

出國報告（出國類別：研究）

赴美國參加「2018年生物製劑標準化國際聯盟舉辦之細胞治療研討會」

服務機關：衛生福利部食品藥物管理署

姓名職稱：侯郁琦技士

派赴國家：美國

出國期間：中華民國107年6月4日至6月8日

摘要

隨著國際精準醫療興起，客製化醫療成為目前國際藥物研發之趨勢，細胞治療產品等新興先進醫療產品成為過去傳統藥品無法治癒疾病之新選擇。為因應該類產品蓬勃發展，須持續掌握國際相關檢驗技術與管制規範之最新資訊與發展，以建立與國際接軌之新興先進醫療產品品質管制與檢驗技術相關指引，並與國際相關領域專家建立交流管道，本次奉派赴美國參加「2018年生物製劑標準化國際聯盟舉辦之細胞治療研討會」。

有鑑於幹細胞具有細胞再生、組織修復的能力，於近年在國際間蔚為風潮，惟研發的過程面臨製造量產、產品一致性等困境，亦有安全性及有效性之風險考量。本次為期兩日研討會，匯集來自國際醫藥相關機構、各國主管機關、製造廠等細胞治療領域之專家共同參與，並討論國際上共同面臨之議題與分享各國於細胞治療產品之研發及應用等資訊，期能增進國際間合作、資源共享，可望帶動全球細胞治療產業共同發展。雖我國尚未核准任何細胞治療產品，為因應國際趨勢，亟須替未來上市產品預作準備，藉由本次研討會，汲取國際相關產品品質管理概念，作為我國未來相關產品上市之品質管制參考，精進國家實驗室專業知能，有助於我國品質管制與檢驗技術規範與國際接軌，完善國家新興先進產品品質評估體系，保障民眾用藥安全。

目次

壹、前言及目的	3
貳、行程與工作紀要	4
參、研討會內容	5
(一)細胞治療產品品質之管制	5
(二)國際細胞庫/標準品	32
(三)細胞治療產品之應用	36
肆、心得與建議	38
伍、附錄	40

壹、前言及目的

隨著科技進展神速，細胞治療產品等新興先進醫療產品隨之興起，為傳統醫學技術無法治療之疾病帶來一線生機，成為全球藥物研發備受關注的對象。為因應該類產品之多樣化及發展迅速，國際持續增修訂相關規範，如歐美等藥典及相關文獻均針對該類產品之原料品質、微生物檢驗、效價試驗等管制項目制定相關規範，以確保產品安全，並供業界參考，我國亦須隨之跟進，以符合國際趨勢，並建立我國規範，故本次奉派參與「2018 年生物製劑標準化國際聯盟舉辦之細胞治療研討會」。

本次研討會係由生物製劑標準化國際聯盟(The International Alliance for Biological Standardization, IABS)主辦，該機構致力於建立生物製劑研發、製造、品管之全球標準化規範，並提供交流平台予各界討論及分享生物製劑之品質管制、研究實務經驗等相關議題，藉此相互汲取知識，以提升生物製劑品質，促進國際品質管制規範之建立。協辦單位為加州幹細胞協會(California's stem cell institute, CIRM)，其任務為協助各界相關領域專家致力於細胞治療產品研究，引領國際新興先進醫療產品之發展。本次研討會邀集來自 WHO、IABS、各國主管機關(如美國 FDA、日本 NIHS)與各國生技製藥廠(如美國製藥廠 Genentech、日本 HEALIOS)之相關領域專家，約計 35 位演講者，與會者約計 100 餘人，講述主題分別針對細胞治療產品之品質管制規範與相關檢驗進行說明，並分享國際發展趨勢、國際共同關注目標及各學者實務經驗等，期藉此次研討會能深入了解國際上細胞治療產品品質發展與品質管控概念，並持續掌握國際脈動，有助於因應未來產品研發上市品質管控。

貳、行程與工作紀要

本次奉派於107年6月4日啟程赴美國加州洛杉磯參與「2018年生物製劑標準化國際聯盟舉辦之細胞治療研討會」，並於6月8日返抵台灣。行程與工作紀要如下表：

日期	行程/工作紀要
107年6月4日	啟程(台北至美國加州洛杉磯)
107年6月5日	參與「2018年生物製劑標準化國際聯盟舉辦之細胞治療研討會」： <ul style="list-style-type: none">● 主題一-細胞治療產品發展趨勢 (speaker：Dr. Elwyn Griffiths、Dr. Hironobu Kimura)● 主題二-細胞治療產品之品質管制規範與檢驗 (speaker：Dr. Ivana Knezevic、Dr. Elwyn Griffiths)● 主題三-細胞治療產品之國際細胞庫/標準品 (speaker：Dr. Orla O'Shea)
107年6月6日	參與「2018年生物製劑標準化國際聯盟舉辦之細胞治療研討會」： <ul style="list-style-type: none">● 主題四-致癌/瘤性試驗 (speaker：Dr. Mercedes Serabian、Dr. Yoji Sato 及 Dr. Shawna M. Jackman 等3位)● 主題五-細胞治療產品之應用 (speaker：Dr. Agnete Kirkeby 等4位)
107年6月7日至8日	返程(美國加州洛杉磯返回台北)

參、研討會內容

有鑑於幹細胞具有複製增生及分化成多樣細胞的能力，為許多學者爭相研究之標的，然其具有多變及不穩定性，如何確保品質安全成為研究細胞治療產品之重要課題，本次研討會主要著重於細胞治療產品品質管制，汲取國際相關領域之專家講述從產品製程至最終成品放行等層層檢驗之經驗，及國際細胞治療產品應用等相關資訊，使與會者了解目前細胞治療產品最新發展，下列將依會中各主題進行說明。

(一)細胞治療產品品質之管制

1. 國際針對細胞治療產品品質管制與研發之觀點：

目前細胞治療產品尚於持續發展之階段，常面臨許多困境與挑戰，為了解各界是否有相似經驗與處置措施，期能解決相關議題，國際上常舉辦研討會等各項活動，邀集國際相關協會、各國主管機關與製藥廠共同研討，並協調實務面與規範面執行狀況，以建立共識，本次研討會強調細胞治療產品品質管制之觀點如：**保留管制規範之彈性(Flexibility)**、**以個案管理(Case-by-Case)**、**以過往經驗推動新興技術發展**、**持續參與國際活動取得建議**等。

(1) 保留管制規範之彈性、以個案管理

IABS的顧問Dr. Elwyn Griffiths說明，研究發展固然能為病患研發新興醫療產品，替許多難以治療之疾病帶來治癒的機會，但若未有完善品質管控，將為病人帶來危害，然規範訂定太嚴峻亦有可能限縮研究發展空間，阻礙新興科技推動。目前國際尚未針對細胞治療產品制定明確檢驗規格，係由於細胞治療產品尚於持續發展階段，須有彈性的規範與方法來容納此新興科技技術，並強調建立相關檢驗規範與規格須具備完整之科學研究與相關佐證資料，使新興醫療產業得以安全及有效的方式發展。美國FDA的

藥理/毒理部門主任Dr. Mercedes Serabian說明基於幹細胞治療產品之複雜性與獨特性，其檢驗方法亦須以個案情形管理。

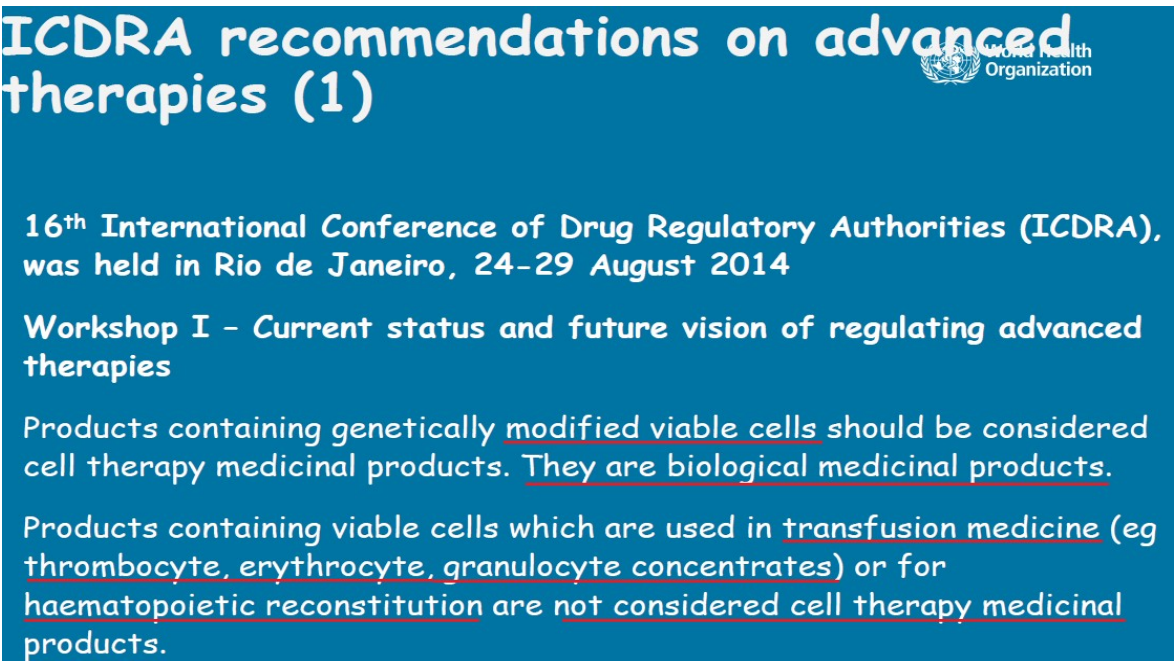
(2) 以過往經驗累積推動新興科技發展

Dr. Elwyn Griffiths強調累積過往的經驗與數據之重要性，除可使相關經驗更加豐富，亦可從研發過程中檢討、學習，並持續精進檢驗技術，進而帶動新興科技發展。Dr. Elwyn Griffiths舉例，於1993年美國製藥廠Genentech發生細胞培養遭受污染事件，係執行例行製程管控時偵測到小鼠微小病毒(Minute Virus of Mouse, MVM)污染，由於此病原可能存在於任何鼠類來源或接觸鼠類之物品與地點出現，可能係執行細胞培養時使用CHO細胞，該細胞係中國倉鼠卵巢細胞，可能具有潛在小鼠微小病毒之風險，或可能為試驗動物與試驗原料管理不良以致交叉污染等情形。對此，Genentech立即停止該批產品生產作業，並向美國FDA通報，當時生產鏈下游已有大批產品進行純化等步驟，以致須執行大規模自生產鏈上游至下游之清消作業與事件調查，然此病原微小、難以偵測，調查結果均未於生產源頭之培養基等實驗材料與試驗動物檢測出污染情形，惟整體事件已讓FDA與製造廠意識到整個產品製程管控之重要性，為避免至生產鏈下游才發現病毒污染情形，以致整個生產鏈須執行大規模清消作業，須於製程源頭至產品放行之品質管理層層把關。此事件亦推動後續廠商研發新PCR與感染試驗(Infectivity assay)，於生產鏈源頭及早檢測可能污染源，並將此檢測方法導入例行檢驗，提升整體製程品質。雖後續仍再次發生MVM污染事件，但已於生產鏈下游尚未執行任何生產作業前即早發現，達到下游保護作用(Downstream protected)，不須如同第一次事件發生時執行大規模清消，也替製造廠省下不少花費。後續製造廠為因應此事件再次發生，亦發展出培養基等試劑之新加熱滅菌技術，該製造廠至1994年迄今未再發生病毒污染事件，由此印證過往經驗之重要性，並提升主管機關與製造廠針對產品原料與製程中可能遭受外來性病原污染之危機意識。

(3) 持續參與國際活動取得建議

為使全球對細胞治療產品管理有依循之方向，國際常藉由舉辦相關活動取得各界建議，並鼓勵各界持續參與，WHO的生物製劑規範與標準組組長Dr. Ivana Knezevic於本次研討會中即舉例國際會議如2014年第16屆 International Conference of Drug Regulatory Authorities (ICDRA)之建議：(圖一及圖二)

- a. 細胞治療產品定義：內含基因修飾之活細胞產品視為細胞治療產品，該類產品屬生物製劑。
- b. 作為輸血醫學(如血小板、紅血球、顆粒球濃厚液等)或造血重建之活細胞產品，不列為細胞治療產品之範疇。
- c. 對會員國之建議：鼓勵各國建立細胞治療產品之專業知識，以了解其特性(characterization)，推動該列產品之產業研發，對此各國應互相分享產品研發與品質管理實務經驗，並應促進主管機關與學術界、業界間檢驗技術與新興科技之交流與協和。



The image shows a blue slide with white text. At the top left, it says 'ICDRA recommendations on advanced therapies (1)'. At the top right is the WHO logo. The main text reads: '16th International Conference of Drug Regulatory Authorities (ICDRA), was held in Rio de Janeiro, 24-29 August 2014'. Below that is 'Workshop I - Current status and future vision of regulating advanced therapies'. The first recommendation is: 'Products containing genetically modified viable cells should be considered cell therapy medicinal products. They are biological medicinal products.' The second recommendation is: 'Products containing viable cells which are used in transfusion medicine (eg thrombocyte, erythrocyte, granulocyte concentrates) or for haematopoietic reconstitution are not considered cell therapy medicinal products.'

