嵌合抗原受体 T 细胞产品生产系统的质量管理要点考量

颜若曦
（国家药品监督管理局食品药品审核查验中心，北京 100044）

摘要：基于药品生产质量管理六大系统各自领域的要求，以及对已上市嵌合抗原受体 T 细胞（CAR-T）治疗产品主要生产工艺的分析，文章从 CAR-T 产品生产工艺质量管控、工艺验证与无菌工艺模拟试验、生产过程的污染与交叉污染控制、生产相关偏差及变更控制 4 个主要方面，分析与探讨了该类产品生产系统的特殊性及相应的质量管理要点，以期为先进治疗产品的持有人，特别是嵌合抗原受体 T 细胞产品的生产企业，进一步做好生产系统质量管理提供参考与借鉴，同时也为生产检查与质量审计提供思路。

关键词：嵌合抗原受体 T 细胞（CAR-T）；细胞治疗；药品生产；质量管理；生物制品
中图分类号：R979.1；Q813；TQ460.6　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2024)12-1612-07
引用：颜若曦．嵌合抗原受体 T 细胞产品生产系统的质量管理要点考量［J］．中国医药工业杂志，2024, 55(12)：1612-1618．DOI： 10.16522/j.cnki.cjph.2024.12.002

The Consideration on Key Quality Management Points in Production System of CAR-T Products

YAN Ruoxi
(*Center for Food and Drug Inspection of NMPA, Beijing 100044*)

ABSTRACT: Based on the six major systems of drug production quality management and the analysis of the typical production processes of chimeric antigen receptor T cell(CAR-T) products, this review analyzes and discusses the particularity of the CAR-T product production system and the corresponding key quality management points from four main aspects, namely product production process quality control, process validation and aseptic processing simulation test, contamination and cross contamination control in the production process, and production related deviation and change control. This review provides some references to cell therapy product manufacturers especially CAR-T product manufacturers, to further improve production system quality management, and also provides a reference to production inspection and quality audit.

Key Words: chimeric antigen receptor T cell(CAR-T); cell therapy; medicine production; quality management; biological product

嵌合抗原受体 T 细胞（chimeric antigen receptor T cell，CAR-T）产品是指通过基因工程技术构建的修饰系统（如病毒载体、转座子系统及体外转录 mRNA 等非病毒载体），在体外将嵌合抗原受体（chimeric antigen receptor，CAR）目的基因及调控元件转入 T 细胞，所得的可特异性识别并杀伤肿瘤细胞的 T 细胞产品。CAR-T 产品是目前细胞治疗领域产业化进程最快的细胞治疗产品。截至 2024 年 9 月，在全球获批上市的数十个细胞治疗产品中，CAR-T 治疗产品共有 12 个［包括我国批准的 6 个和欧美批准的 6 个，其中 5 个产品的靶点为 B 细胞成熟抗原（B cell maturation antigen，BCMA），7 个产品的靶点为 CD19］，在获批细胞治疗产品中占比高、增速快。

收稿日期：2024-08-23
作者简介：颜若曦（1983—），男，硕士，主任药师，从事药品质量管理、药品检查研究。
E-mail：sssyrx@163.com

CAR-T 产品通过 CAR 特异性识别肿瘤抗原后即发生活化，通过释放穿孔素、颗粒酶 B 等实现对肿瘤细胞的特异性杀伤作用，同时还可形成免疫记忆 T 细胞进而获得抗肿瘤长效机制 [1]。CAR 是一种人工改造的受体分子，其蛋白结构主要包括胞外域（涉及信号肽分子、抗体 scFv 及铰链区）、跨膜域（CD8α、CD28、CD4 等）和胞内域（共刺激分子和信号转导分子）3 个部分；其编码基因序列在设计好后常通过体外合成，然后亚克隆至病毒载体穿梭质粒上。CAR-T 产品作为自体来源的细胞治疗产品，供者材料源于人体，可能含有传染病病原，因而具有不同于传统生物制品的特殊性 [2]。在生产系统中，该特殊性的影响尤显突出。生产系统是药品生产质量管理的六大系统之一， 是将多种物料通过适宜的设施、设备，按照批准的系列生产工序生产出预期药品的核心系统 [3]。目前已上市 CAR-T 产品的生产主要包括 3 个环节，即质粒生产、病毒载体生产、细胞治疗产品生产。它的生产系统与传统生物制品相比，特殊性主要集中在生产工艺质量管控（包括起始物料管理、关键生产工序工艺参数和关键中间产品质量属性控制）、工艺验证与无菌工艺模拟试验、生产过程的污染与交叉污染防控、生产相关偏差调查及变更控制等 4 个方面。

