嵌合抗原受体 T 细胞免疫治疗产品扩大产能过程中的风险因素分析

杨敬鹏[1]，颜若曦[1*]，赵嵩月[2]

（1. 国家药品监督管理局食品药品审核查验中心，北京 100010；2. 云南省食品药品审核查验中心，云南昆明 650200）

摘要：嵌合抗原受体 T 细胞免疫治疗（CAR-T）产品在多种血液肿瘤治疗中显示了非常好的临床效果。近年来，我国 CAR-T 产品研究也呈现蓬勃发展的态势。随着企业品种的适应证不断增加及市场需求的增加，部分生产企业产能需要进一步扩大。文章通过梳理 CAR-T 产品在扩大产能过程中厂房布局、设备、公用系统、人员及过程控制等方面的影响，分析各要素可能存在的风险，为该类产品质量的持续改进和监管机构的监管提供参考。

关键词：嵌合抗原受体 T 细胞；细胞治疗产品；扩大产能；风险分析

中图分类号：TQ460.8；Q813　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2024)11-1589-06

引用：杨敬鹏，颜若曦，赵嵩月．嵌合抗原受体 T 细胞免疫治疗产品扩大产能过程中的风险因素分析［J］．中国医药工业杂志，2024, 55(11): 1589-1594．DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2024.11.018

Analysis of Risk Factors in the Manufacturing Scale-up of Chimeric Antigen Receptor T Cell Therapeutic Products

YANG Jingpeng[1], YAN Ruoxi[1*], ZHAO Songyue[2]

(1. *Center for Food and Drug Inspection of NMPA, Beijing 100010;*
2. *Center for Food and Drug Inspection of Yunnan province, Kunming 650200*)

ABSTRACT: Chimeric antigen receptor T cell immune-therapy (CAR-T) products have shown very good clinical effects in a variety of blood tumors. In recent years, research on CAR-T products in China has also exhibited a booming development trend. As the varieties of CAR-T products and their indications continue to increase and market demand rises, the production capacity of some manufacturers needs to be further expanded. This paper analyzes the possible risks of various factors by combing through the impacts of factory layout, equipment, public system, personnel, and process control during the expansion of CAR-T product production capacity, providing a reference for the continuous improvement of the quality of such products and the supervision of regulatory agencies.

Key Words: chimeric antigen receptor T cell; immune cell therapy product; productivity improvement; risk analysis

随着生物技术的迅猛发展和资本涌入，目前我国嵌合抗原受体 T 细胞免疫治疗（chimeric antigen receptor T cell immune-therapy，CAR-T）产品研发已进入快速发展阶段[1—3]。近年来，我国 CAR-T 产品的研制项目数量成指数级倍增。据不完全统计，截至 2023 年 12 月，我国已有近 100 个 CAR-T 产品申报临床试验，已有 5 个品种、6 个适应证获得 NMPA 批准上市。随着企业同一品种的适应证不断增加及市场需求的增加，部分生产企业的产能需要进一步扩大。按照我国法规，企业可以通过增加生产地址、新增生产车间、在已批准的生产场地增加生产频次等多种形式达到扩大产能的目的。其中，在已批准生产线上增加生产频次是目前成本最优、选择可能性最大的一种方式。本文主要讨论 CAR-T 产品在原有生产线上增加生产频次扩大产能时，厂房布局、设备、公用系统、人员及过程控制等方面可能存在的影响，提出需要重点考量的风险因素，

收稿日期：2024-04-03

作者简介：杨敬鹏（1981—），男，副主任药师，从事生物制品注册及上市后监督检查的研究。

通信作者：颜若曦（1983—），男，主任药师，从事化学药品、生物制品注册及上市后监督检查的研究。

E-mail：yangjp@cfdi.org.cn

以期为该类产品质量的持续改进和监管机构的监管提供参考。

1　产品工艺特点及基本工艺流程

CAR-T 产品由于个性化程度高，生产及质量控制具有复杂性和特殊性，与其他类别的生物制品的生产存在较大的差异[4—5]。不同于传统药品生产 1 个批次可供多次使用的情况，自体 CAR-T 产品要求生产制备的独立性，即每个生产批次仅可制备唯一患者的细胞产品，且单一批次细胞制备的终产品仅可用于唯一对应患者的输注治疗。因此，生产过程中防止混淆和差错显得尤为重要。

