

《体外基因修饰系统药学研究与评价技术指导原则(试行)》解读

卢加琪,李倩,何伍

(国家药品监督管理局药品审评中心,北京 100022)

[摘要] 近年来,大量细胞治疗产品申报临床试验,截至2022年10月,我国已有2个细胞治疗产品批准上市,为严重疾病治疗提供了有效的手段。基因修饰系统包括慢病毒、 γ -逆转录病毒、腺病毒、仙台病毒等病毒载体系统,以及DNA、RNA、蛋白质和蛋白质-RNA复合物等非病毒载体类系统,目前已应用于多种细胞产品的基因修饰或编辑。为规范基因修饰系统的药学研究和评价,国家药品监督管理局药品审评中心于2022年5月发布了《体外基因修饰系统药学研究与评价技术指导原则(试行)》。本文结合该指南的起草思路,对指南进行解读,以方便读者更好地理解指南内容。

[关键词] 基因修饰系统;细胞治疗产品;技术指南;药学研究

[中图分类号] R95 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1003-3734(2023)02-0118-05

Interpretation of guidance on CMC study and evaluation of *ex vivo* genetic manipulation system

LU Jia-qi, LI Qian, HE Wu

(Center for Drug Evaluation, National Medical Products Administration, Beijing 100022, China)

[Abstract] A large number of investigational new drug (IND) applications of cellular products have been submitted in recent years. Up to October 2022, two cellular products have been approved to be marketed in China, which provide effective therapeutic approach to treat serious diseases. Genetic manipulation systems are used to modify or edit genes in various types of cellular products, including lentivirus, γ -retrovirus, adenovirus, sendavirus or other viral vectors, as well as DNA, RNA, protein, protein-RNA complex or other non-viral vector systems. A guidance on CMC study and evaluation of *ex vivo* genetic manipulation systems was issued by CDE, NMPA on May 2022, in order to illustrate criteria on CMC research and evaluation of such systems. This paper provides a detailed interpretation of the guidance, combined with the guidance drafting logic, to help readers better understand the content of the guidance.

[Key words] genetic manipulation systems; cellular product; guidance; CMC research

近年来,细胞治疗和基因编辑等基础理论、技术手段的发展日新月异,成为生物医药行业发展最为

迅速的领域之一,我国基因修饰细胞类产品的研发和注册申报数量也逐年增加。

目前申报的细胞治疗产品常涉及细胞的体外基因改造或修饰,所采用的工具为基因修饰系统,该系统种类多样,其设计和制备过程的差异可直接影响到细胞治疗产品的安全性和有效性。因此,这类产品所用的各类基因修饰系统需经过完整的质量评价,并有必要进一步细化不同类型基因修饰系统药

[作者简介] 卢加琪,女,审评员,主要从事生物制品药学研究。联系电话:(010)85243055, E-mail: lujq@cde.org.cn。李倩,女,审评员,主要从事生物制品药学研究。联系电话:(010)85242986, E-mail: liqian@cde.org.cn。

[通讯作者] 何伍,男,主任药师,主要从事生物制品药学研究。联系电话:(010)85242658, E-mail: hew@cde.org.cn。

学研究的技术要求。

为规范基因修饰系统的研究,指导其研发和申报,结合国内外相关技术要求,本着科学性、可操作性、前瞻性和先进性相结合的原则,国家药品监督管理局药品审评中心(以下简称“药审中心”)起草并于2022年5月发布了《体外基因修饰系统药学研究与评价技术指导原则(试行)》(以下简称“指南”)。该指南对体外基因修饰系统的药学研究内容分类进行了阐述,内容不具有强制性。申请人可根据基因修饰系统的特性和具体研究情况酌情参考该指南,也可采用其他有效的研究手段和方法,并提供其合理性依据和说明。

本文结合该指南的起草修订过程,在基因修饰系统结构设计、风险控制和安全性评价方面提出监管方的考虑,供研发者参考。

1 国内外相关技术指南

截至2022年4月,国内外各监管机构发布的指南中含有部分基因修饰系统的药学技术要求,但均未针对不同类型基因修饰系统发布完整的技术指南,因此,该研究领域缺乏一定的监管共识。

1.1 国外监管机构及组织相关技术指南 美国FDA在2020年1月发布的指南“Chemistry, Manufacturing, and Control (CMC) information for human gene therapy investigational new drug applications (INDs)”^[1]中对基因治疗产品的生产用原材料、细胞库、载体系统等提出了建议性的总体药学技术要求,其中不涉及细化的各类基因修饰系统的研究要求。美国FDA在2006,2018和2020年相继发布、修订了逆转录病毒载体质量控制中复制型病毒检测方法的相关指南“Testing of retroviral vector-based human gene therapy products for replication competent retrovirus during product manufacture and patient follow-up”^[2],其中仅涉及对逆转录病毒载体的复制型病毒检测方法的技术要求。