圖一、2014年第16屆ICDRA之建議

(資料來源：Dr. Ivana Knezevic 研討會簡報)

ICDRA recommendations to Member States on advanced therapies (2)



Member States are encouraged to develop regulatory expertise for cell therapy medicinal products appropriate for the specific nature of these products. In this regard it is recommended to:

- share regulatory experiences among national regulatory authorities to allow appropriate regulatory responses; and
- promote information-sharing between academia, industry and national regulatory authorities on newest technologies including stem cell therapies.

圖二、2014 年第 16 屆 ICDRA 之建議

(資料來源：Dr. Ivana Knezevic 研討會簡報)

2. 品質管制項目

細胞治療產品製程繁複，須以生物性試劑培養，並經多種生物程序 (Bioprocess)、純化等過程製成，製程中所接觸之生物性來源可能帶有外來性病源(adventitious agent)，且幹細胞本身雖具有不斷複製再生的能力，但亦具有引發多變及不穩定性之隱憂，若未執行完善品質管控，產品可能受污染、產生致瘤性(Tumorigenicity)或批次間純度與效能不一致等情形，影響病人安全與療效，WHO於本次研討會即說明細胞治療產品之發展與評估須依循國家管理需求，顯示國家產品管制與管理規範之重要性。本次研討會即探討WHO、IABS、各國主管機關(如:美國FDA、歐洲醫藥品管理局(EMA))及各國生技製藥廠針對該類產品進行管控的項目，提供各界了解品質管制之重點，提升該類產品品質。下列大致列舉國際上與我國針對該類產品之相關指引與規範：

組織 /國家	相關規範
WHO	<p>WHO Expert Committee on Biological Standardization</p> <p>第 68 次報告提及細胞治療產品之國際趨勢：WHO 專家委員會希望在細胞治療領域達成全球協和化，並提及 ICDRA 結論與 WHO 將制定相關草案 General principles to address the nature and duration of follow-up for subjects of clinical trials using cell therapy products 等內容。</p>
ICH	<p>(1) Q5A(R1)「Viral Safety Evaluation of Biotechnology Products Derived from Cell Lines of Human or Animal Origin Q5D(R1)」</p> <p>(2) Q5C Stability Testing of Biotechnological/Biological Products</p> <p>(3) Q5D Derivation and Characterisation of Cell Substrates Used for Production of Biotechnological/Biological Products</p> <p>(4) Q5E Comparability of Biotechnological/Biological Products Subject to Changes in their Manufacturing Process</p>
美國	<p>法規：</p> <p>(1) Public Health Service Act Section 351</p> <p>(2) Public Health Service Act Section 361</p> <p>(3) FDA 21 CFR 1271 : Human Cells, Tissues, and Cellular and Tissue-Based Products</p> <p>(4) FDA 21 CFR 312: Investigational New Drug Application(IND)</p> <p>(5) FDA 21 CFR 210:Current Good Manufacturing Practice(cGMP) in Manufacturing, Processing, Packing, or Holding of Drugs; General</p> <p>(6) FDA 21 CFR 211: Current Good Manufacturing Practice For Finished Pharmaceuticals</p> <p>(7) The Food Drug and Cosmetic Act</p>

FDA 指引：

- (1) Regulatory Considerations for Human Cells, Tissues, and Cellular and Tissue-Based Products: Minimal Manipulation and Homologous Use; Guidance for Industry and Food and Drug Administration
- (2) Guidance for Industry-Guidance for Human Somatic Cell Therapy and Gene Therapy
- (3) Potency tests for cellular and gene therapy products
- (4) Preclinical Assessment of Investigational Cellular and Gene Therapy Products
- (5) Expedited Programs for Regenerative Medicine Therapies for Serious Conditions; Draft Guidance for Industry
- (6) Deviation Reporting for Human Cells, Tissues, and Cellular and Tissue-Based Products Regulated Solely Under Section 361 of the Public Health Service Act and 21 CFR Part 1271; Guidance for Industry
- (7) Draft Guidance for Industry: Assay Development for Immunogenicity Testing of Therapeutic Proteins
- (8) Considerations for the Design of Early-Phase Clinical Trials of Cellular and Gene Therapy Products; Guidance for Industry
- (9) Guidance for Industry: Guidance for Human Somatic Cell Therapy and Gene Therapy

美國藥典：

- (1) <92> Growth factors and cytokines used in cell therapy manufacturing
- (2) <1043> Ancillary materials for cell, gene, and tissue-engineered products
- (3) <1044> Cryopreservation of cells
- (4) <1046> Cellular and Tissue-Based Products
- (5) <1050> Viral safety evaluation of biotechnology products derived from cell lines of human or animal origin
- (6) <1223> Validation of alternative microbiological methods

歐洲

法規：

- (1) Directive 2001/83/EC : Medicinal products for human use (涵蓋基因治療產品、體細胞治療產品等新興先進醫療產品內容)
- (2) Directive 2003/63/EC : Amending Directive 2001/83/EC
- (3) Directive 2004/23/EC : setting standards of quality and safety for the donation, procurement, testing, processing, preservation, storage and distribution of human tissues and cells\
- (4) Regulation 1394/2007 : Advanced therapy medicinal products and amending Directive 2001/83/EC and Regulation (EC) No 726/2004
- (5) Directive 2009/120/EC : amending Directive 2001/83/EC of the European Parliament and of the Council on the Community code relating to medicinal products for human use as regards advanced therapy medicinal products
- (6) Directive 2005/28/EC : The principles and detailed guidelines for Good Clinical Practice(GCP) as regards investigational medicines for human use, as well as the requirements for authorisation of the manufacturing or importation of such products.
- (7) Directive 2003/94/EC : The principles and guidelines of GMP in respect of medicines for human use and investigational medicines for human use.

EMA 指引:

- (1) Guideline on safety and efficacy follow-up and risk management of Advanced Therapy Medicinal Products
- (2) Human cell-based medicinal products
- (3) Potency testing of cell-based immunotherapy medicinal products for the treatment of cancer
- (4) Risk-based approach according to Annex I, part IV of Directive 2001/83/EC applied to advanced therapy medicinal products
- (5) Reflection paper on stem cell-based medicinal products

	<p>歐洲藥典：</p> <ol style="list-style-type: none"> (1) 2.6.27. Microbiological Examination of Cell-Based Preparations (2) 2.7.28. Colony-forming cell assay for human haematopoietic progenitor cells (3) 5.1.6. Alternative methods for control of microbiological quality (4) 5.14. Gene transfer medicinal products for human use (5) 5.2.12. Raw materials of biological origin for the production of cell-based and gene therapy medicinal products
台灣	<p>法規/基準：</p> <ol style="list-style-type: none"> (1) 人體試驗管理辦法 (2) 人類細胞治療產品捐贈者合適性判定基準 (3) 人類細胞治療產品查驗登記審查基準 (4) 人類細胞治療產品臨床試驗申請作業及審查基準 (5) 再生醫療產品管理條例（草案）(原名稱為「細胞及基因治療產品管理法(草案)」，食品藥物管理署於今年修正名稱，係考量本草案管理範疇包含細胞治療產品、基因治療產品及組織工程產品；且參考先進國家皆採統稱命名方式，如歐盟稱之「先進治療產品(Advanced Therapy Medicinal Product，ATMP)」；美國 21 世紀醫療法案稱之「再生醫療產品(Regenerative Medicine Advanced Therapy，RMAT)」；日本稱之「再生醫療等製品」。))
	<p>指引：</p> <ol style="list-style-type: none"> (1) 細胞治療產品之微生物檢驗(草案) (2) 細胞治療及基因治療產品所需之生物原料(草案)

目前國際與我國皆針對細胞治療產品建立相關規範，然法規內容多屬原則性規範，於目前細胞治療產品持續發展階段，相關規範仍多以參考指引為主，惟產品製造(GMP)、新藥核准、臨床試驗(GCP)、檢驗方法確效等仍須遵循既有審核程序與規範辦理，FDA表示近期不肖業者看準細胞治

療產品熱門，從事許多未經核准臨床試驗與販售不法產品，呼籲民眾臨床試驗與藥品上市皆須經由FDA核准，勿貿然同意參與試驗或使用來路不明產品，且有鑑於國際尚未針對細胞治療產品訂定明確檢驗規格，新藥審查制度需要更多製程管制、動物及臨床試驗等相關資料佐證，目前我國雖未核准任何細胞治療產品，然為因應未來上市產品管理已先建立相關規範預作準備，如人類細胞治療產品臨床試驗申請作業及審查基準，即臨床試驗須經審核通過方可執行，並制定人體試驗管理辦法，保障臨床試驗受試者安全，此外，亦建立人類細胞治療產品查驗登記審查基準，列舉新藥審查條件與品質管制項目等，近期亦建立再生醫療產品管理條例（草案），規範細胞治療產品、基因治療產品及組織工程產品之製造、查驗/變更登記及暫時性許可等內容，其中暫時性許可係參照參考日本藥事法相關規定，制定有條件限期許可機制，並將原草案(細胞及基因治療產品管理法(草案))內容定義更明確。而目前國際核准之細胞治療產品如美國共計12項，另有4項為基因治療產品，彙整如下表：

產品分類	產品名稱/成分	製造廠	核准年份
同種異體幹細胞治療產品之臍帶血(Cord Blood)中造血前驅細胞(Hematopoietic progenitor cells, HPC)：為目前FDA 唯一核准之幹細胞治療產品類型	HEMACORD (HEMACORD (HPC, Cord Blood))	New York Blood Center, Inc	2011
	Ducord (HPC, Cord Blood)	Duke University School of Medicine	2012
	ALLOCORD (HPC, Cord Blood)	SSM Cardinal Glennon Children's Medical Center	2013
	CLEVECORD (HPC, Cord Blood)	Cleveland Cord Blood Center	2016
	HPC, Cord Blood	Clinimmune Labs, University	2012

		of Colorado Cord Blood Bank	
		LifeSouth Community Blood Centers, Inc	2013
		Bloodworks	2016
		MD Anderson Cord	2018
同種異體細胞治療產品	GINTUIT (Allogeneic Cultured Keratinocytes and Fibroblasts in Bovine Collagen)	Organogenesis Incorporated	2012
自體細胞治療產品	PROVENGE(sipuleucel-T) : Autologous Cellular Immunotherapy	Dendreon Corporation	2010
	LAVIV (Azficel-T) : skin cells-fibroblasts	Fibrocell Technologies, Inc	2011
	MACI(Autologous Cultured Chondrocytes on a Porcine Collagen Membrane)	Vericel Corporation	2016
基因治療產品	IMLYGIC (talimogene laherparepvec) genetically modified oncolytic viral therapy	Amgen Inc.	2015
	LUXTURNA (voretigene neparvovec-rzyl) : adeno-associated virus	Spark Therapeutics, Inc.	2017

	vector-based		
	KYMRIAH (tisagenlecleucel) : T cell-based	Novartis Pharmaceuticals Corporation	2017
	YESCARTA (axicabtagene ciloleucel) : T cell-based	Kite Pharma, Incorporated	2017

