



团 体 标 准

CMBA/T XXXXX—XXXX

嵌合抗原受体修饰 T 细胞（CAR-T 细胞） 制剂制备质量管理规范

Code of manufacturing quality management for Chimeric Antigen Receptor T Cells
(CAR-T cells) based-medicinal product

（公示稿）

XXXX – XX – XX 发布

XXXX – XX – XX 实施

中国医药生物技术协会 发 布

目 次

前言 II

引言 III

1 范围 1

2 规范性引用文件 1

3 术语和定义 1

4 基本原则 2

 4.1 总体要求 2

 4.2 人员 2

 4.3 物料 2

 4.4 设施和设备 3

5 载体制备 3

 5.1 质粒制备 3

 5.2 非病毒载体制备 3

 5.3 病毒载体制备 3

6 CAR-T 细胞制备及质量控制 4

 6.1 T 细胞的采集和分离 4

 6.2 CAR-T 细胞制备 4

 6.3 CAR-T 细胞制剂的质量控制 5

 6.4 CAR-T 细胞冻存、运输与复苏 5

 6.5 CAR-T 细胞制剂的放行 6

7 追溯 6

8 保密 6

参考文献 7

前 言

本标准按照GB/T 1.1—2009《标准化工作导则 第1部分：标准的结构和编写》给出的规则起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本标准由中国医药生物技术协会制定，由中国医药生物技术协会实施。

本标准起草单位：中国医药生物技术协会医药生物技术临床应用专业委员会、天津医科大学肿瘤医院、北京博仁医院、安徽未名细胞治疗有限公司。

本标准主要起草人：任秀宝、孙倩、童春容、刘振云、孙艳、王伟、郝希山。

本标准为首次发布。

引 言

近年来，免疫治疗经历了一系列突飞猛进的发展，以特异性过继免疫细胞疗法及免疫检查点抗体疗法为代表的新型免疫治疗技术因其在临床研究中取得的显著疗效而成为学术界和产业界共同关注的焦点。其中，嵌合抗原受体 T 细胞免疫疗法（Chimeric Antigen Receptor T-Cell Immunotherapy, CAR-T 疗法）因其在白血病、淋巴瘤、多发性骨髓瘤等病种的治疗中展现出显著的治疗效果而成为国内外研究的热点。随着我国对 CAR-T 技术的研究不断深入，国内企业的积极布局和产业链的延伸，我国的 CAR-T 细胞治疗技术也在紧随国际趋势的发展。

遵循《药品生产质量管理规范》（GMP）是 CAR-T 细胞制剂制备的原则要求。此前，中国医药生物技术协会已经制定了《免疫细胞制剂制备质量管理自律规范》，帮助机构在免疫细胞制剂制备过程中避免污染、交叉污染、混淆及差错，最大限度地保证免疫细胞制剂的安全性、生物学效应。但 CAR-T 细胞作为一类特殊的免疫细胞，其制备和质量控制具有特殊性。为了适应我国 CAR-T 细胞治疗产业的需要，加强 CAR-T 细胞治疗的质量管理，规范细胞制备过程，保证 CAR-T 细胞制剂在临床研究和应用时的质量，促进国内外同行间的交流，中国医药生物技术协会在已有《免疫细胞制剂制备质量管理自律规范》的基础上，根据 CAR-T 细胞的特殊性，制定《CAR-T 细胞制剂制备质量管理规范》。CAR-T 细胞制剂制备过程中涉及到的人员、设备、样品储存与运输、标识与追溯系统等其他要求，应参照中国医药生物技术协会制定的《免疫细胞制剂制备质量管理自律规范》执行。

嵌合抗原受体修饰 T 细胞（CAR-T 细胞）制剂制备质量管理规范

1 范围

- 1.1 本标准规定了 CAR-T 细胞制剂制备机构在制备过程中包括从载体制备、细胞采集以及细胞转导/转染、扩增、收集、冻存等过程中须遵循的基本要求和原则，保证 CAR-T 细胞制剂的安全性和生物学效应。
- 1.2 本标准适用于 CAR-T 细胞制剂制备的所有阶段。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