本研究根据药品生产质量管理的基本原则与要求，以药品生产系统检查要素为基础，在充分考虑目前 CAR-T 产品生产特殊性的基础上，对其生产系统质量管理要点进行分析，探讨监督、检查以及持有人落实生产质量主体责任的关注点，以期为行业提供参考，持续提高 CAR-T 产品的生产质量管理水平。

1 CAR-T 产品生产工艺质量管控要点的分析

目前，在 CAR-T 产品生产的 3 个主要环节中，各国药品监管机构之间尚未统一对质粒和病毒载体的生产质量管理考量。部分监管机构（如美国 FDA）将其视为产品生产工艺的重要组成部分，而另一部分监管机构（如 EMA）将其视为关键起始物料。PIC/S GMP 将质粒和病毒载体的生产描述为“在 GMP 原则下生产病毒载体和质粒”，即病毒载体和质粒的生产商应建立质量管理体系，按照质量风险管理，基于当地法规规定，充分考虑成品安全性、有效性和质量风险，以确保此类关键起始物料（质粒、病毒载体等）的质量为核心，应用 GMP 标准中最相关的部分。同时 PIC/S GMP 特别强调了质粒和载体的生产在“GMP 适用”或“GMP 原则适用”方面需要遵循国家立法的要求 [4]。但无论是作为生产工艺的一部分，还是作为关键起始物料，亦或是按照“GMP 适用”或“GMP 原则适用”的不同要求，对其质量的根本要求与质量管理在基本原则上都是一致的，即最大限度地降低污染 / 交叉污染、混淆以及差错等风险，确保持续、稳定地生产出符合预定用途的产品。对于生产系统来说，生产工艺质量是重要的控制内容之一，其核心在于对关键工艺参数（critical process parameter，CPP）和关键质量属性（critical quality attribute，CQA）的有效管控。当前，CAR-T 产品生产工艺中的常见生产工序、对应工艺参数和质量属性如下。

1.1 质粒生产

当前的质粒生产工艺中，一般选择大肠埃希菌作为宿主细胞（通过 42 ℃热激，将目的质粒转化至感受态细胞中制备宿主菌株，经过单克隆筛选和测序，获得原始种子），经发酵培养后裂解细胞，再经下游纯化后获得，其生产工序、工艺参数与质量属性参考如表 1 所示。

1.2 病毒载体生产

目前，获批上市的 CAR-T 产品均为病毒载体（如慢病毒、γ- 逆转录病毒等载体）转导。此类病毒载体生产常用的细胞系如［人胚胎肾细胞（HEK 293 细胞）］通常具有转染率高和易培养等特点。通过细胞复苏、扩增后进行转染，并经收获、纯化、除菌过滤及分装后于 －80 ℃冷冻保存。该生产工艺中为了避免复制型病毒的产生，通常将病毒包装所用的基因分到多个质粒上［一般为三质粒或四质粒（如 3 个包装质粒和 1 个转移质粒）］，采用磷酸钙共沉淀法等方式进行瞬时转染，生产工序、工艺参数与质量属性参考如表 2 所示。

1.3 细胞治疗产品生产

当前，主流 CAR-T 产品的生产工艺主要采用病

表 1　质粒的典型生产工序及对应的工艺参数与质量属性参考[5—11]

Tab.1　Typical Production Processes of Plasmids and Corresponding Process Parameters and Quality Attributes for Reference[5—11]

