



# 製程中使用生物性原料之研發策略 指導原則

第一版

中華民國 109 年 11 月 10 日

財團法人醫藥品查驗中心 著

## 目錄 (Table of Contents)

1	介紹.....	1
1.1	指導原則之目標.....	1
1.2	背景.....	1
2	製程中使用之生物性原料於化學製造與管制 (CMC)之考量 .....	3
2.1	生物性原料風險分類之考量.....	4
2.2	生物性原料驗證之考量.....	9
2.2.1	生物性原料之來源及其生物安全性管控.....	10
2.2.2	生物性原料之品質特性.....	13
2.3	評估生物性原料之殘留量與移除之考量.....	16
3	參考文獻.....	18
4	字彙.....	20

本指導原則係參考美國藥典細胞治療、基因治療、組織工程醫療產品之生物性原料<sup>1</sup>與相關議題之文章<sup>2-5</sup>，亦代表醫藥品查驗中心 (Center for Drug Evaluation, CDE) 對此議題的當前想法。如果未來有相關的科學證據，則會進一步修訂此指導原則。此外，本指導原則不具任何約束力，凡涉及政策方向及法規解釋與適用，仍應依衛生主管機關之指示為準。

若對此指導原則有任何疑問，歡迎來信至 [feedbackbox@cde.org.tw](mailto:feedbackbox@cde.org.tw)

## 1 介紹

### 1.1 指導原則之目標

生物性原料 (raw materials of biological origin) 已被廣泛地用於生產包含細胞治療、基因治療、與組織工程... 等再生醫療製劑。原料製造供應商雖有責任驗證生物性原料之品質；然而，確認所用的生物性原料在品質上是否符合其特定使用目的，最終仍係原料使用者之責任。有鑑於國內尚未針對生物性原料發佈相關指引，故制定本考量重點，期能提供生物性原料使用者於研發階段策略導向之參考，並闡述法規考量。

### 1.2 背景

生物性原料除應用於一般生物製劑的生產製造過程之外，亦被廣泛地用來生產再生醫療製劑。這些生物性原料種類繁多，包括質體/載體、源自血漿或血清的產品、生物萃取物、經由重組 DNA 技術製造之蛋白質，例如：生長因子/細胞激素、抗體、毒素、與酵素等。即便它們之中某些類別的詳細作用機制目前尚未完全了解，但是這些生物性原料已被應用於相關生物製劑的生產製造過程當中，例如，用以確保特定生產細胞得以存活或促進其生長之生物性原料。最典型的例子包括胎牛血清 (Fetal Bovine Serum, FBS) 以及一些培養基補充物，另也包含經過高度純化的霍亂毒素。這些生物性原料是基於特定的生物化學效果而被納入產品的製程之中，儘管可於後續製程步驟中移除，然考量在製程中導入外來病原或毒性雜質等潛在風險，可能危及生物製劑之安全性、效能與品質一致性。因此，實有必要謹慎面對製程中使用的生物性原料。

為了能夠有效地管理 (management) 和管制 (control) 製程中使用之生物性原料，原料使用者需要先清楚瞭解製程中使用生物性原料品質上的改變，對於最終的生物製劑或再生醫療製劑會造成什麼衝擊；特別是生物性原料品質的變化對於穩定性、安全性、效價、與純度等產品屬性所造成的影響。關於這部分，可就以下幾個面向來進行考量。首先，面對各式各樣的生物性原料，它們究竟是透過什麼樣的機制發揮其作用，我們有時並不是那麼清楚地瞭解，自然地也就不清楚這些生物性原料的改變對於最終療效成分安全性與其他品質屬性之影響；因此使用者應盡可能地去研究瞭解這些生物性原料於產品製程中之作用機制，如此才有辦法進行完整的影響評估。另一方面，由於其源頭來自於人類或動物的關係，生物性原料具有散播傳染性疾病的風險，例如：傳播 TSE/BSE 及其他病毒、細菌、與支原體...等病原。所以使用者應就生物性原料之來源器官/組織(液)與物種、各項潛在的病毒污染源，包含生物性原料來源的潛在傳染疾病與來自生物性原料生產製造過程病毒污染等因素進行綜合考量，提供相關生物性原料之病毒安全性風險評估 (risk assessment with respect to viral safety for raw materials of biological origin) 與無傳染性海綿狀腦病/牛海綿狀腦病 (TSE/BSE)之安全聲明。使用者可藉由評估生物性原料之來源管理與管控、產品製程病毒移除/去活化能力測試、以及適當生產階段測試病毒污染等適當補充措施，確保製程中所使用生物性原料之安全性無虞。相關病毒安全性評估與防範，亦可參考 ICH Q5A<sup>3</sup> 與歐洲藥典 5.1.7 章節之內容<sup>5</sup>。此外，還有一些生物性原料是一旦跟人體接觸之後會激發免疫反應或毒性反應；若在製程中導入這類型的生物性原料，卻未能在後續產品製程中將之排除乾淨，這不僅會令病患暴露於有毒害物質的風險中，也可能會降低產品療效成分的效力。

上述這些生物性原料品質與安全性的風險在細胞治療、基因治療、組織工程之再生醫療製劑中往往特別高，主要受限於再生醫療製劑難以進行詳細的製程測試與放行測試 (in-process and release tests)。舉例而言，再生醫療製劑之製程無法暫停或生命週期較短等特質，迫使再生醫療製劑於製程測試或最終放行測試的結果出爐前即須先行使用。另外，還有一些情形是缺乏足夠合適的捐贈者組織或是運送生物原料的複雜性等限制，造成可供進行測試的組織數量受限。因此，若要將以上風險降至最低，生物性原料使用者應盡可能實施嚴格的原料品質驗證，審慎控制產品生產程序。

