

# Stem Cell 治療產品臨床前的法規重點考量

盧青佑<sup>1</sup>

## Stem Cell 治療應用之背景

1968 年骨髓移植的成功開啟了幹細胞(stem cell)在醫學上的應用，由於幹細胞具有自我更新和分化的潛能，在人體內可以轉化為各種器官和組織，因此幹細胞與再生醫學的發展為人類的健康福祉帶來新希望。

幹細胞的種類包括成人幹細胞(adult stem cell)、胚胎幹細胞(embryonic stem cell)以及誘導性多功能幹細胞(induced pluripotent stem cells)。胚胎幹細胞的應用由於其在取得的過程必須破壞胚胎，引發倫理道德爭議，相較之下，成人幹細胞不涉及倫理問題，較為大眾所接受，因此目前臨床上的應用包括了骨髓幹細胞，臍帶血幹細胞及周邊血幹細胞。成人幹細胞的應用在 2006 年有了重大的突破，日本京都大學教授 Shinya Yamanaka 等人將小鼠皮膚細胞轉化為多功能幹細胞，隔年更進一步將人類皮膚纖維母細胞轉化為多功能幹細胞，此種幹細胞由於其功能與胚胎幹細胞相差無幾，故被稱為誘導多功能幹細胞。然根據研究結果顯示其可能引發致癌性及免疫生成性的風險性，且不論胚胎幹細胞或誘導性多功能幹細胞在細胞培養的過程或「重新編程」(Reprogramming)的過程會引起基因突變的可能性，故臨床的應用仍有相當的疑慮。因此因著幹細胞種類的不同，其臨床應用的風險性也不同，故法規之管理應引入風險管理的概念。

衛生署食品藥物管理局於今年 100 年 2 月公告體細胞及基因治療相關法規草案，但並沒有針對臨床應用的幹細胞訂定特定的法規。雖然目前國內外尚未有幹細胞之產品核准上市，然已有幾個利用幹細胞的第三期臨床試驗正在執行。台灣幹細胞的研究也有突破性進展，國家衛生研究院利用胎兒臍帶血管中的內皮細胞，也成功轉化為誘導式多功能幹細胞。因此對於幹細胞臨床應用的安全性應有一套適當的法規管理系統，尤其對於源自多功能幹細胞的細胞產品，由於其具有無限的複製能力以及多功能特性，可能引起安全性的疑慮相較於成人幹細胞及體細胞產品高，需有一套標準來測試幹細胞產品的一致性(consistency)、安定性(stability)、致瘤性(tumorigenicity)、毒性(toxicity)以及免疫生成性(immunogenicity)。

---

<sup>1</sup>財團法人醫藥品查驗中心基礎醫學組生物製劑小組

美國食品藥物管理局(FDA)認為 stem-cell-based product 為 “ are highly processed, used for other than their normal function, are combined with non-tissue components, or are used for metabolic purposes” 以公共衛生服務法 351 條款(the Public Health Safety Act, Section 351)，將幹細胞治療產品歸類為生物藥品來管理。而 European Medicines Agency 在 2011 年一月發表了一篇 Reflection paper on stem cell-based medicinal products，其目的是為了補充現有法規(Guideline on human cell-based medicinal products (EMEA/CHMP/410869/2006)沒有涵蓋到幹細胞的部分。

## 品質的考量 (Quality Consideration)

在品質的部分，包括捐贈者的適當性，篩選、檢測、操作、貯存、標示、包裝和運送等程序，應遵循人體細胞治療相關法規以及人體細胞組織優良操作規範 (GTP)，未來細胞產品上市尚須符合優良產品製造規範 (Good Manufacturing Practice, GMP)。

建立細胞庫時，需描述種源細胞庫 (master cell bank) 及生產細胞庫 (working cell bank) 的來源、培養歷史、與變異，並執行適當的品質測試包括特性鑑定及病原檢測，且由於細胞產品易受環境因子的影響，種細胞庫的鑑定應包含表現型 (phenotypic)，基因型 (genotypic) 以及功能的評估，相關的測試項目可參考 ICH Q5A(R1) 和 Q5D(R1)。當以胚胎幹細胞為起始細胞來源時，由於目前胚胎幹細胞來源均來自人工受精胚胎之囊胚細胞，故取得捐贈者的篩檢、家族的疾病史、血液樣本的檢測結果是不可行的。因此對於起始細胞株或建立細胞庫時，對於細胞感染病毒及 TSE 的風險性，應有適當的評估。若使用源於鼠科的飼養細胞株 (feeder cell line)，則評估其感染外來汙染原的測試應以異種具體的幹細胞產品規範之，例如應評估其感染鼠科反轉錄病毒 (retroviruses) 的風險性。

一般而言，細胞治療產品其製程相較於基因工程製劑、疫苗以及血液製劑等生物製劑簡單，然利用幹細胞體外培養分化為具有特定功能細胞產品時，由於製程中各種的環境因子，例如培養基的組成、細胞培養的時間以及分離的方法等，均會影響其細胞的分化程度，故為能達成細胞產品品質一致性，幹細胞分化及純化製程中應納入關鍵製程管控來確保其各階段製程中細胞分化之程度。相關之監測項目可包括細胞表現型 (cell phenotype)，細胞增殖兩倍時間 (doubling time)，存活率 (viability)，效價 (potency)，混合的細胞族群及數目 (heterogeneity of the cell population) 以及安全性測試如細菌與黴菌的無菌性 (sterility)，內毒素 (endotoxin) 以及黴漿菌 (mycoplasma).... 等。對於細胞產品的鑑定 (identity) 以及純度 (purity) 分析，可以適當且經確效的生物標記來進行分析。