生产工序	工艺参数参考项	质量属性参考项
菌种库构建（主种子库与工作种子库）	菌种来源，培养条件（温度）及时间，培养基，保存体系（如 40% 甘油），保存条件	ChP 2020 年版三部规定了菌种库检定项目（如培养特性、菌落形态、染色镜检、基因序列测定、质粒酶切图谱、质粒保有率、外源因子、活菌数、噬菌体等）
菌种复苏	接种量，培养基种类及用量，培养条件（温度、振摇速度）及时间	OD_{600} 值，染色镜检
菌种传代	接种量，培养基种类及用量，培养条件（温度、振摇速度）及时间	OD_{600} 值，染色镜检
发酵培养	接种量，培养基种类及用量（含补液体系），培养条件（温度、振摇速度 / 搅拌速度、通气量）及时间，菌体收集参数（相对离心力、离心时间和温度）及菌体质量	OD_{600} 值，染色镜检
裂解提取	菌体用量，裂解液及用量，裂解时间，中和液及用量，中和时间，离心参数（相对离心力、离心时间和温度）	外观
澄清过滤	过滤器（型号、孔径及材质），过滤参数（过滤体积、冲洗体积、流速）	外观
超滤浓缩	超滤膜包（型号、孔径），缓冲液种类及用量，浓缩液用量，超滤参数（跨膜压、体积流量、压力增量、温度），缓冲液组成和用量	质粒浓度
色谱（凝胶、色谱、离子交换色谱）	柱填料（类型、体积、装填过程参数），色谱参数（上样体积、线体积流量、填料高度、柱直径及高度、梯度、温度），收集标准	质粒浓度，质粒产量
浓缩换液	超滤膜包（型号、孔径）、缓冲液种类及用量、浓缩液数量、超滤参数（跨膜压、体积流量、压力增量、温度）、缓冲液组成和用量	质粒浓度
除菌过滤	过滤器型号，孔径及材质，过滤参数（温度、压力、流速、过滤体积）	外观，pH 值，渗透压摩尔浓度，质粒鉴别，含量，纯度（DNA 形式及杂质），宿主蛋白残留，宿主菌 DNA/RNA 残留，DNA 均一性，无菌，细菌内毒素
分装	分装量	
冻存	降温程序与降温曲线，保存温度	

表 2　病毒载体的典型生产工序及对应的工艺参数与质量属性参考[5—11]

Tab.2　Typical Production Processes of Viral Vectors and Corresponding Process Parameters and Quality Attributes for Reference[5—11]

生产工序	工艺参数参考项	质量属性参考项
细胞库构建（主细胞库与工作细胞库）	细胞来源（如 ATCC 293T/17），培养条件（温度、CO_2 浓度）及时间，培养基，保存体系，保存条件	ChP 2020 年版三部规定了细胞库检定项目（如鉴别、内源因子、外源因子、成瘤性、致瘤性、细菌、真菌、支原体、特定病毒、细胞活力等）
细胞复苏	接种密度，培养条件（温度、振摇速度、CO_2 浓度）及时间，培养基种类及用量	细胞密度与活率，细胞汇合度
扩增传代	接种细胞密度，培养条件（温度、振摇 / 搅拌速度、CO_2 浓度、溶氧值）及时间，培养基种类及用量，传代次数	细胞密度与活率，细胞汇合度，微生物限度，细菌内毒素
质粒转染	转染体系（特别是质粒比例及浓度），转染试剂体积，转染孵育培养基种类及用量，孵育时间，转染条件及时间	支原体，外源病毒因子，微生物限度，细菌内毒素，生物滴度，物理滴度，复制型慢病毒（replication competent lentivirus，RCL）
扩大培养	培养条件及时间，培养基种类及用量	
病毒收获	收获时间，收获次数	
澄清过滤（部分包括离心）	过滤器型号、孔径及材质，过滤参数（过滤体积、冲洗体积、流速）	
浓缩换液	超滤膜包（型号、孔径），缓冲液种类及用量，浓缩液数量，超滤参数（跨膜压、体积流量、压力增量、温度），缓冲液组成和用量，浓缩倍数	外观，pH 值，渗透压摩尔浓度，CAR 基因鉴定（全序列测序等），纯度，生物滴度，物理滴度，滴度比（比活性），复制型逆转录病毒（replication competent retrovirus，RCR）/RCL 复制能力，工艺相关杂质［（如宿主 DNA（host cell DNA，HCD）残留、宿主蛋白（host cell residual protein，HCP）残留、质粒 DNA 残留、总 DNA 残留、牛血清蛋白（bovine serum albumin，BSA）残留、核酸酶残留、宿主 SV40LTA& E1A 残留 DNA、残留宿主细胞 DNA 片段分布等］，γ 干扰素（interferon-γ, IFN-γ）分泌，无菌，支原体，细菌内毒素，外源病毒因子
酶切	酶溶液浓度及加入量，酶切条件及时间，离心收集参数	
色谱分离	柱填料（类型、体积、装填过程参数），色谱参数（上样量、线体积流量、填料高度、柱直径及高度、洗脱梯度、温度），收集标准	
除菌过滤	过滤器（型号、孔径及材质），过滤参数（温度、压力、流速、过滤体积）	
浓缩、分装	离心条件（离心力、时间及温度），装量体积	
冻存	降温程序与降温曲线，保存温度	