再生醫療製劑的製程常常牽涉到複雜的生物學程序，而其中所用的生物性原料之所以被選上主要都是著眼於其特殊的功能或生物學效果。可能的話，使用者應該盡量選擇有通過審核或中央衛生主管機關核准上市之藥物作為生物性原料，因為它們的性質已經經過妥善驗證，有完整的毒性資料，而且生產程序有經過適當的控制與紀錄。反之，生物性原料有可能只是「限研究用」或「限體外試驗使用」等級，亦即這些原料既未經過控制亦未經過鑑別測試...等醫療產品所應經過的驗證程序。以上兩種情況中，再生醫療製劑廠商都應該發展完善且合乎科學的驗證方案，來確保所用的生物性原料純淨且具可回溯性、一致性、穩定性與安全性。若生物性原料本身即是核准上市之藥物，則須提供的資料不必像研究用等級的原料那般詳盡，但一旦欲將之用於非預設用途或標籤上並未標示的用途時，是否適用相關製程仍須經過驗證。

本指導原則目的在於提供製程中使用生物性原料之廠商指引，特別是再生醫療製劑廠商，在選擇與評估生物性原料時須考量的重點，以利國內再生醫療製劑領域之長遠發展。

本篇考量重點以生物製劑和再生醫療製劑之製程使用生物來源原料為主軸撰寫，適用以下幾種原料：

- (1) 人類血液來源之原料
- (2) 動物性來源之原料(例如：胎牛血清)
- (3) 以人源或動物性來源物質所製成的原料(例如：鼠源單株抗體)
- (4) 重組 DNA 技術製造生產之蛋白質原料

在適當的情況下，本原則也可做為其他類別之生物性原料之參考，但不適用於化學合成之原料，如：polypeptide 等。

## 2 製程中使用之生物性原料於化學製造與管制 (CMC)之考量

生物性原料供應商雖有責任驗證生物性原料之品質；然而，最終確認生物性原料在品質上是否符合其特定使用目的，仍係原料使用者之責任。因此，生物性原料使用者應盡可能實施嚴格的原料品質驗證。因為沒有任何單一或組合方法可以保證生物性原料之品質、功能性及安全性符合其預期用途。所以針對生物性原料對於最終產品品質、安全及有效性之影響，亦應由原料使用者進行風險評估。評估時必須考量生物性原料的來源與

可追溯性、製程與管控、符合使用目的之規格以及最終產品製程將生物性原料自最終產品移除的能力等事項外，亦應考量產品對臨床患者之效益/風險，儘可能避免因製程中使用之生物性原料而增加不必要之風險。

## 2.1 生物性原料風險分類之考量

每項生物性原料依據其風險等級不同，應有專屬的驗證方案，此驗證方案須具備合理性且符合科學原則。若生物性原料領有食品藥物管理署或十大醫藥先進國家審核通過之藥物許可證，代表該原料具有完善的特性分析及已確知之毒理特性，生產過程有良好的控制與紀錄，因此，此類生物性原料於驗證時可專注在原料品質差異性對成品的影響。舉例來說，生物性原料使用者可能用核准上市之人類血清白蛋白作為製造細胞治療製劑時的細胞培養基補充劑，由於該原料為領有許可證的藥品，原則上不須重複進行原料供應商對原料所執行之測試。廠商應驗證原料批次間差異性是否對細胞生長速率或維持細胞分化性質造成影響，以確認生物性原料對細胞治療製劑品質影響的程度。這樣的生物性原料驗證方案聚焦於原料本身的差異性是否可能對最終成品的效價與安全性造成影響，因此在此方面應詳細探究以期將臨床患者的風險降至最低，並即時察覺不良的批次或變化。

生物性原料使用者針對各種不同生物性原料設計驗證方案時，可參考「USP 1043 Ancillary materials for cell, gene, and tissue engineered products」所列之表一至表四不同等級的風險類別範例。生物性原料之風險亦因製程中的用量與使用時機而異，但表一至表四並未反映不同用量與使用時機所可能產生的影響。

### 一、第一級

此級別之生物性原料風險低且高度符合標準，因此適合用於產品製程中。此級別之生物性原料為領有食品藥品管理署或十大醫藥先進國之許可證核准的藥品、生物製劑或醫療器材。一般而言，這些成分或原料是以無菌包裝或單劑的形式供應，且在標籤上有清楚註明用途；因此，應用於再生醫療製劑之製程中有可能不屬於原本「核准」之用途。若生物性原料已獲核准使用於再生醫療製劑製程中，則該原料應列為最優先考慮。

表 1. 第一級風險之生物性原料

作為治療性藥物或生物製劑、醫療器材、植入性原料等用途之低風險高標準原料

項目	再生醫療製劑之製程中之 典型用途	驗證或降低生物性原料風險之 方式 (Qualification or risk reduction activities for raw materials of biological origin)
重組型注射用胰島素	細胞培養基添加劑	1. 提供資料主檔案 (MF)，供交叉比對 (若可行) 2. 檢驗成績書 (Certificate of Analysis; COA) 3. 評估對各批次原料之間的生物活性效能是否有差異 <sup>a</sup> 評估是否已從最終產品中移除 4. 評估原料儲存待用時之安定性 <sup>b</sup>
注射用人類血清白蛋白	細胞培養基添加劑	
填入性生物原料 (膠原蛋白)	固定式細胞培養所用之支架與基質	
吸入或注射用重組型去氧核糖核酸酶	生產病毒載體與處理幹細胞製程中所用之酶	
注射用單株抗體	以免疫學方法挑選或剷除特定細胞群	
注射用細胞激素	細胞培養基添加劑	

a. 詳見 2.2.2 生物性原料之品質特性。

b. 生物性原料的分裝與儲存常以不同的濃度或不同的緩衝液進行，或是以不同於標籤說明或有別於先前經過確效的方式進行。因此，應收集生物性原料在與產品製程相關的條件下之數據，以證明該原料保有足夠的安定性與活性。

