

## 人類細胞治療產品查驗登記審查基準 (草案)

2015.01.16

由於新興生物技術之快速發展，細胞培養、保存等技術逐漸成熟，國際上細胞治療產品陸續核准上市，對於傳統化學或生物藥品無法治癒之疾病，細胞治療產品應用於臨床，提供醫師或病人新穎且多元治療之選擇。

有鑑於細胞治療產品之特異性及複雜性，使得細胞治療產品的審查，有異於其他藥品審查之要求，實有制定專屬規範、科學策略與審查原則之需。衛生福利部食品藥物管理署為促進國人健康福祉之需要，及符合國際細胞治療產品發展之潮流，乃參考國際醫藥先進國家相關管理規範，訂定「人類細胞治療產品查驗登記審查基準(草案)」，闡述現階段本署對此類產品查驗登記之審查考量，確保產品之品質、安全及療效。希望在保障民眾用藥安全前提下，完善健全之用藥環境，帶動國內細胞治療產品發展。

本基準僅代表本署目前對於人類細胞治療產品查驗登記之技術文件審查考量，如果有任何符合替代方法或科學證據，得檢具資料向本署提出個案討論。另外，本署亦保留額外要求技術性資料之權利。

## 第一章 總則

- 一、本基準適用於人類細胞治療產品申請查驗登記時之參考依據，內容包含細胞治療產品之製造與品質管控、非臨床安全性、臨床安全及療效的要求，以及產品安全監視。
- 二、本基準所稱人類細胞治療產品(Human cell therapy medicinal products)係指使用取自人類自體(autologous)或同種異體(allogeneic)的細胞，施用於病人以達到疾病治療或預防的目的。異種異體(xenogeneic)之細胞治療不在此範圍。
- 三、細胞種類可為具有自我更新能力之幹細胞(stem cells)、委任的前驅細胞(committed progenitor cells)或是具有特定功能的分化細胞(differentiated cells)；細胞可經過基因修飾；此外，細胞可與生物分子(biomolecules)、化學合成之物質(chemical substances)或與屬於醫療器材管理的結構材料(structural material)併用。

## 第二章 品質與製造管控

- 一、申請查驗登記的人類細胞治療產品，其細胞或組織檢體的採集和製造，須符合優良組織操作規範 (Good Tissue Practice, GTP)，以及藥品優良製造準則之西藥藥品優良製造規範 (Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme Good Manufacturing Practice, PIC/S GMP)。
- 二、製造原料 (Starting and Raw Materials)

由於細胞治療產品的特殊性，其主成分為活細胞，無法進行最終滅菌程序，且在製程中通常無法執行大規模的純化步驟、病毒清除或病毒不活化等步驟，故對於製造原料的來源，特別是主成分細胞來源，以及來自動物性來源之原料或試劑必須嚴格管控。

### (一)細胞

人類細胞依捐贈者來源可分為自體細胞(autologous)和同種異體細胞(allogeneic cells)，各種細胞的管控應包括(但不限於)下列項目：

#### 1. 自體細胞

若接受自體細胞治療之病人本身未實施特定病原篩選(screening)與檢驗(testing)；或其檢體經篩選與檢測結果呈現陽性反應，應評估製造產品時所採用的程序是否會增

生病毒或外來病原(adventitious agents)，並且須採取必要的防禦措施，以避免病毒或外來病原蔓延傳染至自體細胞接受者以外的其他人，例如：細胞製造或操作者。

## 2. 同種具體細胞

(1)應對捐贈者實施特定病原的篩選與檢驗，可參考並依循國際捐贈者合適性判定(donor eligibility)之規範內容。篩選項目包括：人類免疫缺乏病毒(HIV)、肝炎高危險群、退化性海綿狀腦病變(CJD)以及肺結核；檢驗項目包括：人類免疫缺乏病毒(human immunodeficiency virus, HIV)第一型與第二型、B型肝炎病毒(hepatitis B virus)表面抗原與核心抗原的抗體、C型肝炎病毒(hepatitis C virus)、巨噬病毒(cytomegalovirus, CMV)、人類T細胞白血病毒(HTLV)第一型與第二型、梅毒(treponema pallidum)以及其他相關特定病原之檢驗(testing)，且應採用已核准上市之血液篩檢試劑及儀器來進行此類特定病原的檢驗。

(2)對於同種具體細胞治療，應視排斥之情況，考量人類白血球抗原(human leukocyte antigen, HLA)之基因多型性鑑定(typing for polymorphisms)而進行派對之課題。

## 3. 細胞庫系統建立與鑑定分析 (Cell banking system and characterization)

(1)針對個人化細胞治療產品，例如：自體細胞治療產品，可依製造商對於該細胞治療產品規劃，自行考量是否建立細胞庫系統。

(2)細胞庫系統包含種源細胞庫(Master Cell Bank)以及工作細胞庫(Working Cell Bank)。當需要建立細胞庫時，則應提供建立細胞庫系統之細胞來源及歷史(origin and history of cells)、培養過程(culture procedures)、特性鑑定(characterization)與外來污染物測試(testing for contaminating organisms)結果。

(3)細胞庫系統的特性鑑定(characterization)應包含細胞的生長動力學(growth kinetics)、族群倍增時間(population doubling time)、細胞型態(cell

morphology)、繼代培養細胞滿度(percent confluence at passage)、細胞數目(cell counts)、存活率(viability)、表現型(phenotypic expression)、基因型(genotype)例如：分子指紋(molecular fingerprinting)及染色體安定性(chromosomal stability)，以及功能評估等。細胞庫系統的品質及特性鑑定測試項目可參考ICH Q5D(R1)「Derivation and Characterization of Cell Substrates Used for Production of Biotechnological/Biological Products」、ICH Q5A(R1)「Viral Safety Evaluation of Biotechnology Products Derived from Cell Lines of Human or Animal Origin」。

