



同種異體細胞治療製劑之安全性 檢測研發策略指導原則

第一版

中 華 民 國 1 1 5 年 7 月 2 4 日

財團法人醫藥品查驗中心

序言

同種異體細胞治療製劑因可能預先製備、規模化生產及供多名病人使用之特性，具備市場應用潛力；然而，其於開發與生產階段可能面臨外來性病毒與微生物污染，以及在細胞擴增過程中可能發生基因變異等風險，故此類製劑之安全性檢測對確保其品質與使用安全至關重要。醫藥品查驗中心參酌國際規範，制定「同種異體細胞治療製劑之安全性檢測研發策略指導原則」，提供該類製劑於研發階段之檢測規劃參考，並說明品質相關法規科學建議。

【撰寫團隊】

林純江、邱詮文、李倍慈、黃豐淳、葉嘉新、陳可欣、
徐麗娟、劉明勳

目錄 (Table of Contents)

1. 適用範圍.....	3
2. 背景說明.....	3
3. 細胞來源合適性考量	3
4. 安全性檢測的考量.....	4
4.1 永生細胞株 (Immortalized Cell Line).....	4
4.2 高度擴增能力的初代細胞	4
4.3 有限擴增能力的初代細胞	4
4.4 少量擴增之初代細胞	4
5. 細胞庫安全性檢測項目建議	5
5.1 MCB (master cell bank) 的檢測建議	5
5.2 WCB (working cell bank) 的檢測建議	7
5.3 有限擴增能力細胞的安全性檢測建議	7
5.4 少量擴增之初代細胞的安全性檢測建議	8
6. 參考文獻.....	8

本指導原則係參考美國 FDA: Safety Testing of Human Allogeneic Cells Expanded for Use in Cell-Based Medical Products – Draft Guidance for Industry 及國際上相關規範及審查經驗，亦代表醫藥品查驗中心 (Center for Drug Evaluation, CDE) 對此議題的當前想法。如果未來有相關的科學證據，則會進一步修訂此指導原則。本指導原則非審查基準，若有不同的研發方式，可透過諮詢管道與查驗中心討論。凡涉及政策方向及法規解釋與適用，仍應依中央衛生主管機關之指示為準。

若對此指導原則有任何疑問，歡迎來信至 feedbackbox@cde.org.tw

1. 適用範圍

本研發策略指導原則（以下簡稱本指導原則）適用於我國《再生醫療製劑條例》定義之細胞治療製劑，包括作為最終製劑組成來源之人類同種異體細胞（以下簡稱異體細胞），或其他基於異體細胞之衍生物。本指導原則亦適用於經基因編輯之異體細胞，及複合製劑組成中之異體細胞，但不適用於製造蛋白質藥物、疫苗或基因治療載體過程中使用之細胞株，或作為試劑用途之餵養細胞（feeder cells）。

由於此類製劑具有可供多人使用之潛能，其安全性檢測應基於全面性風險評估，並綜合考量細胞擴增潛力、製程試劑及預期治療人數。本指導原則主要提供該類製劑之安全性檢測，以及依照細胞特性及擴增能力提供檢測規劃建議，以確保製劑品質與使用安全。至於其他製造與管制相關考量，可參考我國「人類細胞治療製劑臨床試驗申請作業及審查基準」及「人類細胞治療製劑查驗登記審查基準」之要求。

2. 背景說明

由於人類細胞來源高度異質，異體細胞製劑在開發與生產階段面臨多重挑戰，廠商應於開發初期基於全面性風險考量進行綜合評估，包括細胞來源及特性、擴增能力、使用試劑品質與預期治療人數等，於製劑不同開發階段，建立完整且具支持性的製造與管制資料，例如提供者篩檢及檢測結果、製程試劑規格與品質文件、細胞庫或凍管管理紀錄等。建議研發團隊及早與中央衛生主管機關溝通，並參考我國相關法規與指引，提供具備法規科學依據之品質資料，以確保整體安全性檢測規劃之合理性與完整性。

