DOI:10.3969/j.issn.2097-7948.2026.01.014

· 综述 ·

多技术与策略整合驱动的细胞治疗产品非临床药代动力学研究进展

魏喆#,刘欣欣#,杜文静*
天津市细胞制药工程技术重点实验室,细胞产品国家工程研究中心,天津昂赛细胞基因工程有限公司,天津 300457

摘要: 细胞治疗产品(CTPs)作为再生医学与精准医疗的核心策略,在多种难治性疾病中展现出巨大应用潜力。鉴于其"活体药物"的独特属性,CTPs 的非临床药代动力学(PK)研究面临体内动态行为复杂、示踪分析困难等独特挑战。本文以嵌合抗原受体 T 细胞(CAR-T)和间充质干/基质细胞(MSCs)为代表性案例,系统综述 CTPs 的非临床 PK 特征及其关键影响因素,深入剖析当前 PK 研究中的先进检测技术与生物模型选择策略,并从监管科学角度阐述现行法规对非临床 PK 研究的具体要求,进而整合分析提出该领域面临的核心挑战,旨在为 CTPs 的非临床研发与评价提供系统性技术参考,以促进其向临床更安全、更有效地转化应用。

关键词: 细胞治疗产品;药代动力学;非临床研究;分子生物学;研究策略
中图分类号: R969.1

Progress in integrated technologies and strategies driving advances in nonclinical pharmacokinetics of cell therapy products

WEI Zhe#, LIU Xinxin#, DU Wenjing*
Tianjin Key Laboratory of Engineering Technologies for Cell Pharmaceuticals, National Engineering Research Center of Cell Products, AmCellGene Co., Ltd., Tianjin 300457, China

Abstract: Cell therapy products (CTPs), as a core strategy in regenerative and precision medicine, demonstrate tremendous potential for various refractory diseases. Given their unique "living drug" attributes, nonclinical pharmacokinetic (PK) studies of cell therapy products face distinct challenges, including complex *in vivo* dynamics and difficult tracking analysis. Using chimeric antigen receptor T cells (CAR-T) and mesenchymal stem/stromal cells (MSCs) as representative cases, this review systematically summarizes the nonclinical PK characteristics and key determinants of cell therapy products, provides in-depth analysis of advanced detection technologies and biological model selection strategies in current PK research, delineates specific regulatory requirements for nonclinical PK studies from a regulatory science perspective, and subsequently synthesizes the core challenges confronting this field. This review aims to provide systematic technical references for the nonclinical development and evaluation of cell therapy products, thereby facilitating their safer and more effective clinical translation.

Key words: Cell therapy products; Pharmacokinetics; Nonclinical research; Molecular biology; Research strategy

基金项目: 滨海新区青年英才培育计划
#共同第一作者
*通信作者
利益冲突: 作者均声明无利益冲突
伦理批件: 不需要
知情同意: 不需要
引用本文: 魏喆,刘欣欣,杜文静. 多技术与策略整合驱动的细胞治疗产品非临床药代动力学研究进展[J]. 再生医学研究,2026,1(4):272-286. doi:10.3969/j.issn.2097-7948.2026.01.014.

Fund program: Binhai New Area Young Talent Cultivation Program
#Co-first author
*Corresponding author
Conflicts of interest: Authors all declare no conflicts of interest.
Ethical approval: Not required.
Informed consent: Not required.
Cite this article: Wei Z, Liu XX, Du WJ. Progress in integrated technologies and strategies driving advances in nonclinical pharmacokinetics of cell therapy products[J]. Zaisheng Yixue Yanjiu, 2026, 1(4): 272-286. doi: 10.3969/j.issn.2097-7948.2026.01.014.

细胞治疗产品(cell therapy products,CTPs)以活细胞为药物载体,通过归巢、定植、增殖、分化及免疫调节等生物学功能实现疾病干预。与传统化学药物不同,CTPs 的药代动力学(pharmacokinetics,PK)并非被动分布与代谢,而是涵盖细胞迁移、滞留、扩增、分化及凋亡清除的动态生物学过程[1-3]。非临床 PK 研究通过阐明这些时空动态特征,成为连接实验室与临床的关键桥梁,不仅为给药方案设计(途径、剂量、频次)和药效窗口预测提供依据[4],也是评估安全性及揭示细胞-宿主微环境相互作用的核心基础[5-6]。然而,CTPs 的存活状态、增殖能力及功能活性随时间空间动态变化,传统 PK 手段难以精准追踪活细胞并评价其生理功能,建立高灵敏度、高特异性的长期定量示踪技术仍是当前关键挑战。标准化 PK 研究方法,如实时荧光定量聚合酶链式反应(quantitative real-time polymerase chain reaction,qPCR)和数字聚合酶链式反应(digital polymerase chain reaction,dPCR)的建立是满足监管要求、确保数据可靠性的前提,而定量 PK-药效动力学(pharmacodynamics,PD)建模则是预测临床疗效、优化治疗策略的重要工具[7-8]。此外,针对靶向递送效率低等转化瓶颈,深入的 PK 分析亦为工程化改造策略的开发提供科学依据。因此,系统的非临床 PK 研究既是监管合规的必需环节,更是推动 CTPs 精准、安全转化的基础[9-10]。

本文旨在系统梳理 CTPs 非临床 PK 研究现状,围绕不同产品类型的非临床 PK 特性介绍检测方法,探讨生物分析策略进展,并对未来趋势与挑战进行展望,以期为 CTPs 的研发与转化提供参考。

1　CTPs 非临床 PK 特征和影响因素

1.1　近年全球获批上市的 CTPs 概述

根据细胞来源、生物学特性及作用机制,CTPs 主要可分为两大类。第一类为体细胞治疗产品,包括未经基因修饰及经过体外基因工程修饰的亚类。前者如用于组织修复的间充质干/基质细胞(mesenchymal stem/stromal cells, MSCs),其来源广泛,包括脐带[11]、脂肪[12]、毛囊[13]、牙髓[14]乃至经分化获得的功能细胞,如由骨髓源 MSCs 分化而来的平滑肌样细胞、人类胚胎干细胞来源的多巴胺能细胞(用于治疗帕金森病)[15];后者如用于癌症免疫治疗的嵌合抗原受体 T 细胞(chimeric antigen receptor T-cell, CAR-T)[16]。表 1 为 2020 至 2025 年上市的 CTPs。第二大类为基于细胞的基因治疗药物,即在细胞(如 T 细胞、干细胞)中引入外源基因以赋予其新的生物学功能[17-18]。有研究人员将编码前列腺特异性膜抗原(prostate specific membrane antigen,PSMA)的报告基因导入 CAR-T 细胞基因组,可用于体内示踪 CAR-T 细胞的分布与存续[19]。

1.2　CTPs 非临床 PK 特征

CAR-T 细胞与 MSCs 代表了当前细胞治疗的两大主流方向,二者呈现出截然不同的非临床 PK 模式,这从根本上反映了其作用机制的差异。CAR-T细胞的 PK 特征通常呈现典型的多相性,包括快速分布、指数扩增、收缩及持久期[20-21]。静脉输注后,其初期分布与器官血流相关,随后向淋巴器官迁移。其疗效高度依赖于体内的活体扩增能力,扩增峰值及动力学受肿瘤负荷、淋巴细胞清除强度及 CAR 分子设计等因素影响[22]。清除抗原后,大部分细胞进入收缩期[23],少数分化为记忆 T 细胞,可实现长期存续[24]。

相比之下,MSCs 的 PK 特征则显著不同。由于其细胞体积较大,静脉给药后绝大部分被肺毛细血管网机械截留,仅有极少数能到达远端靶器官[25]。MSCs 在体内通常不发生增殖,数量随时间呈指数递减,半衰期短,整体存续时间有限[26]。其治疗效应主要依赖于短暂存留期间通过旁分泌途径实现的免疫调节与组织修复[27],而非长期定植,这种 PK 模式已在多种动物模型中得到验证[28-29]。

1.3　影响 CTPs 非临床 PK 的关键因素

1.3.1　细胞来源与产品表型　产品的起始细胞特性与设计直接影响其体内行为。对于 CAR-T 细胞,起始 T 细胞中记忆亚群[如中央记忆 T 细胞(central memory T cell, TCM)、干细胞记忆 T 细胞(stem cell memory T cell, TSCM)]的比例与其体内扩增能力和长期存续呈正相关[30]。同时,CAR 分子的亲和力及共刺激域(如 4-1BB 与 CD28)设计共同决定了 T 细胞的活化强度、扩增幅度、持久性及耗竭倾向[31]。

对于 MSCs，其组织来源（如骨髓、脂肪、脐带）决定了其固有的表面受体谱与归巢潜能[10,32]。通过预处理（如低氧培养）或基因工程〔如过表达 C-X-C 趋化因子受体 4 型（C-X-C chemokine receptor type 4，CXCR4）〕可上调相关受体，从而增强其向损伤部位的迁移与存活能力[32]。