#### (4)種源細胞庫

應詳述種源細胞庫的特性，包括：合適的測試來證實細胞的安全性、鑑別、純度及安定性，也應評估有無實施測試以證實下列事項：

- A. 產品的微生物特性，包括：無菌性、黴漿菌、體外(*in vitro*)與體內(*in vivo*)病毒測試。
- B. 防止特定病原污染：對人類細胞應檢驗特定病原，例如：人類免疫缺乏病毒第一型與第二型、B型肝炎病毒、C型肝炎病毒、巨細胞病毒、人類T細胞白血病毒第一型與第二型、EB病毒(Epstein-Barr virus, EBV)、B19微小病毒等。當細胞株與源於牛或豬的成分(例如：血清、血清成分、胰蛋白酶)接觸過後，應對生產之細胞實施牛或豬的特定病毒測試。
- C. 細胞的鑑別，包括：經由細胞株的物理或化學特性，來鑑別所指定的細胞(亦即表現型、基因型及其他標記)的各項檢驗。
- D. 細胞的純度：鑑定造成污染的細胞與估算其污染程度。
- E. 細胞之活性(例如：經活化的淋巴細胞、多巴胺的分泌、胰島素的分泌)及細胞成熟度(例如：樹突細胞)。

F. 其他對產品之安全性有影響的過程，包括：

- i. 培養的條件，包括：製造時所使用的各種培養基、試劑/成分的文件，並附上相關檢驗成績書(COA)。
- ii. 種源細胞庫的低溫冷凍、儲存與復原：提供與細胞密度、冷凍的安瓿(ampules)數、儲存溫度、細胞庫地點等有關的資料。
- iii. 種源細胞庫經多代後，應測試基因型與表現型的安定性，及細胞經低溫冷凍後的存活率。

#### (5) 工作細胞庫

工作細胞庫可能源自種源細胞庫的一個或多個安瓿。如前所述，工作細胞庫所需提供確認其特性的資料量，會比種源細胞庫較少。例如：已建立兩段式細胞庫系統時，對工作細胞庫應實施下列各項測試：

- A. 無菌性：細菌與黴菌
- B. 黴漿菌
- C. 外來病毒物質(adventitious viral agent)
- D. 適量的鑑別測試(limited identity testing)

如未建立細胞庫系統時，仍應評估生產之細胞有無外來病毒污染之疑慮，例如：當細胞製造過程中曾使用源於牛或豬的成分(血清、血清成分、胰蛋白酶等)，應對生產之細胞實施牛或豬的外來病毒測試。

#### (二) 試劑

製程中使用但不列為最終產品一部分的各種成份，稱之為試劑(reagents)。例如：對細胞生長、分化、選擇、純化或重要製造步驟所使用之胎牛血清、胰蛋白酶、生長因子、細胞激素、單株抗體、抗生素、培養基與其成份等。若製造產品所使用試劑導入外來病原時，將會影響最終產品的安全、效價(potency)、與純度(purity)。

##### 1. 試劑列表

應表列製造產品時所有使用的試劑，包括：加入培養基

內的各種成分，並提供各種試劑的下列資訊：

(1)製程中所使用的最終濃度

(2)賣方/供應商

(3)試劑原料

當成分是源自人類時，應提供成分之品質相關文件，以確保製造細胞治療產品的品質。對各種源自動物的成分，應描述下列事項：來源生物、來源國家、供應商/賣方、及製造階段。如使用餵養細胞株(feeder cell line)與人類細胞共同培養，應提供餵養細胞之品質相關文件。例如：使用豬來源的產品，應提供檢驗成績書，或已進行檢驗的文件，來證實該產品不具豬小病毒(porcine parvovirus)、豬環狀病毒(porcine circovirus)或其他豬來源病毒。例如：成分源自反芻動物時，應提供動物來源非源自發生牛海綿狀腦病變(bovine spongiform encephalopathy, BSE)，或有相當風險存在有BSE的國家之證明文件。有關BSE與其他動物衍生成份之管制，請參照衛生福利部公告。

(4)試劑的品質

產品製造使用之試劑，應盡可能採用藥典等級(例如：USP grade)或臨床用等級之試劑(clinical grade components)，若不可行而採用研究用等級試劑(research grade components)時，除提供檢驗成績書以評估該試劑是否實施適當的檢驗，必要時可能需要實施額外的測試，以確保該試劑的品質。

(5)檢驗成績書(COA)

應提供檢驗成績書來證明試劑之品質。檢驗成績書之測試項目應包含安全性測試(無菌試驗、內毒素、黴漿菌與外來物質)、鑑定、功能分析、純度、及不純物等(例如：殘餘溶劑測試)。

2. 判定各種試劑已從最終產品中移除

應描述對偵測最終產品中各種試劑殘餘量所實施的測試

程序。如這些試劑已知或可能具有毒性時，應評估是否應提供確效研究的數據，來證明這些試劑已從最終產品中移除。

### 3. 其他事項

通常避免在製造過程中使用盤尼西林(penicillin)或其他β-內醯胺類(beta-lactam)抗生素，以避免病人產生過敏反應。如必須使用此類抗生素時，應在仿單中加註警語說明製程中使用此類抗生素，來避免使用者可能的敏感性。

#### (三)賦形劑

最終產品之活性成分外的非活性成分稱為賦形劑(Excipients)，例如：人類血清白蛋白(human serum albumin)或是DMSO(Dimethyl sulfoxide)等。應列出所有在最終產品內非活性成分與最終濃度，並提供檢驗成績書。如無人類使用經驗，則須提供完整之化學、製造與管制及非臨床試驗之科學性文件以支持其品質及安全性。

## 三、細胞產品製造與製程管控 (Manufacturing Process and In Process Control)

### (一)細胞之製備 (Cell preparation)

1. 應對細胞治療產品製造與純化時所使用的各種程序作詳細的描述，並提供製造流程圖(flow chart)。

(1) 細胞採集及處理程序：應說明採集捐贈者組織/細胞檢體的數量或大小，並描述處理步驟，例如：使用之機械器具(instruments)或酵素分解(enzymatic digestion)之流程。且此處理步驟應執行確效試驗(validation)，以確保製備的細胞保留其功能完整性，並避免細胞碎片及其他細胞種類的汙染。

(2) 細胞族群的分離與純化：應提供各種細胞選擇或分離所使用的器材，例如：密度梯度(density gradients)、磁珠(magnetic beads)、或螢光激發細胞分選儀(fluorescence activated cell sorting; FACS)。

(3) 細胞培養：應提供培養條件及批次大小，例如：細胞培養的溫度、時間及培養的最大繼代數，並證明細胞培養程序的一致性與重複性，若有不同，應予說明。

亦應提供細胞在培養條件下的細胞生長速率和族群倍增時間(population doubling time)，對於細胞的型態和繼代培養時細胞滿度(percentage of confluence)應有所敘述。當細胞培養過程添加生長因子(growth factors)時，須特別考量次細胞族群(cell subpopulations)是否因而獲得生長優勢。