毒载体（慢病毒或γ- 逆转录病毒载体）转导 T 细胞，包括血液样本的采集、转运、细胞分选（进一步选择和富集 T 淋巴细胞群）、细胞激活（使得 T 细胞增殖并变得可以更高效地进行基因转导）、细胞转导（通过基因修饰，将 CAR 基因转入 T 细胞中，通过细胞自身的转录与翻译，在 T 细胞膜上表达 CAR 蛋白）、细胞扩增（获得预期产品与产量，注意扩增前应清除病毒）、细胞收获、细胞收集（去除 / 减少杂质、增加总体细胞浓度、进行基础制剂溶液交换）、辅料添加（将细胞与缓冲液、蛋白质、辅助物质和冷冻保护剂组合在一起，常见的如：5%～ 10% DMSO、人血白蛋白、葡聚糖、氯化钠等）、灌装、贴签、冻存、运输至回输等工序，其生产工序、工艺参数与质量属性参考如表 3 所示。

表 1 至表 3 中的内容仅为初步参考，其中许多工艺参数与质量属性参考项并非严格意义上的 CPP 与 CQA，列入表中的主要目的是引起适度关注，避免在产品研发、工艺设计及工艺验证中出现忽略或遗漏，也为药品现场检查工作提供参考。在实际研发及生产中，企业应根据具体研究数据，基于质量风险管理确定生产工艺与工序，明确产品各工序对应的 CPP 与 CQA，规定细胞治疗产品生产过程中各生产设备和程序的选择，以及参数设置和范围。其中，自体细胞治疗不可避免地存在患者间个体差异，应特别注意参数范围制定的合理性。对于同种异体的 CAR-T 产品，其生产工序与自体 CAR-T 产品相似，但为了降低免疫原性带来的潜在安全性风险（如急性排斥反应），通常会进行额外的基因修饰（如在细胞激活后增加基因敲除步骤使细胞免疫相容）。如果质粒、病毒载体被视为关键起始物料管理，需

表 3 CAR-T 产品 [1] 的典型生产工序及对应工艺参数与质量属性参考 [5—11]

Tab.3 Typical Production Processes of CAR-T Products and Corresponding Process Parameters and Quality Attributes for Reference[5—11]

生产工序	工艺参数参考项	质量属性参考项
血液样本采集	患者身份信息，单采程序，抗凝剂比例，全血处理量，循环采集值，单采血采集量	供者传染病检测，单采血计数［细胞活率、外周血单个核细胞（peripheral blood mononuclear cell，PBMC）总数］，无菌
样本转运	运输温度（如 2 ～ 8 ℃）及时间	外观，标签
细胞分选（抗体偶联磁珠分离法或洗脱法）	分选磁珠种类（如 $CD4^+$ 和 $CD8^+$ 分选磁珠）及用量，磁珠孵育时间，孵育温度，设备分选程序及参数设置；或采用特定设备进行密度梯度离心分选时的分选程序及参数设置	细胞密度与活率
冻存 [2]	相对离心力与离心时间，冻存保护液及用量，灌装量，降温程序与降温曲线，保存温度及时间	—
复苏 [2]	解冻时间与解冻温度，细胞清洗程序与参数（去除 DMSO），复苏温度，复苏总时长，复苏培养基与用量	细胞密度与活率
细胞激活	激活前活细胞数，激活磁珠种类（如 CD3/CD28 激活磁珠）及用量，孵育条件及时间，激活条件及时间	细胞密度与活率，无菌
细胞转导	激活后细胞数，病毒载体添加量，孵育条件及时间，病毒载体清洗程序	转导后活细胞总数
细胞扩增	培养体系［培养基种类及用量、细胞生长因子（如 IL-2）及添加量、培养条件］及时间	细胞密度与活率，CAR^+ 细胞比例，复制型慢病毒（RCL）
细胞收获	最晚收获时间	目标细胞数
磁珠去除 [2]（生物可降解微球除外）	去磁珠条件（时间、次数等）	细胞密度与活率
细胞收集	浓缩洗涤（次数、洗涤液等）	目标细胞数
辅料添加	处方组成（如含 DMSO 等的细胞冻存液、电解质溶液、人血白蛋白等）及添加量	目标细胞数
灌装贴签	灌装体积及灌装数量，标签信息	外观，pH 值，渗透压，鉴别，纯度与杂质（T 细胞比例、残余 B 细胞、细胞活率、残余磁珠、CAR-T 比例），效价（T 细胞效价），含量（CAR-T 浓度），安全性指标（如无菌 [2]、支原体 [2]、细菌内毒素、可复制性慢病毒、载体拷贝数）
冻存	降温程序与降温曲线，保存温度	
运输	运输温度（如≤ －130 ℃）及时间	