## 二、第二級

此級別之生物性原料風險低且經過完整的特性分析 (well characterization)，因此適合用於產品製程中。此級別之生物性原料常用在藥品、生物製劑等之製程中，通常於符合現行優良製造規範 (current Good Manufacturing Practices, cGMP)、IOS13485 及 IOS9002 之製造廠生產，並已使用於生產再生醫療製劑，且該製劑已經過核准執行臨床試驗。若為已審核過之生物性原料，則可提供一份已審核過之聲明 (如：臨床試驗申請案(IND)或資料主檔案(MF))，以便在其他申請文件中交叉引用相關資料。

表 2. 第二級風險之生物性原料

作為符合 cGMP 生產標準生物性原料之低風險且經完整性質分析的原料

項目	再生醫療製劑之製程中之 典型用途	驗證或降低生物性原料風險之 方式
重組型生長因子、細胞激 素 <sup>a</sup>	細胞培養基添加劑	1. 提供資料主檔案 (MF), 供 交叉比對 (若可行)
免疫磁珠	以免疫磁分離方法挑選或 剔除特定細胞群	
人類 AB 血清	細胞培養基添加劑	2. 檢驗成績書 (COA) 評估 對各批次原料之間的生物 活性效能是否有差異 <sup>b</sup>
生物相容性聚合物、支 架、水凝膠	固定式細胞培養所用之支 架與基質	
蛋白分解酶	製程中所用之酶	3. 評估是否已自最終產品中 移除
組織培養基	細胞培養基添加劑	
單株抗體	以免疫學方法挑選或剔除 特定細胞群	4. 評估原料儲存待用時之安 定性 <sup>c</sup>
		5. 確認成分分析結果對產品 具重要性 (可包含功能性 測試)
		6. 審核供應商

a. 此類生物性原料應以非哺乳類、重組性的原料製作，比如在無動物性來源成分的培養基中生長的細菌。

b. 詳見 2.2.2 生物性原料之品質特性。

c. 生物性原料的分裝與儲存常以不同的濃度或不同的緩衝液進行，或是以不同於標籤說明或有別於先前經過確效的方式進行。因此，應收集生物性原料在與產品製程相關的條件下之數據，以證明該原料保有足夠的穩定性與活性。

### 三、第三級

此級別之生物性原料風險程度中等，須比前述兩級的原料接受更嚴格的驗證。此級別的原料往往屬「限研究用」或「限體外試驗使用」等級，非適用於生物製劑或再生醫療製劑之製程。例如：利用齧齒類動物所製備之單株抗體，應依照 ICHQ5A<sup>3</sup> 及中華藥典(4056)



<sup>6</sup> 進行病毒檢測或病毒清除確效，才能應用於再生醫療製劑的製程之中；若無法提供病毒清除確效資料，則使用者應針對該原料進行病毒安全性檢測，以確保產品無相關病毒污染。

表 3. 第三級風險之生物性原料

僅限研究用或限體外試驗用之中等風險原料

項目	再生醫療製劑之製程中之 典型用途	驗證或降低生物性原料風險之 方式
重組型生長因子、細胞激 素	細胞培養基添加劑	1. 提供資料主檔案 (MF)，供 交叉比對 (若可行)
組織培養基	細胞培養基添加劑	2. 檢驗成績書 (COA)
單株抗體 (透過細胞培養 所生產之診斷用產品)	以免疫磁分離方法挑選或 剝除特定細胞群	3. 評估對各批次原料之間的 生物活性效能是否有差異 <sup>a</sup>
新型聚合物、支架、水凝 膠	固定式細胞培養所用之支 架與基質	4. 評估原料是否已自最終產 品中移除
蛋白分解酶	製程中所用之酶	5. 評估原料儲存待用時之安 定性 <sup>b</sup> 6. 評估或確認成分分析結果 對產品具重要性 (可包含 功能性測試) 7. 原料使用者應定期審核供 應商是否仍符合供應資格 8. 將原料生產程序升級到符 合現行優良製造規範 (cGMP) 或、IOS13485 及 IOS9002 的標準

		<p>9. 建立嚴格的內部規格或管 控<sup>c</sup></p> <p>10. 須評估批次間的生物相容 性、細胞毒性、外來病原</p>
--	--	--

a. 詳見 2.2.2 生物性原料之品質特性。

b. 生物性原料的分裝與儲存常以不同的濃度或不同的緩衝液進行，或是以不同於標籤說明或有別於先前經過確效的方式進行。因此，應收集生物性原料在與產品製程相關的條件下之數據，以證明該原料保有足夠的穩定性與活性。

c. 倘該生物性原料涉及動物或人類來源，應依照 ICHQ5A<sup>3</sup> 及中華藥典 (4056)<sup>6</sup> 進行病毒檢測或病毒清除確效 (viral clearance studies)，或針對該原料進行相關病毒安全性檢測。

#### 四、第四級

此生物性原料的風險等級最高，應用於製程前須經詳盡的驗證程序。此級別之生物性原料的產製過程並未達現行優良製造規範 (cGMP) 或 IOS13485 及 IOS9002 的標準，亦非作為生物製劑或再生醫療製劑的製造之用。本級別包括生物性原料來源帶有傳染性物質風險高、原料製程中未執行外源性病毒移除或不活化處理程序、以及複合性動物來源之原料。建議應在產品開發早期即評估是否須使用此級別之生物性原料，若無其他替代性的物質或貨源時，則此級別之生物性原料可有下列作法：

- (1) 升級原料自身的製程至符合現行優良製造規範 (cGMP) 、IOS13485 及 IOS9002 ；
- (2) 提供生物性原料額外之外來病原、致病物質、或特定汙染物 (如動物病毒或病毒蛋白顆粒) 移除或不活化處理；
- (3) 逐批次檢驗，以確定原料不含外來病原、致病物質、特定汙染物等；
- (4) 生物性原料使用者應針對相關製劑產品之生產製程執行確效，評估製程是否可穩定移除已知毒性物質，或於製劑產品批次放行時作檢驗，以確定製劑製程移除效果已達可接受之安全程度；
- (5) 生物性原料使用者應針對相關製劑產品之生產製程執行確效，評估製劑相關之外來病原、致病物質、特定汙染物的移除或不活化處理程序之效果是否穩定。

