

## 《体内基因治疗产品药学研究与评价技术指导原则(试行)》解读

徐隆昌,崔靖,何伍

(国家药品监督管理局药品审评中心,北京 100022)

**[摘要]** 为鼓励和促进体内基因治疗产品的发展,国家药品监督管理局药品审评中心于2022年5月26日正式发布了《体内基因治疗产品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过程,对指南的主要内容和部分重点问题进行了详细解读,以便业界在开发和研究体内基因治疗产品时更好地理解 and 参考该指南技术的要求,促进体内基因治疗产品的上市申请。

**[关键词]** 体内基因治疗;药学研究;上市申请

**[中图分类号]** R95 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1003-3734(2023)02-0113-05

## Interpretation of guidance on CMC study of *in vivo* gene therapy products

XU Long-chang, CUI Jing, HE Wu

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

**[Abstract]** The guidance on CMC study of *in vivo* gene therapy products was issued by the Center for Drug Evaluation, NMPA, on May 26, 2022, to encourage and promote the development of *in vivo* gene therapy products. This paper gives a detailed interpretation of the main contents and some important issues of the guidance and provides a reference for the market authorization application, combined with the drafting process of the guidance, so that the industry can better understand the technical requirements of the guidance during the development of *in vivo* gene therapy products.

**[Key words]** *in vivo* gene therapy; CMC research; market authorization application

自2017年以来,体内基因治疗产品在部分难治性疾病,尤其是单基因遗传病方面的临床疗效进一步得到了验证,治疗优势也逐步得到了认可。2017年,美国FDA批准了由SPARK公司研发用于治疗RPE65基因缺陷引起的视力丧失的基因治疗药物Luxturna<sup>[1]</sup>;2019年,美国FDA批准了诺华公司旗下的用于治疗脊髓性肌萎缩症的基因治疗药物Zolgensma<sup>[2]</sup>。2022年,欧洲EMA先后批准了2款基因治疗药物,分别为用于治疗AADC(aromatic L-amino acid decarboxylase)缺乏症的Upstaza<sup>[3]</sup>和用于治疗A型血友病的Poctavian。在这种大趋势下,美

国FDA、欧洲EMA等药品监管机构均纷纷制定和实施了多个技术指南,以支持和促进基因治疗产品的发展。

与此同时,我国体内基因治疗产品的研发热情高涨,沟通交流申请和临床试验申请的数量也在逐年增加。因此,国家药品监督管理局于2019年启动了药品监管科学行动计划,由药品审评中心(以下简称药审中心)组织撰写并发布了《体内基因治疗产品药学研究与评价技术指导原则(试行)》。本文旨在结合体内基因治疗产品的特点,对指导原则的起草过程、起草思路、主要内容和重点问题进行介绍,以便业界更好地理解该指导原则。

### 1 起草背景

国家药品监督管理局于2019年启动了“中国药品监管科学行动计划”,“细胞和基因治疗产品技术

**[作者简介]** 徐隆昌,男,博士,助理研究员,主要从事生物制品药学审评工作。联系电话:(010)85243067,E-mail:xulch@cde.org.cn。

**[通讯作者]** 何伍,男,博士,主任药师,主要从事药品药学技术审评工作。

评价与监管体系研究”作为行动计划的重点项目被列入首批重点研究课题。通过该项目,药审中心组织起草了《体内基因治疗产品药学研究与评价技术指导原则(试行)》,作为体内基因治疗产品(以下简称“基因治疗产品”)药学研究指导原则和技术评价体系。

## 2 起草过程

为了保证指南起草过程的规范性和技术要求的科学性,指南起草筹备阶段,药审中心收集整理国内外相关的指导原则和技术文献,调研了国内外产品的研发情况,并针对部分重点问题组织了专家咨询,于2020年8月形成《基因治疗产品药学研究与评价技术指导原则》征求意见稿,并在药审中心网站向社会广泛征求意见。历时1个月的征求意见,药审中心共收到182条反馈意见(部分反馈意见内容重复)。综合各反馈意见,药审中心于2020年11月和2021年8月召开了2次专家咨询会,对各条反馈意见进行反复讨论,最终完成指导原则的修订。药审中心于2022年5月26日正式发布了《体内基因治疗产品药学研究与评价技术指导原则(试行)》(31号通告)。