注：[1] 鉴于目前获批上市的 CAR-T 产品均为病毒质粒载体转导，表中未包括非病毒质粒载体转染的情况；最终产品的无菌与支原体检测项目通常涉及二步放行，即输注放行和最终放行；[2] 为可选工序。

要特别关注质粒与病毒载体来源、工艺验证、放行标准与进厂检测标准、供应商生产质量管理能力、供应商审计与供应商管理等内容，确保用于生产的质粒与病毒载体能持续、稳定地符合预定用途，其生产质量管理应能最大限度地降低污染 / 交叉污染以及混淆、差错的风险。

2　CAR-T 产品的工艺验证与无菌工艺模拟试验

当前，CAR-T 产品生产线主要包括生产单元式（也称为一站式布局，即由多个覆盖完整生产工序的生产单元组成，每个生产单元内可完成所有生产工序）和集中功能间式（也称为结合型布局，即由多个针对不同生产工序的生产操作间组成，每个生产操作间可以完成产品生产中的部分生产工序）2 类设计与建造方式，或在此 2 类方式基础上进行结合或调整的布局设计（如大厅式）。CAR-T 产品的工艺验证与无菌工艺模拟试验需要以符合 GMP 相应规定为基础，结合对工艺和产品特性的理解，充分考虑最差条件带来的污染 / 交叉污染潜在挑战，依据其生产工艺与生产线的特点采取适宜的策略。

2.1　产品工艺验证

从验证的生命周期角度分析，CAR-T 产品的工艺验证同样包括工艺设计、工艺验证和持续工艺确认与再验证等阶段。企业需要在对生产工艺充分理解的基础上，通过工艺设计识别出适宜的 CPP 和 CQA 及其范围，通过至少连续 3 批成功的工艺验证来证实工艺设计阶段的结论，证明该商业化生产过程符合预期，并明确后期持续监测的重点，后期再采用持续工艺确认证明生产工艺始终处于稳定的控制状态；当出现重大变更等情况时，进行必要的工艺再验证 [12]。在 CAR-T 产品的生产中，工艺验证需要特殊考虑的内容主要包括以下 5 点。①当同一生产区域存在多条相同生产线（生产单元）或相同生产设备时，由于生产操作与处理流程基本是相似的，工艺验证可以结合产能验证 [13]（如最多可同时进行生产操作的生产线或生产设备数量）的要求，基于实际情况进行充分的质量风险评估，进而科学、合理地进行设计，如对于同一房间内存在同型号生产设备的情况，可考虑采用“3+1+1+…”（注意对全部生产单元 / 生产设备的覆盖）的方式，但注意须在基于等同性评估、已掌握知识、积累的平台经验、设施和设备设计、已完成的设备确认等方面对实际情况进行充分评估的前提下 [14]。②受到起始物料细胞的影响，工艺验证可以用替代的起始物料（如来源于健康志愿者的细胞）进行验证，但应注意评估替代起始物料的代表性，并考虑在生产工艺的关键方面使用实际起始物料进行补充验证；受限于起始物料的有限性（源自患者的自体细胞），可采用同步验证的方式。③对于直接用于细胞产品生产的基因修饰载体（如病毒载体）或其他赋予其特定功能的材料（包括质粒），其生产工艺应当经过验证。④采用自体细胞治疗时，患者间个体差异的现象客观存在；工艺验证中对 CPP 的识别与参数范围的制定应特别注意其合理性，且考虑到细胞治疗技术的快速更新与不断累积，工艺控制策略应在保证安全性和有效性的前提下，保留一定的灵活性。⑤持续工艺确认中，需要基于 CAR-T 产品（包括病毒载体和质粒）生产的特点选择适宜的 CPP 与 CQA，进行及时、持续监控；注意应基于参数统计学分布类型的不同需要，对应选择适宜的统计分析工具，并根据趋势情况做好相应的分析（如对在一定时期内是否受流行性疾病的影响而导致过程控制中 CQA 异常、供者材料采集数据趋势等进行分析）。

2.2　无菌工艺模拟试验

无菌工艺模拟试验的要点与检查典型问题在之前的研究中已进行了分析，要点包括无菌工艺模拟试验的范围刚好覆盖无菌操作全过程、影响无菌性的关键生产步骤应尽可能与实际无菌生产工艺相一致、根据产品的不同剂型及其工艺特点进行设计（包括干预、最差条件、模拟试验方法等），核心是体现该产品的生产工艺对非最终灭菌药品的无菌保证能力 [15]。在 CAR-T 产品的生产中，无菌工艺模拟试验需要特殊考虑的内容主要包括以下 4 点。①当同一生产区域存在多条相同生产线（生产单元）或相同生产设备时，由于生产操作与处理流程基本是相似的，其首次无菌工艺模拟试验可以结合产能验证的要求，科学、合理地进行设计，确保每班次连