欧洲EMA于2005年针对慢病毒载体发布了相关技术指南“Guideline on development and manufacture of lentiviral vectors”^[3],未针对其他基因修饰系统发布具体技术要求。2018年,欧洲EMA针对体内基因治疗产品发布了指南“Guideline on the quality, non-clinical and clinical aspects of gene therapy medicinal products”^[4],其中介绍了基因治疗产品生产用材料、工艺和质量控制等方面的药学技术要求。2020年,欧洲EMA针对基因修饰细胞的研究要求

发布了指南“Guideline on quality, non-clinical and clinical aspects of medicinal products containing genetically modified cells”^[5],其中介绍了CAR-T细胞产品及诱导多能干细胞生产使用的基因修饰系统(包括病毒载体、mRNA、基因编辑工具等)的研究内容,但全文重点对基因修饰细胞终产品的药学研究进行了阐述,未阐明基因修饰系统细化的药学研究要求。

WHO于2021年12月发布了传染病预防用mRNA疫苗的指南“Evaluation of the quality, safety and efficacy of messenger RNA vaccines for the prevention of infectious diseases: regulatory considerations”^[6],提出了mRNA疫苗(脂质纳米粒封装)的药学技术要求,对本指南RNA相应部分的撰写具有参考意义。

综上所述,国外监管机构有部分指南涉及基因修饰系统的药学研究要求,但是未有细化阐述各类基因修饰系统药学研究内容的指南。

1.2 国内监管机构相关技术要求 《中华人民共和国药典》2020年版新增了“人用基因治疗制品总论”,其中的要求如适用,也可供体外基因修饰系统研发参考^[7]。

指导原则层面,2017年由药审中心起草和原国家食品药品监督管理总局发布的《细胞治疗产品研究与评价技术指导原则》提及细胞治疗产品生产用病毒载体的药学总体要求,未涉及细化的研究内容^[8]。2003年,原国家食品药品监督管理局发布了《人基因治疗研究和制剂质量控制技术指导原则》,如适用于体外基因修饰系统的研究,研发时也可参考。

2 起草思路和主要内容

该指南撰写过程中,在参考美国FDA、欧洲EMA和其他机构相关指导原则的技术要求的同时,综合考虑了国内基因修饰系统的研发现状。与美国FDA、欧洲EMA等机构在技术要求方面总体保持一致的同时,在不同章节中,结合审评经验,针对国内企业研发现状对指导原则内容进行了相应补充,以便国内研发企业参考。

2.1 起草思路 该指南主要针对细胞治疗产品的基因修饰系统的药学研究起草。由于基因修饰系统类型多样,且行业技术发展迅速,因此,指导原则在撰写时提出了基于风险的研发和评价原则,强调申请人需要基于基因修饰系统类型和应用情形,通过风险分析选择适用的研究方案的总体思路。

该指南撰写要素基本覆盖了基因修饰系统上市阶段需要完成的所有药学研究,以及技术审评中需要关注的各个方面。为了回应业界关切,在本指导原则适当的章节中,结合审评经验和国内外技术要求,尽可能提供了部分 IND 阶段的建议,以供参考。

起草思路主要围绕风险识别和控制展开,主要包括整体风险识别、不同生产使用情形风险、基因修饰系统变更风险三部分:① 整体风险识别一般考虑基因修饰系统设计、制备工艺和质量控制中的风险因素,并结合细胞终产品特点进行风险评估和控制。② 不同生产使用情形包括针对不同载体和基因修饰细胞,其基因修饰后细胞建库和不建库 2 种情形进行分类分析。③ 主要针对目前常见的临床期间基因修饰系统变更研究问题,由于变更阶段、事项的不同,研究较复杂,具体要求该指南未进行详细介绍,将在后续技术文件中讨论。

2.2 主要内容 该指南正文将基因修饰系统药学研究分为病毒载体类和非病毒载体类 2 类阐述,内容可基本覆盖当前阶段研发的基因修饰系统的主要类型。2 类基因修饰系统的撰写内容均包括分子设计、生产用材料、制备工艺、质量研究与质量标准。此外对基因修饰系统的稳定性研究、直接接触性容器/材料的总体药学技术要求进行了撰写。

该指南针对目前国内申报常见的整合型载体慢病毒载体、 γ -逆转录病毒载体的药学研究进行了设计和制备工艺等具体技术要求的撰写,技术要求与国外同类指导原则技术要求基本一致。根据国内外研发现状,在借鉴美国和欧盟指导原则基础上,本指南新增了不同类型基因修饰系统的研究要求,均为非强制性要求,内容涵盖 γ -逆转录病毒载体、仙台病毒载体、环状 DNA 载体、mRNA 及复合核酸类基因修饰系统等。但由于基因修饰技术仍在快速发展中,相关技术考虑基于目前研发现状,难以避免后期不断更新,因此本指南在应用时可根据研发实际情况,具体问题具体分析。