表 1　2020 至 2025 年批准上市的 CTPs 信息

Table 1　Information on CTPs approved for marketing from 2020 to 2025

细胞类型	药物名称	适应证	批准时间（国家）
CAR-T	Tecartus（Brexucabtagene Autoleucel）	复发或难治性套细胞淋巴瘤	2020 年（美国）
CAR-T	Breyanzi（Lisocabtagene Maraleucel）	复发或难治性弥漫大 B 细胞淋巴瘤	2021 年（美国）
CAR-T	Abecma（Idecabtagene Vicleucel）	复发或难治性多发性骨髓瘤	2021 年（美国）
CAR-T	Carvykti（Ciltacabtagene Autoleucel）	复发或难治性多发性骨髓瘤	2022 年（美国）
CAR-T	Aucatzyl（Obecabtagene Autoleucel）	复发或难治性 B 细胞前体急性淋巴细胞白血病	2024 年（美国）
CAR-T	奕凯达（阿基仑赛注射液）	复发的成人大 B 细胞淋巴瘤	2021 年（中国）
CAR-T	倍诺达（瑞基奥仑赛注射液）	复发或难治性弥漫大 B 细胞淋巴瘤	2021 年（中国）
CAR-T	源瑞达（纳基奥仑赛注射液）	成人复发或难治性 B 细胞急性淋巴细胞白血病；经系统性治疗后复发或难治性大 B 细胞淋巴瘤（新增）	2023 年（中国） 2025 年（中国）
CAR-T	福可苏（伊基奥仑赛注射液）	复发或难治性多发性骨髓瘤	2023 年（中国）
CAR-T	赛恺泽（泽沃基奥仑赛注射液）	复发或难治性多发性骨髓瘤	2024 年（中国）
CAR-T	恒凯莱（雷尼基奥仑赛注射液）	成人复发或难治性大 B 细胞淋巴瘤	2025 年（中国）
CAR-T	卡卫荻（西达基奥仑赛注射液）	复发/难治性多发性骨髓瘤	2024 年（中国）
CAR-T	普利得凯（普基奥仑赛注射液）	儿童及青少年难治/复发急性 B 淋巴细胞白血病	2025 年（中国）
脐带血源 HSC	Omisirge（Omidubicel-onlv）	12 岁及以上的血液系统恶性肿瘤；6 岁及以上的重型再生障碍性贫血	2023 年（美国） 2025 年（美国）
HSCs	Casgevy（Exagamglogene autotemcel）	12 岁及以上复发性血管闭塞危象的镰刀型细胞贫血病； 12 岁及以上输血依赖性 β 地中海贫血	2023 年（英国） 2023 年（美国） 2024 年（美国）
TCR-T	TECELRA®（Afamitresgene autoleucel）	滑膜肉瘤	2024 年（美国）
脐带源 MSC	Vartocell	脑瘫	2020 年（伊朗）
骨髓源 MSC	Ryoncil（Remestemcel-L-rknd）	2 个月及以上儿科患者的类固醇难治性急性移植物抗宿主病	2024 年（美国）
基因修饰的骨髓源 MSC	Akuugo（Vandefitemcel）	改善创伤性脑损伤引起的慢性运动瘫痪	2024 年（日本）
骨髓源 MSC	Stempeucel	重症下肢缺血	2020 年（印度）
脐带源 MSC	睿铂生（艾米迈托赛注射液）	激素治疗失败的急性移植物抗宿主病	2025 年（中国）
脂肪源 MSC	Angel Stem Cell Therapy	自闭症谱系障碍	2025 年（日本）

上述产品列表主要基于美国食品药品监督管理局（FDA）、英国药品和保健品管理局（MHRA）、日本厚生劳动省（MHLW）及药品医疗器械综合管理局（PMDA）、伊朗食品药品监督管理局（IFDA）、印度药品监督管理局（DCGI）、中国国家药品监督管理局（NMPA）等主要监管机构公开的营销批准信息编制而成。CTP：细胞治疗产品；CAR-T：嵌合抗原受体 T 细胞；HSC：造血干细胞；TCR-T：T 细胞受体工程化 T 细胞；MSC：间充质干/基质细胞。

The above product list is mainly based on marketing approval information publicly released by major regulatory agencies such as the US Food and Drug Administration (FDA), UK Medicines and Healthcare Products Regulatory Agency (MHRA), Japanese Ministry of Health, Labour and Welfare (MHLW), Pharmaceuticals and Medical Devices Agency (PMDA), Iranian Food and Drug Administration (IFDA), Drug Controller General of India (DCGI) and National Medical Products Administration (NMPA) of China. CTP: cell therapy product; CAR-T: chimeric antigen receptor T cells; HSC: hematopoietic stem cell; TCR-T: T cell receptor engineered T cells; MSC: mesenchymal stem/stromal cells.

1.3.2　给药途径与体内分布　静脉注射是常见给药途径，MSCs 因体积较大，绝大多数被肺毛细血管网截留并快速清除，其分布呈现特征性动态。研究表明，使用血管扩张剂（如哌唑嗪）可改变 MSCs 肺部分布特征（消除第二峰），适当提高靶组织暴露量（但对其向肝等靶组织富集的促进作用尚待证实）[33]。与 MSCs 不同，CAR-T 细胞较小（直径 7 ~ 10 μm），不易被肺毛细血管机械截留，且具备主动归巢至肿瘤病灶的能力[34]。

1.3.3　宿主微环境与病灶归巢　宿主的微环境是决定 CTPs 分布与滞留的关键。对于 CAR-T 细胞，靶抗原丰度是驱动其克隆扩增的核心信号[20,35]。在实体瘤中，抗原异质性及免疫抑制微环境会严重限制其浸润与持久性[36]。

MSCs 则通过趋化因子-受体轴〔如 CXCR4/基质细胞衍生因子-1（stromal cell-derived factor-1，SDF-1）〕响应组织损伤与炎症信号，引导其向病变部位定向迁移[27]。这一归巢过程是其发挥功能的前提，但效率受局部血流、血管完整性及炎症程度等多重微环境因素制约[26, 37]。

2　CTPs 的非临床 PK 研究设计要点

非临床 PK 研究旨在阐明 CTPs 在疾病模型中的体内过程，包括生物分布[4]、持久性和扩增动力学，这对于评估其有效性、安全性和潜在风险（如致瘤性、非靶向分布）至关重要[38-39]。

2.1　剂量与给药方案

剂量探索需设置涵盖有效至毒性范围的多剂量水平，并关注起效的“阈值剂量”[22]。以 CAR-T 细胞为例，其扩增呈剂量依赖性，超过最佳剂量后疗效不再提升，而毒性风险却在增加[36]。给药方案需基于能模拟临床病理的疾病模型进行优化。为克服生理屏障、提高靶组织递送效率，应针对性选择给药途径[3,6,32]。MSCs 的静脉给药受“肺首过效应”限制，而采用颈动脉注射可提升脑部递送效率，直接组织内注射（如肺脏[41]、卵巢[42]）则能实现局部高浓度定植[3,42]。鼻内给药虽无创，但向脑实质的迁移效率很低[43]。

2.2　采样时间点与观察周期

时间点的设计应能精准捕捉细胞动力学的关键阶段：分布期、扩增峰值期、收缩期及持久平台期。对于 MSCs 的 PK 研究，需重点关注短期分布（数小时至数天）和清除过程[43]。而 CAR-T 的 PK 研究则需设置长期监测（数周至数月），以充分观察其扩增动力学、峰值浓度及作用的持久性[24]。

2.3　样本类型与检测方法

2.3.1　多维度样本采集　同时采集血液、靶组织及非靶组织样本进行综合分析，构建完整的体内命运图谱。

2.3.2　互补检测技术　推荐采用成像技术（如全身成像、空间分布）与基因分子学技术（qPCR/dPCR）相结合的方法[4, 43]。其中，dPCR 因其基于终点检测的原理，在避免基质效应方面较 qPCR 更具优势；通过引入外参照基因校正，可进一步降低 DNA 回收率不一致带来的变异[40]。

2.3.3　方法学验证要求　检测方法须经过严格验证，包括线性范围、准确度、精密度等参数。特别需关注基质效应即样本中靶细胞以外的其他成分（如抑制剂）对检测过程的干扰，导致测定结果偏离真实值的现象[4]。

3　非临床 PK 前沿检测技术概况

CTPs 的体内命运监测离不开先进的检测技术。近年来，从分子定量到活体成像，非临床 PK 相关技术（图 1）均取得了显著进展，表 2 对各项非临床 PK 技术的优劣势和应用场景进行了总结。

