**嵌合抗原受體（Chimeric Antigen Receptor,
CAR）T 細胞製劑研發策略基準**

衛生福利部食品藥物管理署

中華民國 113 年 2 月

目錄

第一章	總則	3
壹、	前言	3
貳、	適用範圍	3
第二章	化學製造與管制研發考量	5
壹、	載體製造和測試	5
貳、	細胞起始原料的收集、處理和測試	6
參、	CAR T細胞的製造和測試	7
一、	CAR T細胞的製程管制	7
二、	CAR T細胞分析測試	8
三、	CAR T細胞的標示	10
肆、	CAR T細胞製劑生命週期期間之製造變更管理和可比性試驗評估	11
一、	變更管理	11
二、	可比性研究設計	12
伍、	單一場所或多場所製造	13
一、	單一場所製造	13
二、	多場所製造	13
三、	多場所測試	13
第三章	非臨床研發考量	15
壹、	轉殖基因及其靶向目標	15
貳、	細胞部分	16
參、	CAR T細胞之體內試驗	17
肆、	額外修飾之非臨床考量	18
第四章	臨床研發考量	19
壹、	研究族群	19
一、	晚期與早期疾病階段	19
二、	組織不定性 (Tissue-agnostic) 方法	20
三、	標的識別 (Target identification)	20
四、	兒童受試者	21

貳、 治療計畫.....	21
一、 劑量選擇、起始劑量和劑量遞增.....	21
二、 重複劑量.....	22
三、 錯開治療 (Staggering).....	23
四、 製造延遲或失敗的考量.....	23
五、 橋接治療 (Bridging therapy).....	24
參、 臨床藥理學考量.....	25
一、 藥物動力學.....	25
二、 藥效學.....	26
三、 免疫原性.....	26
肆、 安全性評估和監測.....	27
一、 臨床監測.....	27
二、 毒性分級.....	28
三、 劑量限制毒性 (DLT)、停止規則和歸因 (attribution).....	28
伍、 CAR T細胞持久性和長期追蹤.....	30
陸、 異體 CAR T細胞.....	30
參考文獻.....	32

第一章 總則

壹、前言

嵌合抗原受體（chimeric antigen receptor, CAR）T 細胞製劑為人類基因治療製劑，其 T 細胞的特異性經過基因修飾，使之能辨識特定的標的抗原以達到治療目的。

我國將 CAR T 細胞列為人類基因治療製劑管理，考量 CAR T 細胞的研發、製造、檢測和臨床評估均有其挑戰性，爰制定本基準，旨在協助產業界和學術界的研發者進行 CAR T 細胞製劑之研發。在本基準中，會針對 CAR T 細胞關於化學製造與管制（chemistry, manufacturing and control, CMC）、藥理學和毒理學及臨床試驗設計各面向之研發考量進行說明。此外，本基準亦針對自體或異體 CAR T 細胞製劑，及 CAR T 細胞製劑的分析可比性研究（analytical comparability studies）提供建議。

本基準所述之 CMC、藥理、毒理和臨床部分之研發考量僅代表中央主管機關目前對 CAR T 細胞製劑之研發建議，若有任何符合法規之替代方法或科學證據，仍可檢具資料向中央主管機關提出個案討論，另外中央主管機關亦保留額外要求技術性資料之權利。

執行人類 CAR T 細胞臨床試驗另應符合醫療法、藥事法、人體試驗管理辦法、藥品優良臨床試驗作業準則及人類基因治療製劑臨床試驗審查基準等相關規定。

貳、適用範圍

雖本基準特別著重於 CAR T 細胞製劑，但許多資訊和建議也適用其他經過基因修飾的免疫細胞治療製劑，例如 CAR 自然殺手細胞（Natural killer, NK）或 T 細胞受體修飾 T 細胞（T cell receptor-

modified T cells)。這些相關的製劑類型為高度專業化，根據特定製劑和製程，在有些情況下可能會有超出本基準所建議的額外考量。

第二章 化學製造與管制研發考量

建議研發者依據通用技術文件（Common Technical Document）格式將化學製造與管制資料整理為原料藥（drug substance）章節和成品（drug product）章節。當使用原料藥和成品之間沒有明確劃分的連續過程製造 CAR T 細胞時，建議在通用技術文件模組 2 的摘要資訊中說明區別原料藥與成品之依據。

壹、載體製造和測試

載體品質直接關係到 CAR T 細胞的品質和一致性。建議研發者描述載體結構（vector structure）、主細胞庫和工作細胞庫（master and working cell banks）的特性分析和測試、對照物質（reference materials）的特性分析、載體製造和測試，以及載體安定性。載體批次放行測試應包含安全性、鑑別、純度和效價的測定。評估轉殖基因生物活性（biological activity）的效價測定可與 CAR T 細胞效價分析一起開發。早期臨床試驗可以轉殖基因表現作為效價測定標準，然而，對於旨在提供有效性的主要證據以支持上市申請的臨床試驗，可能需要額外的生物效價（biological potency）測定。

此外，建議載體批次放行測試包括確定載體濃度的測定，該濃度可用於標準化 CAR T 細胞製造過程中用於轉導的載體量。例如，建議在適當的細胞株或健康捐贈者細胞中測試病毒載體的每毫升轉導單位（transducing units per milliliter）。隨後，可以將 T 細胞轉導最佳化，確定每個細胞添加的載體量，以達成 CAR T 細胞成品中 CAR 陽性細胞（CAR-positive cells）的目標百分比。

