

法律法规

- 【法规标题】卫生部药政管理局关于下发《人的体细胞治疗及基因治疗临床研究质控要点》的通知
- 【发布部门】
- 【发文字号】卫药政发[1993]第205号
- 【批准部门】
- 【批准日期】
- 【发布日期】
- 【实施日期】1993-05-05 00:00:00
- 【时效性】
- 【效力级别】

卫生部药政管理局关于下发《人的体细胞治疗
及基因治疗临床研究质控要点》的通知
(卫药政发[1993]第205号)

各省、自治区、直辖市卫生厅(局)，中国人民解放军总后勤部卫生部、卫生部所属各医学院校、中国医学科学院、中国预防医学科学院、卫生部新药审评办公室：

为将人的体细胞治疗及基因治疗的临床研究纳入《药品管理法》的法制化管理，使之走向科学化、规范化，现将参考美国FDA生物制品评估与研究中心制订的“人的体细胞治疗及基因治疗条件”等国外有关文件，结合我国的实际情况，制订我国的《人的体细胞治疗及基因治疗临床研究质控要点》下发，供研制单位参考，并作为审评批准的基本要求。希向可能开展这项研究和临床试验的科研和医疗单位广泛宣传。今后，凡以人的体细胞治疗和基因治疗的单位，首先需按此质控要点要求向卫生部新药审评办公室申请，经专家委员会审查，卫生部批准后方可实施临床试验或临床验证。

附件：人的体细胞治疗及基因治疗临床研究质控要点

卫生部药政管理局

一九九三年五月五日

附件：

人的体细胞治疗及基因治疗临床研究质控要点

本文件主要参考了美国食品与药物管理局生物制品评估与研究中心(FDA, CBER)1991年制订的“人的体细胞治疗及基因治疗条件”、美国国立卫生研究院重组DNA顾问委员会(NIHRAC)关于“人体细胞基因治疗方案考虑要点及管理条例”1990年的修订件以及美国已批准的几个临床试用方案的文件和最近发展的新的基因导入系统的资料,结合我国的实际情况,制订了在我国进行人的体细胞治疗与基因治疗临床研究的质控要点,内容包括:

I、引言

A. 定义

B. 治疗的类型

C. 总体考虑

II、立题的依据和基础

A. 目的与必要性

B. 国内外情况

C. 可能出现的副作用或危害

D. 利弊的权衡

E. 研究单位与人员的资格审查

III、细胞群体的鉴定

A. 细胞收集

B. 细胞培养的步骤

C. 细胞库

D. 细胞体外生长和操作中所用材料

E. 基因治疗用构建物的分子遗传学特征

IV、临床前试验

A. 安全评价

B. 有效性评价

C. 免疫学考虑要点

V、不同批号制品的质控及临床前试验

IV、关于重组病毒的操作及设施

VII、临床试验的考虑要点

VIII、结语

IX、参考资料

I、引言

A. 定义:

体细胞治疗:指应用人的自体、异体或异种(非人体)的体细胞,经体外操作后回输(或植入)人体的治疗方法。将人的细胞经体外操作再回到人体的方式,称为Exvivo。这种体外

操作包括细胞在体外的传代、扩增、筛选、药物或其它改变细胞生物学行为的处理。上述细胞可用于治疗，也可应用于诊断或预防的目的。

本文件不包括对生殖细胞的基因操作。

基因治疗：指改变人活细胞遗传物质的一种医学治疗方法(a medical intervention based on modification of genetic materials of living cells)。目前，基因治疗按其基因导入人体的途径可分为两大类。

1. Ex vivo将人体细胞，经体外导入外源基因后再用于人体。

2. 体内(In vivo)将含外源基因的重组病毒在保证不存在复制型病毒(Replication competent virus)的前提下，直接用于人体。另外，也已有用含外源基因的重组DNA本身或与人工载体、脂质体或其它介导物质形成复合物后导入人体。以上基因操作用于治疗，也可用于预防的目的。

B. 治疗的类型

体细胞治疗包括多种不同的类型，例如：

1. 细胞的输入或植入，旨在体内释放某些因子，如酶、细胞因子、凝血因子等。

2. 输入激活的淋巴细胞，如淋巴因子激活的杀伤细胞(LAK)或肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)，以其能杀伤肿瘤细胞。