- (4) 製程時間與中間物儲存：應估算從捐贈者組織或細胞採集至最終細胞採收，每個步驟所需時間。重要的是要知道每個製造步驟的時間限值，以判定是否需實施製程測試。當細胞注入病人體內前有冷凍處理時，應納入此部分的資料，及各項安定性研究的資料。應記錄細胞採收至最終採收間，儲存的時間與條件。應採取適當的程序，以確保大量採集時儲存的安定性。
- (5) 細胞修飾：當給予細胞物理性及化學性處理或基因修飾時，應提供其處理方法。若細胞之基因經過基因修飾，其製造與管控應須遵循國內外基因治療相關規範。
- (6) 複合性細胞產品：當細胞生長於支架模板(matrix/device/scaffold)時，應考量該支架模板對細胞生長、功能及完整性之影響，且該支架模板若為生物材料，其降解速率為另一考量重點，故其細胞培養程序也應執行確效試驗，以確保細胞培養製程的一致性。
- (7) 最終採收：應描述最終採收的處理程序。如果最終細胞採收有經離心處理，應描述其清洗條件及使用的介質。應確定細胞在調配後有無冷凍處理，或於調配後立即供病人使用。如果最終採收物有儲存的必要，應描述其儲存的條件與儲存時間。

## 2. 放射線處理(依製程需求個案考量)

當自體細胞或異體細胞產品在移植前需經過放射線處理時，應提供數據證明這些細胞不具複製能力，但仍保有預期的特性。處理細胞的放射線儀器必須定期校正。

## 3. 最終配方

應詳細敘述最終產品的配方，並說明最終配方中有無包含生長因子或人類血清白蛋白等賦形劑，並指出其來源。應詳細敘述這些賦形劑的供應商及最終濃度。也應確定最終



產品所使用的細胞密度或濃度。應對產品的運送條件加以描述，並確定產品於此運送條件下仍維持其品質。

## (二) 關鍵製程與製程管控 (Critical Step and Manufacturing Control)

應於關鍵步驟或中間物設定製程中管控(in-process control)來管理整個製造程序，並說明製程中管控所使用的分析方法與允收標準。藉由關鍵步驟的管控可確保製程的再現性和最終產品的一致性。

## (三) 製程確效 (Process Validation)

細胞治療產品的製程包含從器官/組織之細胞採集、分離、細胞培養、採收以及最終配方，應提供確效資料，包含：確效計畫書以及確效結果，以說明製程設計、重要參數及接受標準的合適性。製程中預期的易變因子，例如：不同的細胞來源、不同試劑供應商或是製程參數變異範圍等，都應納入製程確效中，以驗證製程的耐變性。一般而言，確效資料建議應以數批代表性批次來驗證各製程所產出之細胞族群的一致性。若製程改變超出預期的範圍，則須提出再確效的資料及結果。

## (四) 儀器設備

應表列出製造細胞治療產品時使用的所有儀器設備，例如：細胞分離器材。若有衛生福利部食品藥物管理署核准上市的儀器設備，則可採用此儀器設備製備細胞治療產品。若採用未核准上市的儀器設備，應於製程中執行製程確效(Validation)，以確保所製造的細胞品質。並提供各種儀器設備的下列資訊：

1. 賣方/供應商
2. 品質相關文件

使用的儀器設備最好具有耐變性，並且須定期校正與維護，確保細胞治療產品檢測結果的一致性。對於製程中用以分析關鍵性參數的儀器(例如：FACS)應執行檢測品質的確效(Validation)，亦應有適當的清潔驗證，避免不同細胞治療產品間的交叉汙染。

## 四、產品測試

應於製造過程實施製程管控，訂定放行標準，並執行放行測試，以評估製程本身及各批次產品的品質與一致性。

人類細胞治療產品製程管制之放行測試應包括但不限於：(一)確保細胞治療產品安全性(safety)的微生物測試(microbiological testing)、(二)確保產品特性的鑑別(identity)測試、(三)純度(purity)、(四)效價(potency)、(五)存活率(viability)及(六)細胞數量/劑量(cell number/dose)。

#### (一)微生物測試 (microbiological testing)

##### 1. 無菌測試(sterility testing)

###### (1)測試方法

應詳細說明最終產品的無菌試驗方法及試驗結果等資料。適合的測試包括藥典(中華藥典、European Pharmacopoeia、United States Pharmacopoeia)所述的無菌試驗(sterility tests)方法。如採用非藥典測試方法時，應說明此替代測試方法的適當性並提供確效資料。當產品製造時有使用抗生素，應確認在進行無菌試驗前，有將抗生素移除。如抗生素無法移除，應使用藥典無菌測試所述的直接接種法(Direct transfer method)進行無菌試驗，測試時須將硫醇乙酸鹽培養基及大豆分解蛋白質-乾酪素培養基以無菌操作方式加入適量之 $\beta$ -內醯胺酶( $\beta$ -Lactamase)。 $\beta$ -內醯胺酶添加量須事先採用抑制細菌及抑制黴菌的確效測試(validation tests for bacteriostasis and fungistasis)，來評估無菌分析法的效力，以確保產品中殘餘的抗生素，不會影響無菌試驗的結果。

###### (2)測試時機

於關鍵製造步驟應進行例行性製程中無菌試驗。例如：長時間細胞培養時或是活化細胞、變更細胞性質後，宜例行進行製程中無菌試驗。應敘述是否已實施製程中的測試，也應依據製造系統，來評估擬定的製程中測試是否適當。

測試結果應符合允收標準(acceptance criteria)，以作為最終產品規格的一部分。如最終產品在使用前是冷凍處理，應在低溫保存前對產品實施測試，並在供病人使用前得到測試結果。然而如產品在解凍後有進行其他處理(例如：

