

我国干细胞临床试验方案设计常见问题及其优化措施

谢丽, 路茂杰, 沈力, 宋雪霏, 吴朝晖, 钱碧云

干细胞是一类具有自我复制能力的多潜能细胞, 具有增殖和分化的特性, 干细胞作为“种子”细胞可参与细胞替代和组织再生, 为许多重大疾病的有效治疗提供新的思路和工具^[1], 近二十年来一直是生命科学研究领域的前沿和热点。但作为一种新兴医疗技术, 干细胞应用于疾病治疗也存在着异常分化、致瘤性、免疫原性等多种风险, 干细胞的临床应用探索实践需要科学的研究设计和严格的受试者风险管理, 必须遵循科学、规范、充分保护受试者权益的原则^[2]。

国际主流的监管机构 FDA、EMA、PMDA 均制定了干细胞研究技术指导原则, 对基于干细胞的再生医学产品开展临床研究进行严格的监管^[3-4]。为规范并促进我国干细胞临床研究, 2015年7月国家卫生计生委与食品药品监管总局共同组织制定颁布了《干细胞临床研究管理办法(试行)》^[5], 提出干细胞临床研究应遵循科学、规范、公开、符合伦理、充分保护受试者权益的原则。2015年12月开始干细胞临床研究机构备案工作, 2016年10月国家卫生计生委会同食药监总局公告了首批30家干细胞临床研究备案机构名单, 据中国医药生物技术协会干细胞备案专栏显示, 截至2018年9月, 已有102家干细胞临床研究机构获批, 干细胞临床研究项目备案已完成3批, 第一批7家机构的8个项目, 第二批10家机构的11个项目, 第三批7家机构的7个项目, 共计已有19家机构的26项干细胞临床研究项目按照《干细胞临床研究管理办法(试行)》(国卫科教发(2015)48号)的规定完成备案。

临床研究方案是决定一项临床研究能否取得成功的前提, 内容结构完整、高质量、可评价的临床研究方案是高效开展临床研究的保障^[6-7]。干细胞临床研究方案(Protocol)是用于指导所有参与干细胞临床研究的研究者如何启动、实施临床研究的纲领性文件, 须既有科学性又有可操作性, 具备结构性、逻辑性和完整性, 且满足现行的规范指南对临床研究方案基本的结构性标准与要求。为此, 本研究参考国际和国内相关规范指南, 充分考虑研究方案科学性、伦理要求及安全性等方面, 首次针对国内2018年7月前提交的干细胞临床研究机构和项目备案的研究方案进行评估, 并统计、整理、分析了我国干细胞临床研究项目备案中的临床研究方案设计的现状和特点, 保障干细胞临床研究的科学性、可行性和伦理合规, 保护受试者权益同时降低试验风险, 进而有利于我国干细胞临床研究与国际临床研究规范接轨, 进一步推动干细胞产业发展。

1 研究方法

1.1 干细胞临床研究方案评估制定参考标准

本研究参考如下标准对干细胞临床研究方案进行评估: ①我国现行《药物临床研究质量管理规范(SFDA-GCP)2003版》^[8]; ②人用药品技术要求国际协调理事会《药物临床研究质量管理规范E6(R1)》[The International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use, GUIDELINE FOR GOOD CLINICAL PRACTICE E6 (R1), ICH GCP E6(R1)]^[9]; ③《干细胞临床研究管理办法(试行)》(国卫科教发(2015)48号)^[10]。表1总结了不同机构对临床研究方案主要结构内容的要求, 从比较的结果来看, 总体要求基本一致, 这些要求主要针对II/III期临床研究, 但对于I期或早期探索性临床研究方案的设计也具有参考价值。

1.2 《干细胞临床研究方案评估表》制定

1.2.1 《干细胞临床研究方案评估表(初稿)》制定 评估表框架设计参考上述GCP规定[我国GCP、ICH GCP E6(R1)]和《干细胞临床研究管理办法(试行)》, 还参考了《定义临床研究方案标准条目的SPIRIT 2013声明》^[11]。此外考虑到干细胞治疗产品特殊的生物学特性, 本次研究中涉及到干细胞特殊性考虑参考我国监管部门最新颁布的《细胞治疗产品研究与评价技术指导原则(试行)》^[12]拟定。涉及到疾病领域分析时依据国际疾病分类编码《疾病和有关健康问题的国际统计分类ICD-10》^[13]对临床研究的目标疾病进行编码分类, 根据编码分别进行归类和分析。根据以上GCP标准初步设计完成《干细胞临床研究方案评估表(初稿)》, 包含4大方面20个条目, 内容包括试验背景信息、研究方法、干细胞治疗信息、统计学考量。