載體安全性測試應納入微生物測試，例如無菌性、黴漿菌、內

毒素與外來病原測試，以確保CAR T細胞成品不會受到危害。根據所使用的轉殖基因載體類型可能需要額外的測試。

貳、細胞起始原料的收集、處理和測試

本章節以從白血球分離術（leukapheresis）取得的細胞起始原料為例，說明對於細胞起始原料的考量。本章節中的建議也可適用於其他類型的細胞起始原料。

建議對處理白血球分離術起始原料從採集到製程開始的階段進行描述，且該描述應包括所有清洗步驟和冷凍保存程序。並應制定適當的程序，以確保運送至製造設施期間對白血球分離術起始原料的適當管制（例如溫度管制），且應提供關於運送容器和溫度監測的資訊。

透過建立用於 CAR T 細胞製造的白血球分離術起始原料的允收標準，可提高製造成功的機率。例如，規定最小細胞數、存活率和 CD3⁺ 細胞百分比。建議在開始 CAR T 細胞製造之前測試白血球分離術起始原料是否有微生物污染（例如無菌性或負荷菌/生物負荷量 [bioburden]），或者保留檢品，在成品無菌性測試失敗的情況下，可進行事後測試。

自體白血球分離術起始原料無須進行捐贈者合適性判定，同種異體白血球分離術起始原料則須進行捐贈者合適性判定，相關內容請參考「人類細胞治療製劑捐贈者合適性判定基準」。

參、CAR T 細胞的製造和測試

一、CAR T 細胞的製程管制

建議對製程進行良好的管制，包括使用物料的品質、關鍵製程參數（critical process parameters）的製程中管制、製程中試驗（in-process testing），以及中間產物和最終製劑的關鍵品質屬性（critical quality attributes）測試。

CAR T 細胞製造通常需要特定的輔助材料（ancillary materials），包含篩選試劑（selection reagents）、活化試劑（activation reagents）、抗體、細胞激素、血清和生長因子。此類物料的安全性和品質可能因來源或供應商等因素而有很大差異。建議人類或動物來源的成分不是源自有潛在病毒和／或傳染性海綿狀腦病（transmissible spongiform encephalopathy）病原污染的地理區域，且對該成分進行適當的外來病原測試。試劑批次間變異性和安定性也可能造成問題。建議透過檢疫（quarantine）、檢驗成績書（Certificate of Analysis）和原產地證明書（Certificate of Origin）評估、外觀檢查（visual inspection）等，對輔助材料的品質、安全性和效價進行認證。必要時可能需要進行額外的檢測，以確保該輔助材料之品質。

在整個開發過程中，應鑑別關鍵製程參數並用來建立製程中管制。範例包括：

- (一)在活化階段使用固定的磁珠：細胞比率。
- (二)每個細胞使用固定的載體數量（例如病毒載體的固定病毒感染劑量 [multiplicity of infection]）和使用固定基因轉移時間。
- (三)使用固定的電穿孔設定（electroporation settings）。
- (四)監測培養中的細胞擴增，並透過添加培養基來維持最佳的細胞密度。

在適宜的時間點進行適當的製程中試驗對於製程管制相當重要。CAR T 細胞的製程中試驗通常是評估多重參數（例如存活率、細胞數、細胞表現型、CAR 表現）。

建議進行 CAR T 細胞的安定性研究，以支持貯留（hold）和儲存時間。如果規劃投予新鮮的 CAR T 細胞，建議提供最終配方調製和細胞投予之間的預期貯留時間的安定性資料。從健康捐贈者物料製造的製劑可能無法準確代表自體 CAR T 細胞的安定性，因此，建議將從病患物料製造的製劑納入安定性研究中。

二、 CAR T 細胞分析測試

CAR T 細胞的分析測試對於確保試驗製劑的安全性、鑑別、純度和強度（strength）（包含效價）是必要的。建議研發者在早期 CAR T 細胞開發階段著手進行分析方法的開發，並使用各種方法來分析其製劑特性。

（一）流式細胞技術（Flow cytometry）

流式細胞技術可在整個製程中評估多重 CAR T 細胞屬性（例如細胞存活率、鑑別、純度和強度）。

1. 建議在初次臨床試驗申請送件時提供以下資料：

(1) 測定法的描述。包含流式細胞技術抗體組，以及用來定義每個偵測到的細胞群之框選策略（gating strategy）。活／死細胞染色應納入流式細胞技術檢測中。建議收集最終製劑中細胞群相關的資訊，包含預期不具有治療效果的細胞群（例如殘餘腫瘤細胞 [若適用]）。

(2) 有關儀器校準和品質管制的資訊。以確保結果的準確度。

- (3) 測定管制 (assay controls) 列表。管制可能包含：用於計算補償值的單一染色補償管制、用於確定次要細胞群螢光分布和框選邊界的螢光減一 (fluorescence minus one) 管制以及用於鑑別非特異性結合的同型管制 (isotype controls)。
2. 建議直接偵測 CAR，以確定 CAR 陽性細胞的百分比。如果透過替代蛋白質表現 (例如偵測共同表現基因) 或其他廣泛特異性試劑 (例如蛋白質 L [protein L]) 來檢測 CAR，則應證明其與 CAR 表現的相關性。另應證明替代蛋白質的靈敏度與專一性。
 3. 必須進行批次放行流式細胞技術測定的完整確效研究 (validation study)，以支持上市許可申請。確效研究應根據國際藥品法規協和會 (International Conference on Harmonisation, ICH) Q2 進行。耐變性研究 (robustness studies) 應包含定義檢品在染色前和在染色與獲取之間最大的貯留時間。應有所有操作人員的訓練紀錄。

(二) 載體拷貝數目

轉殖基因的嵌入可能會改變細胞基因表現，並且造成致瘤性。如果載體系統引導轉殖基因嵌入，應確定每個 CAR 陽性細胞的嵌入平均數，通常稱載體拷貝數目 (vector copy number, VCN)，並在每批的檢驗成績書提供檢測結果。建議優化轉導過程以管制 VCN。

在沒有延長培養的情況下製造的 CAR T 細胞，於批次放行測試時確定穩定嵌入的 VCN 可能相當困難。在這個情況下，可能需要在批次放行時對 CAR T 細胞之 VCN 先行做評估，並