沖洗或培養)，尤其是在開放式系統實施此類程序時，可能需重複實施無菌試驗。

### (3) 產品放行之無菌試驗

#### A. 藥典之無菌試驗法

如果細胞須在取得無菌試驗結果的 14 天前供病患使用時，應確定在最終採集前 48 至 72 小時，或在培養基最後一次的餵養後，採取樣本實施無菌試驗。放行產品前應檢查培養物。縱使產品已供病人使用，此測試也應持續實施 14 天，另外應利用其他快速偵測微生物的檢驗方法檢測最終產品。為確保安全性，應採用：(A)48 至 72 小時無菌試驗結果，及(B)快速偵測微生物的檢驗方法，例如：革蘭氏染色呈陰性反應，來做為放行標準 (release criteria)。當持續實施的無菌試驗的結果，顯示病人接受的產品受到污染時，也應詳細敘述將採取的措施，因為此類污染可能對受試者造成重大的風險。

另可參考本署公告之「生物藥品檢驗基準 II」。

#### B. 替代之無菌試驗法

若考量快速偵測微生物的檢驗方法，例如：革蘭氏染色的靈敏度問題以及藥典的無菌試驗法須至少 14 天的培養時間的限制，可以其他快速偵測微生物法來偵測細菌及黴菌之生長 (例如：自動血液培養儀器 BACTEC、BacT/ALERT、Rapid Milliflex 等) 的檢驗結果替代藥典的無菌試驗法之檢驗結果。若擬以 BACTEC、BacT/ALERT、Rapid Milliflex 等方法替代藥典方法檢測無菌性，應執行分析方法確效試驗，以證明此替代方法使用的合適性，則產品放行測試時，可以 BACTEC、BacT/ALERT 及 Rapid Milliflex 等方法檢測細胞治療產品之無菌性。然此替代方法在供病人使用前仍應有無菌測試結果，來做為放行標準 (release criteria)。

## 2. 黴漿菌 (mycoplasma)

應確認於偵測到污染的最佳機會點，對產品實施黴漿菌測試，例如：在培養基匯集 (confluence) 但尚未實施沖洗時。此測試應對細胞或上清液實施。黴漿菌污染有數種可能的來源，其中兩種主要的來源為培養時使用動物血清產品及培養場所的環

境，特別是開放式的培養系統。在長期的培養程序中，應實施製程中的黴漿菌測試。當細胞治療產品之貯架期有限，實施以培養基為基礎的直接培養法以及指示細胞培養法為放行測試 (release testing) 並不可行時，可以接受以聚合酶鏈鎖反應 (PCR) 為基礎的黴漿菌分析，然應執行確效試驗來證明所使用的聚合酶鏈鎖反應測試法，有足夠的敏感度與精確度。

另可參考本署公告之「生物藥品檢驗基準 III」。

### 3. 外來病原測試(adventitious agent testing)

#### (1) 體外病毒測試 (*in vitro* virus testing)

應在種源細胞庫及最終生產細胞(end of production cells) 實施一次體外病毒測試。此測試應將測試樣本接種至可提供病毒生長之細胞株共同培養。使用細胞的選擇，視測試樣本的來源和種類(species of origin)而定。此測試應包括與產品製造所使用同種和同組織型的單層細胞，及易受人類病毒感染的人源及(或)非人源之靈長類動物細胞株。此外，此測試應包含測量有無致細胞病變病毒及附血性病毒 (cytopathic and hemadsorbing viruses)。

#### (2) 體內病毒測試 (*in vivo* virus testing)

應對種細胞庫實施體內病毒分析。此類測試分析應將測試樣本接種至成鼠及乳鼠(adult and suckling mice)，及雞胚胎蛋(embryonated hen eggs)內的方式實施。有些案例，可能需接種至天竺鼠、兔子或猴子體內進行測試。此類分析的指標是測量受測動物有無出現疾病。

#### (3) 對特定物種實施特定外來病毒之測試

應於製造的各個階段(例如：細胞庫、最終產品)，實施特定外來病毒的測試，及明確敘述使用的測試方法。因為治療產品是使用人類細胞株，所以應對各種人類病原進行測試。人類病毒性病原可用聚合酶鏈鎖反應(PCR)為基礎的測試系統實施。應測試的人類病毒性病原可參考附錄「人類細胞治療產品相關的特殊傳染病控管」，及視情況而定的其他病原。

### (二) 鑑別(identity)

細胞依據細胞族群以及來源應鑑別其細胞基因型(genotype)以

及表現型(phenotype)。細胞表現型可以適當且經確效的生物標記來進行分析，例如：基因表現、細胞抗原、生物化學活性等。對於附著性細胞可以細胞型態(morphology)來鑑別。對於異體來源細胞的鑑別分析應包含組織相容性標記(histocompatibility markers)以及基因多型性(genetic polymorphisms)分析。對於複合性細胞治療產品，非細胞之組成(例如：支架等)也應根據其原料特性執行鑑別測試。

### (三) 純度(purity)

細胞治療產品中與療效相關之特定的細胞族群及其活細胞數目直接影響療效與安全性，因此與效能相關的細胞族群、其他細胞污染物、活細胞/死細胞比例應列入細胞治療產品放行規格中，並訂定可以接受之標準。若為幹細胞治療產品，應檢測其細胞分化比例。

#### 1. 熱原性/內毒素 (Pyrogenicity/Endotoxin)

可用 Limulus Amebocyte Lysate(LAL) assay 分析法來測量內毒素以替代熱原試驗法。必要時，應證實所使用的 LAL 內毒素分析法與熱原試驗法有同等的效度。對非經腸道給予的(parenteral)藥物，建議內毒素的上限為 5 EU/公斤體重/小時；而以椎管內(intrathecal)注射的藥物，內毒素的上限較低，為 0.2 EU/公斤體重/小時。放行測試的允收標準應以製程管控的分析資料為依據來訂定合理的範圍。

#### 2. 製程相關不純物 (Process-related impurity)

應對人類細胞治療產品實施的純度測試，包括：製造時使用的胜肽、蛋白質及試劑，例如：細胞激素、生長因子、抗體及血清等殘留量的分析。可參閱 ICH Q3「Impurities」。

#### 3. 細胞相關不純物 (Product-related impurity)

細胞治療產品會有細胞來源的不純物，例如：產品本身的細胞聚集(aggregate)、細胞死亡(dead cells)、細胞降解的碎片、未預期的細胞型態(unintended cellular phenotypes)等。此部分應於製程確效中證明細胞相關不純物之組成的一致性，對於有安全疑慮的不純物，應於放行測試時檢測其含量並訂定允收標準予以控管。