3. 植入经体外操作的细胞群，如肝细胞、肌细胞、胰岛细胞，以求在体内发挥复合的生物学作用。

基因治疗包括Ex vivo及In vivo(体内)两种类型。前者实际上也是一种体细胞治疗。治疗用的细胞可通过不同的途径导入体内。例如，细胞可通过静脉滴注、不同部位的注射、或是凝聚状态的细胞、连同固体支持物或微囊的手术植入等。任何附加于细胞的基质、纤维、微粒、或其它物质均应被认为是添加的有活性成分。由于细胞与其它成分间存在有复杂的潜在相互作用的可能性，添加物的成分应当作为进入临床前生物制品的一个组成部分而予以鉴定。

鉴于体细胞及基因治疗的多样性，应根据每一种治疗方法的特定目的、最后用于人体的制品的性质(是细胞还是病毒或其它物质)、导入人体的方式等，提出合理、有效和可行的方案，并提供所用的检测方法及获得的实验数据，以保证临床试验的安全性和有效性。这是各种治疗方法均须遵守的共同准则。

C. 总体考虑

由于用于体细胞治疗及基因治疗的最终制品不是一个单一的物质，因此不能象一般生物制品那样制订出具体标准。但是必须强调，应该对整个操作过程和最终制品进行质量控制。为此，对所用的方法、试剂、材料均需详细说明，并对细胞库、关键的中间产物(如产病毒的细胞株)予以监控。必须检测不同批号制品的可重复性。

由于体细胞治疗及基因治疗用制品是属于生物制品，因此还应同时参考以下文件中规定的原则：“人用重组DNA制品质量控制要点”(卫药政字(90)第37号文)，“人用单克隆抗体质量控制要点”(卫药政字(90)第37号文)及其它有关文件等。

本文件将提出制备、生产用于人的体细胞治疗及基因治疗制品的考虑要点。临床试验前，必须提供能保证合理程度的安全性的材料，并提供合适的检测方法，详细数据及这些方法可靠性的证据。

由于体细胞治疗及基因治疗方法的多样性，文件中所提到的各种检测方法，有可能不适用于某一种特定的治疗方案。如属此种情况，必须提出适合的专用治疗方案、能确保安全性和有效性的监控方法、步骤、数据及其依据。

II、立题的依据和基础

A. 目的与必要性：对所申请的体细胞治疗或基因治疗，首先须说明应用该治疗方案的目的，包括：

1. 治疗的病种及其依据。
2. 治疗的预期效果及其依据，与现有的其它疗法相比的优越性或互补性。

B. 国内外情况：应提供国内及国外开展同样或同类疗法的资料，包括其选择的病种、有效性、安全性及可能产生的危害性，并须着重指出申请的方案与国外或国内已批准方案的不同之处。凡属一种新的方案，应详细说明它的优越性及安全性的依据，

C. 可能出现的副作用或危害；应提供应用该方案后可能出现的副作用或危害，并提出如何避免可降低其危险性或副作用的措施。

D. 利弊的权衡：根据该治疗方案的疗效及可能出现的风险，提出总体的利弊权衡估价。这种评估将是该方案能否获得批准的重要依据之一。

F. 研究单位和研究人员的资格审查：

1. 必须提出从事本研究的基础及临床单位的研究设施、主要仪器设备和临床设施。
2. 研究人员应包括基础和临床的重要研究人员以及临床主管该项目的护士长及护士。申请报告可以附件方式提供以上人员的职称、职务、简历。对于研究人员需提供近五年来的重要著作和学术论文清单，并要实行主要负责人承担责任制的原则。

III、细胞群体的鉴定：

A. 细胞收集：必须提供以下的资料；

1. 细胞类型：须指出细胞来源，是属于自体、同种异体还是异种。同时必须提供上述细胞的组织来源及细胞类别(Identity)的确证资料，其中包括形态、生化或表面标记等。

