



致力法規科學  
守護生命健康

Regulatory Science, Service for Life

## 基因修飾細胞產品的開發與製造管控相關法規

黃豐淳<sup>1</sup>

### 前言

藥物開發的技術進展，從早期針對標的物結構或其受質，設計可反應性阻斷或結構上干擾標的物活性之小分子化合物為主。直至三十多年前開始<sup>[1]</sup>，利用基因工程重組技術、製備與標的物具相同活性之重組蛋白，或製備與標的物作用以阻斷其活性或引發免疫反應之重組單株抗體，開啟新一世代的藥品。近年來，隨著基因載體和基因修飾技術的發展漸趨成熟，使得藥物開發上有突破性的進展。以往認為無法根治之疾病可從基因層面進行治療，包括遺傳性基因缺陷疾病或是癌症，可利用體內或體外方式修復或補足特定細胞之基因缺陷，或是提供細胞重組基因而賦予特定功效，達到既有藥物無法完成的治療目標，因此，基因治療製劑被認為是下一世代的藥物開發重點。

基因治療應用快速發展，除了基因治療臨床試驗案逐年增加外，EMA 和 US FDA 也陸續核准許多基因治療製劑，其中，廣受注目的是利用病毒體外轉導而可攻擊腫瘤細胞的嵌合抗原受體 T 細胞(chimeric antigen receptor T cell, CAR-T)，其治療成效可滿足醫療上之迫切需求，如：Kymriah 於復發或難治性 B 細胞急性淋巴瘤之治療，由於其臨床上顯著療效，使 US FDA 於歷時七個月審查後即核准上市。自從 2017 年第一個 CAR-T 核准上市後，引爆全球對於 CAR-T 研發之熱潮，台灣亦有不少生技公司投入於 CAR-T 之開發。由於基因治療研發團隊大多屬研究單位或生技新創公司，多以實驗室小規模生產為製備起點，較不清楚藥物上市規模之整體開發過程，亦不了解法規審查需要之技術性資料內容<sup>[2]</sup>。為使投入開發 CAR-T 之生技公司及早了解基因修飾細胞(genetically modified cells)類型產品之國際法規要求，本文將探討基因修飾細胞相關應用、國際相關法規及可能面臨之挑戰。

### 基因修飾細胞相關技術與應用

基因修飾細胞係指含人造重組基因序列的細胞，通常是藉由以下步驟製備：1) 從合適之捐贈者或細胞 / 組織庫取得細胞或組織，並經由純化或挑選方式提高目標細胞比

<sup>1</sup> 財團法人醫藥品查驗中心藥劑科技組



率；2) 透過培養或活化來擴增以達到預期的細胞數；3) 利用合適載體或特定技術將目標基因送入細胞中進行基因修飾；及4) 基因修飾後的細胞會進行培養擴增之後續製程、調配製劑或冷凍儲存等。細胞製程須經由適當評估與設計，使基因修飾細胞能符合預期之整體特性，可依據臨床適應症、作用機轉、基因修飾目的以及基因修飾技術，選擇合適之修飾基因、基因傳送 / 修飾系統和細胞種類來設計基因修飾細胞的產品輪廓。

選擇修飾基因時，依臨床適應症和基因修飾目的，大致上可分為六類<sup>[3-4]</sup>：1) 修復 / 再生：基因修飾細胞用於填補或補充基因缺陷所造成之疾病，例如先天免疫缺陷之病人，取出病人造血幹細胞(hematopoietic stem cell, HSC)，於體外將缺陷基因補足或修復，使基因修飾的細胞可產生正常免疫功能，再回輸病人體內以補充有功能免疫細胞。另外，亦有用於心肌梗塞或硬骨修復的基因修飾細胞開發；2) 癌症治療：基因修飾細胞可靶向並毒殺腫瘤細胞或作為腫瘤疫苗以提升攻擊癌細胞之免疫能力，例如經基因修飾使免疫細胞表現嵌合抗原受體(chimeric antigen receptor, CAR)，透過 CAR 蛋白可標的於特定抗原並攻擊癌細胞；3) 感染性疾病治療：基因修飾細胞可直接攻擊病原體，或是透過基因修飾而免於病原體攻擊，例如造血幹細胞剔除 CCR5 受體後，可免於 HIV 病毒之感染；4) 免疫調節：基因修飾細胞用於調控或影響免疫活性，例如基因修飾之免疫細胞表現 PD-1 (programmed cell death protein 1) 蛋白以抑制免疫反應；(5) 自殺基因：使基因修飾細胞中帶有自殺基因，並於特定條件下啟動以殺死該細胞，例如：異體移植產生移植攻擊宿主疾病(graft-versus-host disease, GvHD)時，可誘發自殺基因將移植之基因修飾細胞移除；及 6) 製備多能幹細胞：基因修飾細胞會重編程(reprogramming)形成誘導性多能幹細胞 (induced pluripotent stem cell, iPSC)，例如人類纖維母細胞轉導 Oct4、Sox2, Nanog 和 Lin28 四個轉錄因子基因後形成 iPSC，並進一步誘導分化成多巴胺能細胞 (dopaminergic neuron cells)以治療帕金森氏症。