对前20份干细胞临床研究方案进行预调查, 由2名调查员独立进行试验方案信息的标准结构化提取。根据预调查结果对评估表进行增删、调整和扩充, 确定最终版《干细胞临床研究方案评估表(最终稿)》, 包含5大方面42个条目变量信息, 内容包括研究背景信息、研究设计、干细胞

基金项目: 上海申康医院发展中心管理研究项目(2017SKMR-21)

作者单位: 200025 上海交通大学医学院临床研究中心(谢丽、钱碧云), 公共卫生学院(路茂杰、沈力); 200011 上海交通大学医学院附属第九人民医院眼科(宋雪霏); 100022 北京, 中国医药生物技术协会(吴朝晖)

通信作者: 钱碧云, Email: qianbiyun@sjtu.edu.cn

收稿日期: 2019-02-11

表 1 不同管理机构对临床研究方案重要结构内容要求比较分析

项目	内容描述	我国 GCP* (2003 版)	ICH E6 (R1)	干细胞临床研究 管理办法
研究管理	试验题目	○	○	○
	申办者的名称和地址	○	○	○
研究背景	研究者及其资质和联系方式	○	○	○
	研究方案版本、注册信息	○	○	×
	研究背景和理念	○	○	○
研究设计	特定的研究目的或假设	○	○	○
	研究设计类型、随机分组方法及设盲水平	○	○	○
研究干预措施	受试者合格标准, 筛选及分组方法	○	○	○
	每组干预措施具体描述, 有足够可重复细节	○	○	○
研究流程	研究中允许或禁止的合并用药以及同时给予的任何其他治疗	○	○	×
	拟进行的临床和实验室检查的项目、测定的次数等	○	○	×
	试验用药品的登记与使用记录、递送、分发方式及储藏条件	○	○	×
	疗效评定标准, 评定方法、观察时间、记录与分析	○	○	○
	临床观察、随访和保证受试者依从性的措施	○	○	×
	中止临床研究的标准、结束临床研究的规定	○	○	○
	试验用药品编码的建立和保存, 揭盲方法和紧急情况下破盲的规定	○	○	×
统计学考量	不良事件和严重不良事件的记录、报告方法、处理措施	○	○	○
	样本含量的统计学估计	○	○	○
	统计分析计划, 统计分析数据集的定义和选择	○	○	○
	受试者的编码、随机数字表及病例报告表	○	○	×
伦理与实施	保存受试者身份和编码表、治疗记录、随机化表及 CRF 表的步骤	○	○	○
	数据管理和数据可溯源性的规定, 数据库可重建性	○	○	×
	研究者手册	×	○	○
	质量控制与质量保证措施	○	○	○
	研究伦理的批准与知情同意材料	○	○	○
	试验结束后的随访或医疗措施	○	○	○
	各方角色、承担职责及其他相关规定	○	○	×
	有关财务、保险及职责的陈述	×	○	○
预期进度和完成日期	○	○	○	
传播政策、发表或出版相关规定	○	○	×	
参考文献	○	○	×	

注: *2018年7月17日国家市场监督管理总局公布了最新《药物临床研究质量管理规范(修订草案征求意见稿)》,但截止到目前我国现行GCP标准为2003年颁布版本,故本研究沿用2003年GCP版本要求;○表示有,×表示无。

治疗特殊性考虑、统计学考量、伦理与实施。

1.2.2 干细胞临床研究方案信息提取和质量控制 设置独立调查员8名,分为两组,根据《干细胞临床研究方案评估表(最终稿)》提取临床研究方案信息。双人独立录入信息,并进行逐一比对,信息不一致的地方进行原始方案文件溯源核对,并经过讨论确认,如无法达成一致则由第三人加入讨论确定。

1.2.3 统计分析方法 分类变量采用百分比表示,连续性变量近似或符合正态分布采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,如不满足近似正态性要求则采用中位数(四分位数间距)[Median(P₂₅-P₇₅)]表示。主要分析结果采用描述性统计分析方式呈现,并采用饼图、气泡图、雷达图等直观展示分析结果。所有统计分析采用 IBM SPSS 23.0 软件完成。

2 结果

2.1 基本概况

本研究中所涉及的干细胞临床研究方案来源于我国依据《干细胞临床研究管理办法(试行)》提交机构和项目的备案干细胞临床研究方案,本次干细胞临床研究方案评估纳入干细胞临床研究方案共计275份,涉及15个疾病领域及多种干细胞类型。评估结果显示干细胞临床研究方案在研究背景、研究设计、干细胞特殊性考虑、统计学考量、伦理与实施5大方面平均完善率仅57.34%,绝大部分方案存在不同程度研究设计缺陷,5方面维度整体研究方案结构评估如图1所示。

