

## 基因疗法的生产：确保产品安全和质量

### 幻灯片 1

本演示文稿将讨论基因疗法产品的生产，以确保产品安全和质量。

### 幻灯片 2

此幻灯片展示了 FDA 发布的基因疗法产品的定义。基因疗法产品指所有通过转录和/或转化转移的遗传物质，和/或通过结合宿主基因组来调控其作用的产品，以及以核酸、质粒、病毒（比如腺病毒载体），或基因改造的微生物（比如细菌）的形式施用的产品。通过将基因疗法产品直接施用于患者，或在患者施用之前体外转移至细胞，此类产品可用于改变体内细胞的性质。此处展示的定义来自 2006 年 FDA 长期随访指南。

### 幻灯片 3

此图让您大致了解 2009 年 7 月以来，活性基因疗法研究性新药（即 IND）申请的数量和类型。

图中显示的多数是复制缺陷型基因疗法产品，其中最常见的是基于质粒的载体。质粒可以裸 DNA 的形式输入，也可以包裹在脂质体中以增强传递性。

就病毒载体而言，腺病毒产品是最常见的载体，主要用于癌症适应症。

逆转录病毒具有结合宿主基因组的固有特性，并且能够长期稳定地结合治疗基因。

AAV 代表腺相关病毒。AAV 载体不结合宿主基因组，但其能够在非分裂细胞中完成长期基因表达。IND 下的 AAV 产品主要通过将病毒载体直接施用至大脑来治疗神经系统疾病。

痘病毒包括牛痘、鸡痘和金丝雀痘，主要用作癌症疫苗，因为此产品本身具有一定的免疫原性，可以在疫苗疗法中作为辅助剂。

### 幻灯片 4

基因疗法科也审评许多其他难以分类的产品。有些是基因疗法产品，有些实际上并不被视为基因疗法产品。但是此表中的大多数都是复制产品。

在撰写本演示文稿时，CBER 大约有 32 个 IND 使用了溶瘤病毒。这些活性病毒优先在肿瘤组织中通过复制过程进行复制，可以破坏肿瘤组织。理论上，此类病毒不会在正常的周围组织中复制，因此，不会破坏周围的正常组织。

有些溶瘤病毒是天然的野生型病毒，具有在分裂细胞（比如肿瘤细胞）中复制的固有能力和能力。其他的溶瘤病毒经过修饰，目的是减弱野生型病毒，减轻其致病性。有些可能还携带治疗基因以增强对靶向肿瘤细胞的杀伤力。

FDA 看到越来越多的活性微生物产品，即活性细菌或酵母。其中许多是厌氧菌，优先在癌症患者体内的坏死性肿瘤环境进行复制。这些产品中的大多数携带治疗基因（比如细胞因子），以增强对肿瘤细胞的杀伤力。

CBER 也有大约八个 IND 使用了单纯疱疹病毒载体，其中一些是带有治疗基因的复制缺陷型载体。有几种实际上只是野生型减毒疱疹病毒，用作溶瘤病毒。其分类方式有点令人困惑，但最终都以几乎相同的方式

进行监管。

### 幻灯片 5

我们讨论一下 FDA 如何监管基因疗法产品的生产。如此幻灯片所示，生产过程可能非常复杂。此幻灯片展示了由经与逆转录病毒载体体外转导的患者细胞制成的产品示例。生产过程中使用的许多成分需要进行监督。同种异体细胞作为起始材料，有供体筛查的要求。可能会对这些细胞进行选择，只选某个亚型，因此 FDA 会进行监督，确保在细胞选择中使用的单克隆抗体的质量是合适的。然后会对细胞选择装置进行审查。当然，对基因疗法载体的生产过程也会进行监督，然后对可能使用研究级试剂材料的培养过程进行监督。当然还会对成品进行监督。

### 幻灯片 6

这基本概述了 FDA 如何监督基因疗法产品生产过程以确保产品安全和质量。评价这些产品将涉及评估产品生产所用成分、成品检测和特性描述以及对生产过程控制的评价。

### 幻灯片 7

所评估基因疗法产品生产用成分包括载体、用于体外转导的异体或自体细胞、用于基因疗法产品生产的细胞库系统以及用于产生载体或培养患者细胞的辅助试剂。

### 幻灯片 8

关于载体的评估，要求生产企业提交载体历史的说明以及关于载体构建的详细信息。要求申办者提交概述载体基本要素的载体图。目前，FDA 要求在开始临床试验之前，需对小于 40 千碱基的基因疗法载体进行全序列分析。

