋养细胞的灭活，由于伽马射线成本较高，目前也有许多关于替代灭活工艺的研究。一篇关于 X 射线替代伽马射线的文献中，采用不同能量的 X 射线处理 K562 细胞不同时间，结果显示，照射后第 10 天，75~150 Gy 辐照组的活细胞百分比约为 2%，X 射线对于 K562 细胞增殖活力的降低表现出很强的剂量和时间依赖性[19]。建议在进行工艺研究时，对辐照强度、时间、细胞密度等进行研究，并进行相应控制。在质量控制部分，建议在适当阶段对完整滋养细胞的残留进行评估。此外，由于 K562 细胞本身为肿瘤来源细胞系，建议对其可能携带的致癌因子的残留进行研究，并结合终产品的成瘤性研究结果基于风险考虑纳入质量标准进行控制。如使用的是经基因编辑后的 K562 细胞，还需要结合其基因插入位点和遗传稳定性，考虑是否存在增加的致瘤风险。

国内外指南中对于成瘤性和致瘤性相关风险药学研究的考虑

各国监管机构在一系列指南文件中均提及了成瘤性和致瘤性风险。EMA 关于人源细胞制品的指南 (EMA/CHMP/410869/2006)指出，若可以预见到细胞转化的风险，就应对成瘤性进行研究，检测应侧重于增殖能力和染色体完整性[20]。随后，2011 年 EMA 先进疗法委员会(CAT)发布的论文 EMA/CAT/571134/2009 中提到，多能干细胞和体细胞存在肿瘤形成的固有风险，培养条件会影响干细胞的基因组稳定性。由于诱导多能干细胞(iPSCs)和 hESCs 等的未分化细胞具有相对较高的肿瘤形成风险，因此应对其残留进行控制[21]。此外，该委员会表示，hiPSC 和 hESC 与体细胞干细胞(例如，MSC、造血干细胞[HSC])不同，畸胎瘤的形成是多能干细胞固有的特性。在后续 EMA 细胞产品工作组召开的研讨会中，对于 MSC 治疗中的成瘤性问题，认为 MSC 是成年基质细胞，在培养物中扩增的可能性有限[22]。2008 年 FDA 的一份简报文件讨论了 hESC 与畸胎瘤形成相关的风险。在该文件中，FDA 要求应在过程控制和批次放行的检测中对未分化的 ESC 残留进行检测，可选用流式细胞术和逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)分析基因表达等方法进行分析[23]。FDA 在 2024 年 1 月发布了嵌合抗原受体 CAR-T 细胞产品开发的指南，在药学方面从 CAR 构建体、载体、起始细胞材料、终产品进行了详细讨论[24]，随后于 2024 年 4 月发布的《Safety Testing of Human Allogeneic Cells Expanded for Use in Cell-Based Medical Products》中对各类起始细胞的安全性控制提出了建议，明确应基于风险，结合细胞的扩增潜力、使用的试剂和产品预计治疗的人数，来制定相应的检测策略[11]。

近年来，国家药品监督管理局药品审评中心(CDE)等发布了一系列关于细胞治疗产品药学评价的指导性文件，以支持细胞治疗产品的研发和申报，表 1 列举的指南中包含了药学研发中对于成瘤性致瘤性研究和控制的建议，可供参考。

Table 1. Guidelines of domestic regulatory authorities on pharmacological tumorigenicity and oncogenicity evaluation
表 1. 国内监管机构药学成瘤性及致瘤性评价相关指南

指导性文件	颁布时间	颁布部门	参考文献
细胞治疗产品研究与评价技术指导原则(试行)	2017/12/22	NMPA	[25]
CAR-T 细胞治疗产品质量控制检测研究及非临床研究考虑要点	2018/06/05	中检院	[26]
体外基因修饰系统药学研究与评价技术指导原则(试行)	2022/05/31	CDE	[27]
免疫细胞治疗产品药学研究与评价技术指导原则(试行)	2022/05/31	CDE	[28]
人源干细胞产品药学研究与评价技术指导原则(试行)	2023/04/27	CDE	[29]

NMPA 在 2017 年颁布的《细胞治疗产品研究与评价技术指导原则(试行)》中,主要在质量研究部分简单指出,需要根据细胞来源和制备工艺过程的特点,进行恶性转化细胞、成瘤性和致瘤性、病毒载体回复突变等的研究。后续中检院发布的考虑要点中包括了对于 CAR-T 类产品可能带来的成瘤性及致瘤性风险的讨论以及相关质量控制检测和非临床研究的建议。随后 CDE 发布的 3 个指导原则,从体外基因修饰系统、免疫细胞治疗产品、人源干细胞产品方面,系统地对药学研究和评价提出了建议。虽然目前国内许多指导原则对于成瘤性和致瘤性的风险研究进行了讨论,但由于技术手段和科学认知的局限性,普遍仍缺乏具体要求和统一的控制标准,还需研究人员和监管机构等各方不断努力,逐步提高对于成瘤性和致瘤性的认知和识别手段,完善监管科学体系,以提高细胞治疗产品的安全性,促进细胞质量行业的发展。