重点章节方面,病毒载体类基因修饰系统技术要求包括分子设计和质粒、生产/包装细胞、病毒种子批等生产用材料的药学技术要求,以及制备工艺、质量研究和质量标准方面的技术考量等。对于非病毒类基因修饰系统,本指南与国际其他监管机构指南相比,首次纳入了部分创新型基因修饰系统(如游离型载体等)的技术考虑要点,该类技术仍

在快速发展过程中,技术要求可能随着技术进步不断更新。

3 需要说明的问题

3.1 体外基因修饰系统和体内基因治疗产品(*in vivo gene therapy product*)的技术要求 体外基因修饰系统和体内基因治疗产品采用的活性成分可能一致,如均可能使用病毒载体、核酸类系统等,但体内基因治疗产品属于治疗用生物制品,体外基因修饰系统为细胞治疗产品基因修饰用的原材料或工具,二者在载体类型、设计考虑、生产用材料管理、制备模式、质量控制、稳定性研究等方面的要求可能存在差异。例如:由于体内基因治疗产品直接输注人体,一般具有亲嗜性、安全性风险控制、纯度和杂质等质量研究方面要求更高等特点。而经体外基因修饰系统修饰后的细胞还可能经过体外培养、换液清洗等步骤,在应用于人体之前还要经过细胞终产品放行检测,其修饰特性可能在回输前得到控制,一些相关的杂质残留可以经过质量控制后进行放行,因此,体外基因修饰系统的使用风险与体内基因治疗产品不同,其药学研究需根据风险评估合理设计研究方案。

3.2 生产条件的要求 业界对于基因修饰系统生产条件[即是否要求符合《药品生产质量管理规范》(GMP)]的要求咨询较多,为回应业界关切,经专家咨询会讨论,形成本指南中的技术要求,即基因修饰系统的制备全过程原则上应符合 GMP 的要求,具体的要求根据其使用情形的不同可具体问题具体分析。

对于直接接触细胞的基因修饰系统(且修饰细胞不经过筛选建库/库),其可直接对终产品质量产生影响,在此情况下,基因修饰系统建议按照 GMP 的相关要求开展生产。例如:目前可用于自体 CAR-T 细胞产品基因修饰的慢病毒载体、 γ -逆转录病毒载体等基因修饰系统,如细胞基因修饰后未经建库直接培养后用于人体输注,建议在符合 GMP 条件下生产病毒载体。该情形下,如使用的基因修饰系统为 DNA, mRNA, Crispr-Cas 蛋白核酸复合物等,也建议其在符合 GMP 条件下生产。

另一方面,一些干细胞衍生产品需要采用基因修饰系统进行细胞重编程建立诱导多能干细胞库(iPSC 细胞库),iPSC 细胞库再经过扩增、分化获得细胞终产品。在这种情况下,由于涉及 iPSC 细胞库筛选、建库以及后续多步生产过程,早期使用的细胞

重编程基因修饰系统可依据风险和具体情况,在满足制备过程能有效控制污染/交叉污染/混淆、确保生产全过程可追溯、生物安全性可保证,且基因修饰系统和细胞终产品的质量可控等基本要求的基礎上,可视情况参考 GMP 相关原则和要求执行。

3.3 不同使用情形下的技术要求 由于基因修饰系统在细胞治疗产品生产过程中的使用情形不同,本指南主要阐述了目前研究中可能出现的体外基因修饰后直接制备细胞产品(情形一)和体外基因修饰后建系/库再制备细胞产品(情形二)2种使用情形。

对于体外基因修饰后直接制备细胞产品(情形一)的技术要求方面,具体的情况可能包括供者细胞基因修饰后经细胞扩增、制剂等操作直接制备细胞产品,以及供者细胞基因修饰后不经后续操作直接制备细胞产品等情形。该情形下所用的基因修饰系统与回输人体的细胞直接接触,对基因修饰系统的制备工艺和质量控制等药学研究要求更全面,因此本指导原则中主要针对情形一进行介绍。