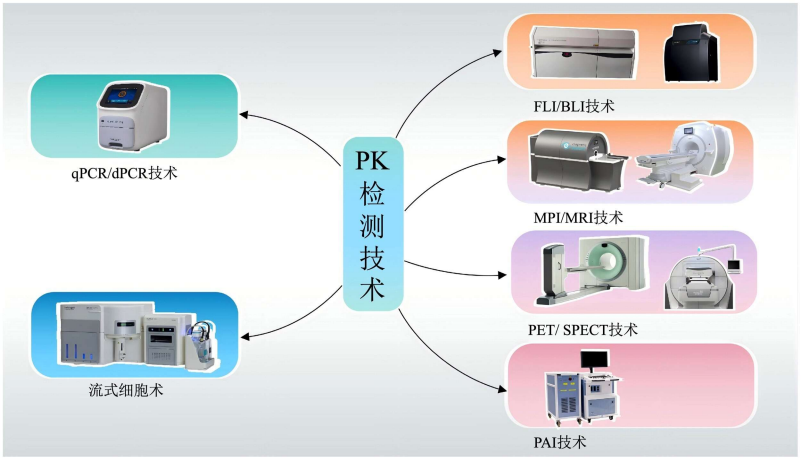


图 1 PK 检测技术。PK：药代动力学；qPCR：实时荧光定量 PCR；dPCR：数字 PCR；FLI：荧光成像；BLI：生物发光成像；MPI：磁粒子成像；MRI：磁共振成像；PET：正电子发射断层扫描；SPECT：单光子发射计算机断层成像术；PAI：光声成像。

Figure 1 PK detection technology. PK: pharmacokinetic; qPCR: quantitative real-time polymerase chain reaction; dPCR: digital polymerase chain reaction; FLI: fluorescence imaging; BLI: bioluminescence imaging; MPI: magnetic particle imaging; MRI: magnetic resonance imaging; PET: positron emission tomography; SPECT: single photon emission computed tomography; PAI: photoacoustic imaging.

表 2 细胞分布检测技术的比较

Table 2 Comparison of technologies for detecting the distribution of cell

技术	体内/体外	单细胞分辨率	优点	缺点	适用场景
qPCR	体外	否	高灵敏度，高特异性，应用广泛，无需标记	无法区分活细胞与死细胞，通量相对较低	病毒载量检测，基因表达分析，科研与基础研究
dPCR	体外	否	高灵敏度和低检测限，具备绝对定量能力，高准确度和高重复性	检测目标通量有限，成本相对较高	比较两种或多种生物样本之间基因表达的差异
流式细胞术	体外	是	区分活细胞与死细胞，高灵敏度和高特异性，细胞分选功能	无法提供空间位置信息，光谱串扰，依赖已知标记物	免疫学研究，细胞周期分析，细胞鉴定
BLI	体内	否	无需激发光源，背景噪声极低，具有高灵敏度和低毒性，适用于生物体的长期动态监测	深部组织成像能力有限；空间分辨率有限，定量分析需标准曲线	对活体生物体内的生物学过程进行实时、动态、无创的监测
FLI	体内	否	高灵敏度，多图像功能，实时动态观测，非侵入式	检测深度限制，高操作要求，光毒性与光漂白	适用于需要高灵敏度、高分辨率观察活体生物体内动态过程
PET	体内	否	无创性，高灵敏度，全身扫描，可量化	空间分辨率低，核素半衰期短（如^{18}F），辐射剂量相对较高	肿瘤诊断，神经疾病鉴别，评估心肌活力
SPECT	体内	否	成本较低，多种核素半衰期可选（如^{99m}Tc），辐射剂量相对较低	空间分辨率低，灵敏度较低，成像时间较长	心脏疾病评估，肿瘤诊断，神经疾病诊断，骨骼检查
MRI	体内	否	无辐射；软组织对比度清晰，多方位、多参数成像，功能与代谢成像	耗时较长，钙化和骨骼显示不佳，费用较高	神经检查，软组织检查，脏器及血管检查
MPI	体内	否	无电离辐射，高对比度和灵敏度，实时、高速成像，深度穿透能力，示踪剂安全性高	无法直接显示解剖结构，用于临床前研究、临床转化仍在探索阶段，成本高	心血管成像，癌症诊疗，细胞追踪，炎症斑块成像
PAI	体内	部分（仅光声显微模式）	高对比度分辨率，无创，无电离辐射，便携	成像深度受光散射的限制，分辨率随深度增加而降低，运动伪影和扫描速度受限	肿瘤早期诊断，细胞示踪，活体实时观测

单细胞分辨率判定标准：体外技术以能否实现单细胞水平检测为准，体内成像以在所用成像模式下能否区分单个细胞为准，细胞直径通常以 10～20 μm 为参考。FLI、PAI 用于整体动物成像时分辨率分别为 1～5 mm 和 1～200 μm，其中 PAI 仅在显微模式下可接近细胞尺度。

Single cell resolution determination criteria: *In vitro* techniques are judged by whether single-cell-level detection can be achieved, whereas *in vivo* imaging is judged by whether individual cells can be resolved under the imaging mode used. Cell diameter is typically taken as 10～20 μm for reference. When used for whole-animal imaging, FLI and PAI provide resolutions of approximately 1～5 mm and 1～200 μm, respectively; PAI can approach the cellular scale only in microscopy mode.

3.1　分子生物学水平：qPCR 与 dPCR

qPCR 与 dPCR 是基于物种特异性遗传标志物（如人源 Alu 序列[44]或 CAR 转基因[45]）进行定量的核心分子技术，具有高灵敏度与特异性，极大地推动了 CTPs 非临床 PK 研究的标准化[46-47]。在定量单位选择上，需根据分析目的进行优化。传统的“copies/μg gDNA”单位在细胞大量扩增时可能低估实际数量[48]，因此针对扩增动力学研究，推荐采用“copies/μL 血液”或“cells/mg 组织”等基于体积或质量的绝对单位，以减少宿主 gDNA 个体差异带来的偏差[49-50]。

在技术特性上，qPCR 具有动态范围宽、成本低的优点[4]，但为相对定量，易受样本基质效应干扰。dPCR 则基于泊松分布原理实现目标核酸分子初始浓度的绝对定量，无需标准曲线，对 PCR 抑制物耐受性更强[51-52]，在低拷贝样本中精密度与准确度更高，其高灵敏度（如≤50 copies/μg gDNA）可满足严格的监管验证要求。研究证实，两者在检测一致性方面表现良好[43]。

3.2　细胞水平：流式细胞术

流式细胞术是单细胞水平解析 CTPs 表型特征、功能状态及细胞命运的常用核心技术。在非临床 PK 研究中，该技术可系统表征给药后 CTPs 在血液、脾脏、骨髓等组织的亚群分布，并动态追踪其活化标志物（如 CD69、CD25）、增殖标志物（Ki67）及耗竭标志物〔如程序性死亡蛋白-1（programmed death protein-1，PD-1）、淋巴细胞活化基因-3（lymphocyte activation gene-3，LAG-3）和 T 细胞免疫球蛋白黏蛋白分子-3（T-cell immunoglobulin and mucin domain-containing protein-3，TIM-3）〕的表达时序变化[20-21]。值得注意的是，临床研究中已证实输注后峰值期 $CD4^+$CAR-T 细胞中 PD-1^+LAG-3^+共表达水平升高，以及 $CD8^+$CAR-T 细胞中 CD107a 表达降低，是长期疾病控制的早期正向预测因子，这些标志物在非临床模型中的动态变化可为临床转化提供重要参考。然而，鉴于不同 CAR 结构或共刺激域设计可能显著影响标志物表达模式，针对特定候选药物进行流式检测方案需进行个性化的方法学验证与优化[21]。

相较于分子生物学方法，流式细胞术可在单细胞分辨率直接定量活细胞的功能表型，但严格依赖于新鲜样本的即时处理与细胞活性保持，且检测灵敏度受限于细胞表面标志物的表达水平。研究人员[10]采用流式细胞术追踪静脉注射后外周血中荧光标记 MSCs 的数量动态。此外，流式细胞术也可有效监测体内 CAR-T 细胞扩增峰值、组织分布及表型演变（如耗竭标志物的诱导），从而建立 PK 与 PD、毒性终点的直接关联[21]。为实现 CTPs 命运的全面表征，流式细胞术建议与 qPCR/dPCR 等核酸检测技术联用，前者提供细胞功能状态信息，后者实现高灵敏度的组织分布定量，两者数据具有重要互补性[24]。