3. 細胞來源合適性考量

有關異體細胞來源的合適性，應依照我國「再生醫療製劑組織細胞提供者合適性判定辦法」、「人類細胞治療產品捐贈者合適性判定基準」等規範，

藥商或受託機構應對人體組織或細胞之提供者進行篩選、測試及合適性判定，並做成提供者合適性判定報告，以確認細胞提供者未帶有相關傳染病病原或疾病。

4. 安全性檢測的考量

關於製劑之安全性檢測的性質與範圍，主要依據細胞之擴增潛力，以及最終製劑可治療的人數而定。在臨床試驗申請或查驗登記申請時，須詳述細胞擴增方式，包括細胞的擴增潛力、製劑所包含細胞之預期繼代數以及儲存條件。依來源細胞的特性及擴增能力，其安全性檢測規劃可分為以下類型（彙整如表一）：

- 4.1 永生細胞株：如誘導性多潛能幹細胞（induced pluripotent stem cells, iPSCs）、胚胎幹細胞（embryonic stem cells）、癌細胞株（cancer cell lines）及轉化細胞株（transformed cell lines）等。以永生細胞株作為細胞治療製劑之細胞原料時，永生細胞株通常須建立細胞庫系統，以確保製程使用之細胞原料的品質一致性。細胞庫系統應實施全面的安全性檢測。
- 4.2 高度擴增能力的初代細胞：如高度擴增能力的初代細胞之製程，其細胞進行大量擴增，並於中間物、原料藥或最終製劑進行冷凍保存。由於大量擴增下之細胞製劑將會治療相當多的人數，故儘管未建立細胞庫系統，仍應對其冷凍保存的細胞批次實施全面的安全性檢測。
- 4.3 有限擴增能力的初代細胞：有些初代細胞無法大量擴增，或僅能建立小型或中型細胞庫，如擴增數量僅能治療有限人數，受限於無法取得足夠檢品數量以進行完整安全性檢測時，可考慮實施簡化的安全性測試。
- 4.4 少量擴增之初代細胞：如未進行繼代或少量擴增的初代細胞，可能僅用於生產單批次之細胞製劑。由於治療少數或單一病人，或可不須實施外來病毒檢測，但仍需符合無菌與純度（如內毒素）等基本要求。若製程中所用試劑有可能引入外來病原之疑慮，則須要提供相關病原檢測資料，以及該試劑之病毒去活化或清除之步驟，與其病毒清除能力之評估資料。

上述可高度擴增的永生細胞株及初代細胞，製劑生產方式通常採用一階或二階細胞庫系統：

一階系統僅包含主細胞庫（master cell bank, MCB）。

二階系統則由 MCB 擴增至少一個工作細胞庫（working cell bank, WCB）。

部分生產策略可能會建立多層次細胞庫系統，例如，基因改造後的幹細胞，在大量擴增後冷凍成細胞庫、作為後續生產製劑的細胞來源，則該基因改造後或高度擴增後的細胞庫應被視為 MCB，並須對其進行安全性檢測。同樣地，若細

胞製劑的起始細胞，先被冷凍庫存，之後解凍並大量擴增建成細胞庫，則該大量擴增後建立之細胞庫應視為 MCB，並執行相應的檢測。

若製劑未採用細胞庫系統，但最終製劑為單批冷凍保存的高度擴增細胞（即用於多人治療），則該批次亦需依照 MCB 要求執行相關安全性檢測。若細胞培養歷史資料或細胞建置過程，曾使用含動物或人類衍生成分的試劑，須依情況擴大安全性檢測範圍和項目。

表 1.用於細胞治療製劑的異體細胞之安全性檢測建議

細胞類型	培養和製備方式	檢測物	治療人數	建議的檢測 ^a
胚胎幹細胞和誘導性多潛能幹細胞	細胞擴增成 MCB 及 WCB，WCB 進一步誘導分化為最終製劑	MCB 與 WCB	多人	對 MCB 及 WCB 實施對應之必要檢測
癌細胞株和轉化細胞株	細胞擴增成 MCB 及 WCB，細胞製劑來自 WCB	MCB 與 WCB	多人	同上
高度擴增的初代細胞	細胞擴增為 MCB，解凍後擴增成最終製劑	MCB 與 WCB（如有）	多人	同上
有限擴增能力的初代細胞	細胞擴增成小/中型 MCB，或單批細胞作為最終製劑	MCB 或擴增批次，或最終製劑	用於有限人數	採簡化檢測
少量擴增初代細胞	少量擴增或單批細胞製劑	該批次細胞	少數或單一病人	無菌、黴漿菌和內毒素檢測