對繼續培養的 CAR T 細胞進行後續 VCN 評估，以確定穩定嵌入的 VCN。應有關於 VCN 測試的時間點之合理性及嵌入穩定性相關支持性證據。

(三) 鑑別 (Identity)

鑑別測試應充分地鑑別製劑，將其與同一設施中的其他製劑加以區別。建議 CAR T 細胞的鑑別測試，應包括轉殖基因存在的測定（例如以流式細胞技術分析 CAR 表現或以 PCR 進行基因檢測），以及最終製劑細胞組成的測定（例如細胞表面標記 [cell surface markers]）。

(四) 效價 (Potency)

載體和 CAR T 細胞成品的效價皆必須測試。由於 CAR T 細胞可藉由多重機制殺死標的細胞，建議採用矩陣法 (matrix approach) 測量效價。

如果 CAR T 細胞表現多重轉殖基因元件，應測量每個功能元件的活性，除此之外，在合適的情況下，測量所有功能元件的累積協同活性。

三、 CAR T 細胞的標示

從自體起始原料製造的 CAR T 細胞必須標示「僅供自體使用」。

若自體起始原料所進行的捐贈者測試和篩選未完全符合「人類細胞治療製劑捐贈者合適性判定基準」，自體 CAR T 細胞標籤必須註明「未對感染性物質進行評估」。若已進行其他適用的篩選和測試，且篩選或測試結果顯示存在相關傳染性疾病病原和／或風險因子，或相關傳染性疾病病原或疾病的臨床證據，CAR T 細胞應標示：「警告：（疾病病原或疾病名稱）的反應性測試結果」。

肆、CAR T 細胞製劑生命週期期間之製造變更管理和可比性試驗評估

當計劃進行變更時，建議研發者考量下列事項：

對於載體製程的重大變更（例如從貼附培養變更為懸浮培養）應透過可比性研究（comparability studies）來支持。由於載體在 CAR T 細胞活性中的重要作用，應評估該類變更對載體和 CAR T 細胞的影響。研究應包括載體變更前和變更後的同步分析（side-by-side analyses）。此外，應透過使用相同的細胞起始原料（例如將來自同一捐贈者的白血球分離起始原料分為兩個部分）進行同步分析，以評估使用變更前和變更後載體所製造的 CAR T 細胞之可比性。

可比性評估的複雜程度可能因 CAR T 細胞製程的變更程度而異。舉例來說，用於製造 CAR T 細胞培養基體積的微小變更通常可以細胞存活率和擴增資料支持其可比性。但是，對於培養基中生長因子或補充物（supplements）的濃度或類型之變更，則應進行更穩健的（robust）可比性研究。

當 CAR T 細胞或載體製造設施（manufacturing facility）變更，應評估製造設施之間的可比性。

一、變更管理

在實施任何變更之前，應評估其對製劑品質和安全性之潛在影響的風險。此風險評估應根據非用於投予病患的開發批次所產生的實驗資料，並提供是否需要分析可比性研究的資訊。另外，製劑開發階段可能會影響是否需要分析可比性研究，對於要在早期開發階段實施的變更，主要的考量應為避免對製劑安全性的負面影響。然

而，當考慮在較晚期的開發階段進行變更時，應評估變更對安全性和有效性的影響。CAR T 細胞變更前和變更後的分析可比性，可按照 ICH Q5E 中所描述的一般性原則進行評估。

二、可比性研究設計

建議可比性研究設計包括合理說明所提出的測定法，適合偵測變更對製劑安全性和有效性的潛在影響。即使變更後所製造的製劑可滿足當前的批次放行標準，通常還是不足以建立可比性。可比性研究應使用適當的統計方法，並根據經證明為安全有效的批次所預設之允收標準進行分析。

以早期製劑特性分析建立關鍵品質屬性有助於設計可比性研究。在整個 CAR T 細胞開發期間使用各種特性分析方法可以更加了解製劑，並支持可能受到擬變更所影響的品質屬性之評估。例如，可能提出變更改用於 CAR T 細胞培養的細胞激素，以改變細胞擴增率；然而，這項變更也可能影響細胞亞群和活化狀態。因此，除了那些通常用於批次放行測試的特性，應監測各種製劑屬性，包括細胞表面標記。

某些 CAR T 細胞屬性與細胞起始原料的屬性有本質上的連結。由於自體 CAR T 細胞的細胞起始原料具內在變異性，使用歷史批次來評估可比性可能不適當，建議盡可能使用相同細胞起始原料，並通過同步測試來評估 CAR T 細胞可比性。例如，來自相同捐贈者的白血球分離術起始原料可分為兩個部分，一部分利用變更前製程製造製劑，而另一部分用變更後製程製造製劑。在某些情況下，可適當地使用源自健康捐贈者的 CAR T 細胞進行可比性研究。然而，如果無法從健康捐贈者製造的製劑充分評估自體 CAR T 細胞的製劑可比性，則應將從病患細胞起始原料製造的 CAR T 細胞納入可比性研

究評估。

伍、單一場所或多場所製造

一、單一場所製造

單一場所製造可減少因設施之間的差異而導致製劑變異的可能性。然而，細胞起始原料、最終 CAR T 細胞和測試檢品的冷凍保存及裝運可能存在物流問題。

二、多場所製造

同類型的 CAR T 細胞可以在數個設施製造。多場所製造可能縮短自體製劑從採集細胞起始原料到細胞投予的的時程，然而，製造設施之間的差異可能造成製劑變異，故應證明在每個場所都能製造具可比性的製劑，以支持臨床試驗結果的分析。在適用的情況下，研發者也應證明不同場所的分析方法具可比性。

建議盡可能在各製造設施使用相同的標準作業程序（standard operating procedures）、培訓、試劑和設備，並在臨床試驗申請中描述製造場所間製程的任何差異。