3.3　影像学检测技术

3.3.1　生物发光成像和荧光成像　生物发光成像（bioluminescence imaging，BLI）和荧光成像（fluorescence imaging，FLI）是光学成像的代表性技术。BLI 利用荧光素酶如荧光素酶（luciferase）催化底物氧化发光，灵敏度高，可实现长期纵向追踪，但组织穿透性有限，主要适用于小动物模型[53-54]。基于工程化细菌荧光素酶（*lux* 基因簇）的新型自主发光系统通过共表达底物合成基因（*luxCDEF*）与荧光素酶基因（*luxAB*），优化二者表达比例，使细胞无需外源添加底物即可持续产生生物发光信号。该技术避免了底物添加带来的细胞干扰与操作限制，可对 MSCs 的活力、增殖及毒性反应进行真正实时、连续、非侵入式的长时间监测，已应用于体外高通量筛选及体内细胞示踪[54]。FLI 则依赖荧光蛋白或染料，但易受组织自发荧光和穿透深度限制[37,53,56]。上述成像及标记技术被广泛用于评估干细胞在疾病及围产期等模型中的体内分布与归巢特性[27,42,55-56]、比较不同给药途径后的初始分布[6,14]、验证纳米载体或细胞对肿瘤的靶向能力[12,53]，以及追踪外泌体体内定植[13]。

3.3.2　正电子发射断层扫描和单光子发射计算机断层成像术　正电子发射断层扫描（positron emission tomography，PET）和单光子发射计算机断层成像术（single photon emission computed tomography，SPECT）是核医学领域中重要的功能成像技术，具有高灵敏度、全身成像和定量分析能力。PET 通过探测正电子

示踪剂湮灭时产生的成对γ光子实现定位与定量，可无创显示活体细胞代谢活动[57-58]。SPECT则通过准直器探测放射性示踪剂发射的单γ光子，经断层重建生成反映组织血流与功能的三维图像[59]。通过直接标记（如^{89}Zr-oxine[36]、^{89}Zr-DFO[58]、^{111}In-oxine[59]）或报告基因（如*HSV1-tk*[60]、*SSTR2*[3]、*hNIS*[61]）策略可实现CAR-T细胞或MSCs的体内追踪[43,62]。直接标记法操作简便，适用于中短期（数天）分布研究，有研究人员使用^{89}Zr-oxine标记揭示了CAR-T细胞的剂量依赖性分布及“肺-肝/脾-肿瘤”迁移路径[36]，并证实其在实体瘤模型中肿瘤靶向性的不足[35]。^{18}F-FDG标记MSCs则直观显示静脉、动脉、心肌内等不同给药途径对细胞初始分布的决定性影响，明确揭示了“肺首过效应”[3]。然而，直接标记存在标记物泄漏风险，且无法反映细胞增殖或长期存活[60]。报告基因法则具有标记活细胞的特性，信号与细胞功能状态相关，可实现长期监测，但需基因工程改造，存在工艺复杂性及基因沉默可能[59]。

双模态成像策略可互补优势，比如PET/CT结合^{89}Zr-oxine标记可长期监测MSC和CAR-T分布[63-65]，PET与近红外荧光（near infrared fluorescent, NIRF）成像联用兼具全身定量和高分辨定位能力，适用于CAR-T追踪[66]，BLI与PET信号高度一致，可相互验证活细胞位置[63]。此外，利用临床已批准的^{68}Ga-PSMA-617探针靶向表达PSMA报告基因的CAR-T细胞，通过PET/CT成像可实现长达14 d的肿瘤浸润动态监测[19]。

3.3.3 磁共振成像和磁粒子成像

磁共振成像（magnetic resonance imaging, MRI）利用强磁场与射频脉冲重建身体内部结构，提供高分辨率解剖信息，但在肺部等低信号器官中应用受限。^{19}F MRI通过引入全氟化碳纳米乳液实现“无背景”特异性成像，特别适用于肺部成像[41]。

磁粒子成像（magnetic particle imaging, MPI）则利用外加磁场驱动超顺磁性纳米颗粒产生非线性磁化信号，直接定位并定量探针三维分布，具有零背景、高灵敏度优势。在MSCs和肿瘤细胞追踪中，MPI的灵敏度显著优于^{19}F MRI（体外可检测低至4 000个细胞，而^{19}F MRI需数十万个细胞），且无组织背景信号干扰，但MPI设备尚处临床前阶段，且体内易受内源性铁信号干扰[67]。

3.3.4 光声成像

光声成像（photoacoustic imaging, PAI）结合光学对比与超声穿透优势，通过脉冲激光照射使吸收光能的分子（如血红蛋白）产生热膨胀超声波，实现兼具高对比度与深穿透力的无创成像。研究者开发了新型探针用于MSCs标记，首次实现了三维PAI对MSCs在肿瘤内分布的实时、定量、长程追踪[53]。NIR-II荧光/光声双模态探针（如MNP-PEG-H_2）标记人脐带MSCs，已成功用于急性肝衰竭模型中MSCs肝归巢的长期、高穿透追踪[68]。需注意，PAI穿透深度仍有限，更适用于浅表或小动物模型。

3.4 多模态数据整合分析策略

CTPs的体内过程复杂动态，单一技术存在局限。多模态整合策略通过互补技术的协同，构建“宏观可视化-精确定量-功能表征”[56]的分析体系，以提升数据可靠性并关联PK与药效学[69]。该策略常用“影像-分子”联用模式。研究人员在大鼠的PK研究中发现，结合活体成像、流式与qPCR可以系统地揭示MSCs细胞主要滞留于肺部并被清除的动力学特征[11]。不同技术联用可相互验证，强化结论[4]。对于CAR-T，报告基因PET/CT纵向监测联合终点流式/dPCR日益成为主流组合策略，既能实现全身动态可视化，又能通过交叉验证（如对比^{89}Zr-PET与BLI信号）准确解析细胞命运[16,21]。

多模态成像（如PET/MRI、光声/超声）能融合功能与解剖信息，提升时空分辨率，有助于评估CTPs在肺、肿瘤等组织中的三维分布异质性[36-37]。此外，示踪与表型分析的结合可揭示机制，如MSCs滞留后诱导巨噬细胞极化[26]，或通过CAR-T扩增峰值与耗竭表型预测疗效风险[20-21]。该策略还推动了诊疗一体化产品开发，如工程化CAR-T细胞（Thor-cells）可同时实现PET长期示踪与靶向放射治疗，体现了多模态整合的终极价值[58,70]。多模态整合通过技术互补与功能关联，为全面刻画CTPs体内过程提供了关键支撑，是优化个体化治疗与推动临床转化的核心手段[7,59]。

4　CTPs 非临床 PK 生物模型选择策略

4.1　体内模型选择策略

4.1.1　免疫缺陷动物模型　免疫缺陷小鼠是临床前 PK 研究的基础模型，其中 NOD-SCID IL2Rγ null（NSG）小鼠因缺乏功能性 T、B、自然杀伤细胞，可支持人源细胞（如 MSCs、CAR-T）的长期植入和存活，被广泛用于研究细胞的分布、迁移和持久性[2,35-36]。利用该模型成功追踪了 CAR-T 细胞向淋巴瘤病灶的迁移[36]及 MSCs 在肺内的首过分布[71]。然而，该模型缺乏功能性人源免疫系统，无法模拟免疫介导的细胞清除或毒性反应，因此需结合免疫系统人源化模型进行更全面的 PK 评估[72]。

4.1.2　免疫系统人源化模型　通过将人源 $CD34^+$ 造血干细胞或外周血单核细胞移植到免疫缺陷小鼠，可重建人类免疫系统组分[73]。该模型能够模拟人体内复杂的免疫微环境，适用于评估 CAR-T 细胞的持久性、免疫突触形成以及移植物抗宿主病等免疫相关 PK 特征[7]，是向临床转化的重要桥梁。

4.1.3　疾病相关模型　疾病相关模型是评估病理环境下 CTPs 药代-药效动力学关系的核心工具[36-37]。常用模型主要包括两类：其中一类是肿瘤模型（如胶质瘤、淋巴瘤），用于评价 CAR-T 等产品的靶向浸润[35,74]；另一类是损伤或疾病模型（如脊髓损伤、肝纤维化、卵巢早衰），用于研究 MSCs 的归巢与修复功能[27,42]。研究显示，病理微环境会显著影响细胞分布，在急性肝损伤模型中，MSCs 的肝内归巢明显受阻[33]。此外，不同给药途径（如经眶后静脉丛注射）可优化细胞向特定靶器官（如脑部）的递送效率[75]。这些模型为理解 CTPs 在疾病状态下的体内行为提供了关键依据[37,76]。

4.2　体外模型选择策略

传统 2D 培养无法模拟体内复杂的三维结构和细胞间相互作用[77]，新型体外模型正成为弥补这一差距的有力工具。3D 培养与类器官通过模拟三维空间结构，为 CTPs 研究提供了更生理相关的体外模型，其可增强 MSCs 功能[33,78]，并用于评估CAR-T 细胞的浸润与杀伤，类器官则能再现器官的关键结构与功能，适用于研究 CTPs 的迁移与作用模式[29,51]。器官芯片作为微生理系统的核心技术，利用微流控在芯片上模拟器官的生理特征[79]。通过构建多器官芯片，可研究系统性的代谢与毒理反应[80]。尽管面临标准化等挑战，但其在个体化医疗与转化研究中仍具有巨大的潜力[7]。