## 3 起草思路

作为药品注册管理办法的配套文件,指南主要基于当前认知,对上市阶段基因治疗产品的药学研究提出科学性的建议和一般性的技术要求。在遵循药品研发规律的同时,强调和突出了基于风险的研发理念和具体品种具体分析的原则。在符合科学性的前提下,指南对同类产品的技术要求尽可能与国际接轨,保持标准尺度的一致性。同时,指南充分考虑了我国基因治疗产品的研发现状、存在的问题以及未来的发展趋势,在章节相应的内容上做了适当的补充。

## 4 主要内容

指南的框架结构中,除了前言、适用范围、一般原则、风险评估与控制几个总括性章节外,主体内容的框架基本按照药品研发的几个主要方面进行撰写,包括产品的设计、生产用物料、生产工艺、质量研究与质量标准、稳定性研究、包装及密封容器系统等几个方面。为了更具有实用性和可参考性,指南尽可能详细地把当前的审评考虑和技术要求在指南相应的章节中体现。基于对药品研发理念的理解,结合该指南,可基本把握当前基因治疗产品药学的整体要求。以下将对指南中部分比较受关注或比

较容易忽略的内容做进一步说明,以帮助大家更准确地理解指南中的要求。

**4.1 适用范围** 目前各国发布的基因治疗产品相关指导原则的适用范围各不相同。例如,美国FDA对于基因治疗产品的定义涵盖了体内基因治疗和细胞治疗等各种存在基因修饰或编辑的产品<sup>[4]</sup>,欧洲EMA在2018年实施的《基因治疗产品药学、非临床和临床技术指导原则》未将DNA疫苗(传染性疾病预防)和基因修饰细胞纳入该范畴内,适用范围涵盖了病毒载体类产品、细菌载体类产品和核酸类产品<sup>[5]</sup>。为了对以病毒载体为代表的直接进入体内发挥作用的一类产品提供研究和评价的依据,本指导原则对所适用的产品特点进行了描述:本指导原则中的体内基因治疗产品是指进入体内后,在体内通过对人体细胞的遗传物质进行修饰,表达外源基因、操纵细胞基因表达或调控细胞生物学特性等方式达到治疗疾病目的的药品。同时,为了避免引起混淆,指南题目从前期征求意见稿《基因治疗产品药学研究与评价技术指导原则》修订为《体内基因治疗产品药学研究与评价技术指导原则》。

同时,指南从产品的活性成分、作用机制等方面对适用范围进行了限定。例如,活性成分方面,基因治疗产品常见的活性成分主要是一些病毒载体、核酸,或是部分经过改造的细菌载体。部分基因治疗产品,如涉及基因编辑的产品,可能还需要各类基因编辑酶作为活性成分。由于此类酶一般通过重组表达制备,可参考既往发布的一系列指导原则开展药学研究,所以,指南对重组蛋白相关的药学研究要求的描述相对较少。另外,从作用机制方面来说,基因治疗产品一般通过表达外源目的基因、调节体内细胞基因表达,或对细胞遗传物质进行修饰发挥作用。某些产品可能在活性成分和作用机制方面均符合以上的特点,但可能仍不适用该指南,比如通过化学合成方式生产的寡核苷酸类药物,由于其生产工艺与生物制品存在较大区别,建议参考化学药物相关的技术指南。另外,部分溶瘤病毒产品,可能在产品设计和作用机制上也同时具有基因治疗产品的特点,这种情况下部分药学要求也可适当参考该指南。

**4.2 一般原则** 作为药品研发的基因治疗产品,在遵守药品研发相关法律法规和规范性文件的同时,还需要遵循药品研发的一般规律。由于基因治疗产品活性成分和作用机制的特殊性,建立基于产品特点的风险控制策略在开发中显得尤为重要,体现在

产品设计、工艺开发、质量控制等各个方面。对于病毒和细菌载体类产品,需要特别关注产品研发、生产、使用和废弃处理过程中的生物安全性风险。

指导原则修订过程中,较多反馈意见希望增加临床试验申报阶段药学研究的技术。因此,指南在产品一般研发规律中对基因治疗产品在临床试验申报、临床期间以及上市阶段的基本要求进行了说明。比如,在临床试验申报阶段,原材料方面应完成相应的种子批和细胞库的建立与检定,对生产用物料进行安全性评估并制定相应的质量标准;在生产工艺方面,应研究确定临床研究用样品的生产工艺,并设立适当的中间体控制项目,以稳定生产出临床研究用样品;质量研究与质量标准方面,通过对产品的结构、理化和活性研究,建立合理的质量控制项目和方法。同时,需确保临床研究用样品的质量不劣于非临床研究用样品,尤其是在产品安全性相关质量属性方面。在稳定性研究方面,产品的稳定性研究结果应能支持样品开展临床试验。具体产品在研发过程中,可基于以上基本要求,结合指南中相应章节的内容开展相关的药学研究。