2.2 研究背景方面

本次评估中所涉及到干细胞类型广泛,主要以间充质干细胞为主,包括间充质干细胞179项、胚胎干细胞9项、造血干细胞21项、脂肪干细胞13项、骨髓干细胞12项、神经干细胞5项、羊膜干细胞3项、其他类型干细胞33项

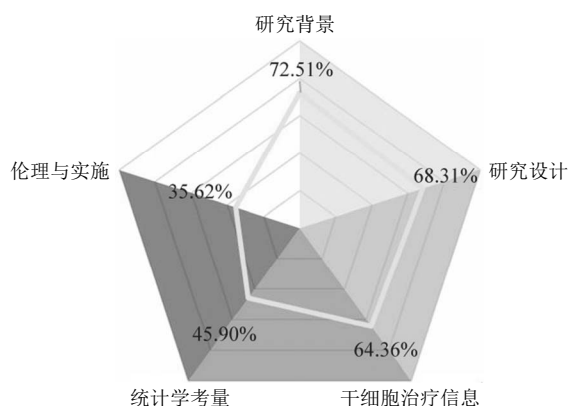


图1 干细胞临床研究方案结构评估完善率雷达图

表2 干细胞临床研究方案背景信息分析

研究背景	项目数 (例)	项目比例 (%)
干细胞类型		
胚胎干细胞	9	3.27
成体干细胞	179	65.09
间充质干细胞	21	7.64
造血干细胞	13	4.73
脂肪干细胞	12	4.36
骨髓干细胞	5	1.82
神经干细胞	3	1.09
羊膜干细胞	33	12.00
其他干细胞	33	12.00
研究假设	115	41.82
无	160	58.18
有	240	87.27
研究方案版本	35	12.73
无		
有		

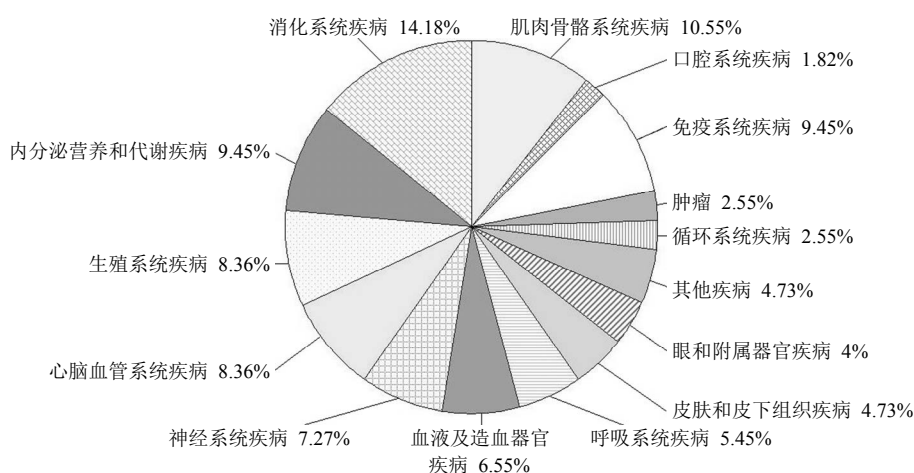


图2 干细胞临床研究方案所涉及的疾病领域分析

(表2)。所有干细胞临床研究方案涉及疾病领域分类参考国际疾病分类标准第10版《疾病和有关健康问题的国际统计分类(ICD-10)》,包含疾病领域范围较广,涉及到15个疾病领域,其中占比最多是消化系统疾病为14.18%,其次是肌肉骨骼系统疾病为10.55%,内分泌营养和代谢疾病9.45%,此外还有免疫系统疾病9.45%,生殖系统疾病8.36%,心脑血管系统疾病8.36%,神经系统疾病7.27%,血液及造血器官疾病6.55%(图2)。此外,绝大多数研究方案有明确的研究目的和研究假设,但仍有41.82%研究方案中未提出明确的研究假设。研究方案版本控制不受重视,仅有少量方案中明确该方案的版本号及相关信息,占比12.73%。

2.3 研究设计方面

对干细胞临床研究方案中总体试验设计部分分析结果显示,方案结构缺失情况呈现多样化特点。绝大多数(74.55%)研究方案中有总结性研究设计概述,但59.64%研究未说明是否采用随机化分组。设盲水平方面,绝大部分(86.55%)研究不采用盲法。2.91%的方案未说明明确入选标准,3.27%的方案未明确排除标准,甚至有22项研究未在方案中具体说明试验组干预措施是什么,以及怎样及