定義製劑品質屬性的允收標準將有助於支持跨製造場所生產類似製劑。建議最好在每個場所對使用的相同細胞起始原料進行驗證，以證明各場所製造的製劑之間具分析可比性，並提供用來測試的方法列表，以及用來證明分析可比性的預設允收標準。在評估多個製造場所之間的分析可比性時，建議確定一個參考場所，將所有場所與其進行比較。

三、多場所測試

建議使用測定轉移計畫書（assay transfer protocol），以確保在每個場所執行的非藥典檢測適合預期目的，且在所有測試場所之間具有再現性。

建議盡可能於測試設施中使用相同的標準作業程序、試劑和設備。在可能的情況下，應使用標準物料在多個場所校準設備，使儀器之間達成一致。關於藥典分析方法，不需要證明跨測試場所之間的再現性，然而，應確認每個場所能進行預期的測試。

第三章 非臨床研發考量

CAR T 製劑為一種基因治療製劑。本章僅說明 CAR T 製劑特有之非臨床法規考量；而關於基因治療製劑之完整法規要求，請參照「人類基因治療製劑臨床試驗審查基準」。

壹、轉殖基因及其靶向目標

申請者應提供抗原辨識區域（antigen recognition domain）的非臨床評估資料，其中應包含對於靶向目標（on-target）的特異性和親和性之評估，以說明潛在的 (1) 腫瘤外之靶向目標毒性（on-target/off-tumor toxicity）以及 (2) 脫靶毒性（off-target toxicity）；前述 2 類毒性可能可以使用體外（in vitro）與體內（in vivo）試驗評估之，例如：(1) 使用具有相同抗原辨識區域的單株抗體或融合蛋白之組織交叉反應試驗（tissue cross-reactivity study）、(2) 使用可代表各種器官／組織的人類初代細胞、細胞株或誘導多能性幹細胞（induced pluripotent stem cell）衍生之檢測系統等進行細胞毒性測試、(3) 蛋白質陣列（array）以及 (4) 相關動物模式。若申請者可提出具有相同抗原辨識區域的 CAR 或單株抗體之臨床經驗且其相關資料充足時，則可能可以減免額外的特異性與結合力試驗。

申請者應提供靶向目標的相關特性與資訊，以利了解 CAR T 製劑之安全性。例如：靶向目標的先前臨床經驗、以及其組織表現概況可提供 CAR T 製劑潛在腫瘤外之靶向目標的支持性資訊。然而，即使抗原辨識區域是針對先前 CAR T 細胞相同的靶向目標進行設計，只要抗原辨識區域不完全相同，仍可能會呈現不同的安全性概況和毒性風險。此外，不同的抗原辨識區域可能對靶向目標具有不同之

親和力或辨認靶向目標上的不同位點，這些情況均應提供非臨床評估資料。另外，即便 CAR T 細胞及單株抗體的單鏈可變區片段（single-chain variable fragment, scFv）均相同，仍可能因為製劑之間固有特性之差異（例如：CAR T 細胞之移動或擴增能力、產生細胞激素、誘導細胞毒性和持續等），而使其相同 scFv 之 CAR T 細胞及單株抗體所呈現之安全性概況有所差異；因此，即便 CAR T 製劑符合此情境，申請者仍應提供相關的評估資料。

申請者應探討 CAR T 細胞是否具有不依賴細胞激素生長及不受控增殖的潛力。此外，申請者應呈現 CAR T 細胞分泌細胞激素的能力以及介導細胞溶解的能力僅出現在抗原存在的情況之下；這可以透過將 CAR T 細胞暴露於靶向抗原表現情形不同之各種細胞進行測試。跨膜區域（transmembrane domain）和鉸鏈區（hinge region）也可能會影響 CAR T 細胞的安全性和活性，這些區域可能會透過影響抗原辨識區域的靈活性來影響針對靶向目標之活性以及脫靶活化。因此，申請者應評估這些區域對療效與安全性的潛在影響。這些製劑特性的完整評估與鑑別，可以藉由評估抗原依賴活性和非抗原依賴活性的體外與體內試驗來達成。

貳、細胞部分

潛在的不受控增殖和毒性可能依細胞來源及受轉導的細胞而異，因此，申請者應提供的相關非臨床評估可能包含：非細胞激素依賴之細胞生長測試、T 細胞株特性（clonality）之體外／體內測試、核型分析、T細胞受體組庫（repertoire）分析以及透過離體（ex vivo）刺激和識別試驗測定對病毒抗原之特異性。

針對異體 CAR T 細胞，申請者應提供資料（例如，混合淋巴細

胞反應 [mixed lymphocyte reaction]、HLA 分型) 以說明移植物抗宿主 (graft-versus-host) 反應或宿主排斥 CAR T 細胞等之潛在疑慮。若是為了將異體反應性降到最低而使用基因體編輯技術，則可能須執行額外的非臨床試驗 (詳如本章第肆節)。

參、CAR T 細胞之體內試驗

動物模式是有助於呈現 CAR T 細胞功能性的概念驗證資料。雖然動物模式有許多源自於 CAR T 細胞和腫瘤標的之物種特異性、異種急性移植物抗宿主反應以及在動物中難以對人類免疫反應建模等之限制；然而，在小鼠異種移植模式的體內測試 (即，在人類腫瘤異種移植小鼠模式中給予的人類 CAR T 細胞) 可提供 CAR T 細胞移動運輸和增殖特性資訊。若無合理之科學性解釋，申請者應提供此小鼠異種移植模式之試驗資料。