对于某些较大的载体，FDA 希望在第 3 阶段之前进行全面测序，但在第 1 阶段之前，对主要区域（比如插入片段、侧翼区域和修改区域）进行测序。这样做是为了确保基因疗法产品中不会出现意外序列。

全面测序完成后，FDA 在几个基因疗法产品中有一些意外发现。例如，在一个常用的腺病毒载体中发现了大段的鲑鱼 DNA。此载体起源于 20 世纪 50 年代，当时使用鲑鱼 DNA 促进原始载体建构的析出。如果不对载体进行全面测序，就不会发现此 DNA 序列。

### 幻灯片 9

对于基因疗法产品生产中使用的细胞和细胞基质，其要求与任何生物制品的生产体系类似。例如，对于用于生产疫苗、重组蛋白或单克隆抗体的细胞，FDA 要求提供有关细胞基质的信息，包括细胞基质的历史、来源和一般特征。

对于生产体外修饰基于细胞产品所使用的自体或异体细胞，FDA 要求提供有关细胞来源、收集程序以及符合供体资格要求的信息。

### 幻灯片 10

细胞库和病毒库检测与 FDA 一般监管生物制品的方式一致。安全性检测包括无菌性、支原体和各种外来病毒检测，包括两个常规病毒筛查，体外和体内外来病原体检测。如果尚未对生产中使用的胎牛血清和胰蛋白酶进行检测，则需要对牛病毒和猪病毒进行额外检测。FDA 可能会要求针对所用细胞系类型进行针对具体种属的病毒检测。

对于设计为无复制能力的基因疗法产品，有时会在生产过程中看到重组现象，会产生具有复制能力的病毒。这可以成为一个安全性隐患。因此，在生产每个阶段，要求申办者检测是否存在具有复制能力的病毒。

关于具体的检测方法和限值，FDA 有相关指南。

### **幻灯片 11**

主细胞库的特性描述将涉及相对基本的检测，包括鉴别、同工酶分析、纯度、污染细胞分析、致瘤性以及其它检测（比如生存能力）。

### **幻灯片 12**

对于主病毒库检测，FDA 会要求提供载体序列及限制图，并查看病毒库的转基因特异性蛋白表达、效价和稳定性数据。

### **幻灯片 13**

对于工作细胞库和病毒库，安全性检测涉及无菌性、支原体、体外外来病原体以及具有复制能力的病毒检测。对于特性描述，FDA 也希望能进行鉴别检测、稳定性检测和其它适当测定。

### **幻灯片 14**

对于生产使用的试剂，FDA 要求提供所用试剂的列表，包括所用试剂的来源。如果试剂是来自人体的材料或来自动物的材料，则可能需要进行额外的检测。FDA 还需要知道此试剂是研究级别的还是供人类使用的。对于基因疗法产品的生产，经常看到的是使用研究级产品，因此 FDA 要求提供此试剂的分析证书。如果有可用的监管主文件，则要求生产企业提供主文件持有人的信函，以允许对此主文件进行交互参照。需建立资格认证程序来评估生产过程中所使用试剂的质量，尤其是在使用研究级试剂的情况下。

### **幻灯片 15**

关于产品生产，总体上会评估载体生产和纯化的方案。如果此过程涉及体外转导细胞，则 FDA 将评估收集、加工、培养、转导程序的方法，以及任何其他修饰（比如辐射），当然还将评估最终细胞收获的条件。

### **幻灯片 16**

对于成品的配制，FDA 将评估缓冲液和赋形剂的配方，待施用产品的最终浓度以及最终配制后的储存条件。

### **幻灯片 17**

对复杂生物制品（比如细胞和基因疗法）进行成品检测是很大的挑战。并非一直有明确定义的活性成分，并且生产过程存在很多可变性。因此，成品检测的重点是产品特性描述以及批次之间的一致性。FDA 要求生产企业在其 IND 中提供成品的放行检测方法和可接受标准的清单。