表3 干细胞临床研究方案的研究设计分析

研究设计	项目数 (例)	项目比例 (%)
研究设计概述	无	70 25.45
	有	205 74.55
随机化分组方法	非随机分组	8 2.91
	简单随机化分组	76 27.64
	分层随机化分组	8 2.91
	区组随机化分组	9 3.27
	中央随机化分组	10 3.64
	未说明	164 59.64
设盲水平	单盲	6 2.18
	双盲	31 11.27
试验组干预措施	无	238 86.55
	有	22 8.00
对照组干预措施	无	253 92.00
	有	25 9.09
纳入标准	单臂无	52 18.91
	2组以上无对照描述	22 8.00
	有	176 64.00
排除标准	无	8 2.91
	有	267 97.09
排除标准	无	9 3.27
	有	266 96.73

何时给予该干预措施, 还有 22 项研究是两组研究设计, 但无相应干预措施描述 (表 3)。

2.4 干细胞特殊性考虑方面

多数方案针对干细胞临床研究的细胞特性部分考虑不足, 可能会严重影响研究的科学性。本次评估结果显示, 高达 45.09% 的研究方案中未明确说明细胞来源为自体或异体。进一步分析发现, 仅有少量研究详细说明了细胞制备的工艺参数 (24.36%), 还有 32 项 (11.68%) 方案中未说明干细胞移植 (给药) 途径。干细胞临床研究应当对受试者进行长期随访监测, 评价干细胞临床研究的长期安全性和有效性。然而干细胞临床研究方案实施过程的随访计划中约一半 (54.54%) 的研究预期随访时间不足 1 年 (表 4)。

表 4 干细胞临床研究方案的干细胞治疗特殊考虑分析

干细胞治疗信息		项目数 (例)	项目比例 (%)
细胞来源	自体/异体	6	2.18
	自体	58	21.09
	异体	87	31.64
	未说明	124	45.09
细胞制备形式	注射液	140	50.91
	细胞悬液	29	10.55
	其他 [#]	106	38.55
细胞制备工艺参数	无	208	75.64
	有	67	24.36
移植/给药途径	静脉输注	125	45.45
	病灶部位注射	93	33.82
	移植/植入	24	8.73
	未说明	33	12.00
第三方提供细胞	否	232	84.36
	是	43	15.64
预期随访时间 (月)	0~6	53	19.27
	7~12	97	35.27
	13~24	52	18.91
	25~	22	8.00
	未说明	51	18.55

注: [#]其他制备形式包括胶剂、颗粒剂以及未说明制备形式等。

2.5 统计学考量方面

前瞻性临床研究的统计分析有其特殊性, 需要针对临床研究的统计学方法及拟对数据进行的统计分析有清晰而详细的描述。对于临床试验方案常规建议设置一个主要评价指标, 然而部分干细胞临床研究方案主要观察指标高达 10 个以上, 且方案中未提及任何关于多重比较总体 I 类错误膨胀的考量。统计分析计划部分仅有 30.55% 预先设定了统计分析采用哪些数据集, 以及每个观察指标采用哪个数据分析集进行统计分析, 绝大多数研究方案中并未说明 (表 5)。

临床研究方案中统计学考量部分一个重要方面就是样本含量的确定, 图 3 中显示近一半研究样本含量在 60 例以内, 符合处于干细胞领域临床应用探索性早期研究阶段的样本含量特点。有少量研究样本含量超过 200 例, 极少量研究 (2 项) 预期样本含量甚至超过 1000 例, 还有 15 项

表 5 干细胞临床研究方案统计学考量分析

统计学考量	项目数 (例)	项目比例 (%)	
主要观察指标个数	1	54	19.64
	2	33	12.00
	3	34	12.36
	4~6	36	13.09
	7~10	67	24.36
	>10	17	6.18
次要观察指标个数	无	34	12.36
	>5	59	21.45
	≤5	50	18.18
样本含量估计过程	无	166	60.36
	有	220	80.00
统计分析方法	无	55	20.00
	有	41	14.91
统计分析数据集	无	234	85.09
	有	191	69.45
随机化分配隐藏	无	84	30.55
	有	257	93.45
数据采集方式	病例报告表 CRF	18	6.55
	研究病历	216	78.55
数据管理计划	未说明	5	1.82
	无	54	19.64
	有	229	83.27
	有	46	16.73

研究未明确说明具体预期样本含量。另一方面, 仅有 20% 方案中明确写明了样本含量估计的过程或参数, 高达 80% 干细胞临床研究方案中未明确说明样本含量是如何确定的, 参数如何设置, 采用何种软件进行估算, 或提供其他任何确定样本量依据。

此外在数据采集和管理方面, 绝大多数方案提供了采集数据所用的病例报告表 CRF, 还有 5 项研究说明采用研究病历进行数据采集, 仍有约五分之一的方案中未明确说明如何进行病例数据采集, 以及采用何种工具进行数据采集。此外仅有极少量研究方案 (16.73%) 说明相关数据管理计划, 包括数据库建立、数据管理与质量方面等, 高达 83.27% 的方案未提及数据管理内容, 无法满足临床研究数据完整可靠和可溯源的要求。