2. 细胞供体的条件：须注明供体的年龄、性别。若细胞来自动物，还须指出动物的来源、遗传背景、健康状况等。

3. 以Ex vivo单核白细胞经激活后使用于人体为例，若使用同种异体材料，其供体必须符合输血供体的要求，并提供测试的方法及符合条件的依据。同时，供体必须经过检测证明乙型肝炎病毒(HBV)、丙型肝炎病毒(HCV)、艾滋病病毒(HIV)为阴性。用于肝炎或肝癌治疗的自体材料，需提供HBV、HCV存在状态的资料。

4. 组织分型：若属同种异体供体，除血型外，必须作HLA I类和II类分型检查，并证明与受体(病人)相匹配，同时需提供检测方法和依据。

5. 收集细胞的步骤, 包括所用的设备、材料、试剂等, 必须加以说明。

B. 细胞培养的步骤

1. 质量控制的步骤: 包括所用试剂、材料、设备的规格、质量和实验室的质量控制。

2. 培养液: 必须说明培养液组分, 包括血清和其它添加物(如生长因子、激素及其它组成)的质量及无害性的依据。须提供培养液包括添加物的来源和数量。应避免应用某些具有潜在引起过敏的物质如动物血清, 某些抗菌素(如青霉素)、蛋白及血型物质。对生长因子、激素等类物质, 应说明它的性质、纯度、活性以及在培养中的作用。

3. 细胞培养中的有害因子: 应提供细胞的操作、传代以及旨在减少有害因子污染的步骤及条件的资料。长期培养, 细胞应定期检测污染情况, 以保证细胞中不存在细菌、酵母、霉菌、支原体及外源病毒。关于有害因子的检测可参照“单克隆抗体”的检测标准。

4. 细胞均一性: 来自正常组织的短期培养, 应说明“目的细胞”所占的比例。若属于来自肿瘤组织的白细胞, 在应用的产物中应无肿瘤细胞的污染。

5. 细胞合成的特殊物质的检定: 若治疗是基于细胞所合成的某种特殊物质, 应提供该物质的合成状况、生物活性以及致病性的资料。

6. 长期培养的细胞: 应提供细胞群体的表型指标(如表面抗原、功能性质或生物学性状)和致瘤性资料, 以及上述指标的稳定性。

C. 细胞库: 基因治疗所用的细胞库, 包括用于生产不同批重组载体的包装细胞、已导入外源基因细胞等, 应提供以下资料:

1. 细胞来源及历史。

2. 步骤: 包括冰冻、回收细胞的步骤, 所用的试剂(如DMSO或甘油)的质量、浓度和去除其毒性的方法和操作, 以及每个单一批号所有的管数和储存条件等。

3. 融化后的细胞应重新作检测, 包括细胞存活率、细胞特性和功能等。还须提供融化后活细胞的得率、与冰冻前细胞功能性质的比较材料, 以及再次检测无菌的证明。

4. 失效期: 必须提供该细胞库在冰冻状态下的有效保存期限和保存条件。

D. 细胞体外生长和操作中所用材料: 细胞体外生长操作过程中所用的材料, 例如抗体、抗菌素、血清、蛋白A、毒素、固相微粒及其它化学试剂等均须注明其来源和性质。同时, 须叙述最终产物中如何去除上述物质的步骤和有效性(包括测试的方法)以及最后残余浓度的极限。

E. 基因治疗用构建物的分子遗传学特征。

1. 基因构建物的特征

须提供插入载体的基因及其旁侧顺序的DNA序列, 并说明其来源。详细说明用于制备最终制品的全部载体、辅助病毒、产病毒细胞株的来源、特征、生长条件及其材料与方。构建物中所用的调控顺序(如启动子、增强子等)必须加以说明。同时, 应说明该构建物在实验阶段和临床应用前的稳定性, 即指出是否出现重排、重组、突变或形成变异体。