**4.3 风险评估与控制** 指南在风险评估与控制章节,列举了产品在设计、生产用物料、生产工艺、质量研究与质量控制、容器密封系统等方面的一些常见风险因素。但由于基因治疗产品的特点和生产工艺各不相同,不同产品的风险可能有较大的差异。因此,指南所列举的风险因素未必包含了基因治疗产品所有的风险因素,同时,指南列举的风险因素也未必在所有基因治疗产品中均存在。指南通过列举这些风险因素,希望申请人在产品实际研发中建立基于风险的质量控制理念,结合产品特点和生产工艺,对具体品种进行具体分析。分析过程中,可借鉴和参考 ICH Q8 和 Q9 中的风险管理理念或评估工具,合理制定质量风险控制策略。

**4.4 产品设计的一般考虑** 由于产品的设计是研发的前提和基础,尤其是对基因治疗产品,因此,指南在“产品设计的一般考虑”章节用较大篇幅介绍了各类基因治疗产品在设计中需要重点考虑的部分问题。如因前期设计存在重大缺陷,导致产品在开发过程中需要对产品结构或基因序列进行调整,其对基因治疗产品的影响可能是无法预期的。尤其是在对产品认知比较有限或通过现有分析技术无法充分证明变更前产品质量可比的情况下,这种设计上的调整有可能会影响产品同一性的认定,

或对前期研究结果的可接受性产生影响。因此,产品前期设计应经过全面考虑和论证。

指南基于当前认知,对病毒载体类产品、核酸类产品和细菌载体类产品在设计中需要重点关注的方面进行了分类介绍。同时,指南中也特别强调:“由于不同类型的产品在功能或作用机制方面可能具有一定的相似性,产品在设计时可能需要交叉参考其他类型产品的考虑因素”。比如,病毒载体类产品的设计时,除需要考虑病毒载体类产品的设计考虑外,在病毒核酸序列方面,如涉及基因编辑、转座子等类似功能或作用机制设计时,还需要同时参考核酸类产品中提到的一系列因素。细菌载体类产品也存在类似的情况。因此,产品设计中可能需要根据产品特点综合考虑各类产品设计中的考虑要点。

**4.5 生产用物料** 生产用物料章节,指南对基因治疗产品常见的生产用物料的研究和质控要求做了介绍,包括起始原材料、其他原材料、辅料和耗材等。其中,起始原材料部分主要介绍了质粒 DNA、细菌种子批、生产/包装细胞库、病毒种子批 4 种起始原材料制备和检定的要求。但是,不同类型的基因治疗产品的起始原材料类型可能不同,需要研究者根据产品类型和生产工艺参考相应的起始原材料的要求进行研究。对于除起始原材料以外的其他原材料,指南主要分类介绍了生产过程中使用的原材料、辅料和生产过程中使用的耗材和容器的一般要求。

**4.6 生产工艺** 生产工艺章节,指南对基因治疗产品的生产工艺开发、临床期间工艺变更以及最终的工艺验证研究进行了介绍。相对来说,基因治疗产品在生产工艺开发和工艺验证方面的要求,与常规的治疗性生物制品相比并无太大的差异,均需要对各阶段的生产工艺进行开发研究并最终进行验证。其中,大家比较关注的病毒载体类产品的外源病毒因子的检测和控制将在后文中进行重点介绍。

由于基因治疗产品一般由建库的起始原材料,采用经确认/验证的工艺进行生产,所以,基因治疗产品在生产工艺和质量研究方面不像细胞治疗产品存在明显的个体化因素。因此,相对细胞治疗产品而言,在变更方面,基因治疗产品临床期间变更的可比性研究策略可能与既往的治疗性生物制品较为相似。可比性研究策略的制定需要根据变更发生的阶段、变更的类型、变更的影响综合分析变更的风险大小,从而确定可比性研究的批次数、可比性研究范围、研究方法、可接受标准以及是否需要开展非临床

和临床桥接研究。

**4.7 质量研究与质量标准** 质量研究是制定产品质量标准的基础,通过全面研究才能确定产品的关键质量属性。研发过程中,应该根据研究目的,选择有代表性的样品,用相对先进、成熟且满足分析需求的方法进行质量研究。临床试验申报阶段,一般选用非临床研究批次和临床代表性工艺批次进行研究;上市阶段,一般选用代表性临床研究样品批次和/或商业化工艺批次进行研究。具体的研究项目,应结合产品的类型、认识水平以及当下的分析技术发展水平确定,一般包括鉴别、结构分析、生物学活性、纯度、杂质、含量、转染/感染效率、一般理化特性等。指南在质量研究章节对各类基因治疗产品常见的研究项目进行了举例,所列举的项目并不一定包括全部的研究项目,具体的研究项目应该根据具体品种来研究确定。