2.6 伦理与实施方面

干细胞临床研究方案除了满足科学性要求外, 还须符合《涉及人的生物医学研究伦理审查办法 (试行)》和《人胚胎干细胞研究伦理指导原则》的要求, 保证受试者的权益得到充分尊重和保护。表 6 中显示仅有 19 项 (6.91%) 研究明确说明设立数据与安全监察委员会, 10.80% 方案无不良事件的定义与记录方式, 19.92% 的方案未明确严重不良事件的报告与处理方法, 且仅有 15.53% 的方案涉及到伦理委员会审批相关内容。干细胞类治疗为相对风险较高的项目, 研究者应当采取有效措施为受试者提供相应保障, 干细胞临床研究更应从研究方案的源头上加强关于受试者权益保护与风险控制措施。

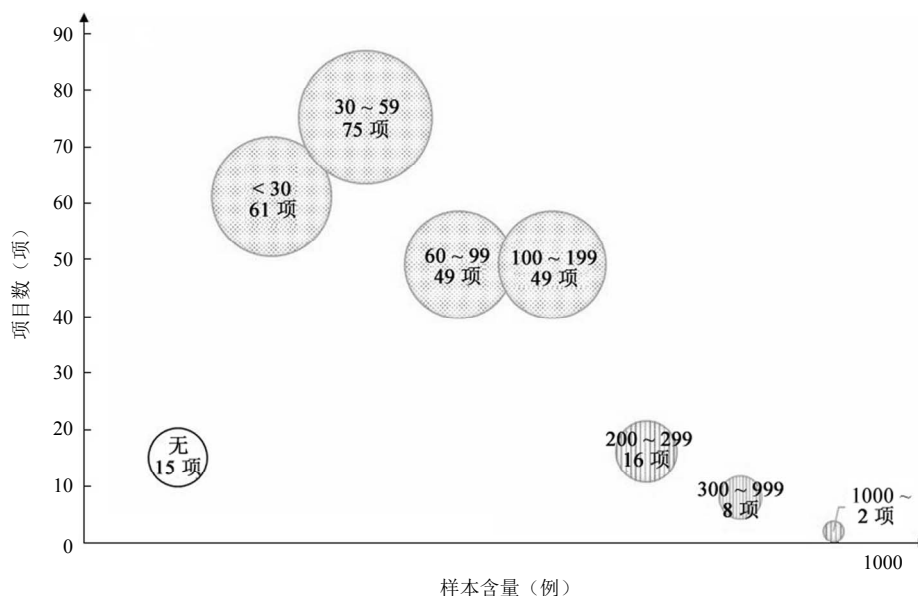


图 3 干细胞临床研究样本含量分布气泡图

表 6 干细胞临床研究方案中伦理和实施情况分析

伦理和实施	项目数 (例)	项目比例 (%)
数据与安全监察委员会	无	256 93.09
	有	19 6.91
不良事件报告与处理	无	30 10.91
	有	245 89.09
严重不良事件报告与处理	无	55 20.00
	有	220 80.00
伦理委员会审批	无	232 84.36
	有	43 15.64
知情同意材料	无	223 81.09
	有	52 18.91
受试者信息保密	无	238 86.55
	有	37 13.45

3 优化措施与讨论

我国干细胞基础科研起步早,已具备国际领先水平,近年来我国干细胞产业发展迅速,多个干细胞产品已经在临床上展现出了较好的应用前景^[14]。干细胞临床转化过程中,如何通过规范性临床研究方案设计,促进干细胞产业健康发展,将干细胞治疗按照药品规范管理,已经成为行业关注的焦点^[14]。干细胞临床研究方案评估完善率雷达图显示,我国干细胞临床研究方案中整体方案质量亟待进一步完善和提高。

首先,建议依据我国《药物临床试验质量管理规范》(GCP)要求完善方案结构。本研究结果显示,目前我国提交备案的干细胞研究方案在结构方面有待进一步完善,但值得注意的是,截至目前我国现行 GCP 标准为 2003 年颁布,国家市场监督管理总局最新于 2018 年 7 月 17 日公布了最新《药物临床试验质量管理规范(修订草案征求意见稿)》,在总体框架以及章节内容上较现行《药物临床试验质量管理规范》做出了较大幅度的调整和增补,新增大约两万

字内容,对术语及定义、试验方案、必备文件管理的描述更加详细,操作性更强,建议根据新版 GCP 修订草案征求意见稿进行方案结构完善与优化,制定干细胞临床研究方案结构框架,按照结构框架撰写干细胞临床研究方案,便于各方审读。这一过程中尤其需要有丰富临床研究经验的临床研究方法学人员参与。通过完善干细胞临床试验方案结构,使方案达到同时具备结构性、逻辑性和完整性要求。