細胞來源可為自體或是同種異體，一般認為異體來源細胞會有排斥反應或產生 GvHD 之風險，故須進行人類白血球抗原(human leukocyte antigen, HLA)之配對。但可選擇排斥反應風險低之間質幹細胞 (mesenchymal stem cell, MSC)或產生 GvHD 風險低之自然殺手細胞(natural killer cells, NK cells)作為異體治療的細胞種類，另外，亦有開發通用(universal) T 細胞<sup>[5]</sup>的應用。基因修飾細胞所選用之細胞類型，通常會與預期開發之臨床適應症有關，依治療適應症可分為三類：1) 單基因缺陷之遺傳性疾病：為使基因修飾細胞能長期且持續於體內達到治療效果，會以自體幹細胞為基因修飾的目

台灣藥物法規  
資訊網法規公告台灣藥品  
臨床試驗資訊FDA  
TFDA 藥物  
食品安全週報致力法規科學  
守護生命健康

Regulatory Science, Service for Life

標細胞，如：MSC 或 HSC 等；2) 細胞免疫治療：須藉由活化免疫系統達到治療感染性疾病或癌症之目的，故須用免疫系統之細胞進行基因修飾，如：T 細胞、NK 細胞、樹突細胞 (dendritic cell, DC) 或巨噬細胞等；及 3) 特定組織之修復：針對須要修復之組織類型，以相對應之細胞類型進行基因修飾，如：軟骨細胞、心肌細胞或成骨細胞等。

基因修飾 / 傳送系統可分為病毒型基因載體(vector)、非病毒之載具 (carrier) 或利用物理 / 化學特性將修飾基因核苷酸或質體送入細胞中。為使修飾基因嵌入修飾細胞之基因體中，以達到長期之臨床治療效果，通常會選擇反轉錄病毒(retrovirus) 或慢病毒(lentivirus) 作為病毒載體之骨架，病毒載體在裝載修飾基因後，利用病毒轉導細胞之特性，將修飾基因送入細胞並嵌入基因體，使細胞表現該修飾基因。另外，亦可利用細胞穿透胜肽 (cell-penetrating peptide, CPP)、電穿孔 (electroporation)、脂質體 (liposome) 或脂聚合物 (lipopolymer) 等試劑或方法，將帶有修飾基因之核苷酸或質體送入細胞中。非病毒載體技術在早期往往因轉染效率不佳，或無法長期作用而遇到瓶頸，但已有新的技術可解決此議題，如：利用自然界跳躍子 (transposon) 機制，可使裸露 DNA 嵌入基因體中而具有長期表現治療效果，像是睡美人 (sleeping beauty) 跳躍子或 PiggyBac 跳躍子等；亦可利用支架 / 基質相關區域 (scaffold / matrix associated regions) 序列<sup>[6]</sup>，使送入的質體較穩定且長時間表現修飾基因。另外，亦有新穎之基因編輯技術 (gene editing technology) 可進行原位基因修飾，主要利用核酸酶在標的基因位置剪切出雙股斷裂 (double-stranded break)，再利用哺乳類細胞 DNA 修復系統進行基因之插入、剔除或置換。目前最熱門的技術是 CRISPR-Cas9 (clustered regularly interspaced short palindromic repeat / CRISPR-associated 9 nucleases)，然而，此技術仍有脫靶效應 (off-target effect) 的風險<sup>[7]</sup>，可能造成基因永久性的影響。故若使用此基因修飾系統時，必須使用剪切位高度正確性 (high-fidelity) 之 CRISPR-Cas9，亦須確認無任何脫靶效應 (off-target effect) 所造成的不正確編輯，以減少雖基因修復但造成更多基因異常的可能性。