4. 总结

与具有较为成熟纯化手段的其他类型的生物制品相比,细胞治疗产品作为活细胞目前能采用的杂质去除手段有限,且不同细胞类型可能具有独特的特性和风险。不同的起始细胞、基因编辑工具的使用策略、各产品开发的生产工艺和使用的原材料,均可能引起成瘤性、致瘤性的风险增加。考虑到成瘤性、致瘤性引入的因素多样,难以制定统一的策略来控制风险,可参考现在已有的法规和指导性文件,从产品特性、物料控制、生产工艺等方面结合各阶段质量研究情况,根据风险考虑制定相应的控制策略,持续加强产品知识的积累并优化相关的安全性测试方法,确保产品全生命周期的有效监管。细胞治疗产品目前处于快速发展的阶段,对于成瘤性和致瘤性的认知仍处于不断积累的过程中,尚有许多局限性,需要研发和监管的共同努力下,进一步提升风险引入机制的认识和控制策略水平,完善相关的监管科学体系,提高细胞治疗产品在临床使用上的安全性。

参考文献

- [1] World Health Organization (2013) World Health Organization Technical Report Series No. 987 Annex 3. Recommendations for the Evaluation of Animal Cell Cultures as Substrates for the Manufacture of Biological Medicinal Products and for the Characterization of Cell Bank.
- [2] Petricciani, J., Hayakawa, T., Stacey, G., Trouvin, J. and Knezevic, I. (2017) Scientific Considerations for the Regulatory Evaluation of Cell Therapy Products. *Biologicals*, **50**, 20-26. <https://doi.org/10.1016/j.biologicals.2017.08.011>
- [3] Zhou, J. and Shi, Y. (2023) Mesenchymal Stem/Stromal Cells (MSCs): Origin, Immune Regulation, and Clinical Applications. *Cellular & Molecular Immunology*, **20**, 555-557. <https://doi.org/10.1038/s41423-023-01034-9>
- [4] Han, L., He, H., Yang, Y., Meng, Q., Ye, F., Chen, G., *et al.* (2022) Distinctive Clinical and Pathologic Features of Immature Teratomas Arising from Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Beta Cell Injection in a Diabetes Patient. *Stem Cells and Development*, **31**, 97-101. <https://doi.org/10.1089/scd.2021.0255>
- [5] Sato, Y., Bando, H., Di Piazza, M., Gowing, G., Herberts, C., Jackman, S., *et al.* (2019) Tumorigenicity Assessment of Cell Therapy Products: The Need for Global Consensus and Points to Consider. *Cytotherapy*, **21**, 1095-1111. <https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2019.10.001>
- [6] Lee, A.S., Tang, C., Rao, M.S., Weissman, I.L. and Wu, J.C. (2013) Tumorigenicity as a Clinical Hurdle for Pluripotent Stem Cell Therapies. *Nature Medicine*, **19**, 998-1004. <https://doi.org/10.1038/nm.3267>
- [7] International Stem Cell Initiative, Amps, K., Andrews, P.W., Anyfantis, G., *et al.* (2011) Screening Ethnically Diverse Human Embryonic Stem Cells Identifies a Chromosome 20 Minimal Amplicon Conferring Growth Advantage. *Nature Biotechnology*, **29**, 1132-1144. <https://doi.org/10.1038/nbt.2051>
- [8] Avery, S., Hirst, A.J., Baker, D., Lim, C.Y., Alagaratnam, S., Skotheim, R.I., *et al.* (2013) BCL-XL Mediates the Strong Selective Advantage of a 20q11.21 Amplification Commonly Found in Human Embryonic Stem Cell Cultures. *Stem Cell Reports*, **1**, 379-386. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2013.10.005>
- [9] Zhang, J., Hirst, A.J., Duan, F., Qiu, H., Huang, R., Ji, Y., *et al.* (2019) Anti-Apoptotic Mutations Desensitize Human Pluripotent Stem Cells to Mitotic Stress and Enable Aneuploid Cell Survival. *Stem Cell Reports*, **12**, 557-571. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2019.01.013>