续进行 3 次合格试验，其中注意对全部生产单元 / 生产设备的覆盖与“班次”[16] 的正确理解，并重点集中在非封闭操作和与封闭系统连接有关的步骤上。②在完成首次验证后，宜采用矩阵法和 / 或括号法进行持续确认（不低于每 6 个月 1 次），其中应特别注意矩阵法和 / 或括号法设计的合理性与代表性。③关注细胞采集运输、病毒载体生产、质粒生产等环节的无菌工艺模拟试验的开展或评估，必要时可考虑采用分阶段模拟的方式。④结合当前 CAR-T 产品的特点（如超小的批次规模、大量的人工手动无菌操作、较长时间的无菌状态维持、多个相似或一致的生产单元与生产设备、厂房设计与布局的差异性、生产工艺的多样性等），基于质量风险管理原则进行无菌工艺模拟试验关键点的识别与设计，如人员的无菌操作考核与确认、无菌连接、非密闭状态最长持续时间、特殊设计的一次性使用容器。考虑到当前 CAR-T 产品与传统无菌药品在无菌操作方面存在显著差异，在符合当前法规规定的前提下，基于质量风险管理方法，可适当考虑合理的灵活度。

3 污染与交叉污染控制

传统的生物制品通常可采用除菌过滤来去除微生物，但目前没有适用于 CAR-T 产品的终端灭菌或除菌过滤方法。因此，为保证工艺全程的无菌，污染控制变得尤为重要。需要从影响药品质量的六要素（人员、设备与组件、设施环境、物料、工艺过程、检测与预防）入手，制定并实施有效的污染控制策略 [17]。与传统生物制品相比，CAR-T 产品的污染控制策略需要更加重视的内容主要包括以下 6 点。①人员方面，CAR-T 产品生产依赖大量的人工无菌操作，需要特别关注人员的无菌操作培训、考核与资质确认（包括更衣确认、参与无菌工艺模拟试验并测试合格等）；配备适宜的无菌操作防护设备（如护目镜、洁净服、无菌手套、无菌袖套等）；基于生产操作需要，明确并细化主要操作人员和次要（或辅助）操作人员的职责与无菌操作要求等 [18]。②设备与组件方面，CAR-T 产品生产的许多设备是基于产品生产需求预先设计的，其中包括大量的一次性使用系统，需要考虑对一次性使用系统污染及完整性的评估与确认。同时，由于一次性连接技术贯穿于 CAR-T 产品生产全过程，对于无菌连接器（如 AseptiQuik、Opta）、无菌焊接或在 A 级环境下的开放式连接（如 Luer 和 MPC 接头）等的选择、确认与使用，是 CAR-T 产品生产污染控制策略中不可忽视的环节。③设施环境方面，在遵循常规 GMP 要求的基础上，需要基于 CAR-T 产品生产中大量人工无菌操作的特点进行设计，如足够的操作空间、暴露性操作均在 B 级背景下的 A 级层流（生物安全柜）的初始气流或隔离器条件下完成、不同品种或不同批次产品在同一区域生产的要求。其中，环境监测要点同样包括环境监测程序规定、监测计划和监测实施 3 个方面 [19]，但值得注意的是，由于 CAR-T 产品无菌操作的空间相对较小，环境监测需要避免监测操作本身对环境与生产操作产生的不利影响。同时，注意对于涉及传染病病原体的情况，需使用独立的专用生产区域（如阳性车间）并符合生物安全方面的有关要求，在病毒载体生产中注意“有毒区”和“无毒区”的隔离设计。设计时，注意不能忽略消毒剂、培养基等配制及灭菌所需的功能区域。④物料方面，由于 CAR-T 产品生产所用的部分物料来自人体或动物（如白蛋白、培养基），需要特别关注病毒、动物源可传染性海绵状脑病等的潜在污染，并关注境外远程进口物料在运输过程及转入洁净区时污染控制措施的有效性。⑤工艺过程方面，重点是科学、有效的无菌工艺模拟试验，以及过程中合理的污染监控指标。⑥检测与预防方面，注意尽量在早期阶段进行检测，避免后期复杂的调查以及对患者可及性的影响。比如在单采血静脉穿刺过程中若发生皮肤消毒不彻底、患者现有感染等情况，需要在采集后及接收时进行必要的无菌测试，提前发现潜在污染。因活细胞制品生产周期和患者治疗窗口期的特殊性，可能会应用快速检测方法（如快速无菌检查、快速支原体检查），其应用时，仅依据小批量生产数据尚不能证明使用快速检测进行批量放行的有效性，因此必须严格执行两步放行要求，并加强对生产全过程污染控制措施有效性的监测。