例如,对于病毒载体类产品来说,病毒鉴别和结构分析一般需要对病毒的核酸、衣壳蛋白、病毒整体结构等进行研究,但这些结构的研究程度还需要结合病毒类型、核酸和蛋白的复杂程度以及分析的可行性来确定;病毒产品的纯度和杂质研究需要对各类产品相关杂质和工艺相关杂质进行研究,其中,产品相关杂质的研究则建立在对产品中各个组分进行有效分离和鉴别的基础上。在生物学活性方面,一般应建立与产品作用机制相关、能有效关联产品临床疗效的分析方法。污染物的控制方面,需根据生产工艺的分析判断需要控制的污染物的种类。含量方面,一般认为除了产品活性成分的含量外,其他重要组分,比如重要辅料的含量也应进行控制。除常规检查项外,如果产品在设计和作用机制方面存在一些特别的设计,比如基因编辑等,则需要开展相应的研究。总体来说,质量研究项目的确定是建立在对产品的理解基础上,通过各种有效的分析方法来实现的。

质量标准章节,指南充分考虑了各类产品在标准方面的差异性,并未具体规定各类产品质量标准中应包含的检测项目和标准限度,而是希望申请人根据各类产品的特点、生产工艺和质量研究,建立科学合理的质量标准。

## 5 重点问题说明

**5.1 质粒 DNA 的技术要求** 质粒 DNA 是基因治疗产品生产常见的生产用物料,目前指南中对于质粒 DNA 的技术要求分为 2 种情形:一方面质粒可

用于细菌种子、病毒种子或细胞系等上游构建;另一方面,质粒也可作为起始原材料用于病毒载体、细菌载体生产,或者用作核酸类产品如 mRNA 的转录模板。

作为细菌种子等上游构建中使用的质粒,由于它在构建中仅使用 1 次,因而可不通过建立细菌种子批生产,也可考虑不开展工艺验证,但需要关注质粒基因序列的确认,避免质粒制备过程中外源因子的污染。

作为起始原材料的质粒,为了确保产品生产使用的每批质粒 DNA 质量的一致性,质粒一般需由细菌种子批通过稳定的发酵、纯化工艺生产。鉴于质粒对产品质量的重要影响,指南认为,有必要针对质粒工艺开展规范的工艺验证研究,同时进行全面的质量研究和稳定性研究。

另外,指南修订过程中,针对不同来源的质粒 DNA 的技术要求也进行了讨论。目前,生产用质粒 DNA 常见的来源方式包括自行生产、委托生产和从供应商处购买。正如前文所述,质粒作为起始原材料对产品质量非常重要,有必要开展全面的工艺研究、质量研究和稳定性研究,不应因为来源不同而在质量风险控制方面存在差异。即使从供应商处购买的质粒也需要开展上述研究,但由于来源不同,质粒的药学研究可以由不同的生产主体完成。基因治疗产品的申请人作为责任主体应对供应商进行严格审核,充分评估质粒 DNA 的生产工艺和质量控制,降低生产用物料相关的质量风险,确保产品质量。

**5.2 外源病毒因子的控制** 外源病毒因子是与安全性相关的重要项目。以病毒载体类产品为例,一般情况下,外源病毒因子的控制策略可能涉及生产用物料、生产过程、放行检测 3 个阶段,指南在相应章节对外源病毒因子的检测和控制进行了说明:

- ① 在生产用物料方面,指南指出,应对起始原材料如细胞库、病毒种子批进行外源病毒因子检测。尽量避免使用动物/人来源的原材料,如果经研究认为必须使用,则应进行全面的风险分析并制定相应的风险控制策略,确保无外源病毒因子污染的风险。
- ② 在生产工艺方面,指南指出,一般情况下应对细胞培养的未处理收获液进行外源病毒因子检测,在产品病毒可能对检测结果产生干扰的情况下,可考虑建立对照细胞进行检测。另外,指南还提到了病毒去除/灭活验证研究的基本考虑。
- ③ 在质量研究和质量标准方面,指南指出,需要对外源病毒因子的