如果具代表性之替代製劑 (surrogate product) 是可得的，同物種 (syngeneic) 的腫瘤動物模式可提供關於 CAR T 替代製劑與完整宿主免疫系統的交互作用，以及潛在腫瘤外靶向目標毒性的資訊。申請者應提供資料以支持所選用動物模式之合適性，例如抗原辨識區域對於人類和動物靶向目標之結合親和性，以及所選用動物物種的靶向抗原表現概況等。此外，分析 CAR T 細胞的行為特性，例如依賴靶向目標之活化／增殖和抗腫瘤反應 (例如腫瘤大小、動物存活率) 等，可做為在人體進行臨床試驗之支持性依據。

鑑於 CAR T 細胞的性質，預期在體內會有不同的擴增程度，因此，通常不會僅依靠動物試驗來決定臨床試驗之起始劑量。類似 CAR T 製劑的先前臨床經驗，時常可提供在特定受試者族群中之起始劑量、劑量遞增方式以及給藥方案等資訊。

肆、額外修飾之非臨床考量

為了評估特定基因序列的功能性以及製劑的安全性，申請者可能需要針對新穎的輔助分子和基因修飾進行額外的非臨床測試，例如：(1) 若製劑經過額外修飾的目的是為了降低移植物對抗宿主疾病之風險及對抗異體製劑之免疫反應，混合淋巴細胞反應可提供評估該製劑免疫原性之相關資訊、(2) 若額外修飾影響了 CAR T 細胞持續性，則可透過不依賴細胞激素的生長測試或經適當設計的體內試驗來進行評估。若有嵌入自殺基因，申請者應提供適當的非臨床試驗證明自殺基因之功能，且確認誘導 CAR T 細胞清除之關鍵額外藥品的給藥條件。

用來定義 CAR T 細胞安全性和活性的參數為多重因素，包含：(1) 載體構築之設計（例如：抗原辨識區域、訊息傳遞區域、跨膜區域以及鉸鏈區域）、(2) 載體傳遞方式、(3) 細胞來源、(4) 操作流程（例如：細胞活化、細胞選擇）、(5) 生物活性（例如：細胞激素表現概況、細胞毒性、細胞增殖）以及 (6) 新穎基因序列的加入（例如：自殺基因以及免疫調節分子基因）。申請者應使用如本章所述之多種測試策略的組合進行全面性的非臨床試驗規劃。

第四章 臨床研發考量

本章節描述對癌症病人（血液惡性腫瘤和實體腫瘤）的 CAR T 細胞早期研發階段的臨床考量。早期階段臨床試驗的主要目的應為安全性評估，其他目的可能包含決定最佳劑量、藥物動力學/藥效學研究、臨床活性或療效評估、對將來用以研究療效和安全性之臨床研究選擇適當的族群，或其他科學性目的。

壹、研究族群

研究族群的選擇應考量研究受試者的預期風險和潛在效益，以確保整體研究效益大於風險。

一、晚期與早期疾病階段

CAR T 細胞已知與重要的毒性有所關聯，特別是細胞激素釋放症候群（cytokines release syndrome, CRS）和神經毒性（Immune effector cell-associated neurotoxicity syndrome, ICANS）。在某些狀況下，這些毒性是可能會威脅生命和致命的。因此，在定義研究族群時，應在潛在效益、疾病階段和其他可獲得治療的整體情況下考量這些毒性。

在早期階段試驗中，應考量納入患有嚴重或晚期疾病、對現有醫學治療沒有反應或不具有其他可接受治療選項的受試者。若計畫納入這些受試者，試驗設計應包括用來確保每位受試者的治療選項已經過充分評估的程序，且臨床計畫書應描述關於先前治療相關之資訊和措施，以及納入這些受試者的合理性。

然而，對患有早期疾病且尚有可治療選擇的受試者，首次人體

(first-in-human, FIH) CAR T 細胞治療的未知益處，可能無法證明與治療相關的風險是合理的。對任何臨床試驗申請之送件，均應對擬定的研究族群提供合理性之論述與理論依據，且受試者同意書中必須描述與該試驗相關的風險。

二、 組織不定性 (Tissue-agnostic) 方法

CAR T 細胞是標定於一項 (或多項) 由癌細胞所表現的特異性抗原，且不分癌症種類。納入患有不同癌症種類但具有共同標的抗原 (例如組織不定性方法) 受試者的早期階段試驗，可能面臨評估療效和毒性範圍的挑戰。受試者潛在共病症的差異、既有腫瘤負荷量對毒性的影響及不同的劑量反應關係，均可能會使早期階段試驗在評估毒性和劑量的目的上存在挑戰。若計畫使用組織不定性方法研發一項用來治療超過一種癌症種類的製劑，可採用一項將受試者依疾病種類分配至不同群體 (cohort) 的早期階段試驗，並透過在這些群體中的平行劑量遞增來評估劑量反應關係和毒性嚴重度。在臨床試驗申請送件中應包含對擬定的試驗設計和分析之合理性論述。

三、 標的識別 (Target identification)

CAR T 細胞的抗腫瘤作用取決於 CAR 與癌細胞上表現之同源抗原 (cognate antigen) 的結合，因此納入腫瘤上表現有 CAR T 細胞標的抗原之病人是必須的。除非抗原是在幾乎所有腫瘤細胞上表現，例如 B 細胞惡性腫瘤中的 CD19 表現，且可藉由已上市的市售檢測法來進行偵測，否則該類偵測抗原的檢測法通常將視為伴隨診斷檢測法 (companion diagnostic test)。在這些情況下，建議在臨床試驗計畫書中納入這些檢測法的詳細說明。

四、 兒童受試者

某些 CAR T 細胞是特別為兒童疾病所研發，應考量如何在整體研發計畫的臨床研究中對兒童受試者提供額外的安全保障。兒童適應症的臨床研發計畫通常在研究開始之前需先取得成人的初始安全性和耐受性資料。其他有關在基因治療中納入兒科受試者的額外建議，請參照「人類基因治療製劑臨床試驗審查基準」。