为控制最终制品的安全性, 每一种载体应视作制品的一部分, 须对其特征及安全性作单独说明。

2. 外源基因插入的方法

基因导入细胞后，须提供每个细胞插入外源基因的平均拷贝数以及基因存在的形式：染色体内或染色体外。

3. 包装细胞株

须提供包装细胞的来源、历史、生物学性质。同时应提供该细胞包装病毒的稳定性及其安全性(释放复制型辅助病毒的情况)，其母库须按ⅢC的要求说明。

必须说明用于治疗用的产病毒(重组体)细胞从母库传代的次数和允许的传代数，并说明该产重组病毒细胞的上清液的转导(Transduction)能力和它是否存在复制型辅助病毒。每个批号用于转导的上清液同样必须测试其转导能力，检查其是否存在复制型病毒。

IV、临床前试验

A. 安全评价

动物模型与体外试验相结合一般可以检测产物的安全性。进行安全试验所用的材料必须有不同的剂量范围；即包括相等和超过临床应用的剂量。Ex vivo需用的材料量根据具体情况而定。

1. 生长因子的依赖性细胞培养若依赖于生长因子，其生长的行为必须予以监检。如果某细胞株出现失去控制的生长，尤其是失去原有的生长因子依赖性，这样的细胞不应再予使用；如果异种细胞应用于人体，其应用的可行性和安全试验务必作特殊说明并提供单独的资料。

2. 致癌性如果操作过程可改变原有细胞的生长行为、改变细胞原癌基因、生长因子、生长因子受体或反式调控因子的表达与调控，导致细胞生长特性的改变，则用于临床试用前必须进行致癌试验。同样，当细胞经过长期体外传代或经过基因工程处理的细胞也必须作致癌试验。

常用的致癌试验是采用裸鼠或其它免疫抑制的动物模型。对于从肿瘤组织中分离出非肿瘤细胞(例如淋巴细胞)必须对制备物中的肿瘤细胞进行定量，并详细叙述去除肿瘤细胞的方法、步骤和效果，以保证输入人体的制备物中不再存在肿瘤细胞(107淋巴细胞中，应不能检出瘤细胞)。若应用基因工程处理的肿瘤细胞输入(或植入)人体，必须有资料证明，此瘤细胞已失去生长和繁殖的能力。

3. 复制病毒的检测

(1)凡应用逆转录病毒作为载体的制备物，必须检测是否存在复制性辅助病毒，测试的对象包括：

- ①制备产病毒(含外源基因)的包装细胞的上清液。
- ②经病毒感染后的靶细胞(用于输入人体)的培养液。
- ③测试的方法必须充分证明它的敏感性，并详细叙述检测的步骤。

以逆转录病毒为例，最可靠的方法是：

①检测的细胞及上清液，培养产病毒的细胞株，其数量要大于实际用于感染靶细胞的数量，收获其上清液。

②NIH / 3T3增殖法及S + / L - 检测：取上述上清液总体积的5%，培养NIH / 3T3细胞，然后用其培养液作S + / L - 试验。

③共培养法：取产病毒细胞的5%，与S + / L - 的细胞共培养，然后作S + / L - 检测。

④提供对照材料，证明其检测的灵敏程度。

若应用PCR技术，必须做到：

①引物必须是针对该病毒的外壳蛋白(Envelope)基因；

②以3040A细胞或相应的细胞(含molony小鼠白血病病毒)作对照；

③提供详细的步骤、方法和结果，证明申请者所作的PCR结果的灵敏度足以检测出每ml中一个病毒。

如果没有以上资料，所采用的PCR技术不足以证明该实验室能够排除复制型辅助病毒的存在。

4. 基因的插入

(1)基因插入的稳定性

应检测插入的基因片段，随细胞扩增后是否仍保持其完整性，排除重排，重组和突变的发生。尤其对于长期传代后细胞中的基因片段，必须重复以上检测，并提供所用的检测的方法、步骤及结果。

(2)插入基因的功能

导入基因的细胞必须具有适度的生物学功能，表达过低和过量均应考虑其应用价值及安全性，并须说明其表达的稳定性。

(3)插入性突变(Insertional mutagenesis)

外源DNA序列的整合，可引起细胞本身基因功能的改变，称为插入性突变。一般来说，插入性突变将从细胞的生物学性质反映出来。为此，导入基因后，若发生细胞形态学、生长特征或生物学功能改变，将考虑已发生“插入突变”，这种细胞不能使用。