4.3　定量模型选择策略

4.3.1　定量系统药理学模型　定量系统药理学（quantitative systems pharmacology，QSP）模型整合药理学、系统生物学与计算建模[7]，通过数学方法动态模拟药物与复杂生物网络（如细胞亚型互作、细胞因子释放、肿瘤负荷及宿主免疫状态）的相互作用[81]，从分子到整体水平揭示 CTPs 的作用机制并预测临床结果，用于优化研发决策及个体化治疗策略[82]。

4.3.2　药代-药效动力学模型　药代-药效动力学（pharmacokinetics-pharmacodynamics，PK-PD）模型通过数学链接定量描述 CTPs 体内暴露量（浓度-时间过程）与药理效应（如靶细胞杀伤、细胞因子释放）的时空关系[7]，利用效应室模型解释浓度与效应间可能存在的滞后现象[20]，为给药方案优化及临床剂量预测提供依据[10]。

4.3.3　生理药代动力学模型　生理药代动力学（physiologically based pharmacokinetic，PB-PK）模型基于机体真实生理参数（如器官血流量、组织容积、细胞膜通透性等）构建[83]，通过模拟 CTPs 在各组织器官的分布、代谢与清除过程，实现从非临床动物向人体的机制化外推，是预测人体 PK 特征及指导首次人体实验设计的重要工具[10]。

5　CTPs 在非临床 PK 研究的法规指南要求

全球主要监管机构对 CTPs 的 PK 研究要求存在差异，但核心均聚焦于阐明细胞在体内的动态分布[84]。美国食品药品监督管理局（Food and Drug Administration，FDA）强调使用高灵敏度检测技术（如 qPCR）[51-52]，并关注新型定量单位的药理学意义[50]。对于某些特性明确的基因修饰细胞（如 CAR-T）基于目前 qPCR 或 dPCR 的技术水平，可进行豁免详细分布研究[4]。欧洲药品管理局（European Medicines Agency，EMA）侧重于全面评估细胞存活、迁移、分化及致瘤性风险。日本厚生劳动省

(Ministry of Health, Labour and Welfare, MHLW)则关注分布定位的精确性及对血脑屏障等关键屏障的穿透能力[72]。

2023 年人用药品技术要求国际协调理事会(International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use, ICH)发布的 S12 指南为相关产品提供了系统性框架,其核心是将研究重点转向“生物分布”的综合评价。它要求在相关动物模型中,通过多时间点采样,采用以核酸扩增技术为主的多技术验证策略,并特别关注免疫反应影响、生殖组织分布风险等[84-85]。

各监管机构普遍关切细胞的体内分布与归巢模式、在靶组织与非靶组织的滞留时间、对生物屏障的穿透能力[86]以及最终清除命运[87],并强调这些 PK 特征需与药效和毒性关联。尽管不强制要求全程符合药物非临床研究质量管理规范(good laboratory practice, GLP),但关键安全性研究需确保数据质量与可重复性[7]。

6 其他新兴 CTPs 的 PK 研究前沿

6.1 CRISPR/Cas9 编辑细胞

该类产品的 PK 研究核心在于编辑组分(如 RNP 复合物)在体内的生物分布、细胞摄取效率以及编辑效果的持久性[88-89]。研究[90]显示,经纳米颗粒〔如脂质纳米颗粒(lipid nanoparticle, LNP)〕递送的编辑组分主要富集于肝脏、脾脏。编辑活性可呈瞬时性〔核糖核蛋白(ribonucleoprotein, RNP)形式〕或持续性(病毒载体整合)[91]。其评估多采用报告基因动物模型或疾病模型,通过活体成像、qPCR 及深度测序等技术定量分析分布与编辑效率[92-93]。

6.2 通用型 CAR-T 细胞

通用型 CAR-T 细胞的 PK 特征与传统药物截然不同,其核心参数包括体内扩增峰值[94]、达峰时间及衰减动力学[95]。这些特征受肿瘤负荷、宿主免疫环境及产品表型等多种因素影响[96]。非临床研究主要在免疫缺陷或人源化小鼠肿瘤模型中进行,通过流式细胞术、qPCR 或 BLI 监测其在外周血及组织(尤其是肿瘤)中的数量与分布[96-97]。此外,PK 模型有助于模拟其在实体瘤异常微环境中的递送障碍[98]。

6.3 干细胞外泌体

干细胞外泌体是一种“无细胞治疗”策略,其 PK 研究聚焦于体内半衰期、生物分布趋向性及靶组织摄取效率[99-100]。天然外泌体易被肝脏、脾脏快速清除[101],而通过表面工程化改造(如连接靶向配体)可延长半衰期并增强其在病变部位的富集[102-103]。其体内命运研究高度依赖灵敏的标记与追踪技术,放射性核素标记结合 PET 是目前最理想的定量方法[104],但需注意标记过程对其功能完整性的潜在影响[101,104]。

7 小结

CTPs 的非临床 PK 研究面临分析方法标准化不足、个体异质性显著、多技术整合困难等核心挑战。未来需通过人工智能融合多模态成像、开发先进标记与靶向技术、建立标准化模型与机制性 PK-PD建模等途径,实现对细胞体内命运的精准动态解析。研究设计应依据产品机制定制,整合多时间点采样与多模态策略。通过推动方法标准化与模型优化,非临床 PK 数据将能更好地指导临床转化。

参考文献

1 Gawne PJ, Man F, Blower PJ, *et al*. Direct cell radiolabeling for *in vivo* cell tracking with PET and SPECT imaging〔J〕. Chem Rev, 2022, 122(11): 10266-10318. doi: 10.1021/acs.chemrev.1c00767.

2 Yu H, Feng Y, Du WJ, *et al*. Off-the-shelf GMP-grade UC-MSCs as therapeutic drugs for the amelioration of CCl_4-induced acute-on-chronic liver failure in NOD-SCID mice〔J〕. Int Immunopharmacol, 2022, 113(PtA): 109408. doi: 10.1016/j.intimp.2022.109408.

3 Nose N, Nogami S, Koshino K, *et al*. ^{18}F FDG-labelled stem cell PET imaging in different route of administrations and multiple animal species〔J〕. Sci Rep, 2021, 11(1): 10896. doi: 10.1038/s41598-021-90383-4.

4 Fujita E, Yamamoto S, Hanada T, *et al*. Using qPCR and ddPCR to study biodistribution of cell therapy products a

multi-site evaluation[J]. Cytotherapy, 2025, 27(1): 51-65. doi: 10.1016/j.jcyt.2024.09.003.

5 Dahal S, Dayal S, Androjna C, *et al.* Adult mesenchymal stem cells and derivatives in improved elastin homeostasis in a rat model of abdominal aortic aneurysms[J]. Stem Cells Transl Med, 2022, 11(8): 850-860. doi: 10.1093/stcltm/szac043.

6 Wang X, Wang QH, Meng LJ, *et al.* Biodistribution-based administration of cGMP compliant human umbilical cord mesenchymal stem cells affects the therapeutic effect of wound healing[J]. Stem Cell Rev Rep, 2024, 20(1): 329-346. doi: 10.1007/s12015-023-10644-9.

7 Goto A, Moriya Y, Nakayama M, *et al.* DMPK perspective on quantitative model analysis for chimeric antigen receptor cell therapy advances and challenges[J]. Drug Metab Pharmacokinet, 2024, 56: 101003. doi: 10.1016/j.dmpk.2024.101003.

8 Piersigilli A, Carreira VS, Gervais F, *et al.* A pathologist's guide to non-clinical safety assessment of adoptive cell therapy products[J]. Toxicol Pathol, 2024, 52(8): 531-544. doi: 10.1177/01926233241298570.

9 Song YH, Wu JC, Liu Y, *et al.* The remodeling of ovarian function targeted delivery strategies for mesenchymal stem cells and their derived extracellular vesicles[J]. Stem Cell Res Ther, 2024, 15(1): 90. doi: 10.1186/s13287-024-03704-5.

10 Shan YL, Zhang MY, Tao E, *et al.* Pharmacokinetic characteristics of mesenchymal stem cells in translational challenges[J]. Signal Transduct Target Ther, 2024, 9(1): 242-268. doi: 10.1038/s41392-024-01936-8.

11 Hao XF, Zhu H, Qin C, *et al.* Study on preclinical safety and toxic mechanism of human umbilical cord mesenchymal stem cells in F344RG rats[J]. Stem Cell Rev Rep, 2024, 20(8): 2236-2252. doi: 10.1007/s12015-024-10780-w.

12 Xiao JF, Zeng LJ, Ding SS, *et al.* Umor-tropic adipose-derived mesenchymal stromal cell mediated Bi_2Se_3 nano-radiosensitizers delivery for targeted radiotherapy of non-small cell lung cancer[J]. Adv Healthc Mater, 2022, 11(8): 2200143-2200156. doi: 10.1002/adhm.202200143.