《中华人民共和国药典》（三部）
《免疫细胞制剂制备质量管理自律规范》（中生协字〔2016〕035 号）

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

- 3.1
嵌合抗原受体T细胞（CAR-T细胞） **chimeric antigen receptor T cell, CAR-T cell**
经过基因工程修饰的，可表达被导入的含有抗原识别片段、T细胞受体活化分子、共刺激信号等信号分子的CAR基因的T细胞。
- 3.2
外周血单个核细胞 **peripheral blood mononuclear cell; PBMC**
血液中具有单个核的细胞，主要包括淋巴细胞、单核细胞、巨噬细胞、树突状细胞和少量其他细胞类型。
- 3.3
质粒 **plasmid**
一类存在于细菌和真菌细胞中独立于染色体DNA而自主复制的共价、闭合、环状DNA分子，通常携带一定数量的基因，是基因工程最常见的运载体。
- 3.4
目的基因 **target gene**
人工构建的具有明确功能的基因或基因片段。
- 3.5
载体 **vector**
在基因工程重组DNA技术中将DNA片段（目的基因）转移至受体细胞中进行复制和表达的工具。
注：常用的载体包括质粒、病毒等。

3.6

转导 transduction

借助病毒等方法将外源性遗传物质（DNA或RNA）导入细胞进行表达的过程。

3.7

转染 transfection

通过非病毒载体（如质粒）将外源遗传物质（DNA或RNA）植入细胞的过程。

3.8

冻存液 cryoprotectant

能保护细胞在冷冻和复苏过程不受损害的溶液或试剂。

3.9

标识 label

粘贴或附着在对象上的用于区分不同对象的标记、注释或条码。

3.10

细胞批次 cell batch

取自个体的细胞经单次细胞制备工艺过程制成的一批细胞制剂。

4 基本原则

4.1 总体要求

CAR-T细胞制剂的制备包括质粒的制备、病毒的制备、样本的采集、接收、处理、细胞刺激、转导/转染、扩增、收获、质量检测、冻存和运输等全过程。制备机构应建立健全CAR-T细胞制剂制备的质量管理体系，结合CAR-T细胞制剂制备的特殊工艺，对各个操作环节以及环境和人员等严格要求并实施，最终产品应符合质量标准。

4.2 人员

4.2.1 制备机构应配备与其规模相适应的 CAR-T 细胞制剂制备人员和质量检测人员，操作人员应具备基本的专业知识，并接受特定的专业技术培训后方可上岗。病毒和细胞制备技术人员身体健康无传染性疾病，能熟练掌握无菌操作技能，并具备病毒制备或人免疫细胞培养经验，其职称、学历、经历、资格证书、继续教育与健康记录，应建档保存。

4.2.2 建立人员卫生操作规程和自我防护规程，最大限度地降低人员对细胞制备造成污染以及操作人员自我感染的风险。操作规程应包括与健康、卫生习惯及人员着装相关的内容，以及操作过程中避免交叉污染和污物正确处理等方法等内容。

4.2.3 维修人员或其他非专业人员进入制备区和质控区应经过培训和批准。

4.3 物料

4.3.1 CAR-T 细胞制剂制备所用的物料是指制备中所使用的试剂耗材、生物活性因子以及与细胞制剂直接接触的包装材料及外包装材料等。

4.3.2 CAR-T 细胞制剂制备所用的样本及物料应符合相应的质量标准。进口物料应符合国家相关的进口管理规定。细胞制剂制备中使用的物料管理应参照《中华人民共和国药典》中的《生物制品生产用原材料及辅料质量控制规程》实行管理。物料供应商应有相应的资质，并提供证明文件。

4.3.3 培养过程中对培养基、活性因子等外源蛋白的要求如下：

a) 所有使用的培养基、活性因子等外源蛋白应有明确的来源及批号，应有质量检定合格报告；

- b) CAR-T 细胞体外扩增培养应尽量避免动物或人源物质如血清等制品的使用，若必须使用，需要开展相关研究，证明使用的必要性和合理性；严禁使用疫病流行区来源和未经过安全性验证的动物血清等制品。
- 4.3.4 转导/转染过程中所使用的培养皿或培养袋等耗材和细胞因子等均需符合相应的质量标准。
- 4.3.5 制备机构应建立物料检验和放行质量标准，对生物活性试剂，制备机构应有相应措施确定有效期和保存条件，并在有效期内使用。
- 4.3.6 制备机构自制的试剂（如血浆、抗原等），应建立质量标准、编号及批号的编制操作规程，并经检验合格后使用，每种物料均应编制唯一的编号，并有制备记录。