## 國際法規單位對基因修飾細胞的認定

基因修飾細胞包含細胞和基因修飾兩大部分，各國對於細胞治療製劑或基因治療製劑皆有明確的定義，但基因修飾細胞之認定，究竟屬於基因治療製劑或是細胞治療製劑則仍有爭議。我國衛福部於 107 年發佈之「再生醫療製劑管理條例草案」，定義基因治





療製劑為：「以治療或預防人類疾病為目的，使人體內含有重組基因者」。US FDA 將基因治療製劑定義為：「All products that mediate their effects by transcription or translation of transferred genetic material or by specifically altering host genetic sequences.」，並且進一步說明<sup>[8]</sup>基因治療之作用機轉，可包括：正常基因取代導致疾病基因、移除功能失常之致病基因或送入新 / 修飾過之基因來治療疾病。而基因治療製劑的類型可為質體 DNA、病毒載體、細菌載體、基因修飾技術和基因修飾細胞等<sup>[8-9]</sup>。EMA 對基因治療製劑的定義則為：「(a) It contains an active substance which contains or consists of recombinant nucleic acid used in or administered to human beings with a view to regulating, repairing, replacing, adding or deleting a genetic sequence; (b) Its therapeutic, prophylactic or diagnostic effect relates directly to the recombinant nucleic acid sequence it contains, or to the product of genetic expression of this sequence.」<sup>[9]</sup>，並且特別說明治療感染性疾病之疫苗不屬於基因治療製劑的範疇。根據以上定義可歸納出，「基因治療製劑的重組基因須改變宿主原有基因序列，或須透過序列轉錄轉譯之產物，對預期適應症達到治療目的」，換句話說，重組基因如非直接改變基因序列或非直接與治療目的之作用機轉相關者，不屬於基因治療製劑。

EMA 特別發佈「Reflection paper on classification of advanced therapy medicinal products」<sup>[10]</sup>，說明先進治療產品(advanced therapy medicinal products, ATMP)分類的認定方式，其中有兩個例子與基因修飾細胞相關。其一，樹突細胞於體外以電穿孔方式送入重組 mRNA，此 mRNA 會轉譯出腫瘤細胞特有抗原，將樹突細胞回輸癌症病患體內後，可誘導產生抗腫瘤細胞的免疫反應。EMA 認為該 mRNA 是製備樹突細胞過程中的一個中間物，回輸病人時該 mRNA 已經無殘留或含量相當低，雖 mRNA 轉譯後改變了細胞表徵(phenotype)，但並未改變細胞的基因型(genotype)，故此送入重組 mRNA 之樹突細胞被認定為細胞治療製劑。另一個例子，基因修飾 T 細胞帶有外源胸苷激酶(thymidine kinase)基因，用於造血幹細胞異體移植後輔助重建免疫系統之目的，而此外源胸苷激酶基因係作為自殺基因，在異體移植後發生 GvHD 時，可給予 ganciclovir 來移除此基因修飾 T 細胞。由於此外源胸苷激酶基因修飾並非直接與輔助重建免疫系統之治療目的有關，故 EMA 認為此基因修飾 T 細胞屬於細胞治療製劑。但 EMA 特別解釋，雖特定基因修飾細胞不屬於基因治療製劑，但仍須考量基因修飾的技



術風險，遵照基因治療製劑的審查原則與法規要求，不因其分類而免除基因修飾技術上應有之科學性考量。是故，不論基因修飾細胞被分類為細胞治療製劑或基因治療製劑，於科學審查上，均會依據基因修飾細胞之製程方法，就產品特性、製造(如：基因修飾)技術原理、人為操作的改變程度、改變持續性、作用機轉、體內分佈 / 持續性 / 清除、治療後可逆性等來考量可能之安全性風險。

## 基因修飾細胞相關法規

原則上，基因修飾細胞之細胞部份應參照我國公告之「人類細胞治療產品臨床試驗申請作業與審查基準」<sup>[11]</sup>，基因部份可參考我國公告之「基因治療臨床試驗基準(草案)」<sup>[12]</sup>。由於目前基因修飾細胞大多利用病毒載體來進行基因修飾，故亦可參考醫藥品查驗中心發佈之「病毒載體之基因治療產品於化學製造管制研發策略指導原則」<sup>[13]</sup>。