5. 体内安全性试验

(1)导入人体细胞所用的添加物(如胶元、颗粒或其它物质)，必须作动物毒性试验。

(2)若以病毒DNA、或脂质体直接注入(或植入)人体，必须作动物毒性试验。DNA直接注射(或植入)，应作自体免疫的检测。同时须提供详细的毒理试验报告。

6. 逆转录病毒以外的病毒载体(如腺病毒，癌疹病毒，痘苗病毒)，安全性试验原则上按IV - A 1 - 5相应条例进行。必须排除有致病性的复制型病毒的存在，并提供其体外和体内安全性实验的全部资料。

B. 有效性的评价

临床前研究应包括实验模型以证明有效性。虽然，通常在临床试验前尚难提供直接的临床疗效的证据，但临床前研究将为临床试验的合理性提供依据。为此，应提供与有效性相关的下述资料：

1. 细胞表型。最终制品如果是细胞，应提供该细胞的形态学、表面标记、功能和生长

特征等资料。该细胞应具有预期的功能，例如可在体外试验中产生出某种产物(或因子)或呈现细胞毒效应或干细胞活性等。

2. 细胞的产物。若疗效要依赖于细胞产生的某种特殊因子，则必须说明其因子的类别、生物学活性，并提供合成该因子的速度，分泌状态和分泌的稳定性的资料，说明分泌量的安全性和达到生理学的有效程度。如果这种因子存在一种以上的不同的形式(如分泌型和膜结合型)，须说明它们存在的量及比例。

3. 体外试验。应提供外源基因导入体细胞后(或体内)基因表达的状态及持续的情况。若外源基因导入的体细胞能杀伤肿瘤细胞，应提供的有效性证明和详细的资料。

4. 体内试验。如果有可能以动物模型来进行临床前试验，应测定上述细胞在体内存活的时间及其生物学功能。若细胞需到达体内特定的部位才能显示预期效果，则应分析细胞进入体内后的分布状态。若有合适动物的病理模型，应在这种动物模型中分析其治疗的效果。

若某种治疗方法，确实无法以动物体内实验来显示其有效性，应作特殊说明，并提供有效性的其它依据。

C. 免疫学考虑要点：

1. 若用异体、异种细胞导入人体，必须提供免疫学的详细检测资料：包括供体与受体间的抗原性差异，组织相容性抗原的匹配性、过敏反应、或自体免疫及移植物对宿主的排斥反应等。

2. 若采用病毒直接导入人体，除保证不存在复制型病毒外，还应提供在动物模型中产生的抗体状态、它对有效性的影响，以及可能产生的副作用等资料。

3. 若采用的材料属DNA、DNA - 脂质体或人工载体复合物(如DNA - 糖蛋白)，除一般的毒性试验外，必须通过动物模型提供过敏或自体免疫有关的资料。即使是DNA的直接导入，由于DNA制备物中可能会有杂蛋白，除了提供其化学定量的资料外，还须进行上述的免疫学研究，以保证其安全性。

V、不同批号制品的质控及临床前试验

一个批号的生物制品是指在一个单一容器中充分混匀的一定量的制品。这个概念，同样适合于体细胞治疗及基因的制品。每一批细胞群、载体制备物或其它用于治疗的产品须进行必要项目的检测后才能发放(Release)用于人体。

用于Ex vivo及体内直接导入的基因治疗制品在制备规模上有明显的不同，因此对批号量的概念应有所区别。Ex vivo的制品多来自某一个人体，并用于其本人，因此应把每一次从病人体内获取的经加工后用于人体的新制品作为一个批号。而直接应用于体内的基因治疗制品(如重组病毒、重组DNA或其复合物)，可大批量生产，其批号的概念以及其质控和发放原则等同于一般生物技术制品(见“人用重组DNA制品质量控制要点”)。

针对Ex vivo制品的特殊性，应提出适合于其特点的批号质控标准，例如：

1. 细胞的性质鉴定通过细胞形态、表型或生化分析、确证其细胞的特性以及是否存在异质性。

2. 活性：定量地证明该细胞的功能或合成某种产物的活性。
3. 细胞存活的定量数据以及能用于临床的最低极限。
4. 对细胞的各种检测，证明已排除有害因子(如细菌、霉菌、支原体、病毒等)的污染。
5. 内毒素的检测若由于细胞的性质而不能进行通常的内毒素检测时，须予以说明。
6. 若属于大批量生产的制品，每批均应进行安全试验。
7. 若制品经冰冻保存后继续用于病人、而且应用前需融化或再扩增时，则需按ⅢC细胞库的要求再次重复以上的批号检测，才能用于临床。

