

间充质干细胞防治移植物抗宿主病临床试验技术指导原则 (试行)

2024年1月

目 录

一、概述	1
(一) 前言	1
(二) 目的和适用范围	2
二、临床试验考虑	3
(一) 临床病史和现有最佳治疗情况研究	3
(二) 研究人群	4
(三) 研究终点	6
(四) 试验设计	9
(五) 受试者随访	13
三、与药审中心的沟通	14
参考文献	15

间充质干细胞防治移植物抗宿主病 临床试验技术指导原则

一、概述

（一）前言

移植物抗宿主病（graft-versus-host disease, GvHD）是异基因造血干细胞移植（allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, Allo-HSCT）后，受者在重建供者免疫的过程中，来源于供者的淋巴细胞攻击受者组织发生的一类多器官综合征，表现为主要累及皮肤、胃肠道、肝、肺和黏膜表面的组织炎症和/或纤维化，根据临床表现和发病时间分为急性 GvHD（acute GvHD, aGvHD）、慢性 GvHD（chronic GvHD, cGvHD）和兼具有二者特征的重叠综合征^[1]。GvHD 是术后非复发性死亡的原因之一，防治 GvHD 对保证移植成功、移植后长期生存及提高患者生活质量有重要意义。

GvHD 的主要预防方案为钙调磷酸酶抑制剂（calcineurin inhibitor, CNI）加抗代谢药物，一线全身性治疗主要采用以糖皮质激素为基础的方案。近年来 GvHD 预防和治疗的临床进展较为迅速，针对 GvHD 高危患者，根据免疫相合程度、预处理方案、

移植物来源和受者因素等优化的预防方案，如在单倍体（半相合）相合 HSCT（haplo-HSCT）后加用环磷酰胺，能有效降低急性 GvHD 发生率；对于激素治疗失败的 GvHD 患者的治疗，近年国内外多种药物进入临床应用，例如，选择性 Janus 激酶（JAK）抑制剂、选择性 Rho 相关卷曲螺旋蛋白激酶 2（ROCK2）抑制剂、酪氨酸激酶（BTK）抑制剂等靶向治疗以及针对细胞因子受体的单克隆抗体等^[2, 3]。但同时，当前治疗药物对相当一部分患者的疗效尚不理想或患者出现无法耐受的不良反应，仍存在未被满足的临床需求。

间充质干细胞（mesenchymal stem cells, MSCs），也称为间充质基质细胞（mesenchymal stromal cells, MSCs），是一群具有自我更新和多系分化能力的细胞，广泛分布于人体各组织器官，可以为临近的器官特异性细胞提供结构和营养支持^[4, 5]。此外，间充质干细胞还具有独特的免疫调节作用，能够通过多种机制影响先天免疫和适应性免疫功能，使其在移植免疫方面具有广泛的应用前景。MSCs 用于防治移植物抗宿主病，在国内外已有多年研究历史，很多临床研究提示了积极的防治作用。如何在现有 GvHD 防治手段基础上，围绕患者未被满足的临床需求开展临床研究，是间充质干细胞产品临床研发面临的重要考验。

（二）目的和适用范围

本指导原则旨在为按照《中华人民共和国药品管理法》、《药品注册管理办法》等药品管理相关法律法规开展间充质干细胞产品研发和注册申报的申办方，提供关于间充质干细胞防治移植植物抗宿主病临床试验的研究建议，内容不具有强制性。对于间充质干细胞产品临床试验需要遵从的一般原则以及与其他指导原则的重复内容在本指导原则中不再赘述。随着研究和认识的深入，本原则内容将继续修订和完善。

本指导原则适用于各种组织如骨髓、脐带、脐带血或脂肪等来源的间充质干细胞产品，以及从胚胎干细胞（embryonic stem cell, ESC）或诱导多能干细胞（induced pluripotent stem cell, iPSC）分化产生的间充质样细胞产品。

二、临床试验考虑

MSCs临床开发计划的基本考虑因素与其他生物产品相似。早期临床试验不仅评估安全性和可行性，还应探索生物活性和初步疗效，以及产品最佳的给药方式和适用人群，为后期关键性临床试验设计提供参考。后期试验通常设计为充分且对照良好的研究，以提供确切的临床获益证据支持产品上市。申办方在开展MSCs用于防治Allo-HSCT后GvHD的临床试验时，建议考虑以下重要因素。