至於基因修飾細胞相關國際法規，US FDA 和 EMA 因應再生醫療領域快速發展，陸續發佈指引，讓此領域之新興產業了解法規要求的技術性資料內容。2018 年，US FDA 更新兩篇基因治療相關的指引草案，於其中一篇指引：「Chemistry, manufacturing, and control (CMC) information for human gene therapy investigational new drug applications (INDs)」<sup>[9]</sup>，要求申請臨床試驗之資料整理，須依照通用技術文件 (common technical document, CTD) 之格式準備，並於各 CTD 段落說明技術細節以及各階段所執行的品質管控。此指引納入體外轉導(染)之基因修飾細胞，以及基因編輯技術的內容，申請者須針對修飾基因、基因修飾 / 編輯技術、基因修飾細胞提供完整的資訊，除了提供原有基因治療製劑之製造管制資料外，應有細胞製程管制、基因修飾製程管制、基因修飾後的製程管制、及基因修飾細胞規格與方法等資料。另外，US FDA 針對嵌入性病毒載體之安全性檢測發佈指引：「Testing of retroviral vector- based human gene therapy products for replication competent retrovirus during product manufacture and patient follow-up」<sup>[14]</sup>，若使用反轉錄病毒進行細胞體外基因修飾，須於反轉錄病毒載體、製備載體之最終生產細胞(end of production cells, EoPC)以及體外轉導細胞等三階段，以適當且具足夠靈敏度之分析方法進行檢測，並且，確保每個劑量下含具複製能力反轉錄病毒 (replication competent retrovirus) 之數目須小於 1。

EMA 特別針對基因修飾細胞發佈指引，並於 2018 年更新指引草案：「Guideline on



the quality, non-clinical and clinical aspects of medicinal products containing genetically modified cells」<sup>[15]</sup>。此指引適用所有基因修飾細胞，包括基因治療製劑或細胞治療製劑(如：細胞中帶有與作用機轉無關之自殺基因)或其他製程目的(如：製備誘導性多能幹細胞)之基因修飾，亦適用於各種基因修飾技術，如：病毒載體、非病毒載體和基因編輯技術。指引提出基因修飾細胞應根據細胞來源、載體種類和基因修飾技術、製造程序、非細胞組成(若有使用)以及治療方法等考量可能的風險，並且，由於不同基因修飾細胞類型對病人所造成之風險程度不同，故須以多因子風險基礎研究(multifactorial risk-based approach)探討每個案件之情況(case by case basis)。EMA 進一步於 2019 年初，發佈先進治療產品於臨床試驗階段之法規要求的指引草案：

「Guideline on the quality, non-clinical and clinical requirements for investigational advanced therapy medicinal products in clinical trials」<sup>[16]</sup>。要求應以通用技術文件建構送件資料，品質相關之技術性資料須依試驗中藥品文件(investigational medicinal product dossier, IMPD)之要求編撰，隨著探索性到療效驗證之臨床試驗過程，試驗中藥品文件應逐漸豐富，並可反應當下對產品特性的瞭解與累積的製程生產經驗。此指引特別說明基因修飾細胞屬原料藥(drug substance)，其起始物除了未修飾細胞、病毒/非病毒載體、用於基因修飾之核酸/蛋白外，亦包括用來製備病毒載體、質體、重組蛋白或重組核酸的成分(如：細胞或質體)，從生產起始物之細胞庫即須符合 ATMP 優良製造規範(good manufacturing practice, GMP)的一般原則。這兩篇 EMA 公告指引內容，從製程與製程中管制、起始物與物料管制(細菌/細胞/病毒庫系統及其品質管制)、關鍵步驟與中間物之管制、製程評估與確效、製程開發(效能提昇和比較性試驗)、產品特性分析(物化性質、生物活性與功效特性、純度與不純物)、規格、分析方法和批次分析等，說明應提供的資訊與管制要求。其中，針對利用病毒載體進行基因修飾之細胞，於進入臨床試驗前，須有經確效具靈敏度之分析方法，於病毒載體階段和基因修飾細胞製備階段，確認無具複製能力病毒(replication competent virus)之存在。