^a 檢測項目請見本篇細胞庫安全性檢測項目建議段。

5. 細胞庫安全性檢測項目建議

5.1 MCB 的檢測建議

異體細胞製劑於執行人體試驗前，須確保細胞之品質與安全性。根據我國法規「人類細胞治療製劑查驗登記審查基準」，細胞庫應詳述來源及歷史、培養過程、特性鑑定與外來污染物測試結果。有關 MCB 的安全性相關檢測，可參考 ICH Q5D、ICH Q5A(R2)以及我國「中華藥典(通則 5152)人或動物來源細胞株衍生之生技藥品病毒安全性評估」等內容，本章節僅就安全性檢測建議，列舉如下：

- 無菌檢測：應依藥典規範或經確效之替代方法，進行細菌與真菌之無菌檢測。
- 黴漿菌檢測：應依藥典規範或經驗證之替代方法執行，並證明其靈敏度與藥典方法相當。
- 內毒素檢測：應依藥典規範或經確效之替代方法進行檢測。

- 人類相關病毒檢測：建議採用分子檢測方法 (molecular methods)例如聚合酶連鎖反應 (polymerase chain reaction, PCR) 或次世代定序 (next-generation sequencing, NGS)進行檢測，項目包括：HIV-1/2、HAV、HBV、HCV、CMV、HTLV-1/2、EB 病毒 (Epstein-Barr virus, EBV)、人類腺病毒、B19 微小病毒 (parvovirus B19)、人類皰疹病毒第六型、第七型和第八型等。此外，當細胞來源有其他疑慮或製劑有特定用途，例如用於免疫抑制病人時，應根據相關的風險考量，進行額外檢測。
- 以體外試驗檢測外來病毒：通常使用三種細胞株，包括人類二倍體細胞 (如 MRC-5 細胞)、靈長類細胞 (如 Vero 細胞)、及與製程相關物種之細胞 (如 HeLa 細胞、C8166 或 Jurkat 細胞)。如果申請者擬採用新穎分析技術進行外來病原評估，應在分析方法開發過程中與中央衛生主管機關討論。
- 以體內試驗檢測外來病毒：當細胞具有其他檢測方法無法充分評估之病毒感染風險，應考慮實施此檢測。體內檢測方式包括將細胞接種至成鼠及乳鼠，及雞胚胎蛋。基於 3R 原則 (替代、減少、優化)，可考慮以高通量定序 (high-throughput sequencing, HTS) 作為動物試驗替代方案，但須在申請資料中提供完整之方法確效計畫及數據支持。
- 穿透式電子顯微鏡 (transmission electron microscopy, TEM)：可用於觀察細胞內或細胞上之病毒樣顆粒，作為病毒污染風險排除之輔助證據。
- 反轉錄病毒檢測：若人源細胞於製備過程中曾接觸非人源滋養層細胞，應評估是否存在物種特異性反轉錄病毒。
- 物種特異性病毒檢測：若製程中曾使用動物來源細胞或衍生試劑，應考量其潛在之物種特異性病毒，如與鼠源、靈長類或昆蟲細胞／試劑接觸時，應進行相應病毒檢測；若使用牛或豬等動物衍生試劑，亦應進行該動物病毒檢測。
- 病毒和質體載體殘留檢測：若製程中曾使用病毒或質體載體進行基因改造 (如誘導性多潛能幹細胞株重編程)，可在細胞庫、原料藥或最終製劑進行相應之殘留量檢測。殘留量應建立允收基準，並就限值設定提出合理論述。若使用反轉錄病毒載體，則建議對細胞庫、病毒載體以及最終製劑檢測是否殘留具複製能力之反轉錄病毒。
- 全基因組定序 (whole genome sequencing, WGS)：對於永生細胞株或經基因編輯之細胞高度擴增細胞庫，建議進行全基因組定序，其定序深度 (sequencing depth) 應至少達 50 倍。對永生細胞株之定序結果，應比對癌症相關突變之資料庫以評估腫瘤形成潛勢，特別需要關注原癌

基因（proto-oncogenes，如 p53）的突變；對基因編輯細胞，則應針對編輯標的、編輯標的外、以及載體嵌入情形加以評估，並確認有疑慮之突變；除有特殊考量外，對於 iPSC 應檢測殘留之未分化細胞。所使用之定序平台、分析方法、定序深度與結果解讀，應於申請資料中詳述並提供與製劑安全性相關合理說明。