4 生产相关的偏差处理与变更控制

在药品生产质量管理中，偏差处理与变更控制的基本要求与原则是一致的，但由于 CAR-T 产品生产的特殊性，导致其在生产系统中存在某些特殊的情形。对于自体 CAR-T 产品，患者年龄、健康状况、疾病分期、既往治疗史、体质量等因素存在差异，可能影响起始细胞的数量和质量，或由于供体细胞已经耗尽或者经多轮化疗导致细胞难以转导，进而影响 CAR-T 产品的生产过程，造成生产偏差。因此，对偏差的调查需要严格按程序执行。偏差分析中，应注意结合细胞治疗产品的特殊性，进行偏差影响评估与根本原因分析，并制定有效的纠正与预防措施。在变更控制的分级方面，应注意区别 GMP 与注册审评技术指导原则对不同级别变更定义与范围的差异，并在变更控制程序中予以明确（如一些生产质量管理方面的主要变更实际不涉及任何注册审评事项），同时注意变更控制中的一些常规关注要点，如：变更的定义、适用范围、分类、处理流程、影响评估、控制措施、措施跟踪、编号与台账管理、定期分析等[20]。其中，注意加强对工艺优化、新增生产单元 / 生产线、工艺时间延长、生产工艺参数调整（核准范围内）、产能变化等特殊变更的控制。

5 结语

在细胞治疗产品业内，经常提及“过程即产品”。这种描述高度概况了细胞治疗产品来自生产系统的考验。一个有效的生产系统可以降低潜在的污染风险并确保产品符合相关法规和标准，在保证产品质量的同时，还有助于提高生产效率，从而为持续改进和发展奠定坚实基础。本文主要基于细胞治疗产品生产系统的特殊性进行分析，提出了当前细胞治疗产品在生产质量管理中六大系统之一的生产系统方面需要重点关注的内容与要点，为我国细胞治疗行业更好地开展有关工作提供参考，也希望为各类药品检查、企业质量审计（外审或内审）提供借鉴。

本文内容主要立足于现有经验与认知，随着细胞治疗产品科学技术的快速发展，行业经验与认知的进一步深入（如新靶点挖掘、细胞活化 / 清除开关应用、复合型 CAR-T 和通用型 CAR-T 构建等[1]），部分内容可能不适用于新技术、新业态，但关于生产系统质量管理的目的与基本理念是一致的。以当前研发进度较快的通用型 CAR-T 产品为例，与当前获批的自体 CAR-T 产品相比，未来通用型 CAR-T 产品具有可立即获得、更加标准化和成本更低等方面的优势，但也存在更多的安全性问题，如供体血液中外源因子感染、移植物抗宿主病、异体细胞的排斥反应等，其生产系统质量管理的核心内容与目的仍是最大限度地避免生产过程中的污染 / 交叉污染、混淆与差错，保证生产过程处于持续稳定的状态，进而保证药品质量。

参考文献：

[1] 黄　河，徐开林，周剑峰，等. CAR-T 细胞免疫治疗学 [M]. 北京：人民卫生出版社，2022.

[2] 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]. (2022-10-28) [2024-08-01]. https://www. cfdi. org. cn/resource/news/14938. html.

[3] 颜若曦. 基于药品生产六大系统的检查实践研究 [J]. 中国药物评价，2022, **39**(5): 431-435.

[4] PIC/S. GMP: manufacture of advanced therapy medicinal products for human use [EB/OL]. (2021-5-1) [2024-08-01]. https://picscheme. org/docview/6608.

[5] 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）[EB/OL]. (2017-12-22) [2024-08-01]. https://www. nmpa. gov. cn/xxgk/ggtg/ypggtg/ypqtggtg/20171222145101557. html.

[6] 国家药品监督管理局食品药品审核查验中心. 细胞治疗产品生产现场检查指南（征求意见稿）[EB/OL]. (2024-7-12) [2024-08-01]. https://www. cfdi. org. cn/resource/news/16005. html.

[7] PDA. Technical report No.81: cell-based therapy control strategy [EB/OL]. [2024-08-01]. https://www. pda. org/bookstore/product-detail/4638-tr-81-cell-based-therapy-control-strategy.

[8] 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.