## 已核准之基因修飾細胞產品

目前全球已有五個基因修飾細胞產品核准上市(表一)，此五個產品在歐盟均有核准紀錄，並且皆以罕藥認定(orphan drug designation)途徑取得上市許可，而須每年更新產品安全療效資訊直至蒐集到足夠療效證據為止。其中，MolMed 公司在整體評估





Zalmoxis 的上市後計畫之期中分析結果後，主動於 2019 年 10 月撤回 Zalmoxis 之上市許可，因此，目前僅剩下四個基因修飾細胞產品。

表一、已獲核准之基因修飾細胞

| Proprietary name                              | Approved by  | Company/ institute | Indications   | Vectors    |
|---|--|--------------------|---|------------|
| Strimvelis (genetically modified CD34+ cells) | EU(2016)   | GlaxoSmithKline    | Severe combined immunodeficiency                                      | Retrovirus |
| Zalmoxis (genetically modified T cells)*      | EU(2016)   | MolMed S.p.A       | Adjunctive treatment in haploidentical HSC transplantation            | Retrovirus |
| Yescarta (genetically modified T cells)       | USA(2017) / EU(2018) / Canada(2019)                                  | Kite pharma        | Large B-cell Lymphoma   | Retrovirus |
| Kymriah (genetically modified T cells)        | USA(2017) / EU(2018) / Australia (2018) / Canada(2019) / Japan(2019) | Novartis           | B-cell precursors acute lymphoblastic leukemia/ Large B-cell Lymphoma | Lentivirus |
| Zynteglo (genetically modified CD34+ cells)   | EU(2019)   | BlueBird Bio       | Beta-thalassemia  | Lentivirus |

\*Zalmoxis 已於 2019 年 10 月撤回上市許可

以產品類型論，這五個產品中有四個屬於基因治療製劑，一個屬於細胞治療製劑。若依治療目的分類，其中二個產品是以修復 / 再生為目的，係利用自體造血幹細胞作為修飾細胞、於體外補足缺陷基因後回輸以治療疾病；二個是 CAR 修飾之自體 T 細胞，用於免疫毒殺癌細胞；一個是帶有自殺基因之異體 T 細胞，用於受試者產生 GvHD 後可移除該異體 T 細胞。若依基因修飾方法來說，此五個產品中，三個是利用伽瑪反轉錄病毒(gamma retrovirus)載體，兩個是利用慢病毒(lentivirus)載體，可見目前上市基因修飾細胞產品，其基因修飾技術以反轉錄病毒載體為主。

## 基因修飾細胞於化學製造管制的概要介紹

以下將以 FDA<sup>[17]</sup>和 EMA<sup>[18]</sup>對慢病毒載體轉導之自體 T 細胞之公開審查報告為範例，介紹法規單位在基因修飾細胞之製造管制部份的審查重點。將分別針對原料藥(分為基因治療載體和基因修飾 T 細胞兩部份)和基因修飾 T 細胞成品進行討論。

### 基因治療載體

此範例的基因治療載體，係以 HIV-1 病毒基因體為骨架所開發的複製缺陷型自滅活性(self-inactivating, SIN)病毒載體。廠商對 CAR 基因的組成，包括啟動子等相關基因



元件提供了完整說明，病毒載體系統的質體組成，以及質體中所有基因元件亦有足夠資訊。所有質體均以細菌庫系統製備，並有適當的放行管控。而對用於生產病毒載體的細胞來源，以及細胞庫製備過程亦有清楚交代，除了充分評估該細胞的致瘤性風險外，對該細胞庫系統有完整的品質檢測，其中，外來病原(adventitious agents)檢測遵照 ICH Q5A 之規定，涵蓋人來源、豬來源和牛來源相關病毒檢測。於製程中使用之生物來源試劑皆附合適性證明，特別是病毒安全性和 TSE 風險。