（一）临床病史和现有最佳治疗情况

全面了解 GvHD 的临床病史和现有最佳治疗（best available therapy, BAT）的疗效情况是 GvHD 治疗药物临床开发计划的重要组成部分。GvHD 的发生与供受者性别/年龄、HLA 相合程度、预处理方案、造血干细胞来源等因素相关^[2, 3]，我国以 haplo-HSCT 为主，国外以同胞全相合移植和非血缘供者移植为主；同时，由于国内外对糖皮质激素治疗失败患者的二线 BAT 尚无统一的用药方案，上述因素可能影响 GvHD 的发生率、严重程度和患者对治疗的反应。因此，鼓励申办方在产品研发的早期，深入评估受试人群的临床病史和现有 BAT 的疗效情况，以确定产品的临床定位，促进产品的临床开发。

（二）研究人群

MSCs 开展防治 GvHD 的临床试验时，应结合 MSCs 的作用特点、潜在风险和获益、疾病严重性和病情进展等多个因素综合考虑受试人群，充分考虑受试者可接受的风险-获益比。目前国内外 MSCs 临床研究中受试者耐受性总体较好，与潜在风险更高的药物相比，MSCs 临床研究的受试对象可能更加广泛。但另一方面，GvHD 是一类临床表现和治疗转归异质性较高的综合征，纳入异质性较高的人群时，可能影响临床试验结果的评价。因此，申办方开展 MSCs 防治 GvHD 的临床试验时，须平衡目标人群的代表性（尽量让更多 GvHD 患者参与临床研究）与试验结果

的评价（尽量减少 GvHD 患者的异质性）。

在预防性研究中，因为 GvHD 的发生率和严重程度与移植类型、人类白细胞抗原（HLA）不相合程度、移植前共患病、GvHD 预防方案以及性别和年龄、供者淋巴细胞输注（Donor Lymphocyte Infusion, DLI）等因素有关，所以临床试验中选择风险因素相似的受试者，可能更容易评估 MSCs 的预防效果，但可能增加临床试验的入组难度；反之，当受试者的异质性较大时，在临床试验规模有限的情况下，受试者 Allo-HSCT 后 GvHD 发生率和严重性存在差异，可能显著增加 MSCs 预防效果的评估复杂性。

在治疗性研究中，需要接受系统性治疗的患者通常病情严重或预后不良，糖皮质激素是中重度 aGvHD 和 cGvHD 的一线标准治疗，激素治疗失败患者的二线治疗目前尚无公认的标准方案。MSCs 开展临床研究时，需考虑患者在不同治疗阶段的临床需求，以及伴随治疗和疾病进程对观察 MSCs 治疗效果的影响。例如，在 GvHD 研究中，患者的受累器官和临床表现各异，不同器官受累的患者对 MSCs 的治疗反应可能存在差异^[6]，临床研发过程中可能需要观察不同器官受累患者的治疗反应，以评估是否需要优化目标治疗人群。对于经过充分二线治疗仍无法控制疾病进展的重度 cGvHD 患者，临床表现以受累组织器官不可逆的病理

损害为主，评估临床改善程度可能更加复杂。因此，如果临床试验受试者治疗阶段的差异过大，可能不利于确定临床试验的观察目标，或影响 MSCs 治疗可能的临床获益。

（三）研究终点

1. 安全性终点

MSCs 的不同来源、给药方式、给药剂量和给药周期的安全性风险需要通过临床试验进行深入分析。MSCs 需要关注的治疗风险一方面来源于 MSCs 在体内增殖、分布、代谢或生物学活性直接相关的不良反应，另一方面来源于免疫抑制可能导致的细菌感染、病毒再激活（如巨细胞病毒、Epstein-Barr 病毒等）等。

2. 有效性终点

预防研究的主要目标是观察 GvHD 的发生率和严重性，还可能需要通过较长时间的随访，观察总生存、植活、复发和非复发死亡等，以准确评估 MSCs 对受试者预后的影响。推荐的有效性终点包括无移植物抗宿主病无复发生存（GvHD-Free, Relapse-Free Survival, GRFS）、总生存（OS）等。GRFS 定义为从接受 HSCT 到出现 GvHD 事件、复发或任何原因死亡的时间。GvHD 事件的定义应与预防目标一致，明确 GvHD 的类型（如 aGvHD、cGvHD 或 GvHD 重叠综合征）、严重程度（如 2-4 级或 3-4 级 aGvHD、中至重度 cGVHD 等）。