Ex vivo制品一般由负责治疗的单位进行质控检定，例检定人员必须经过训练，其资格必须经过国家检定机构的认可，并接受其指导。

VI、关于重组病毒的操作及设施

若申请材料涉及重组病毒的操作，必须提供所在单位具有进行重组病毒的设施(相当于P I I级实验室)，以保证工作人员的安全和防止对环境的污染。

VII、临床研究的要点

必须强调，体细胞治疗与基因治疗的临床研究比一般基因工程药物或普通药物的应用更为复杂，如将制品包埋于组织、瘤内注射、大量的细胞输入或施行其它手术等。因此必须有实验室和临床专家的协同和密切配合。提出详细的临床使用方案以及在临床监测和其它治疗方面的具体措施。临床研究的方案除基本上参照卫生部颁布的《新药临床研究的指导原则》外，应包括以下几点：

1. 本单位(相当于IRB)的审查意见，包括对治疗方案的必要性、可行性、安全性以及对参加研究的临床单位与人员的资料审查意见。
2. 选用的病种、病人的年龄范围、性别、疾病的发展阶段(如恶性肿瘤的临床分期)、试用的病例数。应预先制定病例的选择和淘汰的标准。
3. 给药的方式、剂量、时间和疗程。如需通过特殊的手术导入细胞或基因制品，应提供详细的方案。
4. 确定评估疗效的客观指标，包括临床指标和实验室检测项目。
5. 基因治疗应尽可能提供其特有的指标，如导入细胞体内存活率、功能状态以及产生达到治疗目的的生物活性因子的状态、抗体形成等监测的指标。
6. 若导入病毒或其它制品，应提供是否有病毒复制以及自体免疫和其它免疫等检测指标。对不同的制品应制订相应的监测方法。
7. 对产生的副作用和不良反应必须作详细记录并及时进行总结。
8. 鉴于基因治疗的特殊性，必须建立长期随访的计划及措施，以总结是否有远期的危害性(如致畸变等)。
9. 对公共卫生和环境污染的考虑。如应用病毒直接导入体内，应提供无水平感染的证据，尤其是要防止对儿童和孕妇的影响。

VIII、结语

鉴于体细胞治疗及基因治疗是一类新的生物技术治疗方法，迄今为止，尚有不少未知的因素，本条例将根据发展情况予以修改和补充。

IX、参考资料：

1. Points to consider in human somatic Cell Therapy and Gene Therapy(1991). CBER, FDA, U. S. A Human Gene Therapy 2 : 251 - 256, 1991
2. Regulatory issues, The Revised "Points to Consider Document, For Design and Submission of Human Somatic Cell Gene Therapy Protocols" . RAC, NIH' U. S. A. Human Gene Therapy, 1 : 93 - 103, 1990
3. S. A Rosenberg et al: Immunization of Cancer Patients Using Autologous Cancer Cells Modified by Insertion of the the Gene for Interleukin - 2. Human Gene Therapy, 3 : 75 - 90, 1990
4. R. A. Mergan et al: Application of the Polymerase Chain Reaction in Retroviral - Mediated Gene Transfer and the Analysis of Gene - Modified Human TIL Cells. Human Gene Therapy, 1 : 135 - 149, 1990
5. M. J. Stewart et al: Gene Transfer In Vivo With DNA - Liposome Complexes: Safety and Acute Toxicity in Mice. Human Gene Therapy 3 : 267 - 275, 1992
6. W. F. Anderson et al: The ADA Human Gene Therapy Clinical Protocol. Human Gene Therapy, 1 : 331 - 362, 1990
7. J. M. Wilson et al: Clinical, Ex vivo Gene Therapy of Familial Hypercholesterolemia. Human Gene Therapy 3 : 179 - 222, 1992