WHO建議執行品質管制前須先掌握該類產品之捐贈者細胞(Donor cells)與產品原料(Raw materials)來源、生物程序、藥物投予路徑(Route of Administration, ROA)、儲存及運送等相關資訊，藉以評估產品可能存在之風險。幹細胞治療產品之捐贈細胞可分為自體來源(Autologous)型與同種異體來源(Allogenic)型：

(1)自體來源型細胞治療產品:源自於病人本身(圖三、右)

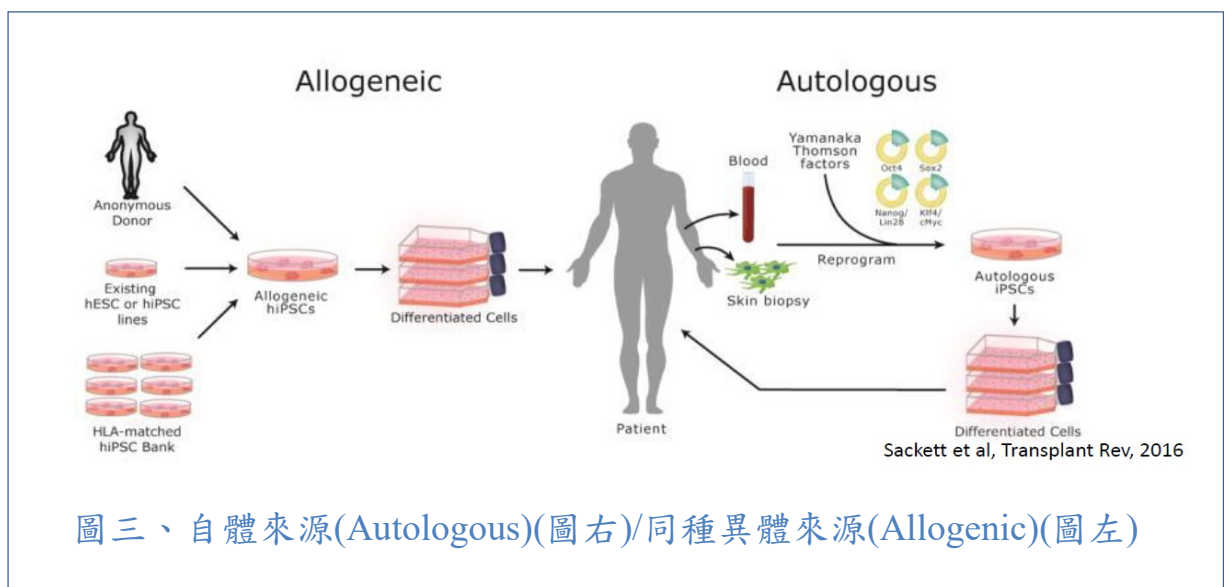
美國 FDA 21 CFR Part 1271.90 表示該類產品應標示 NOT EVALUATED FOR INFECTIOUS SUBSTANCES 及 FOR AUTOLOGOUS USE ONLY

優點	缺點
a. 不需要捐助者資格認定 b. 自體免疫反應低	a. 產量限制 b. 每一次製造之細胞產品皆來自各別病人，個人生理狀況不同(病程、健康狀態、治療史等)導致難以達到產品一致性 c. 有可能收集到原本病人受疾病感染的細胞或癌細胞，若未做好純化處理，病人使用後仍會造成疾病復發

(2) 同種異體來源型細胞治療產品:其他捐贈者供應(圖三、左)

優點	缺點
----	----

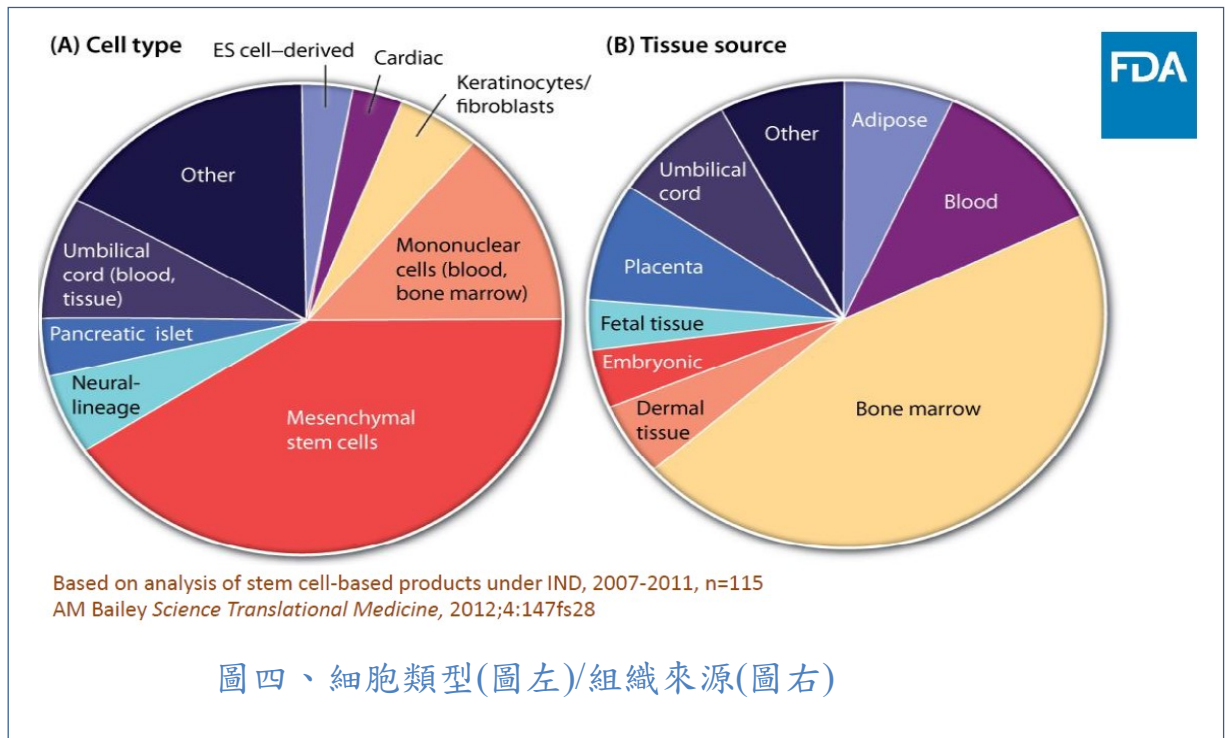
<p>a. 細胞品質均一性及細胞數量較易掌控</p>	<p>a. 須篩檢適宜之捐助者 (donor eligibility determination)</p> <p>b. 可能引發免疫排斥反應，如移植物對抗宿主疾病(graft vs. host disease, GVHD)，須輔以免疫抑制劑，造成抵抗力變差，易受到感染，或造成藥物與免疫抑制劑產生交互作用等</p>
----------------------------	---



(資料來源：Dr. Hironobu Kimura 研討會簡報)

該類產品之細胞類型包含間葉幹細胞、單核球細胞、臍帶幹細胞、神經幹細胞、胰臟細胞等，以間葉幹細胞為大宗(圖四左)。組織來源來自於骨髓、血液、脂肪、臍帶、胎盤、胚胎等，以骨髓為大宗(圖四右)。由這些組織取得細胞時即有可能一併帶入該組織原本所攜帶之潛在病原，如血液及骨髓來源可能有潛在人類疱疹病毒第四型(Epstein-Barr virus, EBV)、細小病毒B19(Parvovirus B19)、布魯氏菌(Brucella)等；脂肪組織來源可能有潛在腺病毒(Adenovirus)、克魯氏錐蟲(Trypanosoma cruzi, T cruzi)等(圖五)，在

產品原料管控亦須一併檢測。藥物投予路徑則包含靜脈注射、局部塗抹 (Topical)、手術置入、皮下注射等，以為靜脈注射大宗(圖六)。生物程序如基因修飾、細胞培養、細胞分化、純化、加入賦形劑/支架等，此外，產品保存亦為影響產品品質因素之一(圖七)。產品製造所使用之試劑、材料等均須一併控管，本次研討會以美國錫安山醫學中心(Cedars-Sinai)研究細胞治療產品為例(圖八)，如細胞培養試劑可能使用動物來源之血清，常見為胎牛血清(Fetal Bovine Serum, FBS)，須檢測該物種可能帶有之病原。製程中之中間產物亦須檢測細胞是否維持正常染色體核型、以流式細胞儀鑑別是否有多功能幹細胞之表面抗原、執行無菌試驗、黴漿菌檢測 (Mycoplasma)、鑑別細胞來源等，至最終成品皆有管制項目，而美國FDA亦針對該類產品說明放行檢驗之項目(圖九)，由於該類產品屬生物製劑，亦須符合生物製劑品質管制基本需求，如無菌、黴漿菌、純度、鑑別、效價、細菌內毒素等基本檢驗項目，依照細胞治療產品之特性亦有其他必要之管制項目，如細胞存活率(以美國錫安山醫學中心為例，細胞存活率須大於70%)、基因穩定性等。檢驗方法大多保有彈性，由於前述提及美國FDA的藥理/毒理部門主任Dr. Mercedes Serabian表示基於幹細胞治療產品之複雜性與獨特性，試驗方法與研究發展須以獨立個案情形管理，故檢驗方法如無菌、鑑別、效價及其他管制項目可由製造廠針對產品特性提出更適合之檢驗方法，惟須提供完善科學研究、分析方法確效與相關佐證資料，並執行相等性試驗以證明該試驗方法足以達到該檢驗項目之目的，可列為替代方法之考量。



(資料來源: Dr. Mercedes Serabian 研討會簡報)

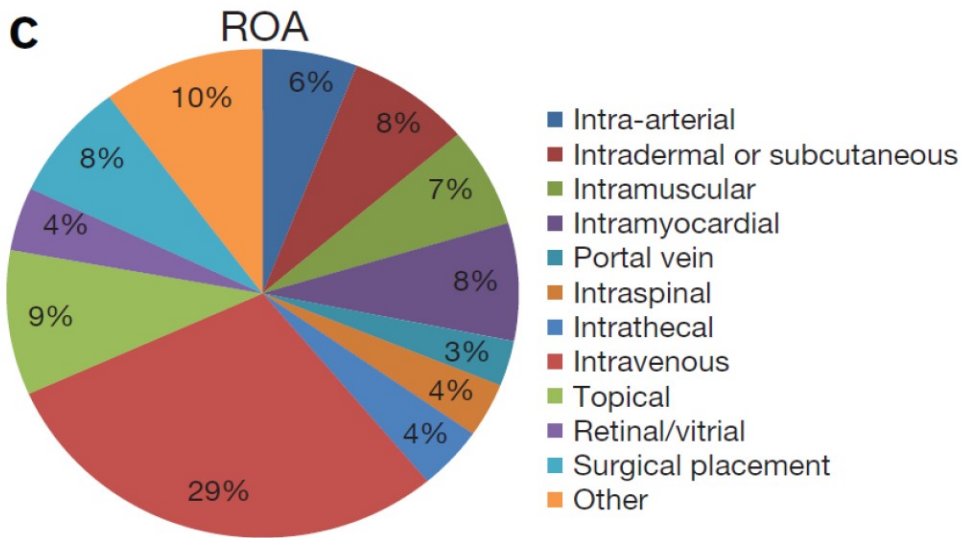
Tissue source	Viruses known to cause malignant transformation of human cells	Organisms known to cause persistent infection of human cells and/or infection in compromised recipients
Reproductive cells: gamete, embryo	Human papillomavirus (HPV)	Human herpes viruses (notably HHV8)
Bone	-	Parvovirus B19, Brucella spp
Tendon and other cartilage structures	-	-
Adipose tissue	-	Adenovirus, T cruzi
Skin	HPV	Adeno-associated virus
Cornea and limbal tissue	Herpes simplex virus 1 (HSV-1)	Adenovirus, chlamydia
Upper respiratory tract: mouth buccal and gingival oral surfaces, teeth etc	Epstein-Barr virus (EBV)	EBV
Lower respiratory tract (trachea, bronchus and lung)	-	Chlamydia psittaci, Pneumocystis spp
Liver (e.g. hepatocytes, Kupffer cells and reticular endothelial cells)	EBV, HSV	Hepatitis viruses A-E, adenovirus, parvovirus B19, Human herpes viruses 6 & 7.
Pancreatic islets	HSV	Enteroviruses, mumps , Varicella-Zoster virus
Spleen	-	Parvovirus B19, measles
Vasculature and placenta	-	Parvovirus B19, human herpes virus 7
Blood and bone marrow	EBV	Parvovirus B19, Coxiella burnetii, Brucella spp
Brain and central nervous system	HSV	Varicella-Zoster, enteroviruses (echovirus, coxsackie A and B viruses), mumps, Brucella spp, measles