对于体外基因修饰后建系/库再生产细胞产品(情形二)的技术要求方面,具体的情况比较复杂,可能包括不同供者细胞分别经一次基因修饰建立多个批次细胞库(自体细胞产品)、同一供者细胞多次取样后分别经一次基因修饰建立多个批次细胞库(异体细胞产品)、同一供者细胞经多次基因修饰操作建立一个批次细胞库(经不同修饰系统进行多次基因修饰的自体细胞产品)以及不同的基因修饰建库后细胞培养操作程度及培养时长(如多能干细胞分化、成体干细胞分化)等多种复杂的情况。以上情形的共同特点是基因修饰后的细胞经过建系/库,不同于基因修饰后细胞直接使用的情况。该情形下细胞系/库建立时可能经过单克隆筛选步骤,细胞系/库的质量研究中可对其基因修饰相关特性进行充分表征,且细胞系/库在后续生产过程中可能存在长时间的体外扩增、分化等复杂操作。因此基因修饰系统的药学研究方面,可结合生产使用情况和细胞系/库的研究和检测情况,制定修饰系统的风险控制策略。对于情形二,由于情况复杂,且研究技术还在迅速发展,难以在该指南中统一描述,建议研发者就具体研发计划与药审中心开展沟通交流。

3.4 复制型病毒的技术要求 复制型病毒是病毒载体类基因修饰系统的重要安全性研究内容,其检

测方法较复杂,部分类型病毒对操作环境具有一定要求,相对其他方法的建立存在更多挑战。该指南基于目前国内研发现状和国际监管要求,对复制型病毒检测方法进行了总体原则上的介绍,同时对 RCR 和 RCL 检测方法进行了具体介绍。建议在复制型病毒方法开发时,关注各检测方法对应的操作流程、样本量、阴性对照、阳性对照、抑制性对照、干扰组对照、检测标志物、检测限、判定标准等方面的设定和验证研究。鼓励同时采取 2 种以上基于不同原理或针对不同标志物的检测方法,提高复制型病毒的检出率。其他复制型病毒的检测方法,可以参考总体原则,并根据具体问题具体分析的原则开展研究。

3.5 变更研究的技术要求 由于认知和经验积累有限,基因修饰系统的变更研究对工业界和监管部门均具有较大挑战性。基因修饰系统设计、制备工艺等方面的变更往往关联较多其他不同方面的变更,变更存在的风险和相应的技术要求还在不断积累和总结中。因此,本指导原则中仅提出了一般性的原则要求。后续可随着研发和评价经验的积累适时撰写变更相关的技术指南。

4 总结和展望

近年来细胞治疗和基因编辑等基础理论、技术手段的发展速度不断加快,多个基因修饰细胞产品研发上市,在复杂难治疾病的治疗中呈现出较好疗效。基因修饰系统和细胞治疗技术的进步,对基因修饰系统的安全性和转导效率等方面提出了更高的要求。该指南基于当前的科学认知,针对体外用基因修饰系统提出建议性技术要求。随着技术的发展、认知的深入和经验的积累,后续将随着技术发展逐步修订和完善。

在我国,基因修饰系统生产平台日益增加,复制型病毒检测等复杂检测技术也逐渐成熟。相信通过先进治疗产品持有人/申请人、基因修饰系统生产方、政府监管机构等的共同努力,不断促进我国基因修饰系统相关产业的发展和先进治疗产品的上市,造福患者。

[参 考 文 献]

- [1] FDA. Chemistry, Manufacturing, and Control (CMC) Information for Human Gene Therapy Investigational New Drug Applications (INDs) [EB/OL]. (2020). <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/chemistry-manufacturing-and-control-cmc-information-human-gene-therapy-investigational-new-drug>.

- [2] FDA. Supplemental Guidance on Testing for Replication Competent Retrovirus in Retroviral Vector Based Gene Therapy Products and During Follow-up of Patients in Clinical Trials Using Retroviral Vectors[EB/OL]. (2018). <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/testing-retroviral-vector-based-human-gene-therapy-products-replication-competent-retrovirus-during>.
- [3] EMA. Guideline on development and manufacture of lentiviral vectors[EB/OL]. (2005). https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-development-manufacture-lentiviral-vectors_en.pdf.
- [4] EMA. Quality, preclinical and clinical aspects of gene therapy medicinal products[EB/OL]. (2018). https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-quality-non-clinical-clinical-aspects-gene-therapy-medicinal-products_en.pdf.
- [5] EMA. Guideline on quality, non-clinical and clinical aspects of medicinal products containing genetically modified cells[EB/OL]. (2020). https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-quality-non-clinical-clinical-aspects-medicinal-products-containing-genetically-modified_en-0.pdf.
- [6] WHO. Evaluation of the quality, safety and efficacy of messenger RNA vaccines for the prevention of infectious diseases: regulatory considerations [EB/OL]. (2021). <https://www.who.int/publications/m/item/evaluation-of-the-quality-safety-and-efficacy-of-messenger-rna-vaccines-for-the-prevention-of-infectious-diseases-regulatory-considerations>.
- [7] 国家药典委员会.《中华人民共和国药典》生物制品稳定性试验指导原则[S]. 2020.
- [8] 国家食品药品监督管理总局. 细胞治疗产品研究与评价技术指导原则(试行)[S]. 2017.

编辑:刘卓越/接受日期:2022-12-22