治疗研究的主要目标是观察 MSCs 对 GvHD 的治疗效果，主要通过比较各个靶器官和整体分级与基线初始情况获得。GvHD 的治疗缓解类型包括完全缓解（Complete Response, CR）、部分缓解（Partial Response, PR）等。采用国内外诊疗指南中形成共识的分级标准，如 aGvHD 的改良 Glucksberg 标准、西奈山 aGvHD 国际联盟（MAGIC）标准^[10]和 cGvHD 的美国国家卫生研究院（NIH）共识^[11]，有助于统一临床试验中各中心对受试者疗效的评估。同时，疗效的持续情况如缓解持续时间、无失败生存期、总生存期等以及合并用药的变化情况通常也是临床疗效评估的重要内容。

由于 GvHD 的疗效评估可能受研究者主观经验的影响，为了提高不同研究中心和研究者之间评价结果的一致性，建议制定科学统一、合理可行的标准化评价流程，对各受累靶器官功能进行评估。申办方与审评机构就有效性结果进行沟通时，除了提供研究者或第三方判断的治疗结局，建议通过病例报告表（Case Report Form, CRF）等形式提供受试者的原始数据，供审评部门进行独立分析。

MSCs 在体内的分布和作用特点与其他治疗药物存在差异，临床研究中可能需要确定主要终点的常规观察时间（如 aGvHD 中第 28 天的总体缓解^[12]）是否适用于 MSCs。在探索性临床研究

中观察不同时间点的临床缓解情况，评估各时间点对移植相关死亡等长期生存获益的预测能力，有助于确定主要疗效终点的最佳评估时间，优化确证性临床试验的设计。此外，GvHD 受试者可能同时存在活跃的炎症反应和不可逆性病理改变（如瘢痕形成、纤维化和干燥综合征等），不可逆损伤的存在可能干扰或掩盖研究药物的临床获益，临床研究纳入复合终点指标，如反映 GvHD 活动程度的疗效终点（如激素的减量）或器官特异性的缓解指标等，可能有助于充分评估 MSCs 的临床获益。

3. 探索性终点

由于 GvHD 的二线治疗药物多样以及疾病异质性，鼓励 MSCs 临床研究中探索与 MSCs 临床疗效或安全性相关的生物标志物。尽管目前尚未确定可靠的单个或组合的生物标志物，鼓励申办方在 MSCs 临床研究中探索与临床应答相关的生物标志物，或参考国内外临床研究验证相关标志物的临床可靠性，如近年有临床研究将血浆高水平肿瘤抑制素 2（ST2）、再生胰岛衍生蛋白 3 α （REG3 α ）和肿瘤坏死因子受体 1（TNFR1）等生物标志物组合应用于急性 GvHD 的鉴别诊断和预后判断^[13]。参与 cGVHD 发生发展的生物标志物包括白细胞介素（IL）、肿瘤坏死因子（TNF）、干扰素（IFN）、趋化因子家族（CXC）等^[2]。

通常认为 MSCs 的作用机制包括免疫调节作用和基于微环境

的旁分泌效应等，但具体机制以及反映不同来源或批次 MSCs 生物学活性的关键指标仍有待阐明，鼓励申办方在临床研究中监测受试者的适应性和先天免疫功能，结合 MSCs 的体外生物学活性测定结果，评估不同批次 MSCs 生物学活性的差异以及对 GvHD 相关细胞或体液免疫功能的影响，以优化治疗时机、治疗方法和人群等。

（四）试验设计

1、一般原则

患者 Allo-HSCT 后 GvHD 的发生风险、临床表现及预防和治疗方案等差异较大，为满足患者的临床需求，试验设计可能需要尽量全面地考虑上述因素，设置合理的对照方式，避免受试者选择偏倚或者研究期间基础治疗药物选择差异导致 MSCs 治疗效果的高估或低估，确保试验结果的可解读性。在 MSCs 开展防治 GvHD 的临床研究时，部分疗效指标例如各器官受累程度、器官功能状态评估等受研究者经验、患者主观感受等因素影响较大，因此，临床研究中设计合理的盲法，保持评估者对试验信息的盲态，有助于提高试验结果的可靠性。

儿童受试者发生 GvHD 的风险、发生 GvHD 后对治疗的反应与成人可能存在差异，建议首先在成人受试者中验证安全性后，再考虑开展儿童受试者的临床试验，不建议临床试验中同时纳