污染风险进行研究,必要时应纳入质量标准进行控制。以上风险控制策略的实施一般需要结合产品和工艺特点,基于整体风险进行综合考虑。产品外源病毒因子控制的整体策略应能充分证明外源病毒因子的污染风险可以得到有效控制。

对于病毒载体类产品来说,是否需要设立病毒去除/灭活工艺单元需基于产品工艺特点和风险分析研究确定,并非所有病毒载体类产品的生产工艺中均需要设立病毒去除/灭活工艺单元。一般认为,如果在培养阶段使用了辅助病毒、包装病毒,或存在其他引入非目标病毒的风险时,需要考虑在纯化过程中增加病毒去除/灭活工艺单元。病毒去除/灭活工艺单元的选择,一般应根据目标产物与非目标病毒之间在理化性质方面的差异确定,采用如低 pH、去污剂或除病毒过滤等工艺单元。针对设立的病毒去除/灭活工艺单元,应进行病毒去除/灭活验证研究,验证研究的模式病毒、验证条件、样品代表性可适当参考 ICH Q5A。根据验证研究结果进行安全性评估,验证结果应能证明工艺能有效去除/灭活生产过程中引入的非目标病毒,同时还要确保目标病毒活性和结构不受非预期影响。

**5.3 可复制型病毒的控制** 可复制型病毒一般是在生产过程中通过重组产生的区别于外源病毒因子的一种特定病毒,它可由质粒之间或者质粒与包装细胞之间通过同源/非同源重组形成,是病毒载体类产品质量控制中非常重要的指标。指南在多个章节提到了可复制型病毒的风险控制:① 在元件设计方面,需最少化病毒载体的非必需元件,或对病毒包装基因进行拆分,最少化病毒载体与人体易感病毒或内源性病毒的同源序列。② 包装细胞选择方面,尽可能避免使用含有病毒同源序列的细胞株。③ 包装系统选择方面,建议优先选择经验证具有较高安全等级的病毒包装系统。④ 质量研究和质量标准方面,对非复制型或条件复制型病毒载体,应选择最适宜的样品,采用敏感的分析方法进行检测。可复

制型病毒残留标准限度的设定应根据可复制型病毒的种类、残留风险、工艺可控性、临床给药剂量等设定。对于具有较大安全性风险的可复制型病毒,如可复制型慢病毒或逆转录病毒,建议选择最易检出可复制型病毒的样品进行检测,确保无可复制型病毒的残留。可复制型腺相关病毒常作为腺相关病毒载体类产品原液和成品质量标准中的重要项目进行控制。

## 6 结语

该指南在撰写过程中,调研了当前国外相关技术指南,在充分保证药品质量可控的前提下,尽可能与国际通行技术要求保持一致。同时,指南充分考虑了当前我国基因治疗产品的研发特点和存在的问题,在内容和形式上有针对性地提出了指导性意见。但由于基因治疗产品创新性比较强,目前各类产品的认识也较为有限,指南中的研究要求也将随着技术的发展和认知的深入逐步进行完善。申请人作为药品研发的责任主体,也应积极主动提高研发水平,共同推动基因治疗产品的创新发展。

## [ 参 考 文 献 ]

- [1] FDA. FDA-Approved Drugs: Luxturna[EB/OL]. (2017)[2022-10-25]. <https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/cellular-gene-therapy-products/luxturna>.
- [2] FDA. FDA-Approved Drugs: Zolgensma[EB/OL]. (2019)[2022-10-25]. <https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/zolgensma>.
- [3] EMA. Human medicine European public assessment report: Upstaza[EB/OL]. (2022)[2022-10-25]. [https://www.ema.europa.eu/en/documents/orphan-maintenance-report-post/upstaza-epar-orphan-maintenance-assessment-report\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/orphan-maintenance-report-post/upstaza-epar-orphan-maintenance-assessment-report_en.pdf).
- [4] Food and Drug Administration (FDA). Chemistry, Manufacturing, and Control (CMC) Information for Human Gene Therapy Investigational New Drug Applications (INDs) Guidance for Industry[EB/OL]. (2020)[2022-10-25]. <https://www.fda.gov/media/113760/download>.
- [5] European Medicines Agency (EMA). Guideline on the quality, non-clinical and clinical aspects of gene therapy medicinal products[EB/OL]. (2018)[2022-10-25]. [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-quality-non-clinical-clinical-aspects-gene-therapy-medicinal-products\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-quality-non-clinical-clinical-aspects-gene-therapy-medicinal-products_en.pdf).

编辑:杨青/接受日期:2022-12-09