### (四) 效價(potency)

細胞治療產品的效價可由臨床試驗結果來提供支持性證據，其應有細胞活性與臨床療效間的關連性。效價測試可以納入產品放行、安定性試驗和比較性試驗 (comparability study) 中。根據 ICH Q6B 「Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria For Biotechnological/Biological Products」，效價分析應至少包含一個定量分析 (quantitative assays) 方法，並且這些分析方法應經過方法確效。

### 1. 生物性測試 (Biological assays)

生物性測試需要在活的生物系統來評估細胞治療產品的效價，其可以使用活體動物、體外器官 (*in vitro organ*) 或組織/細胞的培養系統中去執行生物性測試。

### 2. 非生物性測試 (Non-biological analytical assays)

由於細胞治療產品特性的複雜度和目前分析技術的限制，欲發展適合的定量分析方法來執行效價測試有其困難度，則可以非生物性測試來進行細胞治療產品的放行測試。此非生物性測試所分析的細胞參數 (product attributes) 應能反應出細胞治療產品特有的生物活性，而此生物活性應與臨床療效或效價有良好的關聯性。

### 3. 多重測試 (Multiple assay)

當一個分析方法無法支持產品的效價時，例如：細胞治療產品非常複雜而無法訂定其作用機轉、細胞治療產品具多個活性成分或多個生物活性、或生物性測試不可確效 (例如：不可定量、不耐變或缺乏精確度)，則需以多個測試方法來互補測試方法之不足，並且多重分析各測試結果來評估細胞治療產品的效價。

## (五) 存活率 (viability)

應於產品放行測試及安定性試驗中測試細胞存活率，存活率的允收標準 (acceptance criteria) 的制訂應依照廠商批次生產紀錄、安定性試驗結果、使用於臨床前動物試驗以及臨床試驗批次的安全及有效性結果來訂定。

對人類細胞治療產品來說，可被接受的最低存活率為70%。如未能達到此標準則應提供數據，來證明死細胞與細胞碎片，並不會影響施予產品的安全性與療效，以支持較低的存活率的規格。

## (六) 細胞數量/劑量 (Cell number/Dose)

產品測試和放行條件中，應包括：產品中存活細胞、有效細胞的最低數目。也應記載是否已經制訂臨床使用時容許植入的最大劑量，以及此劑量的制訂依據。

## (七) 致瘤性 (Tumorigenicity)

當細胞治療產品在體外繼代培養時，可能導致基因的不穩定性而產生致瘤性。幹細胞治療產品進行細胞擴增或分化時，其分化的效率無法達到百分之百，或純化步驟無法有效移除未分化之細胞，這些未分化的幹細胞或未分化完全的細胞植入體內，有潛在的致瘤性風險。因此細胞經由細胞培養程序或建立細胞庫系統時應評估其染色體完整性及致瘤性。請參考ICH Q5D(R1)「Derivation and Characterization of Cell Substrates Used for Production of Biotechnological/Biological Products」。

## 五、最終產品的放行測試 (Final product release testing)

- (一)應以表格方式列出所擬定的最終產品規格，內容應包括：測試項目、測試方法及允收標準(acceptance criteria)。測試項目應包括：微生物測試、鑑別、純度、效價、細胞存活率等；測試方法須經過分析方法確效並提供方法確效之資料；允收標準係指所述測試結果的數值限值或範圍，此允收標準是根據研發過程的批次生產紀錄、安定性試驗結果、使用於臨床前動物試驗以及臨床試驗批次的安全及有效性結果來訂定。
- (二)依製造過程而定，在某些情況下，每劑產品可視為單一批號。在產品用於病患前，應先取得最終產品放行測試的結果。若細胞治療產品在用於病患前無法取得完整放行試驗結果（例如藥典的無菌試驗結果），製造商應清楚指出在產品放行前無法取得結果的測試項目，應提供因應方案，例如利用其他替代測試方法檢測最終產品，且應描述使用於人體之後，如有不符合規格之允收標準時的通報過程。
- (三)放行測試之分析方法應執行方法確效，以確認該方法能確切分析出該細胞治療產品之特性。通常可利用試驗設計來同時探討若干種確效指標，例如：專一性、線性、偵測極限值、準確度以及精密度等，以對分析方法之能力提供完整而全面的訊息。方法確效相關資訊請參考「現行藥品優良製造規範—分析確效作業指導手冊」。

## 六、批次分析結果 (Batch analysis)

由於細胞或組織來源的差異性和製程過程的複雜性，為了驗證製程的耐變性(robustness)和製程生產出的細胞治療產品的一致性，需要提供至少三個確效批次的批次分析結果來證實。

## 七、參考細胞標準品 (Reference standard)

細胞治療產品所訂定的製程中的管控和最終產品檢測規格可參照適合的參考細胞標準品(Reference standard)。此參考細胞治療產品用於確保製程和測試方法的一致性，並且也驗證整個製造系統的適用性。參考細胞標準品的製備需有良好的控管，並且符合所有中間物和最終產品的檢測標準。此外，參考細胞治療產品要進行詳細的鑑別，以確認其具有一定的效價、品質和安定性。若使用細胞庫系統時，當有更新細胞庫系統時，須進行一系列鑑別分析去比較更新前後的細胞庫之間是否有顯著差別。

## 八、容器密封系統 (Container closure system)

應有容器與封蓋對於細胞治療產品之合適性評估測試，例如：吸附、滲出物、生物測試和儲存期限中容器封蓋系統完整性之試驗等。並應提供容器及封蓋的規格、檢驗成績書與供應商資訊。

## 九、安定性試驗 (Stability testing)

對於最終產品、所有於製程中預計會經過儲放的中間產物以及開封後的產品皆應訂定儲存期限，且應有安定性試驗數據加以支持。安定性分析方法應進行評估，以判定其作為產品安定性指標的適當性。此部分詳細的資料，可參閱ICH Q5C「Stability Testing of Biotechnological/Biological Products」。

### (一) 製程中的安定性測試

細胞經低溫冷凍保存時，應制訂安定性計畫及測量前述的各項參數，以確保產品於低溫冷凍保存期間可保持安定。需對產品在冷凍前及解凍後進行分析比較。產品在細胞低溫冷凍保存等階段也應在適當的時段實施安定性測試。