病毒載體之製程區分成載體原料藥(vector substance)和載體成品(vector product)來管控。生產病毒載體的上游製程包括取出工作細胞庫 (working cell bank, MCB)、解凍細胞、培養放大、轉染質體、誘導和病毒收成，而下游製程則包括過濾、管柱層析和核酸酶處理等步驟來製備載體原料藥，接著進行無菌過濾、濃縮和充填以製備載體成品。廠商依據病毒載體製程進行風險評估研究和製程特性試驗，並以表格呈現製程特性範圍(characterization range)、正常操作範圍(operating range)、已驗證可接受範圍(proven acceptable range)和訂定臨界度(criticality designation)，其製程確效資料包括培養、停滯 / 操作時間、主要製程參數、關鍵製程參數、製程中管制、製程中監控和特性分析等數據，可支持製程與管制具有一致性。針對產品開發過程中質體設計之變更，廠商利用健康捐贈者的 T 細胞進行質體變更前後的比較性試驗，另外，於產品開發過程中曾新增載體原料藥製造廠和載體成品製造廠，兩次變更皆進行比較性試驗。

病毒載體之特性分析包括病毒構造、蛋白質體分析、鑑別、病毒顆粒數、病毒力價(viral infectious titer)和 RNA 完整性、細胞之病毒感染數(multiplicity of infection, MOI)相對轉導效率之研究、產品相關不純物(如：具複製能力慢病毒等)和製程相關不純物。載體原料藥和載體成品之放行規格，包括鑑別、含量、純度、不純物(包括具複製能力病毒)、生物活性、內毒素、無菌性和外來病原檢測，廠商提供批次間之比較性試驗(涵蓋臨床試驗批次、安定性試驗批次和製程確效批次)，並以此比較性結果說明規格訂定依據。另提供載體原料藥和載體成品之長期安定性試驗結果支持儲存條件下的安定性。

### 基因修飾 T 細胞原料藥

本例之大致製程為以白血球分離術取得細胞原料、純化、以病毒載體轉導細胞、待轉導細胞穩定後移至生物反應器進行培養放大，最後在對培養結束後之細胞進行清洗與





凍存。製程中所有試劑、物料、耗材和培養基組成都有列表說明，並且，物料品質管制計畫有一定的標準程序，以評估供應商及其材料是否合適。執行白血球分離術之醫療機構符合認證，並遵照規定之標準進行作業。由於自不同人取得之白血球分離後細胞原料品質有差異，因此，廠商以各個適應症族群病人的白血球分離後細胞原料，進行批次分析並探索細胞組成的變異性，據此評估細胞原料之關鍵參數，以設定適當的允收標準。此外，廠商進行白血球分離後細胞原料的安定性試驗，用以評估包裝系統合適性以及驗證凍存條件下可保存時間。製程最適化過程，係依製程特性訂定製程參數(包括正常操作範圍和已驗證可接受範圍)，經由製程風險評估確認出高風險的參數，再根據臨床批次之製程與產品特性資料，評估該參數屬於主要或關鍵參數。至於製程確效，則涵蓋在兩個製造廠，以兩個適應症族群病人和健康者之白血球分離後細胞原料，所進行的製造數據，相關數據包括各步驟操作時間、關鍵製程參數、製程中管制(如：產率和細胞複製程度(cell population doubling levels))等，所有資料均可支持製程的整體一致性。

對轉導後 T 細胞之特性分析，係以一系列方法學探討細胞組成、CAR 表現和功能活性。在細胞組成部份，除了分析 T 細胞次族群(包括 CD4 / CD8 比率、初始 (naïve) T 細胞、中央記憶(central memory)T 細胞、記憶作用(memory effector)T 細胞)外，亦探討是否有免疫衰老(immunosenescence)現象，並評估 NK 細胞、B 細胞之殘留細胞數，另為避免有 CAR 轉導 B 細胞存在而導致可能的風險，於規格中管控 B 細胞的殘留細胞數。在評估基因修飾細胞表現 CAR 狀況時，係以各批次成品中 CAR 表現之存活細胞數和總細胞數的比值，評估規格所設定之允收標準的合適性。轉導後基因表現之功能活性評估，則探討轉導後基因嵌入位、確認嵌入基因全長序列，並且深入評估單一細胞之蛋白質體(proteome)、活性狀態(activation status)和效用功能(effector function)。不純物部份提供充分的細胞相關不純物和製程相關不純物之評估，以所有臨床試驗批次皆無檢測到具複製能力病毒，說明沒有因重組產生 VSV-G 假型慢病毒。由於從原料藥到成品是連續製造過程，故不特別討論原料藥之規格和安定性試驗。

### 基因修飾 T 細胞成品

成品單位含量(CAR 表現 T 細胞濃度)將視適應症與病人體重作調整，且細胞組成和細胞總數因個別病人批次而有差異，故每批次生產之成品皆依病人作客製化調整，因此，病人專屬製劑須附帶該批次中 CAR 表現 T 細胞數和細胞總數之分析數值資訊。