貳、 治療計畫

一、 劑量選擇、起始劑量和劑量遞增

(一) 劑量選擇

CAR T 細胞的劑量選擇複雜，需要考量數個因素。

轉導 (transduction) 效率可能因批次而異，造成轉導細胞的百分比變化。即便是給予相同的總劑量，這個變化可能導致不同受試者的活性細胞劑量存在重大差異。在理想情況下，製造者應努力控制轉導過程中的變異性；然而，即便使用一致的製程，仍預期會發生轉導效率的變異。為了減少給予劑量中的這類變異性，建議 CAR T 細胞的劑量級別 (dose level) 應基於製劑中的轉導 CAR T 細胞數，而非總細胞數。除了轉導效率之外，決定劑量時應考量的其他因素尚包含給予受試者的細胞總數和細胞存活率。

(二) 起始劑量

若有可用的動物或體外資料，可能有充分的資訊可用來決定特定的起始劑量是否具有可接受程度的風險。然而，鑑於 CAR T 細胞的性質，預期在體內會有不同的擴增程度，因此，通常不會僅依靠動物試驗來決定臨床試驗之起始劑量。若有先前的

CAR T 細胞臨床經驗，即便是用於不同疾病，也可能支持臨床起始劑量的合理性。惟使用這類方法對起始劑量進行外推估計時應謹慎，因為 CAR T 細胞的體內行為可能因疾病、抗原量、試驗族群和 CAR 的結構而有所不同。此外，治療前的淋巴細胞清除性化療（pre-conditioning lymphodepletion regimen）之選擇亦可能會影響 CAR T 細胞在體內的增殖，因此在選擇 CAR T 細胞劑量時應多加考慮。

（三）劑量遞增

CAR T 細胞的臨床研發經常包含以半對數（大約三倍）增量的劑量遞增研究。然而，劑量遞增的增加量應考量劑量改變之相關風險和活性的非臨床和任何可用的臨床資訊。臨床試驗計畫書應提供劑量遞增和遞減的明確條件；具體而言，臨床試驗計畫書應包含劑量限制毒性（dose-limiting toxicities, DLT）的詳細定義，及任何不被認為是 DLT 的毒性之免除理由。大部分的 CAR T 細胞毒性被認為與大量細胞激素的快速釋放有關（導致 CRS），且可能與 CAR T 細胞的活化狀態相關，而這可由體內腫瘤抗原濃度（腫瘤負荷量）來驅動。由於腫瘤負荷量因受試者而異，對一名低腫瘤負荷量受試者的安全劑量，此相同劑量可能對另一位較高腫瘤負荷量受試者造成相當大的毒性。因此，單一病患群體、病患內劑量遞增（intra-patient dose escalation）和連續再評估方法（continual reassessment methods, CRM）通常不適用於 FIH CAR T 細胞劑量遞增試驗。

二、重複劑量

CAR T 細胞可在受試者體內持續存在，或具有延長的活性持續時間。因此，在初步了解製劑的活性持續時間和毒性之前，重複劑

量可能導致不必要或無法接受的風險。此外，在 CAR T 細胞輸注之前給予的淋巴細胞清除治療具有骨髓抑制性，在重複或分次進行 CAR T 細胞給藥的狀況下，額外的淋巴細胞清除可能會對受試者帶來威脅生命的骨髓根除（myeloablation）風險。因此，大部分的 CAR T 細胞臨床試驗採用單一給藥劑量或一次性給藥療程。對任何重複劑量或分次給藥，應提供合理性論述及用以降低上述風險的策略。

三、 錯開治療（Staggering）

缺乏先前人類使用特定 CAR T 細胞或相關製劑的經驗時，同時治療多名受試者可能會有無法預期的風險。為了解決這個問題，應考慮錯開治療以限制在同一群體中可能暴露於風險的受試者數目，後續再將不同群體的治療時間錯開。群體內或群體之間的交錯間隔：

- (1) 須足夠長，使得在使用相同劑量治療額外受試者之前，或在增加後續受試者的治療劑量之前，能夠監測急性和亞急性不良事件；
- (2) 應考量在動物研究和先前人類使用相關製劑的經驗中，觀察到的急性和亞急性不良事件的時間進程；
- (3) 應考量預期的製劑活性持續時間；及
- (4) 其安排在整體研發時程表中是可行的。

四、 製造延遲或失敗的考量

每個臨床試驗受試者的自體 CAR T 細胞是單獨製造的，且這個製造過程可能需要花費好幾週時間。在這段期間，受試者可能發生疾病進展或病情惡化，且不再符合計畫給藥時的預設資格條件。為了減少受試者變為不符合臨床試驗資格的風險，納入臨床試驗條件須包含：提高當製劑製造過程完成時，受試者仍符合臨床試驗資格可能性的因子；或者，在試驗中另外訂出製劑給藥時需要符合的單

獨條件（即與試驗納入條件不同）。

在某些情況下，可能會發生製造失敗導致特定的受試者無法取得製劑。因此，從早期階段臨床試驗中了解製造失敗的可能原因，及任何可能與該類失敗相關的受試者因子（例如可預測細胞收集不良的受試者特徵）是相當重要的。這些資訊有利於後續試驗的設計，例如修改受試者選擇條件以降低失敗的機率，或訂定正式的製造失敗緊急應變計畫以加速制定治療療程。

為了降低受試者承受與製劑相關（例如製造）的治療失敗風險，計畫書應設計為使受試者在知道製劑可用之前，不用承諾接受高風險的淋巴細胞清除治療。計畫書也應清楚地指明是否將透過另一輪製造重新嘗試治療，以及未接受治療的受試者是否會以額外納入之受試者取代。未成功接受治療可作為一部分用以評估可行性的重要試驗指標，且應有計畫去分析未成功接受治療的受試者比例，尋找可能預測未成功給藥的因素，並評估受試者未成功接受治療的結果。