### (二) 最終產品的安定性測試

應提供數據證明產品從調配至病人使用期間可保持安定，以建立有效期限。產品應在於適當的溫度與所預定的儲存期限的時間點來進行測試。如果產品需由從製造地點運送



至臨床試驗地點時，應敘述其運送時間與條件(亦即運送的包裝與溫度)。應有適當的安定性計畫來確定產品在其擬定的運送條件下，能保持完整性、無菌性與活性。

## 十、其他議題 (Other Issues)

(一) 含有經過基因改造的細胞治療產品，其管控應遵循基因治療相關規定。

(二) 複合性細胞治療產品 (Combination product)

1. 複合性細胞治療產品除了含有細胞外，亦可含有非細胞的成分，例如：生物材料(biomaterials)、模具(Matrices)、支架(scaffolds)、生物活性分子(bioactive molecules)等，此非細胞的成分可提供支持性支架、適合細胞治療產品生長之環境或生物訊息傳遞訊號等功能。如非細胞的成分未經核可上市，則需提供其完整的製造管制資料與非臨床試驗資料以證明其品質與安全。

2. 複合性細胞治療產品的鑑別可能因細胞和非細胞成分的混合過程而造成難以區別，故可對複合性細胞治療產品個別的成分有適切之特性分析，並且建立鑑別的方法。如非細胞的成分能提供細胞生長或對細胞產生特定功效，則需提供相關資料證明。另外，非細胞的成分亦有可能會改變細胞週邊之環境或刺激細胞訊息傳遞，而造成細胞的分化或功能的改變，故應驗證非細胞成分對細胞功能和特性的影響。例如：

(1) 非細胞成分或其滲出物是否有毒性，其對細胞生長或預期之功能的影響。

(2) 非細胞成分的結構特性(例如：topography、surface chemistry、strength)對於細胞的支持、存活率、生長或其他功能特性的影響。

(3) 生物相容性分析，確認非細胞成分對於整個細胞治療產品的系統性影響。例如：預期的細胞分化狀態、基因形態或功能的影響。

(4) 非細胞成分的釋放動態或分解速率應驗證其有達到預期的效果。

3. 如果受限於某些複合性產品的特質，致使其結構/功能性

分析有所困難時(例如：數量少的自體細胞)，可以考慮以相同特性的細胞成分與相同的非細胞成分組合而成的複合性產品為模式來探討其品質。

### (三) 追蹤系統 (Traceability)

細胞治療產品使用於人體時，有關病人、產品及使用物料的追蹤連結是必要的，如此才能監控產品的安全性和有效性。一般而言，這樣的連結可分為兩個層次：一為捐贈者與產品間的連結，另一則為產品與接受者間的連結，以建立捐贈者與接受者間的完整追蹤系統。

### (四) 產品相當性 (Comparability)

細胞治療產品在研發過程可能有製程變更的情況。基於此類產品的複雜性，在各研發階段的產品評估是十分重要的，尤其是進入臨床試驗之後。在樞紐性臨床試驗期間，無論是製程和最終產品都不應有所變更。用於臨床試驗的產品應執行足夠的特性分析以供證明製程一致性。臨床試驗批次如有涉及製程變更，應探討批次間是否具相當的品質，而一旦產品相當性無法以品質及非臨床試驗加以說明時，便必須以臨床數據來佐證。

## 第三章 非臨床試驗 (Non-clinical studies)

非臨床試驗(藥理及安全性試驗)的目標以產品的活性(activity)、安全性(safety)與療效(efficacy)為主，雖然一般藥品的藥理及安全性試驗模式及設計並不完全適用於細胞治療產品，但是，細胞治療產品皆應以個案為考量，盡量提供藥理及安全性試驗的資料及評估。非臨床試驗應於適當的動物模式進行，主/次藥效學試驗如果沒有適當的動物模式，經過合理說明(justify)的情況下，可採以體外(*in vitro*)試驗所獲得的實驗數據為主。若其他的類似產品已有人體使用經驗，亦可以提供文獻支持非臨床部分的評估。非臨床試驗的試驗產品組成成分、特性、給藥途徑及劑量，皆應能代表申請查驗登記的產品。

### 一、藥理試驗 (Pharmacology)

#### (一) 主藥效學試驗 (Primary pharmacodynamics)

應依照臨床宣稱的適應症選擇適當的疾病動物模式(disease model)來進行，如果沒有適當的動物模式，則

以體外(*in vitro*)試驗取代，針對細胞的特性、功能及標的等進行試驗。在可行的範圍內，應尋找最低或最適當的有效劑量。

(二) 次藥效學試驗 (Secondary pharmacodynamics)

細胞產品亦可能因為分佈至目標以外的其他器官/組織，或分泌其他生物活性的物質，或作用到非預期產生作用之標靶器官，而造成非預期的生理作用，這些可能性皆應於適當的動物模式來評估。

(三) 安全性藥理試驗 (Safety pharmacology)：

試驗的需要與否依個案而定。某些細胞的特性或移植部位可能會影響重要器官的生理功能。

(四) 細胞的動力學(kinetics)、遷移(migration)及持續性(persistence)

一般小分子藥動學探討的吸收、分佈、代謝、排泄(ADME)研究並不完全適用於細胞治療產品。但是，仍應探討細胞進入體內後的表現、組織分佈、存活率、持續性、傳輸(trafficking)等特性的變化。一般說來，小型動物較大型動物容易偵測細胞在體內的分佈狀況。

(五) 交互作用

建議監測細胞治療產品之細胞或周邊組織與非細胞的結構物(structural components)及其他生物活性物質間的交互作用，也應監測細胞治療產品是否嵌入週邊組織。

## 二、安全性試驗 (Toxicology)

細胞治療產品安全性試驗的需要與否應依個案而定。細胞產品的安全性疑慮可能來自製造過程中細胞活性的改變、殘餘物料或產品組成成分、併用的佐劑或細胞素(cytokine)或藥品等，某些免疫治療的細胞產品有自體免疫性的疑慮。此外，應注意細胞產品引起的免疫原性是否會影響其療效。一般而言，細胞治療產品的安全性試驗，包括：一般安全性(general toxicity)試驗與局部耐受性(local tolerance)試驗。原則上，安全性試驗應模擬預計人體使用情形來進行，若其他的類似產品已有人體使用經驗，亦可以提供文獻支持安全性的評估。