圖五、組織來源可能攜帶之潛在病原

(資料來源: Dr. [Ivana Knezevic](#) 研討會簡報)

Route of Administration (ROA)

FDA



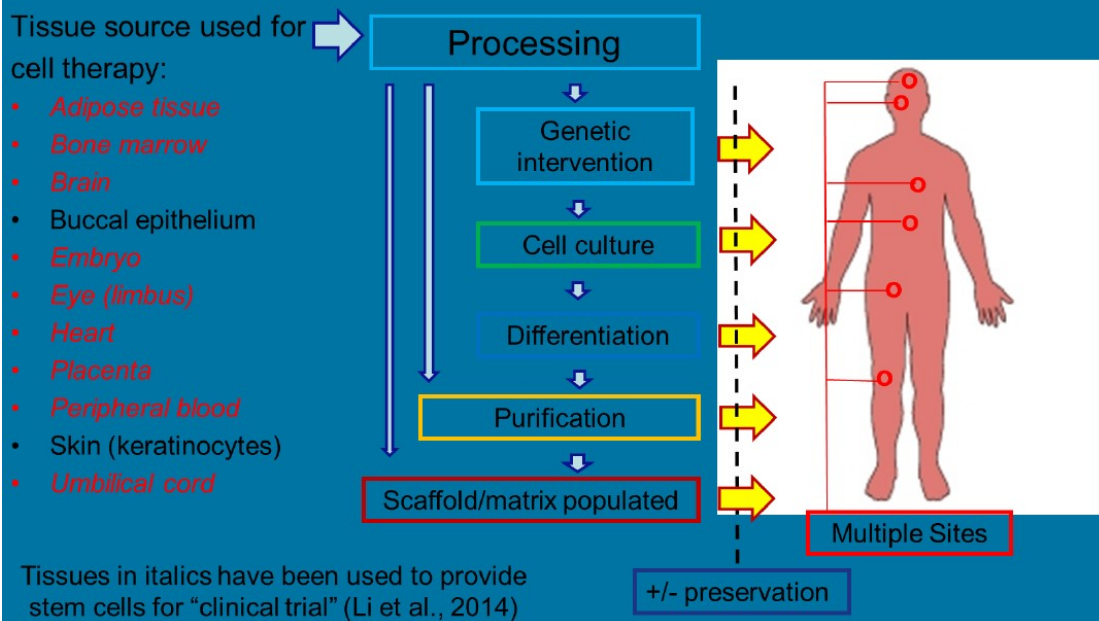
Based on analysis of stem cell-based products under IND, 2006-2013, n=163
AM Bailey et al. *Nature Biotechnology*, 2014, 32(8), 721-723

圖六、藥物投予路徑

(資料來源：Dr. Mercedes Serabian 研討會簡報)

Figure 1. Examples of the numerous elements that may make up a cell therapy manufacturing process

World Health Organization



圖七、細胞治療產品之製程

(資料來源：Dr. Ivana Knezevic 研討會簡報)



Xeno-free iPSCs Testing Items in the Production Process

Raw Material		Intermediate iPSCs	Final iPSC-derived Product
Materials	Testing Item	Testing Item	Testing Item
Fetal Bovine Serum (FBS)	Bovine virus Detection	Normal Karyotype	Cell identity of final product by FACS > XX % of 2 markers
hrLaminin	Adventitious Agent Test	Clearance of episomal plasmids by PCR	< 0.1% Oct 4 (by PCR)
PBMCs	Serology panel for adventitious pathogens	Identity for pluripotent markers (> 80% OCT4 & SSEA4) by FACS	Functional assay (report only)
		Sterility USP	Viability > 70%
		Mycoplasma USP	Sterility USP
		Cell identity (16 human STR loci)	Gram/KOH
			Mycoplasma-MycoAlert
			Mycoplasma USP
			Endotoxin (LAL)

圖八、美國錫安山醫學中心細胞治療產品之製程管制

(資料來源：Clive Svendsen 研討會簡報)

Cell Therapy Lot Release Testing

Test	Test Method	Reference
Sterility	Determined by sponsor [†]	21 CFR 610.12
Mycoplasma	Specified by regulation ^{**}	21 CFR 610.30
Purity (pyrogenicity)	Specified by regulation	21 CFR 610.13
Identity	Determined by sponsor [*]	21 CFR 610.14
Potency	Determined by sponsor [*]	21 CFR 610.10
Others as needed (ex: viability, stability, phenotypes)	Determined by sponsor [*]	Guidance

[†] Recent regulation change allows flexibility in methodology

^{*}To be developed by product manufacturer

^{**} Recommend testing at cell harvest. Refer to 1993 PTC.

40



圖九、美國 FDA 建議細胞治療產品之放行管制

(資料來源：FDA 網站：Keith Wonnacott 演講簡報)

本次研討會中WHO與各國專家均提及品質管制之建議，彙整管制考量重點如下：

- (1) 品質參數與臨床結果之間的關聯性
- (2) 產品一致性(Consistency)
- (3) 細胞治療產品潛在的品質與安全議題
 - a. 鑑別
 - b. 純度
 - c. 外來性病源污染：如黴漿菌
 - d. 宿主細胞DNA殘留
 - e. 基因穩定性(Genetic stability)
 - f. 致癌/瘤性(Tumorigenicity)
 - g. 無菌試驗
 - h. 細菌內毒素試驗
 - i. 效價

依據上述管制項目列舉幾項重點，詳述說明：

(1)外來病原(adventitious agents)

早期指引考量任何哺乳類動物細胞所產製之重組DNA產品均可能有病毒污染之風險，此觀點可以從病毒性疫苗之製造經驗來看，接受者遭到感染後可能傳染給下一位接觸者之後引發一連串感染效應，故一旦發現病毒污染事件須立即處理，以免造成後續嚴重傳染事件。WHO建議以動物細胞作為生物性產品之材料，其細胞庫(如Master cell bank與working cell bank)均須檢測是否有病毒污染，並執行細胞庫特性鑑定與評估：

a. 原料管控：

細胞治療產品於製程源頭如細胞培養階段即應考量原料品質管控之項目，由於細胞培養可能使用到血清/培養基、激素/生長因子、消化

酵素、抗體等相關試劑，若由動物製成之產品需考量其攜帶之潛在病原，例如細胞繼代所使用之消化酵素 Trypsin，通常為豬來源，可能存在豬環狀病毒(porcine circovirus, PCV)；細胞培養所添加作為營養成分之血清，通常為牛來源，可能存在牛海綿狀腦病(Bovine spongiform encephalopathy, BSE)；以 CHO 細胞作為宿主細胞來源製程之基因重組蛋白質，為鼠來源，可能存在小鼠微小病毒等，前述提及 Genentech 可能於製程中使用 CHO 細胞，而發生細胞培養遭受此病原污染之案例，圖十列舉製造廠於製程亦遭受病毒污染而通報 FDA 之案例。若細胞治療產品之細胞或其他原料取自不同捐贈者，亦須執行捐贈者篩檢，檢測是否有 HIV、HBV、HCV 等傳染性病原。病原管制可參考國外相關規範，如歐洲藥典 5.1.7.Viral safety。

- b. 細胞培養應於密閉系統(Closed system)培養。
- c. 製程下游應執行病毒移除/去活化確效。

Table 1. Reported major viral contamination events in biopharmaceutical manufacturing.

Virus	Cell	Year	Company	Reported by
EHDV	CHO	1988	Bioferon GmbH	Bioferon GmbH
MVM	CHO	1993	Genentech	Genentech
MVM	CHO	1994	Genentech	Genentech
Reovirus	Homo 1 Kidney	1999	Abbott Labs	FDA
Reovirus	CHO	Not Disclosed	Not Disclosed	BioReliance
Cache Valley	CHO	1999	Amgen/CMO	Amgen
Cache Valley	CHO	2000	Not Disclosed	BioReliance
Vesivirus 2117	CHO	2003	Boehringer- Ingelheim	Boehringer-Ingelheim
Cache Valley	CHO	2003	Not Disclosed	BioReliance
Cache Valley	CHO	2004	Not Disclosed	BioReliance
Hu Adenovirus	HEK 292	Not Disclosed	Eli Lilly	Eli Lilly
MVM	CHO	2006	Amgen	Amgen
Vesivirus 2117	CHO	2008	Genzyme, Belgium	Genzyme
Vesivirus 2117	CHO	2008	Genzyme, USA	Genzyme
Vesivirus 2117	CHO	2009	Genzyme, USA	Genzyme
MVM	CHO	2009	Merrimack	Merrimack
PCV-1	Vero	2010	GlaxoSmithKline	GlaxoSmithKline

圖十、製造廠於製程遭受病毒污染通報 FDA 之案例

(資料來源：網路查詢-Dr. Stephanie Sutton 報告)

(2)基因穩定性

有鑑於細胞治療產品可能經過基因修飾，須考量其基因穩定性，依照 EMA 指引「Guideline on human cell-based medicinal products」表示若細胞經過基因修飾，其製造與管控應須遵循國際基因治療相關規範，如 EMA 指引「Note for Guidance on the quality, preclinical and clinical aspects of gene transfer medicinal products」、美國藥典<1047> Gene Therapy Products、歐洲藥典 5.14. Gene transfer medicinal products for human use 及 5.2.12. Raw materials of biological origin for the production of cell-based and gene therapy medicinal products 等，Dr. Elwyn Griffiths 亦表示製程上若些微改變均有可能導致產品在臨床表現及安全性之巨大影響。此議題於 1990 年開始被關注，主要係由於當時發現製程中 DNA 序列如有些微變異時，將導致產生之蛋白質有差異，可能阻斷受體或產生非預期的藥理作用，危害病人安全。WHO 提及被選殖基因的 DNA 定序須在主種批(master seed lot)階段執行，除非多種複製基因植入連續細胞株之基因體；歐盟指引則說明重組產品之表現結構編碼定序應在細胞庫(Cell Bank)階段確定，故 Dr. Elwyn Griffiths 於本次研討會呼籲各界於新興先進醫療產品製造時應關注此管制項目。

(3)宿主細胞 DNA 殘留

在細胞治療產品製程中，可能會使用到細胞激素、生長因子、血清等成分，以利細胞生長，然該些成分可能係由 DNA 重組製成之蛋白質，若其被有致癌或感染疑慮之宿主細胞 DNA 污染，將影響細胞治療產品品質。連續細胞系(continuous cell line)如 CHO 細胞，常做為重組 DNA 產品之宿主細胞，因為其可以被執行基因工程且生長快速，然連續細胞系被認為有致癌活性的可能，亟須留意其 DNA 殘留。早在 1987 年 WHO study group on cell substrates 非常重視該項檢驗，其表示製程應有純化步驟來降低或去除宿主 DNA，並將宿主 DNA 容許量納入考量。