五、 橋接治療（Bridging therapy）

製造延遲或失敗可能會促使研究者在受試者等待 CAR T 細胞製造時，使用「橋接治療」以嘗試減輕潛在疾病。然而，這類橋接治療可能會干擾後續 CAR T 細胞治療效果的評估，因為要辨認觀察到的腫瘤反應是源自於先前的橋接治療、或源自於 CAR T 治療，或甚至源自於兩者，是相當困難的。此外，缺乏標準化的橋接治療可能進一步使 CAR T 細胞臨床試驗結果的解讀更為複雜。儘管研發者應優化製程以避免延遲 CAR T 細胞給藥，但仍可能存在需要給予橋接治療的情況。為了幫助了解任何橋接治療對整體試驗結果解讀的影響，研發者應對下列族群進行單獨的預設分析：(1) 所有受試者；(2) 接受先前橋接治療的受試者；和 (3) 未接受先前橋接治療的受試者。

參、臨床藥理學考量

CAR T 細胞臨床藥理學評估包含藥物動力學 (pharmacokinetic, PK) (暴露)、藥效學 (pharmacodynamic, PD) (反應) 和免疫原性研究。PK 和 PD 評估對決定藥品安全性和有效性提供重要的資訊。免疫原性研究則可用以評估人體對 CAR T 細胞之免疫反應可能造成的潛在風險。

一、藥物動力學

CAR T 細胞是給藥後能增殖 (proliferation) 的活藥物。因此，傳統的吸收 (absorption)、分布 (distribution)、代謝 (metabolism) 和排除 (elimination) (ADME) 標準無法應用在 CAR T 細胞的藥物動力學模型中。給藥後，CAR T 細胞會擴增 (expansion) 並持續存在於人體中。人體樣本例如血液和骨髓樣本，應按照特定的時程表收集，以監測體內 CAR T 細胞的持久性 (persistence) 和增殖。針對全身性暴露，研發者應安排足夠的採樣時間點來收集血液樣本，以得到 CAR T 細胞濃度-時間曲線，及下列與 CAR T 細胞擴增和持久性相關的 PK 量測資料：暴露峰值 (peak exposure, C_{max})、達到暴露峰值的時間 (time to reach peak exposure, T_{max})、曲線下部分面積 (partial area under the curve, pAUC)、最後觀察到的濃度 (last observed concentration, C_{last})、 C_{last} 的時間 (time of C_{last}) 和終末半衰期 (terminal half-life, $t_{1/2}$)。部分暴露 (pAUC) 可用於暴露和療效和/或安全性的相關性分析。為了評估可能影響 CAR T 細胞體內擴增和持久性的因子，病人相關和製劑相關之因子皆應列入考量。病人相關因子包含 (但不限於) 年齡、性別、標的抗原表現程度和腫瘤負荷量，製劑相關因子包含 (但不限於) CAR T 細胞組成和分

化狀態。

為了建立 CAR T 細胞的體內動力學特徵，PK 採樣的時程表應納入足夠的時間點，特別是在輸注之後前兩週左右的擴增階段期間。CAR T 細胞的持久性可透過測量轉殖基因和 CAR 的表現程度來監測。為了釐清 CAR T 細胞的暴露和反應之關聯性，研發者在可能的情況下應進行 CAR T 細胞的功能性分析（免疫分型 [immunophenotyping]）和細胞株特性分析（clonality analysis）。

二、藥效學

在特異性的與抗原表現細胞結合後，CAR T 細胞會啟動傳訊級聯反應（signaling cascades），以促進 T 細胞活化、增殖、作用蛋白（effector）功能的取得，及細胞激素和趨化激素（chemokines）的製造。這些事件可導致目標細胞的消除。CAR T 細胞藥效學評估包含監測細胞激素、趨化激素、作用蛋白的濃度變化、血液免疫分型及臨床試驗指標（例如腫瘤細胞的殺害）。研發者應根據 CAR T 細胞的作用機制、目標疾病的特定屬性和臨床結果來選擇藥效學的生物標記。PD 採樣計畫應能反映 PD 生物標記的特徵和預期的反應持續時間。

為了改善 CAR T 細胞的安全性和有效性特徵，應評估下列探索性相關分析：使用臨床 PK 和 PD 資料評估 (1) CAR T 細胞最終製劑特性和 CAR T 細胞藥物動力學特徵的關係、(2) CAR T 細胞暴露和反應之間的關係。

三、免疫原性

由於免疫原性對臨床結果具有潛在影響，因此免疫原性的評估相當重要。應在製劑研發期間開發用以偵測對 CAR T 細胞（CAR 和

共同表現的轉殖基因，若適用）的體液免疫反應和細胞免疫反應分析方法。可能影響 CAR T 細胞免疫原性的病人相關和製劑相關因子二者皆應列入考量。病人相關因子包含遺傳學、年齡、性別、疾病狀態、整體免疫狀態、對抗 CAR T 細胞的既存抗體及併用藥物。製劑相關因子包含 CAR T 細胞來源（自體或異體）、CAR 分子結構和轉譯後修飾、轉殖基因的共同表現、製劑不純物、配方賦形劑和容器封蓋材料。

針對 PK、PD 和免疫原性的樣本分析，可以在整個製劑研發過程中開發並優化分析方法，但在目的是作為有效性之主要證據以支持上市申請的臨床試驗中，應使用已確效（validated）的生物分析方法。

肆、安全性評估和監測

CAR T 細胞安全性考量包含與下列事項相關的風險：(1) 在自體環境中的細胞取得、(2) 併用治療（例如在 CAR T 細胞輸注前的免疫抑制非骨髓根除性療程的使用）及 (3) CAR T 細胞。