表 4. 第四級風險之生物性原料

## 高風險原料

項目	再生醫療製劑之製程中之 典型用途	驗證或降低生物性原料風險 之方式
胎牛血清	細胞培養基添加劑	同表 3 內容外，仍須確認以下 事項：  1. 確認出產國資料是否具 可追溯性  2. 確認出產國無來源相關 的動物疫情，如傳染性海 綿狀腦病  3. 進行外來病原檢測以確 認是否帶有相關動物性 來源源病毒
動物性或人類萃取物	細胞培養基添加劑	
動物聚合物、支架、水凝膠	固定式細胞培養所用之支 架與基質	
純化酶	製程中所使用的酶	
取自腹水之抗體或蛋白質	以免疫學方法挑選或剔除 特定細胞群	
以動物來源或人類細胞作 餵養層	作為細胞培養之基質或作 為培養基成分的來源	
已知毒性之化學物質（如胺 甲葉酸、霍亂毒素、金黃色 葡萄球菌的穿孔性溶血 素、A 型與 B 型葡萄球菌腸 毒素、毒性休克徵候群毒 素）	作為細胞培養之篩選劑或 維持轉殖基因表現、增加細 胞增生、改善冷凍保存時之 細胞存活率、作為 T 細胞活 化時之抗原。	

## 2.2 生物性原料驗證之考量

生物性原料使用者應在產品製程設計階段即考量生物性原料使用目的，對生物性原料建立篩選標準以及供應商的資格標準，並應有適當驗證資料。

生物性原料的篩選標準應包括原料鑑別、生物活性以及適於相關製程的外來性病原清除等。供應商須能提出可供追溯原料來源之文件。所有原料之生產均須在適當生產設施內依循適當之品質管理系統為之，並在製程中以適當製程管制確保製程受到良好控制且穩定產出品質均一之原料。

除了第一級低風險的生物性原料之外，其他級別之生物性原料均應針對該原料進行驗證，所謂「驗證」係指透過取得特定生物性原料的資料以評估其來源、可追溯性、生產流程、品質要求、生物安全性、整體安全性等特徵。供應商應建立合理且符合科學原則的生物性原料驗證，所有的驗證資料須有詳盡的紀錄。

一項設計良好的驗證方案會隨產品開發的進度而愈形完善。在產品開發早期，重點在於安全性；而到了較晚的開發階段，生物原料的生產與驗證則須完整詳盡以利原料使用者申請其開發產品之查驗登記。在某些情況下，製程控制或生產所需的複合型物質或特殊物質或許沒有符合現行優良製造規範、IOS13485 及 IOS9002 的供應商。此時，生物性原料使用者須能建立一套符合科學原則的驗證方案，試劑原料對活性成分影響之驗證可參考 ICHQ11<sup>7</sup> 之建議。

以下將分述生物性原料應評估之來源及其生物安全性管控以及相關品質特性：

### **2.2.1 生物性原料之來源及其生物安全性管控**

原料以及任何在原料生產過程中所用之相關生物性來源物質，均必須有明確的來源及可追溯性，並依來源以及生產過程中所用之物質考量可能之生物安全性風險，於製程中設計適當的製造步驟以移除/去活化可能的外來病原。

某些動物來源或人源生物性原料因為可能帶有傳染性疾病或人畜共通疾病的風險，在篩選上必須審慎待之。所用之動物性生物原料供應商須能提供出產國證明，以澄清無傳染性海綿狀腦病(TSE)和其他相關疾病之疑慮（如結核病與布氏桿菌病）。在許多情況下，生物性原料皆應有追溯系統，包括動物性及人源性原料須有完整紀錄，其供應商須能提出可供追溯原料來源之文件。舉例來說，取自人類血漿的生物性原料應由國外合法領有血漿製造執照之機構，且該供應商須有適當控制其捐血人群體並對個別捐血人作相關之傳染病篩檢。在某些情況下，動物性與人源生物性原料的供應商所提供的原料製程管控品質不同，使得某些原料比其他原料更適用於再生醫療製劑產品製程。比方說，某些供應商會選擇對胎牛血清進行經過確效的放射線照射或奈米過濾處理，以降低發生牛源病毒污染的風險。此外，供應商亦會依照確效研究的成果對許多取自動物或人類血漿的成分進行化學（如清潔劑或溶劑處理）或物理（如長時間加熱）處理，以顯著降低起始生物性原

料發生外來微生物或病毒污染的風險。建議生物性原料使用者應優先選擇此類動物性原料，因為動物原料自身所帶有的風險已大幅降低。

常見生物性原料包含人類血液或組織來源之原料、動物性來源之原料、以人源或動物性物質進行生產、以及 DNA 重組技術進行生產，依據其來源之不同而有不同的考量重點，以下分別敘述：

#### 一、人類血液來源之原料

如人血漿衍生試劑為已核准藥物，應提供資料證明其品質。例：來源藥商/藥廠、提供檢驗成績書(Certificate of Analysis, COA)、以及被用於藥品或醫療器材中的證明(接受十大醫藥先進國之證明，但不包含體外診斷醫療器材之證明)。