目前，我国已获准上市的 CAR-T 产品均是由患者自身细胞经基因修饰后扩增生产的，生产模式均为个体化定制方式生产[6]，生产时间需 7 ～ 15 d。CAR-T 产品生产涉及的主要单元操作有 T 细胞分离和纯化、激活、转导、扩增、收获和分装等[7]。生产过程中应当避免生产设备、生产物料、操作环境、操作人员对产品造成污染，避免不同批次产品之间的交叉污染、差错和混淆，应对整个产品生产过程进行严格追溯，确保生产工艺的稳定性和终产品批间质量的一致性。

2　产能扩大过程中的影响因素及风险分析

2.1　生产车间布局

目前国内的 CAR-T 产品生产企业的车间布局大致有 2 种：生产单元式车间布局和功能间式车间布局。生产单元式车间布局的每个生产单元之间无物理隔断，各生产单元内部均配备各工序生产需要的所有设备（图 1）。每个生产单元可以独立完成 1 批次产品的全部生产操作。1 个生产区域内可以有多个生产单元，可同时生产多个批次产品，此种生产模式一般采用密闭性生产系统组织生产。

功能间式车间布局是按照生产工序分为独立的操作房间，每个操作间均有单独的人流和物流（图 2）。每个操作间可以完成 1 项或多项的生产操作，如细胞分选、病毒转导等。除细胞培养外，每个操作间只进行 1 个批次产品的生产。