- 細胞遺傳學檢測（cytogenetic testing）：高度擴增之初代細胞應進行細胞遺傳學檢測，其細胞基因組的完整性與染色體穩定性，可採 G 顯帶分析（G-banding analysis）或其他具較高靈敏度之方法（例如但不限於光學基因體圖譜，Optical Genome Mapping），至少分析 20 個細胞，並對允收基準提出合理說明。對於已完成全基因組定序之細胞庫，或不會出現在最終製劑的細胞（如飼養細胞），則可能無需進行相關細胞遺傳學檢測。
- 致瘤性檢測（tumorigenicity testing）：如最終成品與 MCB 在細胞特性上相似，可能可以用 MCB 進行最終成品的致瘤性評估。若 MCB 已於非臨床研究中完成致瘤性評估，且與臨床試驗時所用之細胞具可比性，則可能無需於成品階段進行重複檢測。癌細胞株和 iPSC 應評估其基因穩定性和增殖特徵，因為已預期這些細胞會形成腫瘤，故通常不會進行致瘤性檢測；經輻射照射之細胞，且已證實失去擴增能力，則無須進行致瘤性檢測。

5.2 WCB 的檢測建議

若為已經完整檢測 MCB 所擴增之 WCB，應進行（但不限於）以下安全性檢測：

- 無菌檢測、內毒素與黴漿菌檢測。
- 外來病毒之體外檢測。

5.3 有限擴增能力細胞的安全性檢測建議

擴增能力有限的細胞（如少量初代細胞），除非有具體安全性疑慮，否則可採取較為簡化的安全性檢測，包括：

- 無菌檢測、內毒素與黴漿菌檢測。
- 外來病毒之體外檢測。
- 人類相關病毒檢測。

另外，若細胞在製程中接觸到動物來源試劑，可能須要進行額外的安全性測試，可參考 MCB 的相關檢測實施。對於未經大量擴增的基因編輯細胞，

應進行定序確認基因嵌入符合預期。若使用反轉錄病毒載體進行基因編輯，則應對用於製備異體細胞製劑的細胞進行具複製能力反轉錄病毒的檢測。

若病毒相關檢測會消耗過多細胞成品，可考慮從細胞庫或最終成品進行擴增至足夠數量，以執行安全性檢測項目。

5.4 少量擴增之初代細胞的安全性檢測建議

若細胞無擴增或少量擴增，僅供少數或單一病人使用，一般不須進行全面性檢測，除非有其他特定風險（如製程中接觸到動物衍生試劑）需要透過檢測來管控。

6. 參考文獻

1. FDA: Safety Testing of Human Allogeneic Cells Expanded for Use in Cell-Based Medical Products; Draft Guidance for Industry, 2024
2. 衛生福利部食品藥物管理署：再生醫療製劑條例，2024
3. 衛生福利部食品藥物管理署：再生醫療製劑組織細胞提供者合適性判定辦法，2025
4. 衛生福利部食品藥物管理署：人類細胞治療製劑臨床試驗申請作業及審查基準，2020
5. 衛生福利部食品藥物管理署：人類細胞治療製劑查驗登記審查基準，2022
6. 衛生福利部食品藥物管理署：人類細胞治療產品捐贈者合適性判定基準，2015
7. ICH Q5D: Derivation and Characterization of Cell Substrates Used for Production of Biotechnological/Biological Products，1997.
8. ICH Q5A(R2): Viral Safety Evaluation of Biotechnology Products Derived from Cell Lines of Human or Animal Origin，2023.
9. 中華藥典第九版(3071)無菌試驗
10. 中華藥典第九版(3085)細菌內毒素檢驗
11. 中華藥典第九版(5046)細胞冷凍保存
12. 中華藥典第九版(5048)再生醫療細胞治療與組織治療製劑
13. 中華藥典第九版(5050)基因治療製劑
14. 中華藥典第九版(5063)黴漿菌檢測

15. 中華藥典第九版(5152)人或動物來源細胞株衍生之生技藥品病毒安全性評估
16. 美國藥典-國家處方集 2025 (USP-NF 2025)