### (一) 單劑量及重覆劑量安全性試驗 (Single and repeated dose toxicity studies)

應選擇適當的動物模式來進行安全性試驗。如果試驗動物體內沒有立即排斥人類細胞產品，則可以整合安全性藥理、局部耐受性或藥理試驗設計同時進行。當臨床上需要多劑量使用時，則需要進行重覆劑量試驗，否則單劑量試驗即可。不過，因為細胞作用的時間長，單劑量試驗設計可能需要比一般藥品的單劑量試驗更長的觀察期。

### (二) 局部耐受性試驗 (Local tolerance studies)

試驗的需要與否應依個案而定，並在適當的動物模式來進行。通常可以於單劑量或重覆劑量安全性試驗中一併評估細胞產品的局部耐受性。

### (三) 其他安全性試驗 (Other toxicity studies)

#### 1. 致瘤性試驗 (Tumorigenicity)

試驗的需要與否應依個案而定，傳統的致瘤性試驗未必合適，應視宣稱適應症及臨床治療期設計合適的試驗。若是含有幹細胞的細胞產品，應考慮其導致腫瘤發生 (tumorigenicity) 的可能性。致瘤性試驗使用的細胞應是等於或超過細胞產品的細胞培養極限。細胞或其活性物質的組織分布研究結果若有特定的發現時，則致瘤性試驗評估時應注意分佈組織的變化。若需執行長期致瘤性試驗，則依細胞產品特性，選擇在一個適當的試驗動物品系/模式執行。

#### 2. 基因安全性試驗 (Genotoxicity studies)

除非細胞產生的活性物質與 DNA 或染色體物質有直接作用，一般的細胞產品不需要執行此試驗。

#### 3. 生殖安全性試驗 (Reproductive studies)

試驗的需要與否應依個案而定。

## 第四章 臨床試驗 (Clinical studies)

### 一、通則

一般而言，當細胞治療產品進入臨床發展階段，其臨床試驗要求與一般藥品的要求是一樣的，包括：藥效學試驗、藥動學試驗、作用機轉之研究、劑量探索試驗、設計良好的隨機分配臨床試驗。隨機分配臨床試驗的設計應符合現有審查基準之要求(包括：一般基準以及針對特別疾病所訂之臨床試驗考量重點)。除此之外，所有細胞治療產品皆應採風險考量方式(Risk-based approach)，在整個研發過程中，以風險分析的方式決定需要多少品質、非臨床及臨床資料。

根據細胞治療產品的生物特性，有時需採取與藥品不同的方式來進行第一期至第三期臨床試驗。可由非臨床試驗、過去臨床治療經驗以及早期臨床試驗資料來驗證概念(proof of principle)，並依此選出臨床上有意義的療效安全評估指標。對於理論基礎不明確的細胞治療產品，建議在研發階段，儘早向法規單位提出諮詢。

細胞治療產品可能需要透過特定手術步驟、給藥途徑或與其它治療併用以獲得預期的治療效果。產品的生物效應(biological effects)主要視體內(*in vivo*)環境而定，有可能會受到置換過程(replacement process)、來自病人或是細胞治療產品的免疫反應等因素影響。在臨床發展過程中，應要探討這些可能影響產品作用的因素，並對其訂出最佳且標準化的處理方式，做為最終產品使用時之標準。對於細胞治療產品完整的治療程序，包括：給藥途徑、需合併使用的藥物(例如：免疫抑制治療)等都需要探討，且需記載於產品仿單。

## 二、藥效學

縱使對細胞治療產品的作用機轉還無法有很詳盡的了解，但仍需知道其主要的的作用。若細胞治療產品是要用來矯正缺失或被毀損細胞/組織的功能，則需要執行功能測試。若細胞治療產品是用來修復或取代細胞/組織，且預期有終生作用，則組織構造上的分析可能可以做為藥效學上的評估指標。鏡檢、組織學檢查、影像學或酵素活性等，皆可做為藥效學標誌(PD marker)。若細胞治療產品包含細胞與非細胞的組成，臨床上還需評估其相容性(compatibility)、降解速率(degradation rate)以及功能性(functionality)。

## 三、藥動學

傳統的吸收、分布、代謝與排泄(ADME)之試驗通常不適合用於評估細胞治療產品。試驗可能使用的方法學及可行性皆需討

論。另外，亦需於產品預期存活期間(intended viability of the product) 注意監測其生存能力(viability)、增殖/分化(proliferation/differentiation)、分布/遷移(distribution/migration) 以及機能(functionality)。

若有可能需要多次使用(multiple/repeated administration) 之細胞治療產品，則需依據此產品預期在體內的壽命，探討其施打的時程。

#### 四、劑量探索試驗

應依據產品的品質、非臨床資料以及效價(potency)來選擇劑量。即使細胞治療產品的劑量可能依據病人的個別情況決定(例如：患者體重、缺失組織的體積或面積等)，仍應有第一/二期試驗資料來支持療效驗證性試驗所使用的劑量。

於第一/二期試驗，應找出一個最低有效劑量<sup>註1</sup>或最佳有效劑量範圍<sup>註2</sup>(optimal effective dose range)。如果可能的話，也應探討最大安全劑量<sup>註3</sup>(safe maximal dose)。

註1. 最低有效劑量定義:可達到預期效果的最低劑量。

註2. 最佳有效劑量範圍定義:基於臨床療效及耐受性考量，找出可達到預期效果所需的最大劑量範圍。

註3. 於臨床安全性試驗中，找到沒有發生副作用的最高劑量。

#### 五、臨床療效

臨床療效試驗需能適當證明下述事項：(一)在目標族群，以臨床上有意義的評估指標來證實其效果；(二)找到合適的劑量範圍(dose-schedule)以獲得最佳治療效果；(三)產品療效持續時間；(四)考慮到目標族群現有治療方式的利益風險評估。細胞治療產品的療效驗證性試驗要求，與一般藥物相同。即使此細胞治療產品為全新的作用機轉，也不代表需使用不同於現有治療方式的指標來評估其療效。若採取不同於一般治療此疾病藥物的試驗設計，需有充分的理由。

若細胞治療產品屬新的治療應用，而尚缺乏一般公認可接受的療效指標及試驗設計可參考，建議可向法規單位提出臨床發展計畫的諮詢，包括：驗證性試驗的設計。

關於替代指標(surrogate endpoint)的使用，若臨床上有意義的評估指標與療效的關係已被確認且廣被認可，則可接受以此指

標做為替代指標。在某些適應症(例如：預防關節病變)，其臨床療效指標需要很長時間的追蹤，則可接受以替代指標來評估其療效，給予上市許可。若細胞治療產品之療效與該產品的長期持久性相關，則需提供長期追蹤計畫。