2 种不同的车间布局形式在产能放大时，有不同的考量因素，下面分别进行介绍。

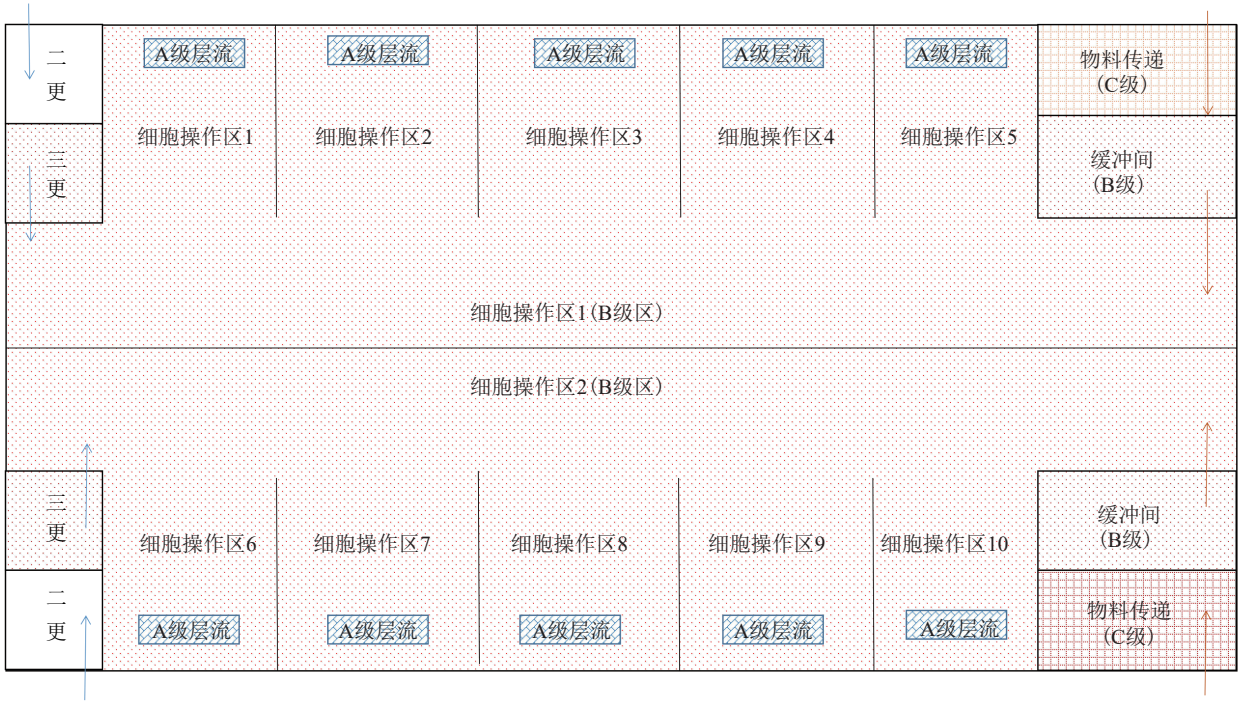


图 1　生产单元式生产车间布局示意图

Fig.1　Layout Schematic Diagram of the Unit-based Production Workshop

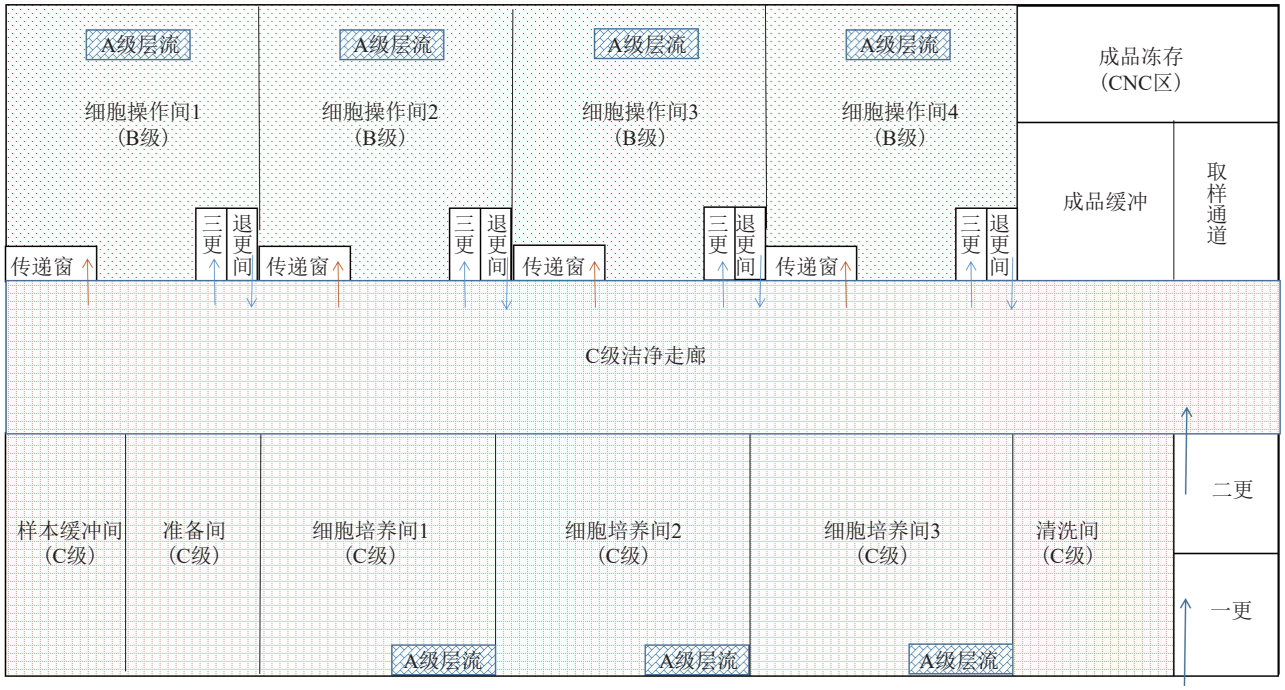


图 2　功能间式生产车间布局示意图

Fig.2　Layout Schematic Diagram of the Functional Room-based Production Workshop

2.1.1　生产单元式车间布局

采用生产单元式车间布局的企业，在产能扩大时主要采取的方法是：在原有的生产区域内、能保证生产运行的前提下，开启多个生产单元同时生产。如，在同一个生产区域内有 5 个生产单元，5 个生产单元由原来的同时开启 2 个生产单元生产 2 个批次，变更为开启 4 个生产单元同时生产 4 个生产批次产品。

增加生产批次时，应当重点考量在同一个生产区域同时生产多个批次，人员数量及进出频次的增加可能给整个洁净环境带来的风险；由于每个单元缺少物理隔离，多批次在同一区域同时生产时，须考量操作人员操作差错的情形；多个批次的生产用物料、一次性耗材在物料准备、物料传递、消毒 / 灭菌时发生消毒不彻底的污染风险，以及多批次物料及耗材转运时出现混淆及差错的风险等。此外，操作人员数量增加、环境负担加重、物料及耗材使用量大幅增加，都会对原有的生产系统带来较大的压力，尤其是生产过程中的无菌保证的压力。此类生产模式在产能扩大时，相对风险更大，需要考虑的风险因素更多。