4.4 设施和设备

- 4.4.1 CAR-T 细胞制剂制备场所按照不同工艺应至少包括质粒制备区、病毒制备区、细胞制备区，质控区（支原体测定、内毒素测定、流式细胞仪检测和分子生物学等相关检测）和储存区（病毒储存区、细胞储存区），各个区域应相对独立。病毒制备区、病毒储存区应具有独立的空调系统。制备机构可根据实际情况合理分配和增加所需区域（留样室、办公室、资料档案室、物料储存室、气体储存室等）。
- 4.4.2 制备机构应根据工艺要求，对各功能区合理设计、布局和使用，应设立洁净区，洁净区的设计、建设、管理、进出、使用、清洁、消毒、环境检测等参见药品 GMP 规范无菌药品附录。
- 4.4.3 载体的制备应在 C 级背景下 A 级洁净度级别的环境中进行，载体在非密闭条件下的除菌过滤和灌装应在 B 级背景下 A 级洁净度级别的环境中进行；CAR-T 细胞制剂制备过程中与细胞有关的操作，如细胞分离、转导/转染、扩增、收获等应在非密闭条件下的操作应在 B 级背景下 A 级洁净度级别的环境中进行。
- 4.4.4 制备机构应设置用于制备感染性样本的独立物理空间，设立独立的空调系统。使用后的器具和相关物品应经过灭活处理后再移出该区域。感染性样本与非感染性样本的处理及制备不得使用同一设备。

5 载体制备

5.1 质粒制备

- 5.1.1 质粒应序列信息明确，并经过鉴定和确认。质粒菌种应采取种子库系统，并按照《中国药典》相关要求完成菌种库的检定。菌种建库过程应符合药品 GMP 规范，同时应有明确来源和批次信息，并有详细记录。
- 5.1.2 质粒的质量应经过检测，包括但不限于：
- a) 纯度：超螺旋型的含量，细菌基因组 DNA、RNA 和蛋白残留量；
 - b) 无菌试验；
 - c) 内毒素试验；
 - d) 酶切鉴定；
 - e) 基因测序；
 - f) 如工艺中使用有潜在危险性的物质，则需做物质残余量的测定。

5.2 非病毒载体制备

非病毒载体(包括但不限于DNA、RNA，蛋白质)应有明确的来源、结构和遗传特性，制备过程应符合药品GMP标准，达到相应质量标准的要求。不得含有支原体、细菌及病毒等其他任何外源因子，内毒素应控制在限定范围内；根据所选择载体类型不同，参见《细胞治疗产品研究与评价技术指导原则》（试

行)、《人基因治疗研究和制剂质量控制技术指导原则》、《人用重组DNA制品质量控制技术指导原则》、《人用单克隆抗体质量控制技术指导原则》等。

5.3 病毒载体制备

5.3.1 病毒包装细胞系应采取种子库系统,建立主细胞库和工作细胞库,并按照《中国药典》相关要求完成细胞库的检定。细胞建库过程应符合药品 GMP 规范,有明确来源和批次信息,并有详细记录。

5.3.2 病毒包装所用细胞系的细胞培养液应成分明确并具有溯源性,使用人或动物源性成分,如血清、胰蛋白酶或其他生物学活性物质,应具有这些成分的来源、批号、质量控制、检测结果和质量保证的相关信息,应不得含有任何病毒等外源因子。

5.3.3 每一批用于转导/转染的病毒应经过检测,包括但不限于:

- a) 鉴别试验;
- b) 复制型病毒(RCR/RCL)检测(生产时的批次和冻存复苏时的批次);
- c) 无菌试验;
- d) 内毒素检测;
- e) 支原体检测;
- f) 残留量测定:应根据生产工艺及成品的添加成份,对有潜在危险性的成份进行残留量检测;
- g) 病毒滴度测定;
- h) 效力试验:插入基因的表达水平测定及生物学活性测定。