入儿童和成人受试者。

2、预防 GvHD 研究

受试者因素

为了预防 Allo-HSCT 后出现 GvHD，受试者需要接受以 CNI+抗代谢药（甲氨蝶呤或吗替麦考酚酯）为基础的药物预防方案。在预防性临床研究中，如果受试者移植类型、免疫相合程度、预处理方案等危险程度类似，药物预防方案的差异较小，可能有助于研究结果的评估。当纳入的受试者异质性较大时，根据受试者风险因素分级进行分层分析，也有助于观察 MSCs 的预防效果。

探索性研究

影响 HSCT 后 GvHD 和临床预后的因素复杂，不同临床研究中 GvHD 的发生率和严重性等经常存在差异，可能很难为观察 MSCs 的预防作用提供可靠的历史对照数据。为了探索 MSCs 不同剂量、给药频率或给药周期的预防效果，建议在探索性研究中采用合理的随机对照设计。如果考虑探索性/确证性研究的适应性无缝设计，建议参考《药物临床试验适应性设计指导原则（试行）》。

关键确证性研究

MSCs 预防 GvHD 的关键确证性研究的目标可能包括明确

MSCs 相对于现有预防方案的有效性或安全性优势，建议采用随机对照设计，采用基于现有预防方案的叠加治疗（Add-on）设计或者与现有预防方案头对头比较（head-to-head）的设计，并基于研究目标选择合适的优效性或非劣效设计。建议统一各研究中心现有预防方案的药物选择，减少中心间系统差异对研究结果的影响。

3、治疗 GvHD 的临床研究

受试者因素

MSCs 开展治疗性临床研究时，受试者在试验期间可能会联合使用激素或其他二线药物，申办方在设计关键性临床试验时，对照药物或联合治疗药物的选择，可能需要参考国内外临床进展和诊疗指南的推荐更新。通过合理的对照设置，不仅有利于评估联合用药是否增加受试者的安全风险，而且有利于评估 MSCs 在联合用药中的有效性。尽管国内二线治疗尚无公认的标准方案，近年来的临床进展显示，二线治疗药物的选择可能影响 MSCs 临床疗效的评估，例如，JAK1/2 抑制剂在急性和慢性 GvHD 患者中均显示了明显优于其它二线治疗药物的临床获益^[7, 8]，目前我国已批准 JAK1/2 抑制剂用于治疗糖皮质激素或其他系统治疗应答不充分的 12 岁及以上 aGvHD 患者，ROCK2 抑制剂用于治疗糖皮质激素或其他系统治疗应答不充分的 12 岁及以上

cGvHD 患者，MSCs 在该人群中开展临床研究时，有必要通过合理的对照设计和研究假设，观察 MSCs 相对于现有推荐治疗的临床优势。

探索性研究

申办方可能通过探索性研究确定合适的 MSCs 剂量、给药频率和治疗周期等，初步观察 MSCs 在不同人群中相对现有治疗的疗效或安全性优势，确定后续试验的目标治疗人群。如果在探索性研究中观察 MSCs 相对于现有治疗方案的疗效或安全性优势，建议采用合理的随机对照设计。如果在经过二线以上治疗人群中开展临床研究，方案中应明确二线治疗药物的选择和治疗失败的判断标准。如果考虑确证性研究的适应性无缝设计，建议参考《药物临床试验适应性设计指导原则（试行）》。

关键确证性研究

关键确证性研究设计应充分反映 MSCs 的治疗作用，在一线或二线治疗人群中开展关键确证性研究时，治疗目标可能包括发现 MSCs 相对于现有治疗方案的有效性或安全性优势。建议采用随机对照设计，采用基于现有治疗方案的叠加治疗（Add-on）设计或者与现有治疗方案头对头比较（head-to-head）的设计，并根据研究目标采用合适的优效性或非劣效设计。建议明确现有方案的药物选择，减少中心间系统差异对研究结果的影响。

原则上不建议采用单臂临床试验设计，对于多药治疗失败、缺乏有效治疗手段的人群或 MSCs 有特殊治疗优势的人群，可能通过单臂试验设计提供支持上市的关键性证据。采用该类研究方法时，应通过探索性研究为受试者筛选标准、预期临床获益等试验设计提供明确依据。方案中应明确治疗失败的标准，开展单臂临床试验前建议与药审中心沟通。

（五）受试者随访

GvHD 的治疗和控制是一个长期过程，尤其是对于 cGvHD 患者，受试者经常在治疗期结束后出院在当地接受治疗和评估，由于 GvHD 的异质性和治疗多样性，受试者的规范随访和管理对于保证 GvHD 临床试验的质量尤其重要。受试者接受 MSCs 治疗后长期随访的常规建议，建议参考《人源性干细胞及其衍生细胞治疗产品临床试验技术指导原则（试行）》。