据了解，国内目前尚有个别企业采用生产单元式车间同时生产多批次、但未采用密闭性系统进行生产的情形，且关键的生产工序，如慢病毒转导、慢病毒洗涤、离心、配制、分装等操作均为开放式人工操作。该类生产单元式车间布局的企业在产能扩大时应当考虑各操作单元之间是否互相影响，人员进出、移动是否对其他单元产生影响，B 级区域的辅助人员同时辅助不同的操作单元，是否存在交叉污染的风险，B 级区域最大允许人员数量等；必要时可适当增加环境监测的频次、人员表面微生物监测的频次、对物料传递时消毒效果进行取样评估等。

2.1.2　功能间式车间布局

功能间式车间布局是根据生产工序设置不同的操作间，如细胞分选、激活、转导、扩增、收获等。根据《细胞治疗产品生产质量管理指南（试行）》[8] 的要求，此类车间布局可以通过提高每个操作功能

间的利用率和使用频次来实现产能提升，但是应当避免同一操作间同时操作不同批次产品的情况，并且还要保证每个生产批次的生产周期不变。

此类车间布局在产能扩增时，应重点关注每个工序的操作时长、清场及清洁消毒时长、关键区域（A/B 级）环境自净时间、物料准备时间等；应当考虑每个生产工序生产操作的时长，以及可能出现的异常情况导致工时增加的问题；应当规定单个工作日内生产的最多次数，避免因生产次数过多，导致生产时间被压缩、清洁消毒程序被简化物料准备时间减少而造成产品污染的情形。

2.1.3 小结

除上述 2 种车间布局方式外，国外还存在专用生产区域布局（每个患者每批次生产房间专用，与生产单元式布局相比采用更为严格的隔离）和开放性区域布局（以最少的建筑隔离以达到灵活安置设备与生产的方式）。无论采取何种布局方式，主要差异在于对混淆与交叉污染风险控制程度的不同，以及由此引起的工艺密闭性要求的差异。整体上看，细胞治疗产品的厂房布局是产能设计的重要制约因素，在考虑产能扩增时，应当考虑企业车间的布局情况以及生产全过程的密闭性能力，针对不同的生产模式，按照质量风险管理的原则与要求进行系统性评估分析。

2.2 生产设备

CAR-T 产品的制备需要进行血液细胞的分离和纯化、转导、扩增等，其工艺设备分为开口式和封闭式。目前常见的封闭式设备有：德国 Miltenyi Biotec 公司的 CliniMACS Prodigy 系统、美国 GE 公司的 Biosafe Sefia 系统、Cesca 公司的 CAR-TXpress 平台、Xuri W25 细胞扩增系统等。它们均采用灭菌过的一次性材料 [9]。对于细胞治疗产品用的隔离器实际上是非常特殊的 [10]，常涉及生产工艺的全过程，由设备厂商根据产品工艺需求进行个性化定制，更有些是集成了 CO_2 培养箱、嵌入式离心机、显微观察系统、复温器、冷藏箱、培养箱联合摇床的综合一体化设备 [11]。

在产能扩增时，主要应考虑每个生产设备完成特定生产工序的时长、生产设备多批次转换的清洁要求及时间间隔、不同批次细胞的隔离方式（如 CO_2 培养箱）。应当详细计算每台设备的实际使用时间，包括清场、清洁及设备必要的灭菌时间等，根据设备使用的频率来综合确定合理的产能。

应当根据生产车间计划生产能力的最差条件找出该生产区域的最差工况，例如该区域连续几个工作日内，发生的动态生产批次较多、启用生产功能间或生产单元较多、操作人员较多、开放式生产操作较多、使用的物料耗材数量较多等情况。应根据最差工况开展该生产区域或生产模块的培养基模拟灌装验证，根据验证结果合理设计生产批次。

2.3 公用系统

目前，国内已批准上市的企业，其 T 细胞的分离、纯化、包装、冻存、复苏、激活，慢病毒感染，CAR-T 细胞扩增、培养、收获、洗涤及灌装等关键生产操作均在密闭系统中进行，但各工序之间的衔接和转移，需要开放式操作，一般在 B 级洁净区内的生物安全柜中进行。因此，增加生产频次，会导致同一关键操作间、同一操作设备，在一段时间内先后使用的情形，但除同一个细胞培养室可同时进行多批次细胞培养外，同一生产车间、同一台设备，只能允许 1 个批次产品的生产，在每批产品生产结束后，应对设备及操作台面进行清场、清洁及消毒。