5.3.4 应避免病毒载体反复冻融,病毒应储存于合适的环境中并进行稳定性研究,确定使用期限并在有效期限内使用。每批病毒应编制唯一的批号,并建立病毒的出入登记记录制度。

6 CAR-T 细胞制备及质量控制

6.1 T 细胞的采集和分离

6.1.1 制备机构应建立供者采集标准,进行细胞采集应具备相应的资质,应使用全自动血细胞分离机,按单核细胞分离程序,采集外周单个核细胞富集血,在技术上无法实现采集外周血单个核细胞富集血的情况下,可考虑静脉血采集方案。根据制备要求对采集的外周血进行单个核细胞的分离及 T 细胞的分选,并对所分选出的 T 细胞进行活化。

6.1.2 采集管路应使用一次性消耗品,血细胞分离机应定期进行清洁和检测。

6.1.3 在符合洁净级别要求的操作间分离 PBMC,根据工艺要求再进一步确定是否分选特定细胞亚群进行转导/转染,转导/转染前进行细胞计数及细胞存活率测定。

6.1.4 传染性病毒检测阳性患者的 T 细胞应在感染性样本制备区进行细胞分离、培养、收集,完成制备过程。操作完毕应彻底清场、并应验证确认无该次操作残留感染风险物后方可进行后续供者的样品制备。

6.2 CAR-T 细胞制备

6.2.1 样本送达时应附细胞制备申请单,内容包括但不限于:

- a) 患者姓名缩写、筛选号或入组编号或其他唯一识别码;
- b) 患者临床诊断,肿瘤特异性靶点信息;

- c) 实验室检测的结果：血常规及分类、HIV、HCV、HBV、EBV、CMV，HTLV，梅毒、肝肾功能、凝血检测；如果是异体治疗回输，应做 ABO 血型、Rh 血型配型以及 HLA 配型检测；
 - d) 治疗方案：细胞的种类、治疗次数、回输方式等；
 - e) 知情同意书。
- 6.2.2 CAR-T 细胞制剂制备应按照经过验证后批准的操作规程的要求进行，并有相关记录。
- 6.2.3 在感染性样本操作区内，操作人员应穿戴该区域专用的防护服。
- 6.2.4 在细胞培养耗材及培养箱上进行标识，并采取措施避免交叉污染。
- 6.2.5 操作前应检查所领用的包装材料正确无误，核对包装产品和所用包装材料的名称、规格、数量、质量状态，且与操作规程相符。
- 6.2.6 活化 T 细胞所采用的包被抗体或磁珠抗体应符合相关质量要求。
- 6.2.7 细胞转导/转染主要包括非病毒转染和病毒转导两种方式，应确认基因导入系统并对其进行验证，建立关键步骤控制点。
- 6.2.8 细胞扩增过程中每更换一次培养体系应准确计数，应根据质量要求对细胞浓度及培养时间进行调整。
- 6.2.9 CAR-T 制剂的收获分为新鲜剂型和冻存剂型，冻存宜采用全封闭冻存袋的方式，在气相液氮储存环境下储存。
- 6.2.10 每批次细胞培养结束后，应进行清场，制备场所和设备应没有与本次制备有关的物料、产品、记录等遗留。
- 6.2.11 应建立 CAR-T 细胞制剂批号编制规程。每批细胞制剂应编制唯一的批号，并建立出入登记记录制度。
- 6.2.12 应避免出现任何偏离工艺规程或操作规程的偏差，如出现偏差，应按照偏差处理操作规程执行。
- 6.2.13 制备机构应建立 CAR-T 细胞制剂留样操作规程，留样应至少保存至使用结束后三个月。