13 Chang Y, Zhang YC, Jiang YN, *et al.* From hair to colon: hair follicle-derived MSCs alleviate pyroptosis in DSS-induced ulcerative colitis by releasing exosomes in a Paracrine Manner[J]. Oxid Med Cell Longev, 2022, 2022: 9097530. doi: 10.1155/2022/9097530.

14 Shahani P, Mahadevan A, Mondal K, *et al.* Repeat intramuscular transplantation of human dental pulp stromal cells is more effective in sustaining Schwann cell survival and myelination for functional recovery after onset of diabetic neuropathy[J]. Cytotherapy, 2023, 25(11): 1200-1211. doi: 10.1016/j.jcyt.2023.07.011.

15 Kirkeby A, Nelander J, Hoban DB, *et al.* Preclinical quality, safety, and efficacy of a human embryonic stem cell-derived product for the treatment of Parkinson's disease, STEM-PD[J]. Cell Stem Cell, 2023, 30(10): 1299-1314. doi: 10.1016/j.stem.2023.08.014.

16 Fu WH, Parent EE, Gleba JJ, *et al.* PET imaging of thyroid-stimulating hormone receptor (TSHR) in oncocytic thyroid carcinoma for monitoring TSHR CAR T-cell therapy response[J]. Bioconjug Chem, 2025, 36(8): 1744-1752. doi: 10.1021/acs.bioconjchem.5c00235.

17 Gasanov VA, Kashirskikh DA, Khotina VA, *et al.* Genetically modified mesenchymal stromal/stem cells as a delivery platform for SE-33, a cathelicidin LL-37 analogue: preclinical pharmacokinetics and tissue distribution in C57BL/6 mice[J]. Antibiotics, 2025, 14(5): 429-452. doi: 10.3390/antibiotics14050429.

18 Kimbrel EA, Lanza R. Next generation stem cell-ushering in new era of cell based therapies[J]. Nat Rev Drug Discov, 2020, 19(7): 463-479. doi: 10.1038/s41573-020-0064-x.

19 Song XM, Zhang YR, Lv XY, *et al.* Noninvasive longitudinal PET/CT imaging of CAR T cells using PSMA reporter gene[J]. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2024, 51(4): 965-977. doi: 10.1007/s00259-023-06508-6.

20 Singh AP, Zheng X, Schmidt XL, *et al.* Development of a quantitative relationship between CAR-affinity, antigen abundance, tumor cell depletion and CAR-T cell expansion using a multiscale systems PK-PD model[J]. MAbs, 2020, 12(1): 1688616. doi: 10.1080/19420862.2019.1688616.

21 Pasvolsky O, Daher M, Alatrash G, *et al.* CARving the path to allogeneic CAR T cell therapy in acute myeloid leukemia[J]. Front Oncol, 2022, 11: 800110. doi: 10.3389/fonc.2021.800110.

22 Singh AP, Chen WB, Zheng XR, *et al.* Bench-to-bedside translation of chimeric antigen receptor (CAR) T cells using a multiscale systems pharmacokinetic-pharmacodynamic model a case study with anti-BCMA CAR-T[J]. CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol, 2021, 10(4): 362-376. doi: 10.1002/psp4.12598.

23 Plasschaert RN, Deandrade MP, Hull F, *et al.* High-throughput analysis of hematopoietic stem cell engraftment after intravenous and intracerebroventricular dosing[J]. Mol Ther, 2022, 30(10): 3209-3225. doi: 10.1016/j.ymthe.2022.05.022.

24 Ying ZT, He T, Wang XP, *et al.* Distribution of chimeric antigen receptor-modified T cells against CD19 in B-cell malignancies[J]. BMC Cancer, 2021, 21(1): 198. doi: 10.1186/s12885-021-07934-1.

25 Chan AM, Sampasivam Y, Lokanathan Y. Biodistribution of mesenchymal stem cells (MSCs) in animal models and implied role of exosomes following systemic delivery of MSCs: a systematic review[J]. Am J Transl Res, 2022, 14(4): 2147-2161.

26 Shuster-Hyman H, Siddiqui F, Gallagher D, *et al.* Time course and mechanistic analysis of human umbilical cord perivascular cell mitigation of lipopolysaccharide-induced systemic and neurological inflammation[J]. Cytotherapy, 2023, 25(2): 125-137. doi: 10.1016/j.jcyt.2022.10.014.

27 Takamiya S, Kawabori M, Yamazaki K, *et al.* Intravenous transplantation of amnion-derived mesenchymal stem cells promotes functional recovery and alleviates intestinal dysfunction after spinal cord injury[J]. PLoS One, 2022, 17(7): e0270606. doi: 10.1371/journal.pone.0270606.

28 Han YY, Yang JX, Fang JK, *et al.* The secretion profile of mesenchymal stem cells and potential applications in treating human diseases[J]. Signal Transduct Target Ther, 2022, 7(1): 92. doi: 10.1038/s41392-022-00932-0.

29 Joshi S, Allabun S, Ojo S, *et al.* Enhanced drug delivery system using mesenchymal stem cells and membrane-coated nanoparticles[J]. Molecules, 2023, 28(5): 2130. doi: 10.3390/molecules28052130.

30 Rocha FA, Silveira CR, Santos AF, *et al.* Development of a highly cytotoxic, clinical-grade virus-specific T cell product for adoptive T cell therapy[J]. Cell Immunol, 2024, 395-396: 104795. doi: 10.1016/j.cellimm.2023.104795.

31 Stern LA, Gholamin S, Moraga I, *et al.* Engineered IL13 variants direct specificity of IL13Rα2-targeted CAR T cell therapy[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2022, 119(33): e2112006119. doi: 10.1073/pnas.2112006119.

32 Zhou T, Yuan Z, Weng JY, *et al.* Challenges and advances in clinical applications of mesenchymal stromal cells[J]. J Hematol Oncol, 2021, 14(1): 24. doi: 10.1186/s13045-021-01037-x.

33 Han L, Ma CH, Peng HG, *et al.* Define mesenchymal stem cell from its fate: biodisposition of human mesenchymal stem cells in normal and concanavalin A-induced liver injury mice[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2021, 379(2): 125-133. doi: 10.1124/jpet.121.000607.

34 Kiru L, Zlitni A, Tousley AM, *et al. In vivo* imaging of nanoparticle-labeled CAR T cells[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2022, 119(6): e2102363119. doi: 10.1073/pnas.2102363119.

35 Lee SH, Soh H, Chung JH, *et al.* Feasibility of real-time *in vivo* ^{89}Zr-DFO-labeled CAR T-cell trafficking using PET imaging[J]. PLoS One, 2020, 15(1): e0223814. doi: 10.1371/journal.pone.0223814.

36 Sta Maria N S, Khawli L A, Pachipulusu V, *et al.* Spatio-temporal biodistribution of ^{89}Zr-oxine labeled huLym-1-A-BB3z-CAR T-cells by PET imaging in a preclinical tumor model[J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 15077. doi: 10.1038/s41598-021-94490-0.

37 Huang J, Huang J, Ning XY, *et al.* CT/NIRF dual-modal imaging tracking and therapeutic efficacy of transplanted mesenchymal stem cells labeled with Au nanoparticles in silica-induced pulmonary fibrosis[J]. J Mater Chem B, 2020, 8(8): 1713-1727. doi: 10.1039/c9tb02652e.

38 Nakayama M, Moriya Y, Ueno H, *et al.* Considerations in biodistribution evaluation of iPSC-derived cell therapy: a pancreatic islet cell case study [J]. Mol Ther Methods Clin Dev, 2025, 33(3): 101538. doi: 10.1016/j.omtm.2025.101538.

39 Zhuang WZ, Lin YH, Su LJ, *et al.* Mesenchymal stem/stromal cell-based therapy: mechanism, systemic safety and biodistribution for precision clinical applications[J]. J Biomed Sci, 2021, 28(1): 28. doi: 10.1186/s12929-

021-00725-7.

40 Kou X, Zhu D, Zhang Y, *et al.* Novel cell quantification method using a single surrogate calibration curve across various biological samples[J]. AAPS J, 2023, 25(2): 28. doi: 10.1208/s12248-023-00791-9.

41 Rizzo S, Padelli F, Rinaldi E, *et al.* 7-T MRI tracking of mesenchymal stromal cells after lung injection in a rat model[J]. Eur Radiol Exp, 2020, 4(1): 54. doi: 10.1186/s41747-020-00183-0.

42 Feng XS, Ling L, Zhang WQ, *et al.* Effects of human amnion-derived mesenchymal stem cell (hAD-MSC) transplantation *in situ* on primary ovarian insufficiency in SD rats [J]. Reprod Sci, 2020, 27(7): 1502-1512. doi: 10.1007/s43032-020-00147-0.

43 Wang F, Wang Z, Wang F, *et al.* Comparative strategies for stem cell biodistribution in a preclinical study[J]. Acta Pharmacol Sin, 2020, 41(4): 572-580. doi: 10.1038/s41401-019-0313-x.