- [10] Merkle, F.T., Ghosh, S., Kamitaki, N., Mitchell, J., Avior, Y., Mello, C., *et al.* (2017) Human Pluripotent Stem Cells Recurrently Acquire and Expand Dominant Negative P53 Mutations. *Nature*, **545**, 229-233.
<https://doi.org/10.1038/nature22312>
- [11] Safety Testing of Human Allogeneic Cells Expanded for Use in Cell-Based Medical Products.
<https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/safety-testing-human-allogeneic-cells-expanded-use-cell-based-medical-products>
- [12] Halliwell, J., Barbaric, I. and Andrews, P.W. (2020) Acquired Genetic Changes in Human Pluripotent Stem Cells: Origins and Consequences. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, **21**, 715-728.
<https://doi.org/10.1038/s41580-020-00292-z>
- [13] 张可华, 贾春翠, 吴雪伶, 等. 培养基中细胞生长因子增强人间充质干细胞成瘤性风险[J]. 中国医药生物技术, 2021, 16(6): 481-491.
- [14] Lambie, A.J., Schultz, L.M., Nguyen, K., Hsieh, E.M., McNerney, K., Rouce, R.H., *et al.* (2024) Risk of T-Cell Malignancy after CAR T-Cell Therapy in Children, Adolescents, and Young Adults. *Blood Advances*, **8**, 3544-3548.
<https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2024013243>
- [15] Harrison, S.J., Nguyen, T., Rahman, M., Er, J., Li, J., Li, K., *et al.* (2023) CAR+ T-Cell Lymphoma Post Ciltacabtagene Autoleucel Therapy for Relapsed Refractory Multiple Myeloma. *Blood*, **142**, 6939-6939.
<https://doi.org/10.1182/blood-2023-178806>
- [16] Ruella, M., Xu, J., Barrett, D.M., Fraietta, J.A., Reich, T.J., Ambrose, D.E., *et al.* (2018) Induction of Resistance to Chimeric Antigen Receptor T Cell Therapy by Transduction of a Single Leukemic B Cell. *Nature Medicine*, **24**, 1499-1503. <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0201-9>
- [17] Phan, M.T., Lee, S.H., Kim, S.K. and Cho, D. (2016) Expansion of NK Cells Using Genetically Engineered K562 Feeder Cells. In: Somanchi, S.S., Ed., *Natural Killer Cells: Methods and Protocols*, Springer, 167-174.
https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3684-7_14
- [18] Baek, H.J., Kim, J.S., Yoon, M., Lee, J.J., Shin, M.G., Ryang, D.W., *et al.* (2013) *Ex Vivo* Expansion of Natural Killer Cells Using Cryopreserved Irradiated Feeder Cells. *Anticancer Research*, **33**, 2011-2019.
- [19] Bui, K.C., Ho, V.H., Nguyen, H.H., Dang, T.C., Ngo, T.H., Nguyen, T.M.L., *et al.* (2023) X-Ray-Irradiated K562 Feeder Cells for Expansion of Functional CAR-T Cells. *Biochemistry and Biophysics Reports*, **33**, Article ID: 101399.
<https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2022.101399>
- [20] EMA (2008) EMEA/CHMP/410869/2006 Guideline on Human Cell-Based Medicinal Products.
https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-human-cell-based-medicinal-products_en.pdf
- [21] EMA (2011) EMA/CAT/571134/2009 Reflection Paper on Stem Cell-Based Medicinal Products.
https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/reflection-paper-stem-cell-based-medicinal-products_en.pdf
- [22] Barkholt, L., Flory, E., Jekerle, V., Lucas-Samuel, S., Ahnert, P., Bisset, L., *et al.* (2013) Risk of Tumorigenicity in Mesenchymal Stromal Cell-Based Therapies—Bridging Scientific Observations and Regulatory Viewpoints. *Cytotherapy*, **15**, 753-759. <https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2013.03.005>
- [23] FDA.CTGTAC Meeting #45: Cellular Therapies Derived from Human Embryonic Stem Cells—Considerations for Pre-clinical Safety Testing and Patient Monitoring (April 10, 2008).
- [24] FDA (2024) Considerations for the Development of Chimeric Antigen Receptor (CAR) T Cell Products.
<https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/considerations-development-chimeric-antigen-receptor-car-t-cell-products>
- [25] 国家食品药品监督管理局药品审评中心. 细胞治疗产品研究与评价技术指导原则(试行) [S]. 2017.
- [26] 孟淑芳, 王佑春, 吴雪伶, 等. CAR-T 细胞治疗产品质量控制检测研究及非临床研究考虑要点[J]. 中国药事, 2018, 32(6): 831-852.
- [27] CDE. 体外基因修饰系统药学研究与评价技术指导原则(试行) [EB/OL].
<https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCommon/6f14372f020446361601bb074a09410d>, 2022-05-31.
- [28] CDE. 免疫细胞治疗产品药学研究与评价技术指导原则(试行) [EB/OL].
<https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCommon/0584963a84e01bb4d83022f559d22144>, 2022-05-31.
- [29] CDE. 人源干细胞产品药学研究与评价技术指导原则(试行) [EB/OL].
<https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCommon/1dfacaa7804aca84d648edb83b10c40b>, 2023-04-27.