其次,建议尽早建立干细胞临床研究相关行业规范和标准。本次评估结果显示,干细胞临床研究方案中针对细胞特性的考量尚存在不足,然而目前我国现行《药物临床研究质量管理规范(GCP)》^[8]中没有针对干细胞临床研究的特殊考量要点,未考虑到干细胞治疗的特殊性。已有的国家药品监督管理局药品审评中心颁布的《细胞治疗产品研究与评价技术指导原则(试行)》^[12]中较为详细地提出了细胞治疗产品研发、生产用原材料、制备工艺、质量控制、安全性评价、非临床研究和临床研究方面的要点,但关于临床研究部分仅有少量指导性框架条目,难以具体指导研究者进行实际操作。针对干细胞产品的特定细胞类型、组织操作规范及临床适应证等,我国监管部门尚未发布细化的指导原则或审评考虑要点^[15]。建议组织相关专家根据国际现有规范、指导原则等材料,结合长期以来国内干细胞临床研究实际情况,针对干细胞临床研究方案撰写细化的“干细胞临床研究规范化设计与实施技术指南”,为研究者开展干细胞临床研究设计提供切实可行的技术指导和实施指南。

第三,建议参考我国药监部门发布的统计学相关指导原则和 ICMJE 相关规范,重点完善试验设计中的统计学考量部分。国家药品监督管理局药品审评中心发布的《非注册类临床试验用于药品注册审评的几点思考》^[16]中提到:“当非注册临床试验数据用于注册审评时,除了临床试验数据外,试验方案设计是否合理、伦理审查是否规范、试验实施

过程是否严格按照方案进行、试验数据的保存记录和统计分析是否真实准确等都是非临床试验数据用于药品注册审评的影响因素。”此外对于需要发表相关研究论文的临床研究需要遵循国际医学期刊编辑委员会(International Committee of Medical Journal Editors, ICMJE)颁布的推荐规范,其中包含统计学报告内容,并有相应的扩充和说明。建议根据我国现行指导原则和 ICMJE 推荐规范对方案统计学部分进行逐一审阅与完善,尤其在主要及次要观察指标设置、样本含量合理估计、随机化及分配隐藏、盲法、统计分析计划、数据管理计划等方面需要给与全面考虑。

第四,达到快速实时审查,建立规范化标准数据管理与分析平台。干细胞临床研究必须遵循伦理并充分保护受试者权益的原则,保证受试者的权益得到充分尊重和保护^[17-18]。如能建立国家或地域性规范化标准数据管理与分析平台,将使我国干细胞临床研究开展和审查更加有效。借助于实时审查技术,管理部门可以及时识别并发现干细胞临床研究过程中可能存在的潜在风险与问题,并尽早指导研究者规避或处理试验过程中出现的风险与问题。

最后,针对干细胞临床研究设计与方案撰写开展专项培训。质量源于设计,良好临床研究方案的设计是开展高质量临床研究最重要的保障。然而长期以来由于开展临床研究经验不足,且缺乏相关支持和培训,国内由研究者发起的临床研究尚未达到国际水准,对临床研究的理念和能力均有待提升^[19]。建议开展干细胞临床研究专项培训项目,对干细胞临床研究方案设计撰写进行规范化授课,掌握干细胞临床研究的核心概念、基本原理、常用设计类型、主要环节以及必须遵守的伦理和科学规范;关注到干细胞临床研究的特殊性考量,通过培训指导将已有的干细胞临床研究方案进一步完善为一份实用的高质量临床研究方案。

总之,我国干细胞临床研究方案设计对标国际规范尚待进一步完善,尤其是干细胞治疗的风险和受试者保护应引起重视。干细胞临床研究需要不断增强管理意识、提高研究质量,令干细胞临床研究方案设计更加满足科学性、可行性和伦理合规三方面要求,在方法学上更加严谨,使得我国干细胞临床应用获得高水平的研究成果产出,推动干细胞产业发展。干细胞临床研究尤其是治疗领域研究,应当有更加沉稳的心态与长远的眼光,注重质量,让研究经得起疗效考验和时间检验。

参考文献

- [1] Mao KY, Fan YL, Wang Y, et al. Development status and trend analysis of mesenchymal stem cells therapeutic products. *China Biotechnol*, 2017, 37(10):126-135. (in Chinese)
毛开云, 范月蕾, 王跃, 等. 间充质干细胞治疗产品开发现状与趋势. *中国生物工程杂志*, 2017, 37(10):126-135.
- [2] Chen Y, Zou YX, Zhang XH, et al. The approval and supervision of stem cell drugs in South Korea and Japan and their implications for China. *Chin J New Drugs*, 2018, 27(3):267-272. (in Chinese)
陈云, 邹宜諲, 张晓慧, 等. 韩国与日本干细胞药品审批、监管及

对我国的启示. *中国新药杂志*, 2018, 27(3):267-272.