(4)致癌/瘤性

前述已提及幹細胞本身雖具有不斷複製再生的能力，但亦具有引發多變及不穩定性之隱憂，Dr. Mercedes Serabian 於本次研討會中表示細胞若趨於不成熟或未分化狀態，其致瘤性比例越高(圖十一)。日本國立衛生研究所(National Institute of Health Sciences, NIHS)之細胞治療產品部門科長 Dr. Yoji Sato 亦表示許多研究指出在製程中變異的細胞(cells transformed)及殘留未分化(residual undifferentiated)之多功能幹細胞(Pluripotent Stem Cell, PSC)可能會形成腫瘤，故此部分一直以來是國際關注之焦點，本次研討會特別獨立講述致瘤性之主題，顯示對此議題之重視。我國依據食藥署於 2015 年 7 月公告之「人類細胞治療產品查驗登記審查準則」亦針對致瘤性進行說明：「當細胞治療產品在體外繼代培養時，可能導致基因的不穩定性，而產生致瘤性。幹細胞治療產品進行細胞擴增或分化時，其分化的效率無法達到百分之百，或純化步驟無法有效移除未分化之細胞，這些未分化的幹細胞或未分化完全的細胞植入體內，有潛在的致瘤性風險。因此細胞經由細胞培養程序或於最終細胞培養代數時，應評估其染色體完整性及致瘤性。」。由此可知，幹細胞治療產品應包含已分化為具有特定功能之細胞，未分化或未分化完全之細胞應將其排除，以免植入人體持續增生變異。Dr. Yoji Sato 表示國際上雖有相關規範說明該檢測項目之重要性，然均未詳述檢測方法之步驟，為使國際上有相關方法供各界參考，日本對此於 2015 年啟動人類再生醫療產品非臨床安全性評估分析方法之多點評價研究(Multisite Evaluation study on Analytical methods for non-clinical Safety assessment of hUman-derived REgenerative Medical Products, MEASURE)計畫，目的係：

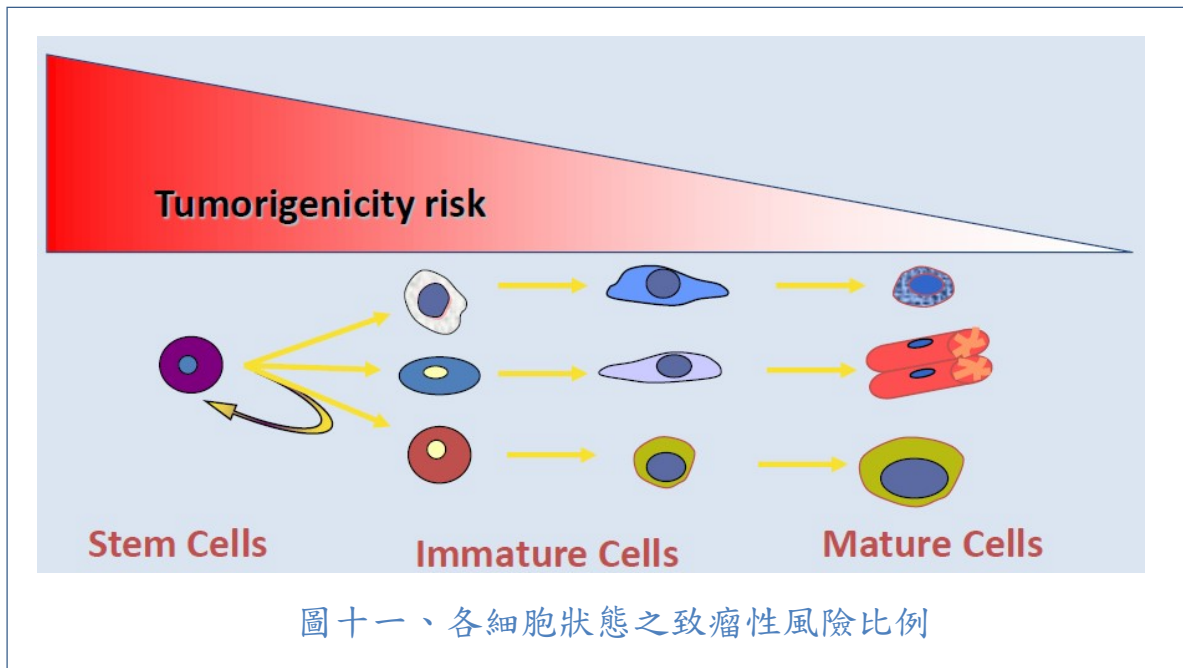
- a. 取得細胞治療產品安全性評估策略之全國性共識。
- b. 開發經確效之致癌性評估方法。

- c. 聯合多個研究機構共同合作，制定經驗證之致瘤性評估方法，並與國際標準保持一致。

Dr. Yoji Sato 說明在 MEASURE 計畫研究致癌基因評估方法分為兩個部分：

- a. 偵測變異的細胞

Soft Agar Colony Formation(SACF) Assay-體外試驗(in vitro)(圖十二)，可偵測細胞治療產品中惡性變異細胞(malignant transformed cells)，傳統方法係將細胞與瓊脂培養基混和後培養於固體瓊脂層與含有細胞所需營養素(如血清、laminin 等胞外基質)之液態培養基之間(圖十三)，細胞培養層之瓊脂培養基具有凝滯性，會使細胞懸浮於培養基中，然除造血系統的細胞以外之正常組織來源細胞均屬貼附依賴性細胞(anchorage-dependent cells)，需要附著於固體受質才能生長，因此雖液態培養基之營養物可經滲透作用擴散至細胞培養層使細胞獲得所需營養而存活，然懸浮之正常細胞因無法貼附固態受質以致無法增生，而變異細胞具有非貼附性生長(anchorage-independent growth)之特性，不須貼附即可自行增生，故細胞培養層中若發現具有群聚之細胞團，則可能具有變異、致癌風險之細胞存在。Hela 細胞在此作為陽性對照，由於其源自於子宮頸癌細胞之細胞株，具有腫瘤形成之潛能，以 Hela 細胞添加(spike)至正常細胞液中，並以定量細胞 DNA 的方式測定傳統方法檢驗結果，結果顯示測定靈敏度為 0.02%。為提高檢測方法之靈敏度，研究團隊將此方法進行改良，將細胞培養系統改以 96 孔盤模式培養，以提高培養數量，並將 Hela 細胞事先以螢光標記，再添加進細胞液體中，以數位化影像分析系統大幅提升靈敏度至 0.00001%(圖十四)。



(資料來源：Dr. Mercedes Serabian 研討會簡報)

Soft Agar Colony Formation (SACF) Assay

Example 1

A well-known *in vitro* assay for the detection of malignant transformed cells.

Assays/ Platform	Conventional soft agar colony formation	Digital soft agar colony formation
Positive control	HeLa cells	HeLa cells
Duration	3 to 4 weeks	3 to 4 weeks
Assay principle	Conventional SACF assay based on anchorage-independent cell growth	Image-based screening system for the SACF assay using a high-content cell analyzer
Pros	Low cost	High sensitivity
Cons	Low sensitivity	High cost (needs image scanner)
Sensitivity	0.02% (1 HeLa/5E+3 hMSCs)	0.00001% (1 HeLa/1E+7 hMSCs)
Reference	Kusakawa et al., Regen Ther. 2015	Kusakawa et al., Sci Rep. 2015

Soft Agar Colony Formation

Referred from Kusakawa et al., Sci Rep. 2015

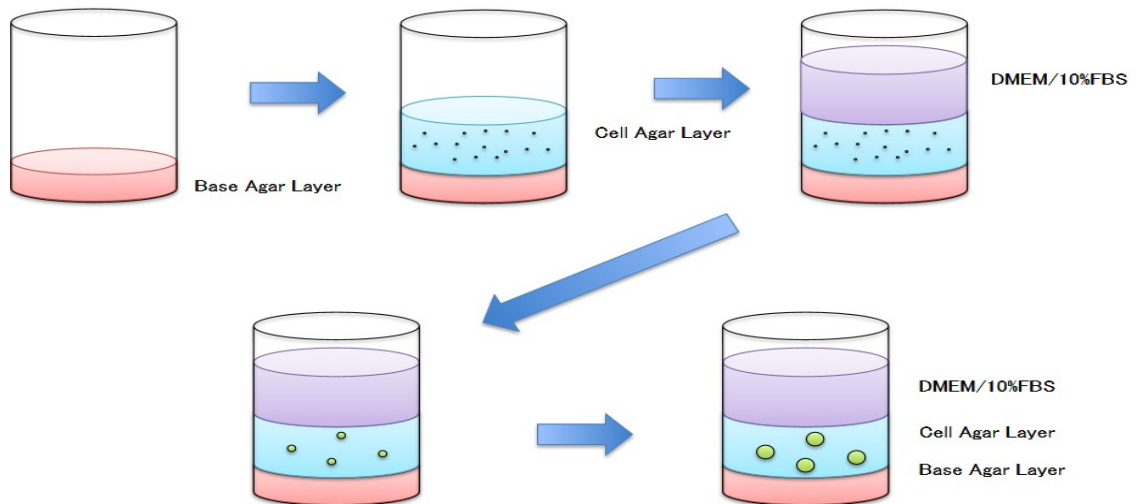
- ✓ The higher sensitivity would be needed for quality control of CTPs.
- ✓ The Digital SACF assay is highly sensitive, but has not been widely used yet.

© Forum for Innovative Regenerative Medicine

圖十二、Soft Agar Colony Formation (SACF) Assay

(資料來源：Dr. Yoji Sato 研討會簡報)

Soft Agar Colony Formation Assay

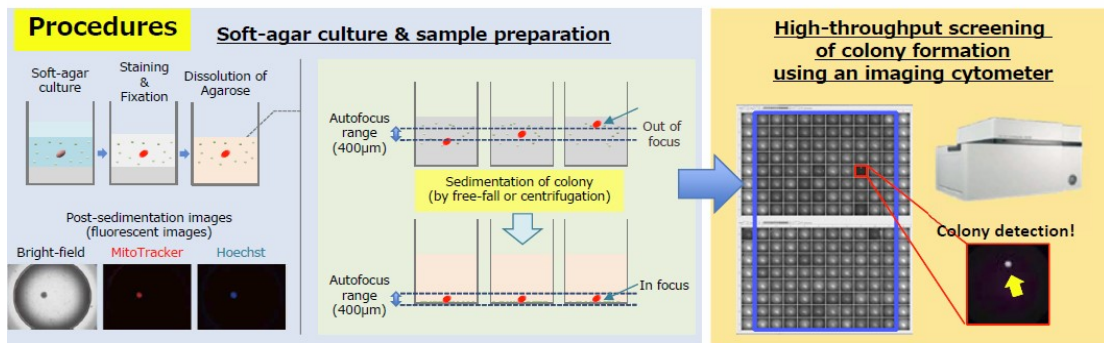
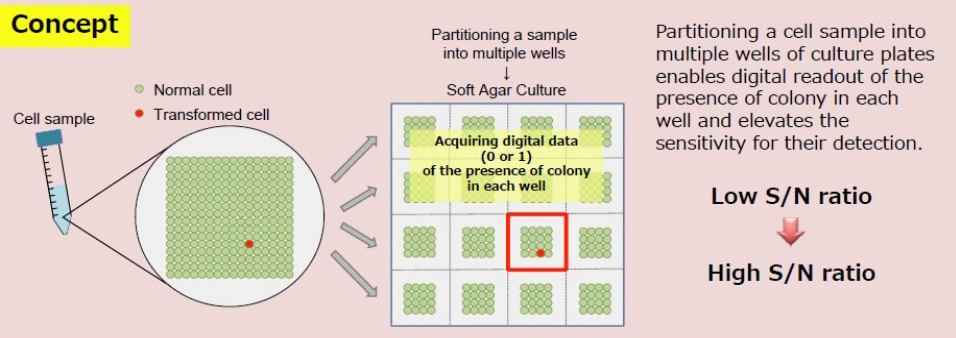