製劑開發的相關資訊，除了臨床開發過程之各個安定性試驗中，評估基因修飾 T 細胞與選用賦形劑間之相容性(compatibility)外，特別討論到賦形劑施打於小兒族群的安全性疑慮，儘管已確認這些賦形劑施打之總量是可接受的，廠商仍將賦形劑可能的不良反應揭露於產品資訊(如：仿單)中。在對製程開發的風險評估中，廠商確認容器封蓋系統之可浸出物(extractables) 和可滲出物(leachables)是最高的風險因子，因此，以數個包裝袋進行可滲出物研究，並評估各包裝袋之可滲出物安全性和毒理資訊，挑選最適合的包裝袋，另外，亦進行包裝完整度試驗(container closure integrity test, CCIT)來確認容器封蓋系統密封性。

由於原料藥到成品是連續製造過程，故成品製程、製程中管制與製程確效併於原料藥階段提供。基因修飾細胞成品之規格包括外觀、鑑別、存活率、總(存活)細胞數、存活 T 細胞比率、修飾基因轉導效率(細胞平均修飾基因組數)、劑量(基因修飾細胞數)、表現修飾基因細胞比率、作用機轉相關之效價、非預期細胞殘留量、製程不純物殘留量、具複製能力病毒檢測和其他安全性相關檢測。各檢測之採樣時機和檢品皆具有取樣代表性，且分析方法皆完成方法確效。各製造廠所有批次之批次分析結果皆符合設定之規格。所提供之安定性試驗報告和使用中安定性(in-use stability)結果，亦可支持宣稱儲存條件下的架儲期(shelf-life)和解凍後於室溫可儲存期限。

## 基因修飾細胞發展的挑戰

雖基因修飾細胞包括基因修飾和細胞兩部份，但在製程風險評估時，大多認為基因部份是最關鍵且重要之風險因子。基因部份本身之製程管控複雜，針對基因修飾後細胞亦須評估基因修飾所產生之品質、安全與效價，因此，應慎重考量選用之基因修飾技術，以決定基因修飾細胞可能風險以及應執行之管控與評估的程度。目前基因修飾技術仍以病毒載體為主，開發方向著重於優化病毒載體、探討病毒載體製程效能(如：提升產率和不純物移除效能)、放大製程與製程模組化等等，此外，開發時須搭配一些關鍵技術 / 試劑(如：基因編輯、轉染試劑、病毒質體等)、特殊製程設備 (如：各種製造規模且可直接轉換製程參數之生物反應器、連續生產技術下即時監控系統、下游純化設備 (系統模組化整合)等)、週邊支援 / 配套系統 (如：冷凍保存和運銷配送系統、製程效能研究與製程優化的知識管理系統等)、與分析技術(包括製程中管制和原料藥 / 成品規格之整套分析方法)等。亦有導入 ICH 對品質風險管理與藥品整體開發的概念，納入包括目



標產品之品質輪廓(quality target product profile, QTPP)、品質設計(quality by design · QbD)、試驗設計(design of experiments · DoE)、關鍵品質參數 (critical quality attributes · CQAs)和關鍵製程參數 (critical process parameters · CPPs)等知識管理系統，利用科學與統計方法使製程參數與品質特性最適化。

國內在基因修飾細胞上的發展，大多考量開發風險而選擇已上市的产品類型作為開發標的，然而，在製程開發與品質管制上仍遭遇到相當大的挑戰，主要在宿主細胞、關鍵試劑、儀器設備、載體製備、製程效能評估(特別針對不純物評估)、試劑套組和安全性檢測方法等議題：1) 生產病毒載體之宿主細胞庫系統，應符合 ICH 規定並確保無內源性或外來病原汙染，通常須尋求適合且可協助完整檢測的檢測單位；2) 試劑應有合適性評估，特別是生物來源相關試劑應有安全性檢測和試劑製備過程評估，須尋找願意配合提供資料的試劑供應商；3) 進口特殊儀器設備或試劑套組，應確認符合使用目的，亦確認可取得適當之確效報告；4) 病毒載體須委託 CMO 製備，但國際知名的 CMO 公司大都製程滿載而需排序等待；5) 製程效能大多著重活性成分之分析，忽略製程相關不純物和產品相關不純物的評估。原則上，開發廠商應於合適製造階段分析潛在不純物，方可針對製程效能不足處提出改善的精進措施；及 6) 安全性檢測方法須經過分析方法確效(如：具複製能力病毒檢測方法)，開發廠商須有合適分析方法開發人員或委外檢測單位協助。除面臨以上困難外，須有能力進行產品製程開發，從早期製備、毒理試驗、臨床試驗直到上市製程的整體開發過程，於逐步變更過程須持續探索製程參數、關鍵品質參數，並分析各個製造階段(基因、細胞和基因修飾細胞)的產品特性。若是開發自體基因修飾細胞，由於來源變異性大，細胞批量生產規模小，其挑戰更加嚴苛，須額外進行細胞起始物變異性研究，並有充分製程效能分析，才可訂定有效的控制策略以確保品質一致性。