因此多批次生产应当考虑生产操作时间、清洁消毒时间是否足够，以及人员操作时间过长可能造成的影响，包括无菌操作的规范性以及挑战。同时还应当考虑生产场地所有生产辅助设施及场地，包括人员更衣、洁净服清洗、灭菌、物料通道、物料分配、消毒剂配制、清洁、废弃物灭活及其他设施等，是否能够支持所涉及的产能需求。

2.4 生产用物料及耗材

CAR-T 产品根据生产工艺的不同，生产用主要物料有：细胞培养基、细胞冻存袋、治疗用细胞冷冻保护剂、慢病毒载体、人血清白蛋白、分选磁珠 CD4/CD8、激活磁珠 CD3/CD28、注射用重组人白介素 -2、复方电解质注射液等。采用开放式操作的，生产用细胞、磁珠及慢病毒载体在各工序之间转移

时，多采用一次性袋子；在进行产能扩大时，随着生产频次的增加，生产用物料及耗材的数量会增加，生产过程中需要对这些物料及耗材进行消毒或灭菌处理，以保证后续无菌操作的安全性。因此，生产频次增加，也会增加前期物料准备及灭菌的压力，在产能扩大时应将物料消毒及灭菌的时间及准备周期考虑在内。

2.5 人员

扩大产能势必带来人员的压力，企业通常采取2种模式以匹配产能的增加。一是增加工作人员数量。该模式对新员工的培训有效性、工序的熟练程度存在一定的挑战。二是在原有人员数量不变的情况下，增加个人的工作量。该模式会增加人员进出、取样的频次，风险会相应增加，并且增加操作人员的工作量，还会增加生产操作规范性的风险。

CAR-T 治疗产品生产过程中的无菌操作步骤较多，在无菌产品生产过程中，无菌操作人员是最大的污染源。无菌操作人员的关键要素首先是每个班次、每个操作房间允许进入的操作人员数量；其次是应当规定每个班次的操作最长时间，可根据工序不同分别制定工序时长。

除在关键的无菌区域增加操作人员或增加工作量外，产能扩大也需要增加相应的生产辅助人员以及质量保证人员。生产辅助人员及质量保证人员须与生产班次相匹配，以保障生产用无菌物料及器具供应、空调与水系统、设施设备的维护保养，以及生产过程的监督、取样及 QC 实验室检验需要。以 QC 检验人员为例，由于多数企业中控检测项目主要由生产线负责现场实时检测，部分项目检测由 QC 实验室完成，且送 QC 实验室检测的项目均可安排多批次同时检验。所以多数企业在产能增加时对增加检验人员的需求并不显著，多采用对原有检测团队授予新资质的模式以满足检验需求。该类模式对检验人员的综合素质、培训及考核有较高的要求。

2.6 生产过程异常导致的生产工序延长

在细胞治疗产品生产过程中，有一步关键的生产操作即细胞扩增。根据生产工艺及细胞的状态不同，扩增的时间也不完全相同，时间在 6 ～ 11 d。因此，在设计细胞培养间的使用频次时，还应当考虑收获时间节点变化可能带来的影响。如正常生产均在 D9 进行细胞收获，但如果前 1 个批次推迟了 1 d，在 D10 收获，中间批次产品在 D9 收获，后 1 批提前 1 d 在 D8 收获，就会导致 3 个批次均在同 1 天收获，进而导致多个批次叠加，对细胞收获工序带来较大的压力，造成操作区域、设备、操作人员等资源分配不足的情形，从而影响生产工艺的正常进行。

因此，在最大产能设计时，生产工序应当预留一定的时间和生产能力，避免多批次交错重叠、生产能力无法满足要求的情形。

2.7 QC 实验室

CAR-T 产品的检验涵盖微生物、生化及理化检验，检验项目包括无菌检验、支原体检验、T 细胞杀伤、细胞表型、细胞计数与活率等，检验设备主要有细胞计数仪、酶标仪、流式仪、定量聚合酶链反应（quantitative polymerase chain reaction，qPCR）仪、全自动微生物培养系统等。

以某品种生产过程中使用细胞技术仪进行细胞计数为例：每天 1 批排产检样时设备最大占用时间需 9 h；当 2 个模块同时开启 1 批检样时，设备占用时间为 18 h；2 个模块同时开启 2 批检样时，设备占用时间就需要 36 h。由此可见，产能扩大将对检验设备造成巨大的压力。同时，还需考虑上文提及的对检验人员的挑战。