44 Park S J, Kim D S, Choi M, *et al.* Preclinical Evaluation of interferon-gamma primed human Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells [J]. Hum Exp Toxicol, 2023, 42: 1-11. doi: 10.1177/09603271231171650.

45 Wang W, Al-Hajj M, Alavi AS. Detection and quantification of integrated vector copy number by multiplex droplet digital PCR in dual-transduced CAR T cells[J]. Mol Ther Methods Clin Dev, 2023, 30: 403-410. doi: 10.1016/j.omtm.2023.07.003.

46 Poletto E, Pinheiro CV, Schuh RS, *et al.* Biodistribution of transplanted hematopoietic precursor cells injected through different administration routes in newborn mice [J]. Hum Gene Ther, 2021, 32(9/10): 495-505. doi: 10.1089/hum.2019.191.

47 Yang TY, Doddareddy R. Considerations in the development and validation of real-time quantitative polymerase chain reaction and its application in regulated bioanalysis to characterize the cellular kinetics of CAR-T products in clinical studies[J]. Bioanalysis, 2021, 13(2): 115-128. doi: 10.4155/bio-2020-0221.

48 Benatti HR, Anagnostakou V, Taghian T, *et al.* A minimally invasive endovascular approach to the cerebellopontine angle cistern enables broad CNS biodistribution of scAAV9-CB-GFP[J]. Mol Ther, 2024, 32(10): 3346-3355. doi: 10.1016/j.ymthe.2024.08.024.

49 Cho YW, Yoon J, Song SG, *et al.* Mitochondrial DNA as a target for analyzing the biodistribution of cell therapy products[J]. Sci Rep, 2024, 14(1): 7934. doi: 10.1038/s41598-024-56591-4.

50 Yamamoto S, Matsumoto SI, Goto A, *et al.* Quantitative PCR methodology with a volume-based unit for the sophisticated cellular kinetic evaluation of chimeric antigen receptor T cells[J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 17884. doi: 10.1038/s41598-020-74927-8.

51 Hays A, Wissel M, Colletti K, *et al.* Recommendations for method development and validation of qPCR and dPCR assays in support of cell and gene therapy drug development [J]. AAPS J, 2024, 26(1): 24. doi: 10.1208/s12248-023-00880-9.

52 Sugimoto H, Chen S, Minembe JP, *et al.* Insights on droplet digital PCR-based cellular kinetics and biodistribution assay support for CAR-T cell therapy[J]. AAPS J, 2021, 23(2): 36. doi: 10.1208/s12248-021-00560-6.

53 Ning P, Chen YN, Bai QW, *et al.* Multimodal imaging-guided spatiotemporal tracking of photosensitive stem cells for breast cancer treatment[J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2022, 14(6): 7551-7564. doi: 10.1021/acsami.1c13072.

54 Conway M, Xu TT, Kirkpatrick A, *et al.* Real-time tracking of stem cell viability, proliferation, and differentiation with autonomous bioluminescence imaging[J]. BMC Biol, 2020, 18(1): 79. doi: 10.1186/s12915-020-00815-2.

55 Smeets LC, Sengun E, Trayford C, *et al.* Gold Mesoporous silica-coated nanoparticles for quantifying and qualifying mesenchymal stem cell distribution: a proof of concept study in large animals[J]. ACS Appl Bio Mater, 2025, 8(2): 1511-1523. doi: 10.1021/acsabm.4c01714.

56 Belmar-Lopez C, Vassaux G, Medel-Martinez A, *et al.* Mesenchymal stem cells delivery in individuals with different pathologies multimodal tracking, safety and future applications[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(3): 1682. doi: 10.3390/ijms23031682.

57 Xie XL, Zhai J, Zhou XY, *et al.* Magnetic particle imaging from tracer design to biomedical applications in vascu-

lature abnormality [J]. Adv Mater, 2024, 36(17): 2306450. doi: 10.1002/adma.202306450.

58 Kurtz K, Eibler L, Dacek MM, *et al.* Engineering CAR-T cells for radiohapten capture in imaging and radioimmunotherapy applications [J]. Theranostics, 2023, 13(15): 5469-5482. doi: 10.7150/thno.87489.

59 Ren ML, Yao BL, Han B, *et al.* Nuclear imaging of CAR-T immunotherapy to solid tumors in terms of biodistribution, viability, and cytotoxic effect [J]. Adv Biol (Weinh), 2023, 7(6):e2200293. doi: 10.1002/adbi.202200293.

60 Leland P, Kumar D, Nimaggada S, *et al.* Characterization of chimeric antigen receptor modified T cells expressing scFv-IL-13Rα2 after radiolabeling with ^{89}Zirconium oxine for PET imaging[J]. J Transl Med, 2023, 21(1): 367. doi: 10.21203/rs.3.rs-2242559/v1.

61 Yang R, Lu M, Ming L, *et al.* ^{89}Zr-Labeled multifunctional liposomes conjugate chitosan for PET-trackable triple-negative breast cancer stem cell targeted therapy[J]. Int J Nanomedicine, 2020, 15: 9061-9074. doi: 10.2147/IJN.S262786.

62 Perais J, Agarwal R, Evans JR, *et al.* Prognostic factors for the development and progression of proliferative diabetic retinopathy in people with diabetic retinopathy [J]. Cochrane Database Syst Rev, 2023, 2(2): CD013775. doi: 10.1002/14651858.CD013775.pub2.

63 Patrick PS, Kolluri KK, Thin MZ, *et al.* Lung delivery of MSCs expressing anti-cancer protein TRAIL visualised with ^{89}Zr-oxine PET-CT[J]. Stem Cell Res Ther, 2020, 11(1): 256. doi: 10.1186/s13287-020-01770-z.

64 Kim SY, Soh H, Jung JH, *et al.* Direct and indirect chimeric antigen receptor T-Cell imaging with PET/MRI in a tumor xenograft model [J]. Radiology, 2024, 310(2): e231406. doi: 10.1148/radiol.231406.

65 Wang SZ, Wang Y, Xu BH, *et al.* Biodistribution of ^{89}Zr-oxine-labeled human bone marrow-derived mesenchymal stem cells by micro-PET computed tomography imaging in sprague-dawley rats[J]. Nucl Med Commun, 2022, 43(7): 834-846. doi: 10.1097/MNM.0000000000001562.

66 Harmsen S, Medine MI, Moroz M, *et al.* A dual-modal PET/near infrared fluorescent nanotag for long-term immune cell tracking[J]. Biomaterials, 2021, 269: 120630. doi: 10.1016/j.biomaterials.2020.120630.

67 Sehl OC, Foster PJ. The sensitivity of magnetic particle imaging and fluorine-19 magnetic resonance imaging for cell tracking[J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 22198. doi: 10.1038/s41598-021-01642-3.

68 Cai WW, Sun JH, Sun Y, *et al.* NIR-II FL/PA dual-modal imaging long-term tracking of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells labeled with melanin nanoparticles and visible HUMSC-based liver regeneration for acute liver failure[J]. Biomater Sci, 2020, 8(23): 6592-6602. doi: 10.1039/d0bm01221a.

69 Wuttisarnwattana P, Eid S, Wilson DL, *et al.* Assessment of therapeutic role of mesenchymal stromal cells in mouse models of graft-versus-host disease using cryo-imaging[J]. Sci Rep, 2023, 13(1): 1698. doi: 10.1038/s41598-023-28478-3.

70 Sun ZC, Li RT, Shen Y, *et al.* In situ antigen modification-based target-redirected universal chimeric antigen receptor T (TRUE CAR-T) cell therapy in solid tumors[J]. J Hematol Oncol, 2022,15(1):29. doi:10.1186/s13045-022-01246-y.

71 Suurs FV, Lorenczewski G, Stienen S, *et al.* The Biodistribution of a CD3 and EpCAM bispecific T-cell engager is driven by the CD3 arm[J]. J Nucl Med, 2020, 61(11): 1594-1601. doi: 10.2967/jnumed.120.241877.

72 Kamiyama Y, Naritomi Y, Moriya Y, *et al.* Biodistribution studies for cell therapy products current status and issues [J]. Regen Ther, 2021, 18: 202-216. doi: 10.1016/j.reth.2021.06.005.

73 Uchiyama A, Naritomi Y, Hashimoto Y, *et al.* Understanding quantitative polymerase chain reaction bioanalysis issues before validation planning Japan Bioanalysis Forum discussion group[J]. Bioanalysis, 2022, 14(21): 1391-1405. doi: 10.4155/bio-2022-0190.

74 Littrell CA, Takacs GP, Sankara CS, *et al.* Systemically targeting monocytic myeloid-derived suppressor cells using dendrimers and their cell-level biodistribution kinetics[J]. J Control Release, 2024, 374: 181-193. doi: 10.1016/j.jconrel.2024.08.003.