### **幻灯片 18**

所有生物制品都需要进行安全性检测，这一点在法规中进行了明确。

安全性检测的基本要求包括无菌性、支原体和内毒素检测。对于基因疗法产品，由于此类产品的性质，FDA 要求增加检测外来病原体。

### **幻灯片 19**

如前所述，成品的特性描述对监管复杂生物制品是一个挑战。法规规定了检测成品纯度、鉴别和效力的总体要求。当然，如果是基于细胞的产品，FDA 也希望评估成品的稳定性和细胞活力。我们对复杂生物制品进行产品特性描述的方法为，随着临床试验的进行，申办者应继续开发检测方法，以更好地描述产品特性以及定义可接受标准。

### **幻灯片 20**

此幻灯片展示了关于成品特性描述的更详细的信息。对于基因疗法产品，鉴别检测可能相对直接，只需制

作限制图或结构表征。对于纯度，主要关注可能与工艺有关的杂质，包括残留的 DNA、蛋白质或培养试剂。对于病毒载体，应当确立测定方法以测量传染性颗粒与非传染性颗粒的比例。

所有临床开发阶段以及后续阶段均应检测稳定性。

### **幻灯片 21**

效力测定应表明与产品有关的生物活性，并且应量化。这是在开始第 3 阶段之前 FDA 要求的。但是，对于早期临床开发，要求生产企业评估病毒产品的病毒效价，并建立检测方法以评估治疗基因的表达。如果是基于蛋白质的治疗剂，则通常通过酶联免疫吸附测定（ELISA）完成。

### **幻灯片 22**

关于生产质量管理规范（简称 GMP）以及产品特性描述与 GMP 之间的关系，似乎存在很多困惑。

现行生产质量管理规范（即 cGMP）是指在产品开发和生产过程中为确保一致性生产出安全、纯净和有效的产品而实施并记录的一组科学合理的现行方法、惯例或原则。

许多生产企业认为 GMP 只是设立一些标准操作程序（简称 SOP）、记录所有内容、并由另一组人签署分析证书。但 GMP 是有关管控生产过程的。如果不精确定产品的纯度和效力，则很难确保生产过程可以生产出一致的产品。基因疗法产品以及许多其他生物制品，通常非常复杂且难以描述特性。因此，FDA 允许在临床开发过程中逐步采用 GMP 和特性描述要求，并期望生产企业随着临床试验的进展能展示对生产过程控制程度的增加。

### **幻灯片 23**

随着临床试验的进行，生产程序的优化通常也会不断发展。

在美国，第 1 阶段临床试验通常无需遵守 GMP 要求。第 1 阶段临床试验的指南对此进行了说明。如此幻灯片中所示，FDA 使用逐步推进的方法执行 cGMP 和产品特性描述的要求。

在第 1 阶段开始之前，必须进行安全性检测。这包括无菌性、支原体、内毒素和病毒检测。第 1 阶段之前需要进行基本特性描述，但是 FDA 允许逐步进行批次放行检测，包括过程中检测和最终放行检测。最初，批次放行检测主要基于临床前数据。可接受标准可能有点宽泛。特性描述可能很有限，但是 FDA 期待看到整个临床开发过程中根据数据对可接受标准的发展、完善和提高。

所有分析检测程序都必须依据法规所列或等效检测，并且通过许可验证。FDA 不要求在获得许可之前对检测程序进行全面验证。当然，基本验证是需要做的。在临床开发过程中，这称为分析认证，以表明所有检测和过程均显示出特异性、灵敏性和可重复性。

### **幻灯片 24**

总之，FDA 使用逐步推进方法执行监管要求。从第 1 阶段开始直至到整个开发过程，安全性检测是首要任务。复杂生物制品的产品特性描述是一项挑战，FDA 期待在临床开发过程中完善产品特性描述，也希望申办者通过 GMP 实践显示对生产过程的控制，总体目标是确保产品的安全性和质量。

### **幻灯片 25**

关于“基因疗法的生产：确保产品安全和质量”的演示文稿到此结束。

在此感谢为其制作做出贡献的人员。谢谢！