倘若為非核准之藥物，須提供血品的來源/地區並說明血漿收集是否符合法規。區域性傳染疾病，如庫賈氏病毒(Creutzfeldt-Jakob Disease, CJD)，符合特定生活史者必須暫緩/排除捐血(例：1980-1996年居住在英國地區超過3或6個月)。北美洲地區，有茲卡病毒(Zika virus)或西尼羅河病毒(West Nile virus)傳染疾病。南亞、東南亞登革熱(Dengue virus)傳染疾病。由人類血液或組織而來的原料，應使用經過審慎評估並通過外來傳染性病原檢測通過的捐贈者。「人用血漿製劑之查驗登記」<sup>8</sup>、EMA/CHMP/BWP/706271/2010<sup>9</sup>之要求，應說明其血漿來源之個別捐血者皆有篩檢 HBsAg、HCV 和 HIV antibody，於迷你混合血漿或混合血漿階段應以核酸擴大檢驗(Nucleic Acid Amplification Testing, NAT)方法檢測 HIV、HBV、HCV 及 B19，此外，該成分製備過程須有經確效之病毒去除/不活化步驟，其中，應有效去除/不活化 HAV 至少  $10^4$  以上，否則亦應以 NAT 方法檢測 HAV 為陰性後，始得進一步製造。此類原料亦須合乎適用移植或輸血之要求。應適當說明製程對於傳染病原體之病毒移除/去活化能力，如：應考慮目前的篩檢並無法涵蓋所有可能傳染病原<sup>10</sup>(如：Zika virus 或是可能的新興病毒)。應確認血漿製劑製程中無使用其他人類或動物來源的原物料。

應建立追溯(traceability)系統，從捐血者、血品、人血漿衍生製品/批次、細胞治療產品/批次以及病患身分皆應有記錄可以追溯(反之亦然)，並非僅著重在血漿衍生製品之工廠生產記錄。主要的考量為被污染的血漿及血漿衍生製品可以追回，可能被污染的細胞治療

產品如已輸注至病患體內，則病患應可立即進行治療或後續追蹤，另外接受細胞治療的病患如日後有相關血液傳染疾病症狀，可以追溯並發覺其他可能受害案例或問題。追溯資料建議應依據風險考量而有不同的保存期限，若是未經長期體外培養的自體細胞治療，可比照 GTP 規範(拾伍、紀錄，第五十六條)至少保存 10 年，若是異體細胞或是合併基因治療等複合型再生醫療製劑，則建議延長保存期限至少 20 年。

## 二、動物性來源之原料

若使用動物性之原料，其來源動物在可行情況下須能符合特定健康要求，且在有良好控制的環境下飼養。使用動物來源取得之原料時，需證明其不含外來汙染物質，如牛海綿狀腦病變 (BSE) 物質，與其他動物病毒。若無法完整追溯該動物之來源(例如該動物係由野外捕捉而得)，則應以取得該動物之地理位置作考量。若使用牛血清應依照中華藥典 (4063)<sup>11</sup> 之規定。以下將分述常作為動物性原料來源之動物其應注意事項：

### 1. 牛來源之原料<sup>12</sup>

有關牛群出生，飼養和屠宰地點資訊，以及傳染性海綿狀腦病 (TSE) 風險。若使用血清，建議對其進行  $\gamma$  射線照射，以減少不定因子的風險。供應商應將上述資訊記載於檢驗成績書和原產地證書(Certificate of origin, COO)，建議參考中華藥典 (4063)<sup>11</sup> 及美國 9 CFR 113.53 章節內容<sup>13</sup>，並提供予使用者參考。

### 2. 豬來源之原料<sup>11</sup>

應提供用於生產和建立細胞、病毒庫的豬原料的檢驗成績書(COA)，建議參考中華藥典 (4063)<sup>11</sup> 及 9 CFR 113.53<sup>13</sup>。另外，也建議對豬進行豬環狀病毒 1, 2 (porcine circovirus 1 and 2)，豬小病毒 (porcine parvovirus) 和其他人畜共通傳染性病毒的檢測。

## 三、以人源或動物性來源物質進行生產

若原料以人源或動物性來源物質(如：融合瘤細胞)進行生產，則應依歐洲藥典 General Chapter 5.1.7. Viral Safety<sup>5</sup> 及 ICHQ5A<sup>3</sup> 之規定，進行病毒風險評估，依初步評估結果決定須執行病毒安全性檢測之範圍。此外，尚須進行傳染性海綿狀腦病之風險評估，並採適當措施降低其風險，如歐洲藥典 General Chapter 5.2.8. Minimising the risk of transmitting animal spongiform encephalopathy agents via human and veterinary medicinal products<sup>14</sup> 之規定。例如：製程中使用鼠源之單株抗體 (monoclonal antibody)，可參考美國 FDA “Points

to Consider in the Manufacture and Testing of Monoclonal Antibody Products for Human Use”<sup>15</sup> 內容，可依據 ICHQ5A<sup>3</sup> 及 USP1237<sup>4</sup> 於該單株抗體製程中適當階段進行外來病原檢測，並評估製程對病毒移除/去活化能力，以確保該生物性原料之病毒安全性。

#### 四、DNA 重組技術

若藉 DNA 重組技術製作之載體或蛋白質為原料，則須能追溯至其主細胞庫/病毒種批。該部分牽涉所使用之細胞來源為齧齒類或人類，應依照 ICHQ5A<sup>3</sup> 及中華藥典(4056)<sup>6</sup> 進行病毒檢測及病毒清除確效以確保產品無相關病毒污染。

依照 ICHQ5A<sup>3</sup> 進行病毒清除確效時，應考量於最糟(最壞或最差)製程條件下(worse-case scenario)透過模擬或縮小製程的規模來評估。製程應有最佳化之製造步驟並證明具有最小化、移除或去活化外來病原的能力，同時保有原料品質，可透過單一或結合多種下列方法達成：

1. 公認有效之移除程序，如：沉澱法、層析法或奈米濾膜過濾法等。
2. 公認有效之去活化程序，如：加熱、溶劑清潔劑、低 pH 值或伽瑪射線處理等。

此外，製程須於無菌狀態下進行及/或在製造終端作無菌消毒處理。若原料未經消毒，則須掌握原料受微生物污染的狀態。以上驗證資料應於產品開發早期即應確立，以免事後才發現一些原本選上的生物性原料無法驗證，或是驗證所費不貲，只得另覓替代方案。