## 六、臨床安全性

關於安全性資料的要求，其使用人數及時間(safety exposure)至少要能偵測到常見的不良事件，可參考過去類似產品之臨床使用經驗。整個治療程序中所發生的風險都需加以評估，若此細胞治療產品需藉由手術才能使用，或需併用免疫抑制劑，則這些風險都需一併考慮，並做為選擇目標治療族群的考量。

所有臨床前觀察到的安全疑慮都需於臨床試驗中探討，尤其是某些缺乏合適動物模式(animal model)的疾病，或是由於生理差異而使同源動物模式預測價值受限制的安全議題。

對於生物過程(biological processes)包括免疫反應、感染、惡性轉變(malignant transformation)以及開發階段或上市後可能併用的治療都需特別注意。

對於預期會有長期生存能力(long term viability)的產品，為了要確認產品長期的療效及安全問題，需要長期追蹤患者。

至於是否要求重複使用的臨床安全性資料，則視該產品的風險分析(risk analysis)而定。在決定最大安全劑量時也應考慮到此產品是否有重複使用之可能。

## 第五章 藥品安全監視

常規的藥物安全監測及產品追蹤應於風險管理計畫中描述。細胞治療產品可能需要長期試驗來監測特別的安全問題，包括：失去療效等。細胞治療產品的長期安全議題，例如：感染、免疫原性/免疫抑制、惡性轉變以及相關醫材/生物材料(medical device/ biomaterial component)在體內的持久性(*in vivo* durability)等，都應在風險評估計畫中加以評估。依據產品的生物學特性，有可能會需要執行特別的藥物流行病學研究。對於「捐贈者-產品-接受者(donor-product-recipient axis)」或「自體使用細胞產品-接受者(product-recipient axis for autologous products)」，需保持可追溯性。

## 參考文獻

1. 人類細胞治療產品臨床試驗申請作業及審查基準，民國 103 年。
2. 人體細胞組織優良操作規範(GTP)，民國 91 年。
3. 藥物非臨床試驗優良操作規範(GLP)，民國 95 年。
4. 藥品非臨床試驗安全性規範(第五版)，民國 103 年。
5. 國際醫藥法規協合組織(ICH)規範採認清單，民國 103 年。
6. Guideline on human cell-based medicinal products, EU EMA, 2008
7. Guidance for human somatic cell and gene therapy, US FDA, 1998
8. Cellular and tissue-based products, 1046 USP 37, 2014.
9. Guidance for Industry: Potency Tests for Cellular and Gene Therapy Products, US FDA, 2011
10. Guidance for Industry: Preclinical Assessment of Investigational Cellular and Gene Therapy Products. CBER/OCTGT, 2013
11. Guidance for Industry: Eligibility Determination for Donors of Human Cells, Tissues, and Cellular and Tissue-Based Products (HCT/Ps), US FDA, 2009



附件

細胞治療產品相關的特殊傳染病控管

|  | 檢 驗 (Testing)                 |                          |                          |                                   |                                  |                                      |                                   |                                   | 篩 選 (Screening)            |                                      |                             | 防疫隔離<br>(Quarantine) |
|--|-------------------------------|--------------------------|--------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|----------------------------|--------------------------------------|-----------------------------|----------------------|
|  | 人類<br>免疫<br>缺乏<br>病毒<br>(HIV) | C 型<br>肝炎<br>病毒<br>(HCV) | B 型<br>肝炎<br>病毒<br>(HBV) | 人類 T<br>細胞白<br>血病病<br>毒<br>(HTLV) | 巨細胞<br>病毒<br>(Cytomeg<br>avirus) | 梅毒螺旋<br>菌<br>(Treponema<br>pallidum) | 披衣菌<br>(Chlamydia<br>trachomatis) | 淋病球菌<br>(Neisseria<br>gonorrhoea) | HIV<br>與肝<br>炎高<br>危險<br>率 | 退化性<br>海綿狀<br>腦病變<br>(CJD<br>screen) | 肺結核<br>篩檢<br>(TB<br>screen) |                      |
| 一、自體庫存組織<br>(Autologous<br>banked tissue)  |                               |                          |                          |                                   |                                  |                                      |                                   |                                   |                            |                                      |                             |                      |
| • 幹細胞 (Stem<br>cells)  | R                             | R                        | R                        | R                                 |                                  |                                      |                                   |                                   | R                          |                                      |                             |                      |
| • 其他自體組織<br>(Other autologous<br>tissue)   | R                             | R                        | R                        |                                   |                                  |                                      |                                   |                                   | R                          |                                      |                             |                      |
| 二、同種異體，非活性<br>(Allogeneic,<br>non-viable)  | ○                             | ○                        | ○                        | ○                                 | ○                                | ○                                    |                                   |                                   | ○                          | ○                                    | ○                           | R                    |
| 三、同種異體，具活性<br>(Allogeneic, viable<br>tissue)   |                               |                          |                          |                                   |                                  |                                      |                                   |                                   |                            |                                      |                             |                      |
| • 家屬捐贈者的幹細<br>胞 (Stem cells<br>from family<br>donors)                                  | ○                             | ○                        | ○                        | ○                                 | ○                                | ○                                    |                                   |                                   | ○                          | ○                                    | ○                           |                      |
| • 性伴侶的生殖組織<br>(Reproductive<br>tissue from<br>sexually intimate<br>partners)           | R                             | R                        | R                        | R                                 | R                                | R                                    | R                                 | R                                 | R                          | R                                    | R                           | R                    |
| • 其他生殖組織 (包<br>括捐贈者)<br>(Other<br>reproductive<br>tissue including<br>directed donors) | ○                             | ○                        | ○                        | ○                                 | ○                                | ○                                    | ○                                 | ○                                 | ○                          | ○                                    | ○                           | ○                    |
| 四、其他異體活組織<br>(Other allogeneic<br>viable tissue)                                       | ○                             | ○                        | ○                        | ○                                 | ○                                | ○                                    |                                   |                                   | ○                          | ○                                    | ○                           | R                    |

○：必要 (Required)

R：建議 (Recommended for tests)，需標明「檢驗陰性」或「無檢驗注意生物危害」