圖十三、傳統 SACF 方法之步驟

(資料來源：網路查詢-Dr. Yoji Sato 演講簡報)

The Digital soft-agar colony formation Concept & Procedures

Example 1



圖十四、改良式 SACF 方法之步驟

(資料來源：Dr. Yoji Sato 研討會簡報)

b. 偵測殘留未分化之多功能幹細胞

研究顯示(Dr. Hentze 等人)僅需數百個未分化之多功能幹細胞足以讓免疫缺陷的小鼠產生腫瘤，亦有研究指出未分化之多功能幹細胞可能會導致異位組織生成或形成惡性轉化細胞等，有鑑於此，亟須針對細胞治療產品中微量未分化之多功能幹細胞進行品質管控，以避免危害病人健康。Dr. Yoji Sato 表示研究團隊曾運用前述介紹之 SACF 偵測殘留未分化之人類誘導型多功能幹細胞(human induced pluripotent stem cells, hiPSCs)，然實驗結果顯示單一人類誘導型多功能幹細胞不能在瓊脂培養基中增殖，可能係因人類多功能幹細胞在分離成單個細胞時會發生凋亡，且利用細胞凋亡抑制劑(the ROCK inhibitor Y-27632)亦無法改善此現象，顯示 SACF 不適合於在單細胞懸浮液中檢測未分化的人類誘導型多功能幹細胞。對此，研究團隊建立 Highly efficient culture assay-體外試驗(in vitro)(圖十五)，係添加細胞生長所需之胞外基質等多種營養成分至培養基，建立適合多功能幹細胞生長之培養系統，並以人類誘導型多功能幹細胞作為陽性對照添加至一般細胞液體中，使用螢光標記來偵測人類誘導型多功能幹細胞之表面抗原 TRA-1-60，由實驗結果顯示螢光染色之細胞具有聚集增生的情形，即未分化之多功能幹細胞。

Highly efficient culture assay

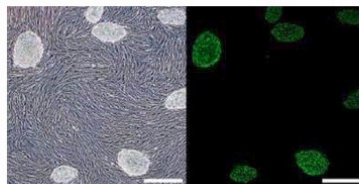
Example 2

detects **residual undifferentiated pluripotent stem cells (PSCs)** in cell therapy products using highly efficient culture system which favors the growth of PSCs

Assays/ Platform	Highly efficient culture assay
Positive control	iPS cells <i>etc</i>
Duration	about a week
Marker	TRA-1-60 <i>etc</i>
Pros	Direct detection, High sensitivity
Cons	Time-consuming, Low throughput
Sensitivity	0.01-0.001%
Reference	Tano et al., PLoS ONE. 2014 Garitaonandia et al., Scientific Reports. 2016

This assay ...

- ✓ is able to directly detect a trace amount of undifferentiated PSCs by measuring the number of colonies originated from a single PSC.



Referred from Tano et al., PLoS ONE. 2014

- ✓ is highly sensitive, and has a potential to become more sensitive by improving culture system /colony detection method.

© Forum for Innovative Regenerative Medicine

圖十五、Highly efficient culture assay

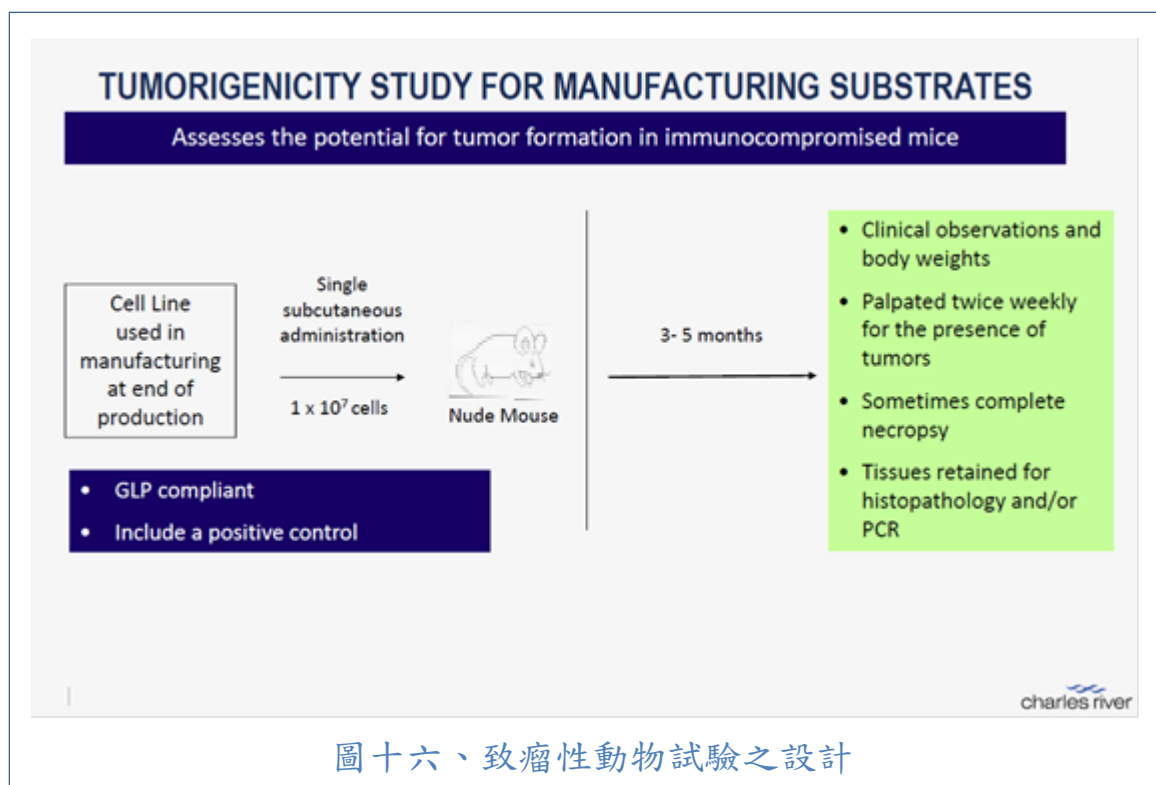
(資料來源：Dr. Yoji Sato 研討會簡報)

本次研討會中 Dr. Mercedes Serabian 及美國製藥集團查爾斯河實驗室 (Charles River) Dr. Shawna M. Jackman 等專家亦講述致瘤性於臨床前評估試驗之要素：

- 細胞治療產品之細胞株背景調查：調查細胞株是否有致癌/瘤特性或潛在致癌/瘤特性之相關文獻。
- 動物實驗設計：(圖十六、十七)
 - 適當之動物數量：動物數量應使試驗數據具有統計上意義，並盡可能符合國際 3Rs 精神(依據 WHO 之建議應每隻裸鼠應注射 10^7 個細胞，並注射 10 隻)
 - 適當之對照控制組：如陽性對照組(依據 WHO 之建議如 HeLa 細胞)、試劑對照組等
 - 足夠觀察時間：依據細胞幹性(stemness，即分化成成體細胞的

能力)設計試驗足夠觀察時間(通常至 3-6 個月)，觀察動物是否有長腫瘤的現象，並每周至少一次以觸診方式檢查腫瘤生長狀況(依據 WHO 之建議應觀察 16 周)

- 動物解剖觀察：在細胞治療產品輸送之目的位置與其他部位是否有腫瘤生長及腫瘤大小等情形
- 依據實際實驗狀況優化試驗條件與過程



圖十六、致瘤性動物試驗之設計

(資料來源：Dr. Shawna M. Jackman 研討會簡報)

- **WHO** “Requirements for the use of animal cells as *in vitro* substrates for the production of biologicals” in WHO Expert Committee on Biological Standardization, 47th Report (1998) technical report series number 878, **TRS 878**

W/ Proposed replacement of TRS 878, Annex 1”(2010)



- 1. Administrate 10^7 cells to 10 nude mice,**
- 2. Observe for 16 weeks, and**
- 3. Compare with a suitable positive control reference (e.g., HeLa cells)**

圖十七、WHO 針對致瘤性動物試驗之建議

(資料來源：網路查詢-Dr. Yoji Sato 演講簡報)

Dr. Yoji Sato 提出設計試驗方法之重點：

- a. 將未分化之多功能幹細胞添加到非多功能幹細胞的產品進行測定
- b. 選用的培養基應傾向適合多功能幹細胞的生長
- c. 選定適合之指標(marker)標定多功能幹細胞，並進行分析(如 image analyzer)
- d. 評估外加未分化多功能幹細胞之儀器偵測靈敏度/再現性
- e. 作為陽性對照組應具備之特性:
 - 須能模仿致癌特性細胞(達到臨床意義)
 - 易取得及使用
 - 易於品質管控(具有良好再現性及一致性，並能確保操作員安全性)

此外，於本次研討會中，法國生技公司Cellestis之專家Dr. Shirley Bartido亦提及目前用於癌症治療之熱門產品「CAR-T」之品質管制項目，由於該類

產品為T細胞之基因治療產品，經過基因編輯修飾過程，其品質管制項目除須執行如同幹細胞治療產品之捐贈者篩選、外來性病原檢測、鑑別、純度、無菌試驗、效價等項目，亦須針對基因編輯修飾部分加以檢測，因基因修飾可能具有下列風險：

- (1) 染色體易位(chromosome translocation)：係非同源染色體片段重新排列組合之染色體異常現象。
- (2) 脫靶效應(On-target/off-tumor)：部分正常細胞上亦表現出與腫瘤細胞相同之抗原，以致CAR-T辨識錯誤，進而攻擊正常細胞，造成正常細胞損傷。
- (3) 免疫原性(Immunogenicity)：外加基因片段至T細胞中，可能產生非必要之蛋白質，人體免疫系統將其辨識為抗原，進而產生免疫反應。

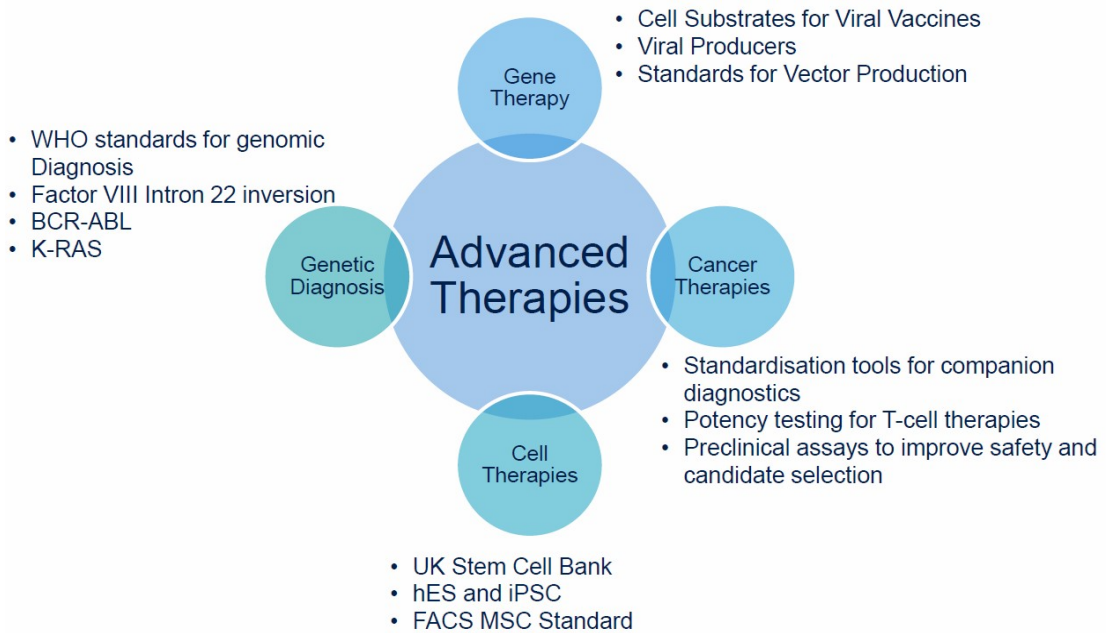
故管制項目須加強基因編輯及病毒載體(Vector)之安全性(可能有致癌/瘤性之風險、染色體完整性等。許多研究學者亦持續將該類產品進行改良，以減少危害風險或副作用，如於T細胞內加入自殺基因，以調節CAR-T之活性，避免其過度活化；增強CAR之特異性，使CAR-T僅針對癌細胞之抗原進行辨識，不攻擊正常細胞；加上其他輔助治療產品以增強藥物治療能力，如結合免疫檢查點抑制劑，以減少癌細胞利用免疫檢查點抑制T細胞活性，而躲避T細胞攻擊。