### 2.2.2 生物性原料之品質特性

原料品質屬性包括鑑別、純度、及生物活性，並利用適當且經驗證的管制方式測定之；須建立鑑別、純度/不純物描述及生物活性的相關規格。生物來源原料的鑑別、純度、生物活性均須符合預先制定的品質要求。為確保原料之功能性，須以適當驗證過的方法對原料進行檢驗。原料鑑別的測試須能反映出原料的特殊性，以便與其他相關或相似的物質作區分。所謂「雜質」或「不純物」包括與製程相關的物質以及與產品相關的物質。前者包括重組蛋白質，如宿主細胞蛋白、宿主細胞 DNA、載體 DNA (殘留 DNA) 以及其他生物性或化學性物質，而後者則例如聚合物與降解產物。原料的含量可以絕對或相對的形式來表達。生物活性測定法也許可以用建立含量測定方法。

## 一、鑑別

原料的鑑別須針對特定原料辨識分子結構/組成，或其他相關物理化學、生物、免疫化學性質。生物活性與純度的測定方法也可以用來鑑別原料。鑑別可以透過與特定參考原料相比較，或與同類原料中具有代表性的批次相比較來進行，以下針對依據不同來源之生物系原料描述需考量之重點。

### (一) 人類血液來源或動物來源之原料

人類血液來源或動物來源之成分的確切組成難以確定，但可以利用蛋白質組成加以鑑定。例如：蛋白質電泳法、總蛋白質含量或其他任何化學添加劑檢驗等相關測定方法。如人類血清之電泳圖型應與適當的參考用血清批次之電泳圖型相符。此外，亦可比較白蛋白含量並鑑定之。血清替代品則可使用電泳圖型或細胞/血小板分泌之標記物。除非另有方法，否則原料是否為人源性可以透過適當之免疫化學方法 (通則 7020)<sup>16</sup> 檢定之。

### (二) 以人源或動物性來源物質進行生產或重組 DNA 技術製造之蛋白

透過製造技術製備特定蛋白質，其鑑別須以適當且合格的方法進行之，如電泳法 (通則 4046)<sup>17</sup>、肽指紋圖法 (通則 4045)<sup>18</sup>、等電聚焦法 (通則 4044)<sup>19</sup>、液相層析法 (通則 1010.5)<sup>20</sup> 等等。抗體之鑑別則以免疫球蛋白類型、同種型及/或專一性對照為準。上述方法之外，免疫化學方法 (通則 7020)<sup>16</sup> 和活性測定亦可用於鑑別。

## 二、生物活性

製程中選擇使用生物性原料，其勢必有其使用目的並可預期具有特定生物活性或功能，因此，該原料之驗證程序應包括確認其效能，特別是當生物性原料在調控複雜的生化效果而且對產品的產量、純度、效價大有影響。此類的生物性原料往往是複合型的物質或混和物，來源常是生物體，而且可能各批次間有顯著差異。是故，此類生物性原料通常不適用於簡單的鑑別，也不能光靠物理或化學測試即輕鬆驗出其特性。複合型的生物性原料應建立明確的效能測試方法，不僅能保證製程一致性及最終成品的品質外，還能在許多情形下滿足鑑別標準。

一般而言，製程對生物性原料所進行的初步確效，主要應確認生物性原料使用量之生物活性可達成製程目標效果 (提升醫療產品之產量、純度、效價)，但於後續製程階段應可有效將之移除，以降低生物性原料於體內發生問題的可能性。建議此確效可透過模擬或



縮小製程的規模來評估生物性原料可能具備的重要功能屬性。茲舉例如下：

1. 若因為某項生物性原料能提升細胞增生或關鍵療效成分的分泌，而將之加入細胞培養基中，測試效能的方法必須能顯示該生物性原料每一批次均能達到預期的細胞增生率與增生量，或預期的療效成分分泌量。
2. 若以某單株抗體純化特定類型的細胞，測試效能的方法必須能顯示新一批次的單株抗體純化了該細胞群，令此類細胞達到預期的回收率與純度。
3. 若以某去氧核糖核酸酶降解細胞 DNA，測試效能的方法必須檢視新一批次的去氧核糖核酸酶降解細胞 DNA 的能力。

因為多數的效能測試僅產生相對性的結果，把新一批次的生物性原料與已經核可的批次同時作測驗或與參考標準品（若有）作比較，往往會有所幫助。比較同時作測驗的結果能協助降低不同批次的細胞或載體所導致的差異，因而進一步辨識不同批次生物性原料之間的差異。

### 三、其他試驗

可應用於原料檢測項目包括：

1. 外觀：液態或冷凍乾燥還原原料須符合各原料呈色（通則 1019）<sup>21</sup> 之相關限制。
2. 溶解度：各冷凍乾燥原料以溶劑回溶時，應依標誌在特定溫度與時間內完全溶解。
3. 滲透壓：各原料的滲透壓須維持在標示限度內。
4. pH 值（通則 1009）<sup>22</sup>：各原料的 pH 值須維持在標示限度內。
5. 含濕度（通則 3010）<sup>23</sup>：本品含濕度不得超過標示限度。
6. 元素不純物：各原料的元素不純物含量須維持在標示限度內。
7. 總蛋白質：取該品項案總蛋白含量測定法（通則 7015）<sup>24</sup> 測定之其蛋白質含量應在範圍內。
8. 相關蛋白質含量：各原料的產品相關蛋白質物質含量須維持在特定限度內。
9. 微生物控制：依原料類型不同，各原料的微生物控制須符合對無菌性檢測（通則 7001）<sup>25</sup> 或非無菌產品微生物檢測法（通則 7007）<sup>26</sup> 之要求。
10. 病毒污染：依原料類型不同，各原料須符合各自之病毒污染相關要求。
11. 細菌內毒素：依照細菌內毒素檢驗法（通則 7008）<sup>27</sup> 測定之，細菌內毒素含量不得超過