- [3] Fink DW Jr. FDA regulation of stem cell-based products. *Science*, 2009, 324(5935):1662-1663.
- [4] Marks P, Gottlieb S. Balancing safety and innovation for cell-based regenerative medicine. *N Engl J Med*, 2018, 378(10):954-959.
- [5] National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China, China Food and Drug Administration. Guidelines for stem cell preparation's quality control and preclinical research (trial). 2015-07-31. (in Chinese)
中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 干细胞制剂质量控制及临床前研究指导原则(试行). 2015-07-31.
- [6] Liu H, Yang L. Influencing factors of qualities of clinical trials. *Chin J New Drugs*, 2018, 27(6):678-681. (in Chinese)
刘焕, 杨莉. 临床试验质量影响因素分析. *中国新药杂志*, 2018, 27(6):678-681.
- [7] Gui YL, Chen Z, Tian GX, et al. Key point of clinical research protocol design-ponders on design clinical trial protocol. *Chin J Evid Based Cardiovasc Med*, 2017, 9(6):641-643. (in Chinese)
桂裕亮, 陈尊, 田国祥, 等. 临床研究设计方案要点之临床试验方案设计的几点思考. *中国循证心血管医学杂志*, 2017, 9(6):641-643.
- [8] China Food and Drug Administration. Guideline for good clinical practice. 2003-08-06. (in Chinese)
国家食品药品监督管理局. 药物临床试验质量管理规范. 2003-08-06.
- [9] The International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use. ICH harmonised tripartite guideline -- guideline for good clinical practice E6 (R1). (1996-06-10). https://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Efficacy/E6/E6_R1_Guideline.pdf.
- [10] National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China, China Food and Drug Administration. Administrative Measures for Stem Cell Clinical Research (Interim). 2015-07-20. (in Chinese)
中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 干细胞临床研究管理办法(试行). 2015-07-20.
- [11] Chan AW, Tetzlaff JM, Altman DG, et al. SPIRIT 2013 statement: defining standard protocol items for clinical trials. *Chin J Evid Based Med*, 2013, 13(12):1501-1507. (in Chinese)
Chan AW, Tetzlaff JM, Altman DG, 等. SPIRIT 2013 声明: 定义临床研究方案的标准条目. *中国循证医学杂志*, 2013, 13(12):1501-1507.
- [12] China Food and Drug Administration. Technical guidelines for the research and evaluation of cell therapy products (trial). 2017-12-18. (in Chinese)
国家食品药品监督管理局. 细胞治疗产品研究与评价技术指导原则(试行). 2017-12-18.
- [13] Dong JW. International statistical classification of diseases and related health problems (ICD-10). Beijing: People's Medical Publishing House, 2008. (in Chinese)
董景五. 疾病和有关健康问题的国际统计分类(ICD-10). 北京: 人民卫生出版社, 2008.
- [14] Zhu H, Hao J, Zhou Q, et al. Clinical-grade stem cell bank and stem cell products. *Chin Bull Life Sci*, 2016, 28(8):895-901. (in Chinese)
祝贺, 郝捷, 周琪, 等. 临床级干细胞库及干细胞制剂. *生命科学*, 2016, 28(8):895-901.

2.4 参考品的稳定性验证结果

将参考品反复冻融 3 次后,采用北京贝瑞和康生物技术有限公司提供的 AmplideX™ FMR1 PCR/CE Reagents 检测试剂盒进行稳定性验证。验证结果表明反复冻融对本参考品的稳定性没有影响,如表 3 所示。

3 讨论

目前脆性 X 的基因诊断技术主要有 PCR、Southern blot、DNA 片段分析、BSP-测序等方法,已广泛应用于国内外各大医院和临检机构进行临床诊断。然而目前在脆性 X *FMR1* 基因检测中,无论中间型、前突变还是全突变脆性 X 突变型别,国内外都缺乏统一认可的国家参考品。脆性 X 综合征国家参考品涵盖了国内常见脆性 X 突变型别和国内已发现但频率低于 1% 的部分低频型别样本。通过对脆性 X 综合征国家参考品的验证,结果表明参考品性质稳定,可以为临床实验室质量评价提供可靠的参考物质,可用于国内大多数试剂盒的性能评价要求。因此,该参考品盘能基本满足不同试剂盒的评价。根据美国国家脆性 X 基金会的研究,脆性 X *FMR1* 基因型别包含:野生型、中间型、前突变型、全突变型和嵌合型,本研究建立了包含全部 5 种不同型别的脆性 X 综合征国家参考品,为临床实验室质量评价及相关试剂盒的研发提供了可靠的质控物质。