75 Siemionow M, Brodowska S, Langa P, *et al.* Long-term biodistribution and safety of human dystrophin expressing chimeric cell therapy after systemic-intraosseous adminis-

tration to duchenne muscular dystrophy model[J]. Arch Immunol Ther Exp (Warsz), 2022, 70(1): 20. doi: 10.1007/s00005-022-00656-7.

76 Al-Dhamin Z, Liu LD, Li DD, *et al.* Therapeutic efficiency of bone marrow-derived mesenchymal stem cells for liver fibrosis a systematic review of *in vivo* studies[J]. World J Gastroenterol, 2020, 26(47): 7444-7469. doi: 10.3748/wjg.v26.i47.7444.

77 Athiel Y, Nasone J, Arakelian L, *et al.* Biodistribution of allogenic umbilical cord-derived mesenchymal stromal cells after fetal repair of myelomeningocele in an ovine model[J]. Stem Cell Res Ther, 2022, 13(1): 300. doi: 10.1186/s13287-022-02991-0.

78 Wissel M, Poirier M, Satterwhite C, *et al.* Recommendations on qPCR/ddPCR assay validation by GCC[J]. Bioanalysis, 2022, 14(12): 853-863. doi: 10.4155/bio-2022-0109.

79 Ma HY, Bell KN, Loker RN, *et al.* qPCR and qRT-PCR analysis: regulatory points to consider when conducting biodistribution and vector shedding studies[J]. Mol Ther Methods Clin Dev, 2020, 20: 152-168. doi: 10.1016/j.omtm.2020.11.007.

80 Wen HR, Huang Y, Hou TT, *et al.* Determination of the biodistribution of chimeric antigen receptor-modified T cells against CD19 in NSG mice[J]. Methods Cell Biol, 2022, 167: 15-37. doi: 10.1016/bs.mcb.2021.08.003.

81 Beraza-Millor M, Rodriguez-Castejon J, Pozo-Rodriguez AD, *et al.* Systematic review of genetic substrate reduction therapy in lysosomal storage diseases: opportunities, challenges and delivery systems[J]. BioDrugs, 2024, 38(5): 657-680. doi: 10.1007/s40259-024-00674-1.

82 Zhang YJ, Huang JZ, Huang SB, *et al.* Construction and characterization of a humanized SLCO1B1 rat model with its application in evaluating the uptake of different statins[J]. Acta Pharm Sin B, 2024, 14(4): 1592-1604. doi: 10.1016/j.apsb.2023.12.019.

83 Serai SD, Ho ML, Artunduaga M, *et al.* Components of a magnetic resonance imaging system and their relationship to safety and image quality[J]. Pediatr Radiol, 2021, 51(5): 716-723. doi: 10.1007/s00247-020-04894-9.

84 Loo L, Harris S, Milton M, *et al.* 2021 White paper on recent issues in bioanalysis: TAb/NAb, viral vector CDx, shedding assays; CRISPR/Cas9 & CAR-T immunogenicity; PCR & vaccine assay performance; ADA assay comparability & cut point appropriateness (part 3-recommendations on gene therapy, cell therapy, vaccine assays; immunogenicity of biotherapeutics and novel modalities; integrated summary of immunogenicity harmonization)[J]. Bioanalysis, 2022, 14(11): 737-793. doi: 10.4155/bio-2022-0081.

85 Chen N, Sun K, Chemuturi NV, *et al.* The perspective of dMPK on recombinant adeno-associated virus-based gene therapy: past learning, current support, and future contribution[J]. AAPS J, 2022, 24(1): 31. doi: 10.1208/s12248-021-00678-7.

86 Qi T, McGrath K, Ranganathan R, *et al.* Cellular kinetics a clinical and computational review of CAR-T cell pharmacology[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2022, 188: 114421. doi: 10.1016/j.addr.2022.114421.

87 Shahani P, Kaushal A, Waghmare G, *et al.* Biodistribution of intramuscularly transplanted human dental pulp stem cells in immunocompetent healthy rats through NIR imaging[J]. Cells Tissues Organs, 2020, 209(4-6): 215-226. doi: 10.1159/000511569.

88 Tashima T. Non-invasive delivery of CRISPR/Cas9 ribonucleoproteins (Cas9 RNPs) into cells via nanoparticles for membrane transport[J]. Pharmaceutics, 2025, 17(2): 201. doi: 10.3390/pharmaceutics17020201.

89 Bataa D, Kajiura H, Sawada-Choi RLS, *et al.* CRISPR/Cas9-mediated knockouts of the ALG3 and GNTI in N. benthamiana and their application to pharmaceutical production[J]. Plant Biotechnol J, 2025, 23(12): 5894-5916. doi: 10.1111/pbi.70326.

90 Swase DT, Reuben SD, Solomon A. Nanoparticles in HIV treatment for improved drug delivery, clinical translation, and future direction[J]. Discov Nano, 2026, 21(1): 6. doi: 10.1186/s11671-025-04427-z.

91 Haghighi E, Abolmaali SS, Dehshahri A, *et al.* Navigating the intricate *in-vivo* journey of lipid nanoparticles tailored for the targeted delivery of RNA therapeutics: a quality-by-design approach[J]. J Nanobiotechnol, 2024, 22(1): 710. doi: 10.1186/s12951-024-02972-w.

92 Rayad N, Chowdhury EA, Meno-Tetang GML. The impact of QSP modeling on the design and optimization of gene therapy approaches[J]. CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol,

2025,14(11):1760-1764. doi: 10.1002/psp4.70131.

93 Zhang HY, Chen J, Tang XJ, *et al.* Research progress and application prospect of engineered small extracellular vesicles[J]. Cell Transplant, 2026, 35: 09636897251409473. doi: 10.1177/09636897251409473.

94 Burdo TH, Chen C, Kaminski R, *et al.* Preclinical safety and biodistribution of CRISPR targeting SIV in non-human primates[J]. Gene Ther, 2024, 31(5-6): 224-233. doi: 10.1038/s41434-023-00410-4.

95 Rodriguez-Otero P, Donk NW, Pillarisetti K, *et al.* GPRC5D as a novel target for the treatment of multiple myeloma: a narrative review[J]. Blood Cancer J, 2024, 14(1): 24. doi: 10.1038/s41408-023-00966-9.

96 Murias-Closas A, Prats C, Calvo G, *et al.* Computational modelling of CAR T-cell therapy: from cellular kinetics to patient-level predictions[J]. EBioMedicine, 2025, 113: 105597. doi: 10.1016/j.ebiom.2025.105597.

97 Varela-Gonzalez-Aller J, Sanchez-Salinas MA, Troconiz I, *et al.* Towards personalized lymphodepletion: a population pharmacokinetic fludarabine model in patients receiving CAR T-cell therapy[J]. Pharmaceutics, 2025, 17(12): 1592. doi: 10.3390/pharmaceutics17121592.

98 Hadjigeorgiou AG, Munn LL, Stylianopoulos T, *et al.* Physiologically based pharmacokinetic model for CAR-T cell delivery and efficacy in solid tumor [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2025, 122(46): e2522634122. doi: 10.1073/pnas.2522634122.

99 Morishima Y, Kawabori M, Yamazaki K, *et al.* Intravenous administration of mesenchymal stem cell-derived exosome alleviates spinal cord injury by regulating neutrophil extracellular trap formation through exosomal miR-125a-3p[J]. Int J Mol Sci, 2024, 25(4): 2406. doi: 10.3390/ijms25042406.

100 Turano E, Scambi I, Virla F, *et al.* Extracellular vesicles from mesenchymal stem cells: towards novel therapeutic strategies for neurodegenerative diseases[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(3): 2917. doi: 10.3390/ijms24032917.

101 Yang CT, Lai RC, Phua JX, *et al.* Standard radio-iodine labeling protocols impaired the functional integrity of mesenchymal stem/stromal cell exosomes[J]. Int J Mol Sci, 2024, 25(7): 3742. doi: 10.3390/ijms25073742.

102 Zhang J, Song HJ, Dong YN, *et al.* Surface engineering of HEK293 cell-derived extracellular vesicles for improved pharmacokinetic profile and targeted delivery of IL-12 for the treatment of hepatocellular carcinoma[J]. Int J Nanomedicine,2023,18:209-223. doi: 10.2147/IJN.S388916.

103 Valiukevicius P, Maciulaitis J, Pangonyte D, *et al.* Human placental mesenchymal stem cells and derived extracellular vesicles ameliorate lung injury in acute respiratory distress syndrome murine model[J]. Cells, 2023, 12(23): 2729. doi: 10.3390/cells12232729.

104 Rosenkrans ZT, Thickens AS, Kink JA, *et al.* Investigating the *in vivo* biodistribution of extracellular vesicles isolated from various human cell sources using positron emission tomography[J]. Mol Pharm, 2024, 21(9): 4324-4335. doi: 10.1021/acs.molpharmaceut.4c00298.

(责任编辑:胡艳杰)