核准之限定值。

12. 黴漿菌：取產品案黴漿菌試驗法 (通則 7009)<sup>28</sup> 測定之，結果應符合中華藥典規定。
13. 安定劑：各原料的安定劑含量須符合標示範圍。
14. 水：各冷凍乾燥原料須符合各自之含水量限制。

針對不同來源之生物性原料，建議另考量之項目分述如下：

(一) 人類血液來源或動物來源之原料

1. 血紅素含量測定(通則 1008)<sup>29</sup>：本品之血紅素含量不得超過標示之限量值。

(二) 以人源或動物性來源物質進行生產

1. 製程相關的不純物：以適當之方式測定原料衍生之物質，例如：血液成分、組織殘片、污染性蛋白質等，並確定其含量不得超過核准之限量值。
2. 相關之蛋白質含量：相關之蛋白質須以適當方式檢測其含量，未定義特異性的多株抗體、醣化蛋白、降解與氧化產物、寡聚物、聚合物，且確認含量符合該原料之限量範圍內。

(三) 重組 DNA 技術

1. 宿主細胞蛋白與殘留宿主細胞/載體 DNA：若與原料相關，應以適當方式測定宿主細胞蛋白與殘留宿主細胞/載體 DNA 含量，若已證實產品製程可妥善將之移除則不在此限。其在原料中的含量應符合限度範圍。
2. 相關之蛋白質：相關之蛋白質須以液相層析 (通則 1010.5)<sup>20</sup>、電泳 (通則 1040、4044 或 4046)<sup>17, 19, 30</sup>、免疫學試驗法 (通則 7020)<sup>16</sup>，分析未定義特異性的多株抗體、醣化蛋白、降解與氧化產物、寡聚物、聚合物，且確認含量符合該原料之限量範圍內。

上述檢測應有適當的參考標準品，或以相同原料具代表性的批次來進行。若可取得既有的參考標準品，如世界衛生組織所定的國際標準，建議優先採用。

### 2.3 評估生物性原料之殘留量與移除之考量

生物性原料不應殘留在最終成品中，因為它們有可能令使用者發生不良反應或降低該產品的效價。此處所謂不良反應包括因為生物性原料而直接產生疾病或發生不樂見的免疫

原性反應。以下列舉數例<sup>1</sup>：

1. 在以病患腫瘤切片作為起始原料製作腫瘤疫苗的過程中，導入某種化學物質，使細胞表面蛋白及腫瘤抗原發生變性，進而提升其抗原性。已知此化學物質具高度毒性。
2. 人類細胞的運輸液中有時會加入抗生素以因應由細胞取得方式所引發的微生物污染。然而，殘留抗生素的濃度不僅會影響最終細胞治療產品的細胞增生能力，還有可能在部分病患身上引發過敏反應。
3. 培養人類用的人造移植皮膚過程中，若使用胎牛血清，其所含的牛蛋白有可能引發體液抗體反應。
4. 透過齧齒類動物製造之單株抗體以對目標細胞群進行免疫選擇的過程中，所殘留的齧齒動物類免疫球蛋白聚合物係一種有可能具免疫反應之雜質。
5. 以細胞激素作為免疫調節劑，製作出的基因改造自體腫瘤疫苗有可能令病患產生劇烈反應。
6. 以霍亂毒素作為靜脈注射細胞治療產品的細胞培養基成分時，若未能在製程中將該毒素移除淨盡，則對病患具極高毒性。

有兩種方式可降低上述風險。一是製程設計，即在製程中加入特定步驟以稀釋、分離、不活化等方式將生物性原料妥善移除，二是發展適當的分析檢測技術，查驗生物性原料在製程中以及最終產品中的濃度。發展產品製程時，應在早期便將分析與移除殘留生物性原料的策略納入考量。評估最終成品中所含生物性原料殘留量的方法有二：

- (1) 以確效研究確認製程設計所能移除的量高於足以引發「最糟情況」的量；
- (2) 製程中可在適當時間點檢測生物性原料在每批次產品中的殘留量。

對生物性原料的移除進行確效的最佳方式係在含雜質的產品中加入足以產生「最糟情況」甚至更高劑量的生物性物質，再展現純化過程足以將生物性物質移除至僅餘「無法檢測」程度的殘留量。其後，可以使用類似病毒清除研究的手法，定出對應個別清除步驟的清除因子。設計確效研究時，應考量以下三點：

1. 所用檢驗方法須能正確測定生物性物質在每份基質樣本中的含量。
2. 若確效程序的批次規模小於量產批次規模，應展現兩規模的驗證程序彼此可相比擬。通常，這項要求意味著較小規模的驗證程序所用的關鍵性參數和完整規模的驗

證程序相同，且產品在每個步驟呈現出的純度與產量也一致。

3. 如同其他任何添加物研究，確效研究結果必須要能證明額外添加高量的生物性原料不會對純化程序造成影響。

若以前述第二個方法評估每批次產品中的生物性原料殘留量，要求最終產品內生物性原料最高含量的規格，應以毒理學或臨床研究每批次產品中的生物性原料含量為基礎，或以已知毒理學數據為基礎。

另一項降低風險的重要做法是發展靈敏且具有再現性的方法，分析檢驗生物性原料。有兩種檢驗方法可用來評估生物性原料的殘留量：極限測試和定量測試。兩種方法均應經過正確、精準、穩健之確效(可參考 ICHQ2(R1)<sup>31</sup>)。生物性原料殘留量可在製劑前進行檢驗，以避免賦型劑成分對檢驗造成妨礙，亦可直接對最終產品做檢測。理想上，檢驗方法應該設計成無論生物性原料處於任何狀態，如聚合物狀態、片段狀態、複合物狀態等，都可以偵測得到。目前已知蛋白質聚合物的免疫原性特別高。