(二)國際細胞庫/標準品

生物性產品之活性、效價等品質檢驗須賴以生物檢驗法測定，由於生物性產品複雜，其檢驗方法亦相較於一般化學藥品繁複，以致其測試結果常有變化，為使檢驗方法達一致性試驗結果，須有國際客觀且共通性之對照標準品來進行驗證與校正，然細胞治療產品之品質檢驗所面臨的困境即無適當之對照標準品。英國NIBSC 專家 Dr. Orla O'Shea 表示在建立新興先進醫療產品過程從研究、方法驗證、確效至方法實際應用於產品檢驗，須有細胞標準品及經確效之檢驗方法，顯

示對照標準品之重要性。NIBSC 負責製造與供應全球 WHO 之國際標準品與參考物質，包含生物製劑、體外診斷試劑及疫苗等類別之標準品，超過 95%之標準品係由 NIBSC 供應，其中英國幹細胞庫(UK Stem cell Bank)即作為細胞治療產品等新興先進醫療產品之標準品。英國幹細胞庫協助英國管理國內幹細胞之品質，作為新興先進醫療產品品質管制之基礎。NIBSC 內部設有新興先進醫療部門，負責基因治療、癌症治療、基因診斷及細胞治療之標準品與相關檢測方法之研究與建立，其中細胞治療部分主要負責建立英國幹細胞庫(圖十八)，如人類胚胎幹細胞(Human Embryos Stem Cell, HESC)、誘導型多功能幹細胞(Induced pluripotent stem cell, iPSC)，或以流式細胞分選儀(Fluorescence Activated Cell Sorter, FACS)建立間質幹細胞(Mesenchymal Stem Cell, MSC)之標準等，目前英國幹細胞庫共研發 139 個幹細胞株，目的係供業界作為研究起始材料，或供作檢測方法與相關規範之對照標準。建立標準品亦須經過品質管控機制，如同前述所介紹細胞治療產品執行的檢測內容，標準品亦須執行系統性管理，如細胞病原檢測、表現型基因型之鑑定、純度、鑑別、安定性、幹性、高階品質管理(Advanced QC)等，以建立品質優良之細胞庫(圖十九)。Dr. Orla O'Shea 舉例品質檢驗方式如以流式細胞分選儀鑑定間質幹細胞，間質幹細胞之表面具有特定表面抗原如 CD105、CD73 及 CD90，但缺乏造血幹細胞之表面抗原，如 CD45、CD34、CD11b、CD19 及 HLA-DR(圖二十)。此外，有鑑於細胞治療產品係由細胞培養並經多種生物程序、修飾純化等過程製成之活細胞，其製程源頭-細胞庫的管理關乎該類產品之品質，因此如何建立完善細胞庫亦為國際關注一大課題。日本製造廠 HEALIOS 的專家 Dr. Hironobu Kimura 分享該公司在建立種細胞庫(master cell bank)時亦執行多項檢驗(圖二十一)，如同前述提及幹細胞具有特定表面抗原，該公司制定 SSEA、Tra-1-60、Tra-1-81、Oct3/4 等指標表現須至少 70%，而 CD34 不得超過 15%等，亦制定其他多項檢測項目之允收標準，其能替後續建立細胞治療產品時，多一層把關。

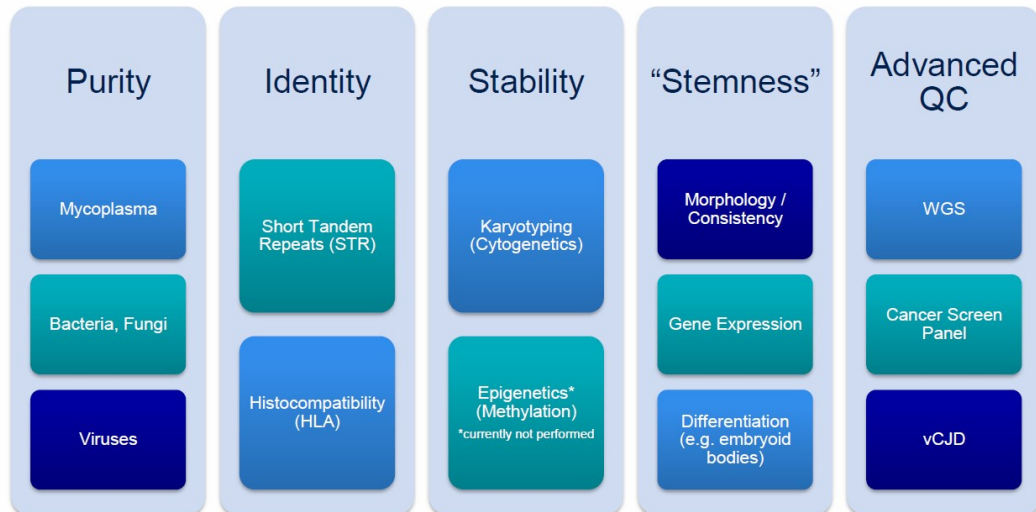
Division of Advanced Therapies, National Institute of Biological Standards (NIBSC)



圖十八、NIBSC 新興先進醫療部門介紹

(資料來源：Dr. Orla O'Shea 研討會簡報)

Stem Cell Testing and Characterisation



Mandatory and information QC tests for the release of a cell line to ensure consistency between each cell bank and with the Depositor's material.

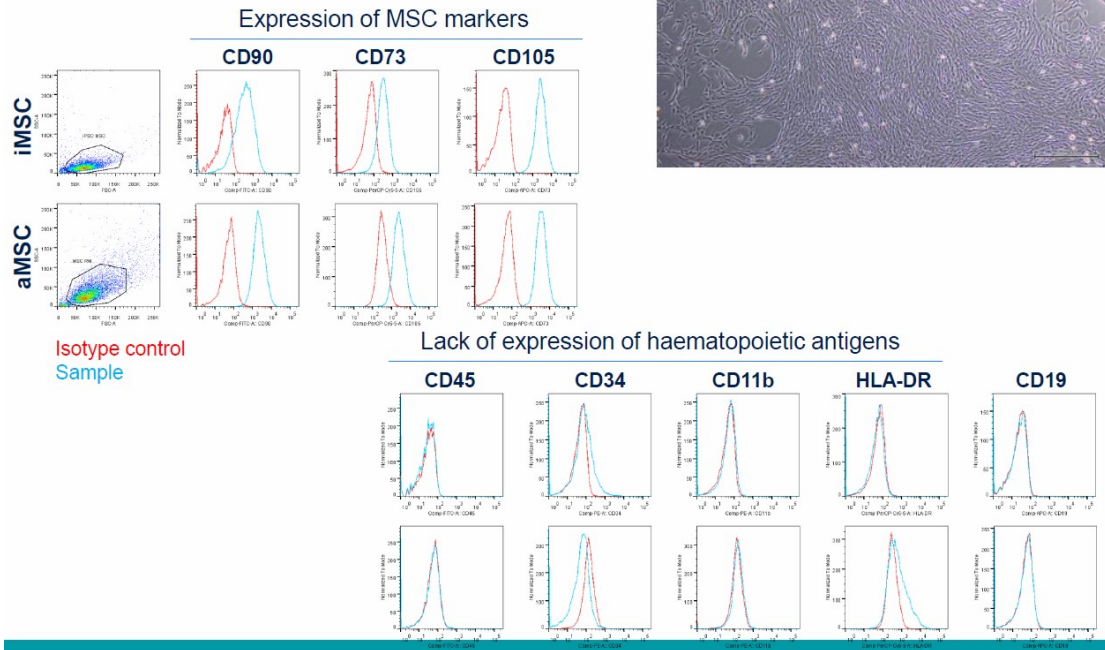
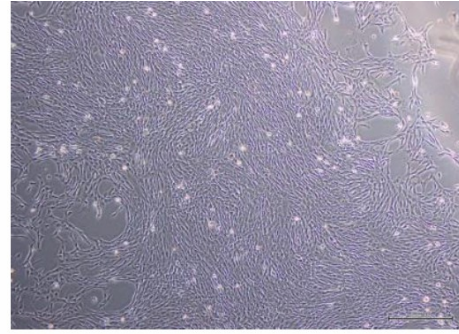
The UKSCB continuously evaluates and improves its QC testing procedures.

7 The UKSCB has a thorough and up-to-date quality control procedure, in order to assess the purity, identity, stability and stemness potential of the cells

圖十九、NIBSC 細胞庫品質管制項目

34
(資料來源：Dr. Orla O'Shea 研討會簡報)

PSC-derived MSC standard



圖二十、以流式細胞分選儀鑑定間質幹細胞

(資料來源：Dr. Orla O'Shea 研討會簡報)

Master Cell Bank Release criteria



Assay	Purpose	Release Criteria
1. Flow cytometry panel of pluripotency markers	Identity	SSEA-4≥70%, Tra-1-60≥70%, Tra-1-81≥70%, Oct3/4≥70%, CD34 ≤ 15%
2. Karyology Species of Origin - Karyotype	Safety	Pass: Human Pass: Normal
3. Mycoplasma USP<63>	Safety	Negative
4. Sterility USP<71>	Safety	Negative
5. Endotoxin	Safety	≤ 5.00 EU/mL
6. Vector Clearance	Safety	No trace of exogenous DNA integration detected (confirm during expansion)
7. Viral Testing	Safety	Not Detected
8. Certificate of Analysis Detection of 14 Viruses by RT-PCR Assays (Human Panel 1)	Safety	Not Detected
9. Short Tandem Repeat (STR) Genotyping	Purity and Identity	STR Profile of starting population and iPSC line are identical
10. Viable cell concentration by Nucleocounter	Cell count	≥ 1.0×10 ⁶ cells/mL
11. Post thaw viability by Nucleocounter	Viability	% viability ≥ 50%
12. Alkaline Phosphatase Analysis	Identity	For Information Only Report Results (No. of colonies)
13. Germ Layer Formation by RT-PCR Ectoderm Markers (Pax6, SHH) Mesoderm Markers (Hand1, Col2A1) Endoderm Markers (AFP, CDX2) Pluripotency Markers (Pou5f1, Nanog)	Identity	For Information Only Report Results
14. Germ Layer Formation by IF Ectoderm (βIII-tubulin), Mesoderm (Smooth Muscle Actin), Endoderm (α-fetoprotein)	Identity	For Information Only Report Results

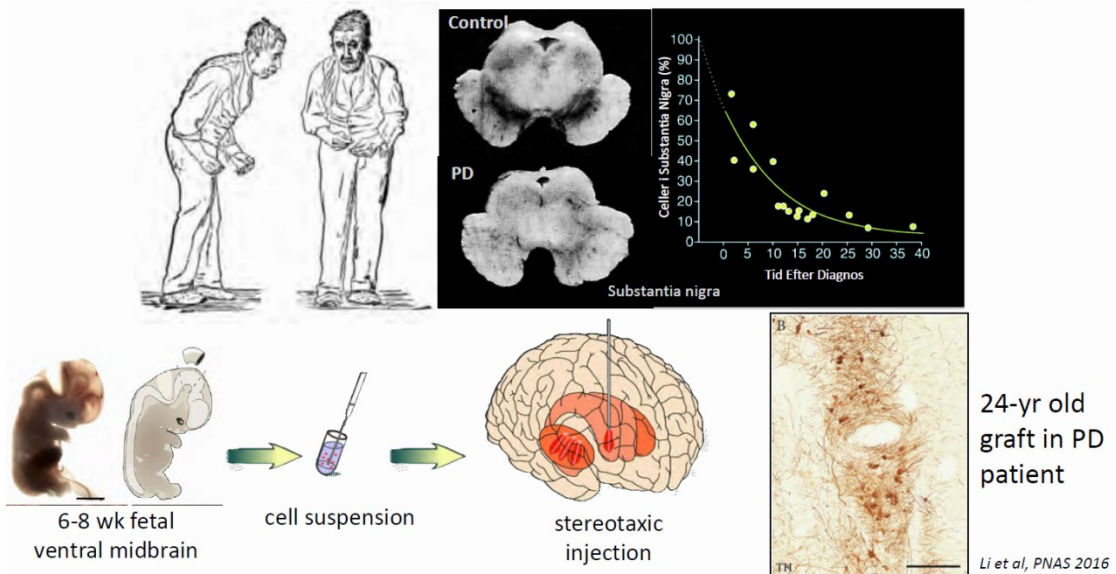
Copyright © HEALIOS K.K. All rights reserved.