参考文献

- [1] Garber KB, Visootsak J, Warren ST. Fragile X syndrome. *Eur J Hum Genet*, 2008, 16(6):666-672.
 - [2] Pieretti M, Zhang FP, Fu YH, et al. Absence of expression of the *FMR-1* gene in fragile X syndrome. *Cell*, 1991, 66(4):817-822.
 - [3] Sherman SL, Jacobs PA, Morton NE, et al. Further segregation analysis of the fragile X syndrome with special reference to transmitting males. *Hum Genet*, 1985, 69(4):289-299.
 - [4] Li DZ, Liao C. Fragile X syndrome. *Chin J Birth Health Hered*, 2005, 13(5):121-123. (in Chinese)
李东至, 廖灿. 脆性 X 综合征. *中国优生与遗传杂志*, 2005, 13(5):121-123.
 - [5] Zeng J, Wang H. The genetic diagnosis and prenatal diagnosis for fragile X syndrome. *Chin J Birth Health Hered*, 2006, 14(5):4-6, 11. (in Chinese)
曾静, 王和. 脆性 X 综合征的遗传学诊断与产前诊断. *中国优生与遗传杂志*, 2006, 14(5):4-6, 11.
 - [6] Yu L, Duan RH. Screening for fragile X syndrome in people with low intelligence and autism. *Chin J Med Genet*, 2015, 32(4):593-596. (in Chinese)
于莉, 段然惠. 智力低下和孤独症等人群中脆性 X 综合征的筛查. *中华医学遗传学杂志*, 2015, 32(4):593-596.
 - [7] Li CM, Liu W, Tan WH. Screening and prenatal diagnosis of familial hereditary disease fragile X syndrome. *Chin J Birth Health Hered*, 2007, 15(5):53-54. (in Chinese)
李长民, 刘巍, 谭文华. 家族遗传性疾病-脆性 X 综合征的筛查及产前诊断. *中国优生与遗传杂志*, 2007, 15(5):53-54.
 - [8] Zhou JX, Guo LT, Wang YC, et al. Detection of fragile X mental retardation 1 gene in children with autistic disorder. *J Appl Clin Pediatr*, 2006, 21(20):1415-1416. (in Chinese)
周家秀, 郭兰婷, 王英成, 等. 孤独症儿童脆性位点精神发育迟滞 1 基因检测. *实用儿科临床杂志*, 2006, 21(20):1415-1416.
-
- (上接第 285 页)
- [15] Lu JQ, Liu BN, Luo JH. Research progress and regulatory perspectives for stem cell-based regenerative medicine products. *Scientia Sinica Vitae*, 2019, 49(1):18-27. (in Chinese)
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. *中国科学: 生命科学*, 2019, 49(1):18-27.
 - [16] Gao JC, Wei W, Huang YH, et al. Several thoughts on accepting non-registered clinical trials in IND registration evaluation. *Chin J New Drugs*, 2018, 27(11):1249-1253. (in Chinese)
高建超, 韦薇, 黄云虹, 等. 非注册类临床试验用于药品注册审评的几点思考. *中国新药杂志*, 2018, 27(11):1249-1253.
 - [17] Liu J, Zeng LF, Bao WH, et al. Stem cells induced differentiation for reproductive gamete and concerning ethical consideration. *Forum Sci Technol China*, 2018(3):152-158. (in Chinese)
刘军, 曾令烽, 包文虎, 等. 干细胞诱导分化、衍生配子研究及伦理学问题探讨. *中国科技论坛*, 2018(3):152-158.
 - [18] Pan XH, Wang YC, Zhang MY, et al. Ethical and safety issues in clinical research of umbilical cord mesenchymal stem cells. *Med J Natl Defending Forces Southwest China*, 2018, 28(1):4-6. (in Chinese)
潘兴华, 王颖翠, 张梦园, 等. 脐带间充质干细胞临床研究的伦理与安全问题. *西南国防医药*, 2018, 28(1):4-6.
 - [19] The R&D-based Pharmaceutical Association Committee, China Association of Enterprises with Foreign Investment, Pharmaceutical Clinical Evaluation Research Professional Committee, China Pharmaceutical Association, Peking University Asia Pacific Economic Cooperation Regulatory Sciences Center of Excellence, et al. Current difficulties and challenges during the design and conduct stages of clinical trials in China. *Chin J New Drugs*, 2018, 27(11):1225-1232. (in Chinese)
中国外商投资企业协会药品研制和开发行业委员会, 中国药学会药物临床评价研究专业委员会, 北京大学亚太经济组织监管科学卓越中心, 等. 中国临床试验在设计及执行中的困难和挑战. *中国新药杂志*, 2018, 27(11):1225-1232.