諸如酵素免疫分析法之類的免疫分析法常用於檢測生物性原料的殘留量。利用酵素免疫分析法檢測牛血清白蛋白來評估胎牛血清殘留量的作法，以及採用聚合酶鍊反應技術來評估宿主細胞 DNA 的殘留量，都是目前既存的作法。評估受餵養細胞殘留量的方法有兩種，分別是標記帶有 3H 胸苷 (thymidine) 的細胞，及以聚合酶鍊反應作為餵養細胞的基因定序。若係以徹底稀釋的程序來「洗除」生物性原料，計算該程序對生物性原料的稀釋因數或許有所用處。在某些情況下，此舉即足以確保生物性原料含量已降至早期臨床發展的安全範圍。其後，應收集臨床發展階段的數據，確認生物性原料確實已在預期的階段中洗除。若事前即已掌握生物性原料的療效與毒性資料，上述的做法會特別有用。在其他的情況中，則應透過臨床前毒理研究或稍晚的人體臨床研究，收集生物性原料的安全性與容忍度數據，以確認應達成的安全性或無毒性標準。即便是已經核准作醫療用途的生物性原料，若使用方式與原有用途或標籤所列用途不同，或其給藥途徑或劑量有可能導致先前未曾遭遇或考量過的風險時，仍應收集並參考上述數據。

### 3 參考文獻

- 1 USP 1043 Ancillary materials for cell, gene, and tissue engineered products

- 2 Ph. Eur. 5.2.12. Raw materials of biological origin for the production of cell-based and gene therapy medicinal products
- 3 ICHQ5A (R1) Viral safety evaluation of biotechnology products derived from cell lines of human or animal origin
- 4 USP 1237 Virology test method
- 5 Ph. Eur. 5.1.7. Viral Safety
- 6 中華藥典（4056）病毒學試驗方法
- 7 ICH Q11 Development and manufacture of drug substances
- 8 藥品查驗登記審查準則—人用血漿製劑之查驗登記
- 9 EMA Guideline on plasma-derived medicinal product EMA/CHMP/BWP/706271/2010
- 10 USP 1240 Virus testing of human plasma for further manufacture
- 11 中華藥典（4063）牛血清
- 12 Chemistry, Manufacturing, and Control (CMC) information for human gene therapy Investigational New Drug Applications (INDs), USFDA, January 2020
- 13 9 CFR 113.53 Requirements for ingredients of animal origin used for production of biologics
- 14 Ph. Eur. 5.2.8. Minimising the risk of transmitting animal spongiform encephalopathy agents via human and veterinary medicinal products
- 15 Points to consider in the manufacture and testing of monoclonal antibody products for human use, USFDA, February 1997
- 16 中華藥典（通則 7020）免疫試驗方法—酵素結合免疫分析法
- 17 中華藥典（通則 4046）聚丙烯醯胺膠體電泳法
- 18 中華藥典（通則 4045）肽圖譜法
- 19 中華藥典（通則 4044）等電聚焦電泳分析法
- 20 中華藥典（通則 1010.5）液相層析法
- 21 中華藥典（通則 1019）呈色與消色
- 22 中華藥典（通則 1009）pH 值測定法
- 23 中華藥典（通則 3010）水分測定法

- 24 中華藥典（通則 7015）總蛋白質含量測定法
- 25 中華藥典（通則 7001）無菌試驗法
- 26 中華藥典（通則 7007）非無菌產品微生物檢驗法
- 27 中華藥典（通則 7008）細菌內毒素檢驗法
- 28 中華藥典（通則 7009）黴漿菌試驗法
- 29 中華藥典（通則 1008）光度分析測定法
- 30 中華藥典（通則 1040）毛細管電泳法
- 31 ICH Q2(R)(R1) Validation of analytical procedures: text and methodology

#### 4 字彙

- 生物性原料（raw materials of biological origin）
- 去氧核糖核酸（DeoxyriboNucleic Acid，DNA）
- 胎牛血清（Fetal Bovine Serum; FBS）
- 表徵（characterization）
- 海綿樣腦病變（Transmissible Spongiform Encephalopathies，TSEs）
- 牛海綿狀腦病變（Bovine Spongiform Encephalopathy，BSE）
- 病毒清除確效（viral clearance studies）
- 人類 AB 血清（human AB serum）
- 現行優良製造規範（current Good Manufacturing Practices，cGMP）
- 臨床試驗申請案（Investigational New Drug，IND）
- 資料主檔案（Master file，MF）
- 追溯性（traceability）
- 檢驗成績書（Certificate of Analysis，CoA）
- 原產地證明書（Certificate of Origin，CoO）
- 庫賈氏病（Creutzfeldt-Jakob Disease，CJD）
- 茲卡病毒（Zika virus）
- 西尼羅河病毒（West Nile virus）
- 登革熱（Dengue virus）

B 型肝炎表面抗原 (Hepatitis B surface Antigen, HBsAg)

C 型肝炎病毒 (Hepatitis C Virus, HCV)

人類免疫缺乏病毒 (Human Immunodeficiency Virus, HIV)

微小病毒 B19 型 (Parvovirus B19)

核酸擴大檢驗 (Nucleic acid Amplification Testing, NAT)

人體細胞組織優良操作規範 (Good Tissue Practices, GTP)

豬環狀病毒 1, 2 (Porcine CircoVirus 1 and 2, PCV1/2)

豬小病毒 (Porcine ParvoVirus, PPV)

單株抗體 (monoclonal antibody)

委託書 (Letter of Authorization, LOA)

臨床試驗 (Investigational New Drug, IND)

細胞庫系統 (cell bank system)

種細胞庫 (Master Cell Bank, MCB)

條件培養基 (condition medium)

不純物 (impurities)

宿主細胞蛋白質 (Host Cell Protein, HCP)

宿主細胞與載體所衍生之去氧核糖核酸 (Host Cell and vector derived DNA)

聚合酶連鎖反應 (polymerase Chain Reaction, PCR)

酵素免疫分析法 (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay, ELISA)

牛血清白蛋白 (Bovine Serum Albumin, BSA)