因此，在最大产能设计时，须进行检验设备能力及人员检验资质的测算，同时需要考虑检验设备异常情况下的备用设备，还应当考虑如生产周期波动（如提前收获或延迟收获）带来的多批次在同一时间需要检测的情形，避免因检验能力不匹配、中控或放行检验能力不足而导致的工艺超时风险。

3 结语

近年来，药品检查合作计划（The Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme，PIC/S）、WHO 等组织相继发布了各类附录及指南[12—13]，我国也发布了《细胞治疗产品生产质量管理指南（试行）》[8]，用以帮助此类产品生产企业进行规范生产和质量管理，国内亦有学者提出了一些监管方面的思考[14—15]。本

文从该类产品产能扩大需求的角度出发进行分析，认为科学、有效地开展系统风险评估是风险控制的重要手段，也是避免产品污染/交叉污染的重要措施。药品企业可以根据不同的车间设计、不同的生产模式、不同的公用设施及物料耗材的管理方式等，综合评估在同一车间内提升产能可能面临的风险，合理设计生产频次，并开展必要的评估与验证，以达到确保产品质量和最大化产能的完美结合。药品生产检查员的日常检查可参考上述要点，对企业开展的产能扩大的变更控制及相应质量风险评估进行系统检查，以提高检查针对性和检查效率。

参考文献：

[1] XUE Y E, BAIG R, DONG Y Z. Recent advances of biomaterials in stem cell therapies [J]. *Nanotechnology*, 2022, **33**(13): 132501.

[2] SINGH V, KHAN N, JAYANDHARAN G R. Vector engineering, strategies and targets in cancer gene therapy [J]. *Cancer Gene Ther*, 2022, **29**(5): 402-417.

[3] 谭建新, 于玲莉, 王　冲. 嵌合抗原受体 T 细胞治疗产品及其企业 GMP 实施现状 [J]. 上海医药, 2020, **41**(15): 64-70.

[4] 杨建红, 陈江鹏, 赵晓宇, 等. 药品监管科学研究之基因和细胞治疗产品Ⅰ：我国监管体系的问卷调研及结果分析 [J]. 中国药事, 2021, **35**(5): 504-515.

[5] 孟淑芳, 王佑春, 吴雪伶, 等. CAR-T 细胞治疗产品质量控制检测研究及非临床研究考虑要点 [J]. 中国药事, 2018, **32**(6): 831-852.

[6] 蒙　露, 赵　日, 周　丹, 等. 通用型 CD19 CAR-T 的体外构建及初步功能鉴定 [J]. 中国细胞生物学学报, 2021, **43**(2): 311-318.

[7] 刘　芬, 孙程洁, 王　冲. 嵌合抗原受体 T 细胞治疗产品生产工艺控制及质量管理关注点探讨 [J]. 上海医药, 2022, **43**(11): 8-10.

[8] 国家药品监督管理局食品药品审核查验中心. 细胞治疗产品生产质量管理指南（试行）[EB/OL]. [2022-11-12]. https://www. cfdi. org. cn/resource/news/14938. html.

[9] 陈国笋. 细胞治疗产品的工艺平面与厂房设施的设计 [J]. 上海医药, 2019, **40**(9): 71-73.

[10] CUNDELL T, DRUMMOND S, FORD I, *et al*. Risk assessment approach to microbiological controls of cell therapies [J]. *PDA J Pharm Sci Technol*, 2020, **74**(2): 229-248.

[11] 孙程洁, 成　殷, 俞佳宁. PIC/S GMP 先进治疗产品附录与我国细胞治疗产品生产质量管理指南的对比分析 [J]. 中国药事, 2023, **37**(5): 504-512.

[12] PIC/S. Annex 2A: manufacture of advanced therapy medicinal products for human use [EB/OL]. (2022-02-01) [2022-11-12]. https://picscheme. org/docview/4590.

[13] WHO. Approach towards the development of a global regulatory framework for cell and gene therapy products [EB/OL]. (2022-07-05) [2022-11-12]. https://www. who. int/groups/expert-committee-on-biological-standardization.

[14] 赵晓宇, 苏　岭, 杨建红, 等. 药品监管科学研究之基因和细胞治疗产品Ⅱ：我国监管体系的完善建议 [J]. 中国药事, 2021, **35**(5): 516-522.

[15] 董雪姣, 郭林丰, 郑天雷, 等. 基于免疫细胞治疗产品生产技术探讨监管检查关注要点 [J]. 中国药事, 2024, **38**(3): 245-249.