## 結語

基因治療製劑有望解決醫療上的迫切需求，被認為是下一代藥物開發的方向之一。其中，基因修飾細胞被認為相對安全，因為基因修飾系統並非直接輸注病人體內，可避免非預期組織器官分佈及脫靶效應造成的不良反應。此外，可透過體外製備和適當品質管控策略，確保基因修飾後細胞之品質、安全與效價，使病人接受品質確認的基因修飾細胞。





國內要發展此類高技術密集之基因修飾細胞，須視整體開發過程所需之產業微環境是否可以配合，包括基因修飾技術、關鍵試劑開發、製程開發、分析方法開發和支援系統等。此外，由於基因修飾細胞產品屬高投資高風險的產品開發，須著眼於開發之基因修飾細胞是否符合市場需求，並確認具有療效安全之競爭力。

簡而言之，開發過程必須立基於一定科學基礎，確認思考邏輯及研發方向之正確性，按部就班地進行製程開發與品質檢測，設計適當的藥理和毒理試驗、執行良好控制的臨床試驗，以及規劃上市過程整體開發策略，才能順利開發基因修飾細胞產品。

## 參考文獻

1. Junod SW, Celebrating a milestone: FDA' s approval of first genetically-engineered product. (<https://www.fda.gov/media/110447/download>)
2. Bender E, Regulating the gene-therapy revolution, *Nature*, 2018 Dec;564(7735):S20-S22.
3. Powell AB et al., Gene-modified, cell-based therapies-an overview, *Cytotherapy*, 2016 Nov;18(11):1351-1359.
4. Yong SB et al., Recent challenges and advances in genetically-engineered cell therapy, *J Pharm Investig*, 2018 Oct;48(2):199-208.
5. Ruella M and Kenderian SS, Next generation chimeric antigen receptor T cell therapy: going off the shelf, *BioDrugs*, 2017 Dec; 31(6): 473–481.
6. Verghese SC et al., S/MAR sequence confers long-term mitotic stability on non-integrating lentiviral vector episomes without selection, *Nucleic Acids Res*, 2014 Apr;42(7):e53.
7. Dunbar CE et al., Gene therapy comes of age, *Science*, 2018 Jan;359(6372).
8. <https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/cellular-gene-therapy-products/what-gene-therapy>. (Last Accessed: 07/25/2018)
9. US FDA, Draft guidance for industry: chemistry, manufacturing, and control (CMC) information for human gene therapy investigational new drug applications (INDs), 2018.
10. EMA, Reflection paper classification advanced therapy medicinal products,



2015.

11. 衛福部，人類細胞治療產品臨床試驗申請作業與審查基準，民國 103 年。
12. 衛福部，基因治療臨床試驗基準 (草案)，民國 100 年。
13. 醫藥品查驗中心，病毒載體之基因治療產品於化學製造管制研發策略指導原則，2018。
14. US FDA, Testing of retroviral vector- based human gene therapy products for replication competent retrovirus during product manufacture and patient follow-up, 2018.
15. EMA, Guideline on the quality, non-clinical and clinical aspects of medicinal products containing genetically modified cells, 2018.
16. EMA, Guideline on the quality, non-clinical and clinical requirements for investigational advanced therapy medicinal products in clinical trials, 2019.
17. US FDA, Summary basis for regulatory action: Kymriah, BLA/STN#:125646/0.
18. EMA, Assessment report: Kymriah, EMA/485563/2018.