6.3 CAR-T 细胞制剂的质量控制

- 6.3.1 制备机构应具有 CAR-T 细胞制剂的检测能力，并配备相关专业技术人员和设备，建立制剂质量标准，确立制剂质量检验操作规程，所有检测方法应经过验证。
- 6.3.2 CAR-T 细胞制剂的质量要求：
- a) 应进行无菌试验和支原体检测；
 - b) 应进行内毒素检测；
 - c) 应对细胞存活率和回输数量进行检测；
 - d) 应对终产品中 CAR-T 细胞转导/转染率、免疫表型进行检测；
 - e) 应检测 CAR-T 细胞制剂对特异性肿瘤细胞的杀伤作用；
 - f) 病毒转导/转染后的细胞应进行 RCR/RCL 检测；
 - g) 应进行 CAR-T 细胞的基因拷贝数检查（VCN）；
 - h) 对于在半开放培养后不经冻存，直接回输的 CAR-T 制剂，应加强培养的全过程质量控制，设置合理的取样点，并采用合理的快速检测方法进行质量控制；
 - i) 如果细胞培养基内添加成分可能会对细胞制剂质量或安全性产生影响，应对培养基及其他添加成分残余量进行检测，如细胞因子等；
 - j) 使用磁珠抗体刺激 T 细胞的，应检测制剂中的残余磁珠量。
- 6.3.3 制备机构应在 CAR-T 细胞制剂制备过程中开展质量检测，制剂的检验应由制备机构负责人指定有资质的人员进行。制备机构可以委托有资质的第三方开展相关质量检测。检测结果应有质量负责人或质量授权人签字审核。

6.4 CAR-T 细胞冻存、运输与复苏

6.4.1 制备机构应建立 CAR-T 细胞的冻存和复苏操作规程，在规定的温度范围内储存细胞。应对冻存工艺（包括冻存液和冻存容器等）和复苏工艺进行验证，验证项目宜包括生物学效力、细胞纯度、细胞特性、活细胞数及比率、功能细胞数和安全性相关的内容等。

6.4.2 应建立 CAR-T 细胞制剂运输的标准操作规程，运输方式等应经过验证。

6.5 CAR-T 细胞制剂的放行

6.5.1 制备机构应建立 CAR-T 细胞制剂放行的操作规程，符合质量标准的 CAR-T 细胞制剂由质量管理负责人或质量授权人批准后方可放行。

6.5.2 CAR-T 细胞制剂经放行后方可进行回输。

6.5.3 每批次的 CAR-T 细胞制剂放行检测项目应至少包括：无菌检测、支原体检测、内毒素检测、细胞存活率、细胞数量、非 T 细胞表型、效应细胞比率、CAR 转导/转染效率、CAR 基因拷贝数、复制型病毒以及可能的毒性物质残留等。

6.5.4 如 CAR-T 细胞制剂制备后需立即进行回输，可采用经过验证的快速检测方法。但应建立规程，规定采用快速检测方法放行后，使用现行通用检测方法检验出现不合格结果时采取的措施。

7 追溯

7.1 应建立完整的细胞制备记录系统、标识标签系统和免疫细胞制剂编码系统，以便于 CAR-T 细胞制剂的辨识并防止制剂混杂。记录和标识应遵循相关法律和规范的要求。

7.2 细胞制备记录包括每天的细胞状况，细胞数量，转导/转染条件，细胞因子浓度等具体信息。标识系统应记录患者信息、细胞制剂名称、批号、收获日期及时间、规格（细胞数量/体积）、储存条件、效期等。

7.3 每个患者的信息和操作全过程应双人复核。

7.4 每份 CAR-T 细胞制剂应编制唯一的编码。编码应能追溯到患者信息以及该细胞制剂操作和最终处理的所有记录。应建立相关程序保证新旧编码能够关联。

7.5 转移和运输记录应能追溯 CAR-T 细胞制剂从一个机构到另一个机构的流转过程。转移和运输记录应包括：CAR-T 细胞制剂发放和接收的日期和时间、运输过程中的任何延误或其他突发状况引起的问题及相应的处置记录。

7.6 制备机构应建立不良反应报告和收集制度，在对不良反应进行分析时，应能追溯到所使用 CAR-T 细胞制剂制备的相关记录。

8 保密

应采取措施，防止病人的隐私信息被泄露。

参 考 文 献

- [1] 《药品生产质量管理规范》(卫生部令第79号)
 - [2] 食品药品监管总局, 细胞治疗产品研究与评价技术指导原则, 2017.
 - [3] 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, 中国药事, 2018, 32(6): 829-852.
-