## 基因安定性 (Genomic stability)

當細胞經數代培養可能產生基因型(genetic)及表現型(epigenetic)的改變，雖然一些研究顯示胚胎幹細胞經一年的長期培養仍能維持其細胞核學的安定性(karyotypic stability)，但其他研究結果顯示長期繼代培養的胚胎幹細胞其複製數目(copy number)改變、粒線體 DNA 序列(mitochondrial DNA sequence)和基因起動子(gene promotor)產生甲基化的現象。因此種批系統應測試其基因安定性並依測試結果建立可以允許的繼代數目。

## 致瘤性 (Tumorigenicity)

當幹細胞產品在體外培養進行細胞擴增或分化時，其分化效率無法達到百分之百且純化過程無法有效移除未分化之細胞，因此幹細胞產品通常是一個混和的細胞族群，含有已分化、未分化完全以及未分化的細胞，一些研究結果顯示這些未分化完全的細胞植入體內會在 target site 或者遷移至身體的其他部位並形成腫瘤。因此如何確保幹細胞治療不會產生致瘤性是另一重要安全性考量。根據研究顯示其致瘤性與幹細胞的種類、純度、植入的細胞數目以及植入部位相關，故以動物評估致腫瘤的潛在風險性，須考量試驗動物品種、試驗的期間的長短以及植入細胞數目的合適性。然動物試驗結果不一定能代表實際的臨床應用，故幹細胞的臨床應用仍應以病人的風險效益為首要之考量以及臨床試驗時嚴密監控其安全性及致瘤性。

## 非臨床考量 (Non-Clinical Consideration)

相對於體細胞治療產品，幹細胞治療產品由於其含分化和未分化的細胞混和族群，因此更多的非臨床試驗評估是必要的，如療效驗證(proof of concept)、細胞分佈(biodistribution)、免疫排斥(immune response)以及安全性(safety)。

### 1. 動物的品種的選擇(Choice of animal models)

選取類似人類疾病之動物模型是最理想的，但並非每種細胞治療產品都有類似人類疾病之動物模型，因此臨床前藥理及安全性測試應使用最適當、藥理最相關的動物模型。對於需要手術植入的細胞產品以及長期觀察其療效及安全性，小型的動物也許不適合，則應考量以體型、生理狀態及免疫系統與人類相類似的大型動物。

## 2. 細胞分佈(Biodistribution)

目前利用具有放射或螢光活性的試劑標記細胞產品並利用生醫影像技術追蹤細胞在體內的分佈，由於考量其追蹤試劑對人體的安全性，目前無法取得幹細胞治療產品在人體的分佈資訊，因此幹細胞植入後是否會分布在預期和非預期的位置以及其持久性，應以動物體內分佈試驗來說明。若發現有不正常的或非預期的細胞分布狀況，應評估其是否產生異常組織及可能引起的安全性疑慮。

## 3. 免疫生成性與免疫毒性(Immunogenicity and immunotoxicity)

若以幹細胞產品進行人體試驗時，則應針對捐贈者及受試者的 HLA 進行配對，並評估其可能產生的抗原性與免疫毒性進行非臨床安全性試驗與評估。

## 結語

目前幹細胞的研究發展日新月異，「幹細胞與再生醫學」發展的確為人類帶來新希望，如何建立一套與時俱進的法規科學環境，顧及受試者的安全性及權益，同時又不至於變成科技發展的絆腳石，阻礙科技的發展，考驗著各國的衛生主管機關。然對於研發者或藥商而言，確保幹細胞產品製造品質的一致性，除了建立一 qualified 種細胞庫和最終產品之檢驗外，應於製程中每一步驟執行檢測以減少製程的變異性。此外以非臨床之體外試驗及適當的動物模式來測試幹細胞產品的有效性及安全性。最終法規單位、受試者及醫生三方應根據臨床的適應症進行風險效益評估來決定執行此臨床應用的必要性。

## 參考資料：

1. 體細胞治療臨床試驗基準草案(100.2.22).
2. Reflection paper on stem cell-based medicinal products (EMA/CAT/571134/2009)
3. Human cell-based medicinal products (CHMP/410869/2006)
4. FDA Regulation of Stem Cell-Based Therapies. N Engl J Med 2006; 355:1730-1735.
5. Guidance for FDA Reviewers and Sponsors: Content and Review of Chemistry, Manufacturing, and Control (CMC) Information for Human Somatic Cell Therapy Investigational New Drug Applications (INDs) (2008).
6. Guidance for Industry: Guidance for Human Somatic Cell Therapy and Gene Therapy (1998).
7. Developing Safe Therapies from Human Pluripotent Stem Cells. Nature Biotechnology 2009; 27:606-613.
8. The Growing Pains of Pluripotency. Nature 2011; 473:272-274.