GvHD 临床随访中需要采集的数据非常多样，包括各受累器官的临床表现、合并用药的类型和剂量变化、不良事件情况、复发和无复发生存等临床转归以及患者报告的生活质量评估等，申办方可能需要对研究者和受试者进行相应的培训和沟通，提高受试者的依从性，减少方案偏离。建议采用标准化量表，根据研究目标制定标准化的病例报告表，采用国内外已形成共识的方法和标准，收集用于临床试验结果评估的随访数据，避免

不同研究者评估能力的差异影响临床试验的数据质量。

同时，设置合理的随访问隔进行数据收集，评估过于频繁可能不足以观察到受试者疾病状态的变化，并且增加随访的困难程度，而间隔过长的随访可能会遗漏间隔期内受试者治疗和疾病状态的变化，难以反映试验组与对照组间的疗效差异。

三、与药审中心的沟通

GvHD 的预防和治疗存在多样性，不同适用人群和治疗目标的方案差异较大，而且近年来临床研究的进展较为迅速。因此，药审中心对 MSCs 开展防治 GvHD 临床试验的研究建议，可能会随着国内外临床研究进展及时更新，申办方可以就临床试验中的关键问题与药审中心及时进行沟通，以提高相关产品的研究和申报效率，尽快满足患者的临床需求。

参考文献

- [1] Jagasia M H, Greinix H T, Arora M, et al. National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease: I. The 2014 Diagnosis and Staging Working Group report. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2015, 21 (3) : 389-401.e381.
- [2] 中华医学会血液学分会造血干细胞应用学组, 中国抗癌协会血液病转化委员会. 慢性移植物抗宿主病 (cGvHD) 诊断与治疗中国专家共识 (2021 年版) . *中华血液学杂志*, 2021, 42 (4) : 265-275.
- [3] 中华医学会血液学分会干细胞应用学组. 中国异基因造血干细胞移植治疗血液系统疾病专家共识 (Ⅱ) ——急性移植物抗宿主病 (2020 年版) . *中华血液学杂志*, 2020, 41 (7) : 529-536.
- [4] Krampera M, Le Blanc K. Mesenchymal stromal cells: Putative microenvironmental modulators become cell therapy. *Cell Stem Cell*, 2021, 28 (10) : 1708-1725.
- [5] Soliman H, Theret M, Scott W, et al. Multipotent stromal cells: One name, multiple identities. *Cell Stem Cell*, 2021, 28 (10) : 1690-1707.
- [6] Galleu A, Milojkovic D, Deplano S, et al. Mesenchymal stromal cells for acute graft-versus-host disease: response at 1 week predicts probability of survival. *Br J Haematol*, 2019, 185 (1) : 89-92.
- [7] Zeiser R, von Bubnoff N, Butler J, et al. Ruxolitinib for Glucocorticoid-

- Refractory Acute Graft-versus-Host Disease. *N Engl J Med*, 2020, 382 (19) : 1800-1810.
- [8] Zeiser R, Polverelli N, Ram R, et al. Ruxolitinib for Glucocorticoid-Refractory Chronic Graft-versus-Host Disease. *N Engl J Med*, 2021, 385 (3) : 228-238.
- [9] Kadri N, Amu S, Iacobaeus E, et al. Current perspectives on mesenchymal stromal cell therapy for graft versus host disease. *Cellular & Molecular Immunology*, 2023, 20 (6) : 613-625.
- [10] MacMillan M L, Robin M, Harris A C, et al. A refined risk score for acute graft-versus-host disease that predicts response to initial therapy, survival, and transplant-related mortality. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2015, 21 (4) : 761-767.
- [11] Lee S J, Wolff D, Kitko C, et al. Measuring therapeutic response in chronic graft-versus-host disease. National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: IV. The 2014 Response Criteria Working Group report. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2015, 21 (6) : 984-999.
- [12] MacMillan M L, DeFor T E, Weisdorf D J. The best endpoint for acute GvHD treatment trials. *Blood*, 2010, 115 (26) : 5412-5417.
- [13] Levine J E, Braun T M, Harris A C, et al. A prognostic score for acute graft-versus-host disease based on biomarkers: a multicentre study. *Lancet Haematol*,

2015, 2 (1) : e21-29.