圖二十一、日本製造廠 HEALIOS 建立種細胞庫(master cell bank)之管制項目

(三)細胞治療產品之應用

目前於國際核准上市之細胞治療產品數量不多，其中美國 16 件，歐洲上市約 10 件，而醫學上仍有許多難以治療之疾病如帕金森氏症、阿茲海默症或其他神經退化疾病、癌症等，研究學者可望應用細胞治療產品之再生及多樣分化能力來治療該些疾病。本次研討會有許多學者分享幹細胞產品應用於臨床治療的案內或相關研究，如治療脊髓創傷、肌萎縮性脊髓側索硬化症(又稱漸凍人症 Lou Gehrig's disease)、黃斑部退化等，以「細胞治療應用於帕金森氏症治療」舉例說明：來自哥本哈根大學的 Dr. Agnete Kirkeby 表示帕金森氏症病患係因中腦黑質組織不明原因退化死亡，導致患者腦區的多巴胺(Dopamine, DA)分泌不足，造成運動功能障礙。本研究係以人類流產之 6-8 周胚胎，取其腹側中腦(ventral midbrain)細胞製成細胞治療產品後，植入患有帕金森症病患之黑質，達到修復該器官功能之目的(圖二十二)。由於人類胚胎幹細胞(Human Embryonic stem cell, hESC)屬多功能幹細胞一種，亦為熱門研究對象，然其有破壞胚胎之道德倫理議題而備受爭議，不過目前在丹麥等歐洲國家允許人類胚胎幹細胞之研究。Dr. Agnete Kirkeby 於 2012 年即研究利用人類胚胎幹細胞可培養分化為具分泌多巴胺功能之中腦神經，植入以大鼠中腦受損模擬之動物模式，以利恢復 DA 神經傳導，改善受損動物之運動功能潛能，研究結果顯示移植多巴胺神經元，可重新取代原有失去功能之黑質，恢復多巴胺釋放，具有治療之潛能(圖二十三)。這項產品之後通過一系列品質檢測，如以動物試驗檢測 hESC 是否有致瘤性、以流式細胞儀偵測 hESCs 表面抗原 OCT3/4、以細胞染色偵測 hESC 之細胞存活率等，並以 GMP 規格量產，經 QC 試驗，目前執行各批次間臨床試驗(圖二十四)。

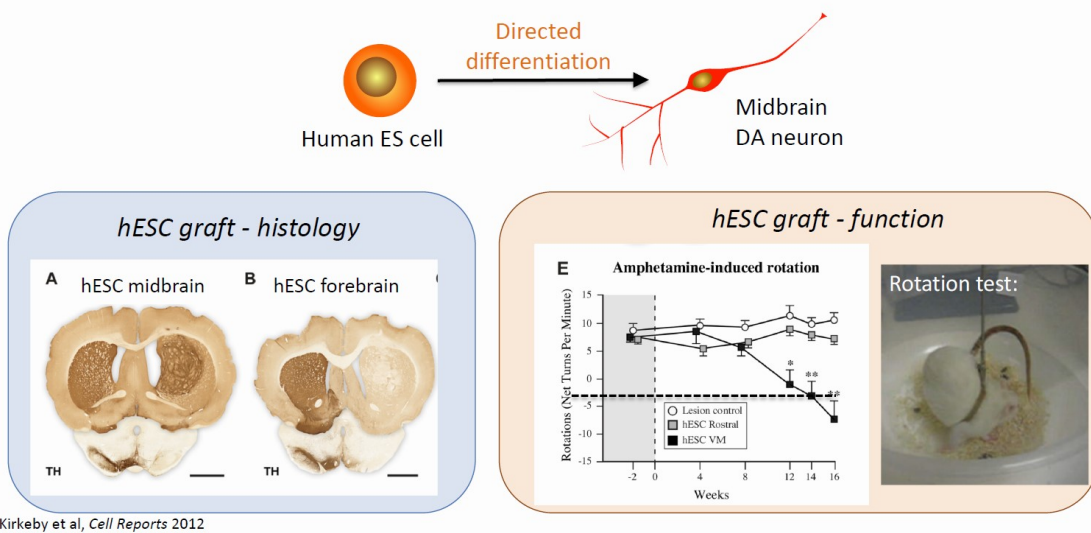
Cell therapy for Parkinson's Disease



圖二十二、細胞治療應用於帕金森氏症治療

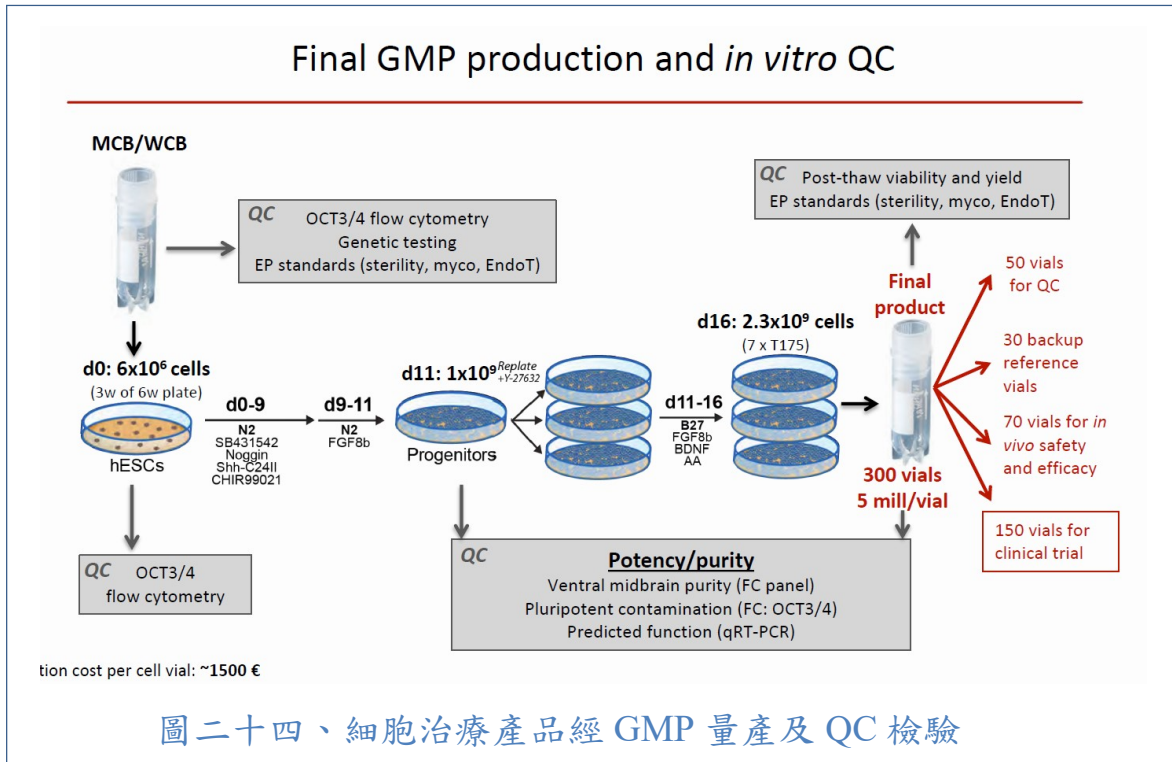
(資料來源：Dr. Agnete Kirkeby 研討會簡報)

Midbrain-patterned hESCs improve motor function in a rat model of PD



圖二十三、以人類胚胎幹細胞治療帕金森氏症之研究

(資料來源：Dr. Agnete Kirkeby 研討會簡報)



(資料來源：Dr. Agnete Kirkeby 研討會簡報)

肆、心得與建議

藉由本次研討會可汲取許多來自 IABS、WHO、美國 FDA、各國製造廠及研究機構等國際間細胞治療產品品質管理之相關建議、實務經驗與規範，內容詳述由製程至產品每一個環節之管制項目及可能遭遇之風險，提升各界對該類產品品質管理之重視，尤其致癌性項目關乎民眾生命安全，於此研討會中特別將其獨立為一個主題報告，顯示致癌性為國際十分關注之議題，這些管制的最終目的無疑係為保障民眾用藥安全。此外，在研討會中 WHO 與 IABS 均鼓勵各界互相交流，由於細胞治療產品係新興先進醫療產品，多位專家均分享其研究過程與成果，引起會中熱烈討論，因此不論是各國之間或是主管機關與製造廠之間，均須持續相互學習，以推動細胞治療產業之發展。本次所學可作為本署因應未來相關產品上市建立檢驗方法與制定技術規範之重要參考資料，期能完善該類產品品質評估體系。以下列舉幾項建議作為本次研討會回饋及提供本署參考之方向：

1. 導入國際產品品質管制之概念，因應我國未來上市產品品質管理

目前我國已針對細胞治療產品制定相關法規、基準與指引草案，為因應我國未來上市產品品質管理，應將本次所學作為該類產品品質管控之參考，如

WHO 與 IABS 等國際機構於研討會中提及細胞治療產品之品質管制觀點：保留管制規範之彈性、以個案管理、以過往經驗推動新興技術發展及持續參與國際活動取得建議等，並強調應著重完整科學研究及相關資料佐證，亦詳述由製程至產品每一個環節之管制項目及可能遭遇之風險。此部分可應用於我國相關規範之編修訂，並隨時因應國際趨勢與相關規範持續建立指引，匯集我國各產業學界之意見，完善我國新興先進醫療產品品質規範與國際接軌。

2. 精進國家實驗室專業知能與國際接軌

有鑑於細胞治療產品等新興先進醫療產品之複雜性與獨特性，第 16 屆 ICDRA 建議各界應積極建立該類產品之專業知能，以了解其特性，促進該類產品之研發與品質管控，對此我國應持續因應國際趨勢，蒐集並掌握國際規範與最新資訊，且本次研討會亦提及各國應促進主管機關與產官學界間檢驗技術與新興科技研發之交流，以討論與協和相關規範。本署執掌國內生物製劑品質安全管理業務，應積極了解國內生技產業之脈動，以利相關檢驗技術與品質規範之制定，雖我國目前尚未核准任何細胞治療產品上市，然隨科技進展神速，為因應未來相關產品可能陸續上市，應積極辦理交流討論會或教育訓練，邀請國內各界相關領域之專家講述研究發展與檢驗技術之實務經驗或派員參與相關研習課程，了解國內生技產業發展動向，有助於提升我國國家實驗室專業知識與國際接軌。

3. 持續派員參與國際活動，促進我國與國際交流

本次研討會建議各國主管機關應互相分享產品品質管理實務經驗，並鼓勵相互合作與資源分享，共同提升新興科技產業發展。第 68 次 WHO 專家委員會亦建議 WHO 在未來相關活動中應包含細胞治療產品相關主題，並提供相關指引規範供各界參考，提升各國產品品質管理能力，保障民眾避免遭受不法細胞治療產品之危害。有鑑於國際會議均呼籲各國應積極參與相關活動，我國須持續派員參與，以增進我國與國際交流之機會，並有助於促進我國新興生技產業發展與國際接軌。

伍、附錄