（下转第 1633 页）

progression of atherosclerosis by targeting low-density lipoprotein cholesterol [J]. *Pharmaceutics*, 2024, **16**(1): 74.

[26] MA R F, HAO L G, CHENG J N, *et al*. Hyaluronic acid-modified mesoporous silica nanoprobes for target identification of atherosclerosis [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2024, **702**: 149627.

[27] SHA X, DAI Y, SONG X X, *et al*. The opportunities and challenges of silica nanomaterial for atherosclerosis [J]. *Int J Nanomedicine*, 2021, **16**: 701-714.

[28] MARINHEIRO D, MARTEL F, FERREIRA B J M L, *et al*. Silica-based nanomaterials for diabetes mellitus T reatment [J]. *Bioengineering* (Basel), 2022, **10**(1): 40.

[29] OROVAL M, DÍEZ P, AZNAR E, *et al*. Self-regulated glucose-sensitive neoglycoenzyme-capped mesoporous silica nanoparticles for insulin delivery [J]. *Chemistry*, 2017, **23**(6): 1353-1360.

[30] REID I R, BILLINGTON E O. Drug therapy for osteoporosis in older adults [J]. *Lancet*, 2022, **399**(10329): 1080-1092.

[31] LOZANO D, LEIVA B, GÓMEZ-ESCALONILLA I S, *et al*. Pleiotrophin-loaded mesoporous silica nanoparticles as a possible treatment for osteoporosis [J]. *Pharmaceutics*, 2023, **15**(2): 658.

[32] FANG L X, ZHOU H X, CHENG L, *et al*. The application of mesoporous silica nanoparticles as a drug delivery vehicle in oral disease treatment [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2023, **13**: 1124411.

[33] ZHANG Z Z W B, LI W B, CHANG D, *et al*. A combination therapy for androgenic alopecia based on quercetin and zinc/copper dual-doped mesoporous silica nanocomposite microneedle patch [J]. *Bioact Mater*, 2022, **24**: 81-95.

[34] ZHANG Y L, LIN X, CHEN X X, *et al*. Strategies to regulate the degradation and clearance of mesoporous silica nanoparticles: a review [J]. *Int J Nanomedicine*, 2024, **19**: 5859-5878.

[35] YANG G B, PHUA S Z F, BINDRA A K, *et al*. Degradability and clearance of inorganic nanoparticles for biomedical applications [J]. *Adv Mater*, 2019, **31**(10): e1805730.

（上接第 1618 页）

[9] 吴雪伶, 赵 翔, 孟淑芳. CAR-T 细胞治疗产品中复制型病毒的风险分析及控制 [J]. 中国药事, 2018, **32**(7): 879-885.

[10] 颜若曦. 生物制品生产设备检查要点探析 [J]. 现代药物与临床, 2024, **39**(2): 497-502.

[11] 颜若曦. 液体除菌过滤技术检查要点探析 [J]. 中国医药导刊, 2022, **24**(6): 613-617.

[12] 翟铁伟, 颜若曦, 王立杰. 工艺验证检查缺陷分析 [J]. 中国药物评价, 2021, **38**(5): 380-382.

[13] 王 雪, 马岩松, 韦 薇, 等. 自体 CAR-T 类治疗产品产能研究关注点浅析 [J]. 中国新药杂志, 2023, **32**(24): 2447-2451.

[14] 国家药品监督管理局食品药品审核查验中心. 药品 GMP 指南：无菌制剂下册 [M]. 第 2 版. 北京 : 中国医药科技出版社, 2023.

[15] 颜若曦. 无菌工艺模拟试验中常见问题和检查要点分析研究 [J]. 现代药物与临床, 2022, 9(9): 2135-2141.

[16] 国家药品监督管理局. 无菌工艺模拟试验指南（无菌制剂）[EB/OL]. (2018-7-31)[2024-08-01]. https://www. nmpa. gov. cn/xxgk/ggtg/ypggtg/ypqtggtg/20180911170301439. html.

[17] 颜若曦. 无菌药品污染控制策略要点探析 [J]. 医药导报, 2023, **42**(9): 1424-1429.

[18] PDA. Technical report No.62: recommended practices for manual aseptic processes [EB/OL]. [2024-08-01]. https://www. pda. org/bookstore/product-detail/2007-tr-62-manual-aseptic-processes.

[19] 颜若曦. 药品生产洁净环境监测要点的研究与分析 [J]. 中国医药工业杂志, 2023, **54**(10): 1510-1516.

[20] 颜若曦. 药品生产企业质量保证系统要点分析 [J]. 医药导报, 2022, **41**(1): 132-135.