一、臨床監測

臨床試驗計畫書應包含足以保護受試者安全的詳細監測計畫。監測計畫的要素、程序和時間表應根據現有的資訊為基礎，包含擬研發之製劑或相關製劑的非臨床和先前臨床經驗。對於 FIH 的製劑或先前人體經驗有限的製劑，為了使受試者暴露在無法接受毒性的可能性降到最低，應考量錯開受試者的納入時間。

CAR T 細胞毒性的一項特殊考量為 CRS，針對已接受 CAR T

細胞治療之病人，應清楚描述在基礎期和預先訂定時間點監測細胞激素濃度及降低 CRS 風險的計畫，包括測量細胞激素的方法，以取得細胞激素釋放的動力學資料。

CAR 結構為非天然發生、由基因改造工程修改的基因，因此含有非接受者內源性的成分。在給藥時，這些外源性成分可能會誘發免疫反應，並有影響 CAR T 細胞持久性的潛在可能，或抵銷再次輸注 CAR T 細胞的作用（包括抗腫瘤活性或毒性）。應監測對 CAR 反應的免疫反應。例如，某些 CAR T 細胞可能包含鼠源性序列，因此可能會產生人類抗小鼠抗體（human anti-mouse antibody, HAMA）。應描述對於該類監測的計畫和適當檢測方法，及該類監測結果的處理計畫。

二、 毒性分級

在臨床試驗計畫書中應包含毒性分級系統以提供決策資訊，例如劑量遞增和病人處理。可使用美國國家癌症研究院（National Cancer Institute, NCI）的不良事件通用術語標準（Common Terminology Criteria for Adverse Events, CTCAE）來對毒性進行分級。此外應詳細描述面臨這些毒性的處理流程。CRS 和神經毒性包括 ICANS 是與 CAR T 細胞相關的主要毒性。這些反應可能是會威脅生命和致命的。因此，對於 CRS 和神經毒性包括 ICANS 的快速辨識和適當處理是臨床試驗設計中不可或缺的。應考慮使用已有共識的 CRS 和神經毒性包括 ICANS 分級標準，或提供對所選分級標準的合理性論述。

三、 劑量限制毒性（DLT）、停止規則和歸因（attribution）

（一）DLT 定義

臨床試驗計畫書中應對 DLT 有完整的定義，定義應包含 CRS 毒性。下列為 CAR T 細胞 DLT 的例子：

- 任何治療後發生的第 4 或第 5 級 CRS 或神經毒性包括 ICANS。
- 任何治療後發生的第 3 級，且未在 7 天內緩解至≤第 2 級的 CRS 或神經毒性包括 ICANS。
- 任何治療後發生的≥第 3 級的自體免疫毒性。
- 與細胞輸注相關的≥第 3 級過敏反應。
- 非既有或非由原本惡性腫瘤造成，且在細胞輸注後 30 天內發生的≥第 3 級器官毒性（心臟、皮膚、腸胃、肝臟、肺臟、腎臟／生殖泌尿或神經）。

DLT 的定義可能因許多因子而改變，例如潛在的疾病和 CAR T 細胞特徵。任何排除或例外於 DLT 定義的治療後發生之毒性都應清楚地描述，並說明排除在 DLT 外的合理性。此外，DLT 的觀察期間應足夠長到可擷取急性和延遲的毒性。

(二) 歸因 (attribution)

臨床試驗期間所觀察到的治療後發生之毒性經常難以歸因於特定原因，這是由於干擾因子所造成，例如潛在疾病的症狀、併用藥物和 CAR T 細胞治療。因此，DLT 的定義應與 CAR T 細胞的歸因獨立訂定。

(三) 停止規則

停止規則為根據觀察到的特定不良事件發生率來停止試驗的標準，試驗停止規則的目的在於限制受試者暴露於產生安全性疑慮事件的風險。設計良好的停止規則可在試驗進行中適時評估並解決所辨識出的風險，並修訂計畫書以降低該風險或確保受

試者不會暴露於不合理且顯著的風險中。CAR T 細胞臨床試驗的停止規則舉例可包括預期嚴重不良事件或非預期嚴重不良事件的數目增加或頻率增加（例如對於 FIH CAR T 製劑有>2 例第 4 級 CRS）或任何 1 例在 CAR T 細胞輸注後 30 天內的死亡。

伍、CAR T 細胞持久性和長期追蹤

臨床試驗計畫書中應描述如何決定受試者接受 CAR T 細胞輸注後的持續時間或持久性的規劃。用於決定此規劃的測試檢體可能包含血液、體液和組織。如果使用侵入性方法來取得檢體，應使用獨立的受試者同意書告知試驗受試者該程序的風險。用以評估 CAR T 細胞持久性的分析方法應詳細描述，該類方法可能包含量測 CAR T 細胞或載體存在與否，和 CAR T 細胞活性的檢測，包括基因表現或生物標記變化。

接受 CAR T 細胞治療受試者的追蹤期間取決於潛在疾病、CAR T 細胞的持久性，及 CAR 載體。受試者應在接受含有嵌合轉殖基因的 CAR T 細胞治療後追蹤長期安全性、繼發性惡性腫瘤（secondary malignancy）、懷孕可能性等，時間至少 15 年。其他有關基因治療後的長期追蹤建議，請參照「人類基因治療製劑臨床試驗審查基準」。

陸、異體 CAR T 細胞

除了上述的所有臨床考量之外，針對來自異體之 CAR T 細胞還有額外考量。應在臨床試驗計畫書中描述是否有捐贈者和接受者的免疫配對計畫，若有，則需清楚描述其配對的方法。此外，異體 CAR T 細胞接受者的主要顧慮為移植物抗宿主疾病（graft versus host

disease, GVHD)。臨床監測應包含收集關於 GVHD 症狀和徵象的計畫，用來評估 GVHD 的分級系統和對應的處理流程亦應包含在臨床試驗計畫書中。此外，DLT 和試驗停止規則也應將 GVHD 併入考量。

參考文獻

1. 人類基因治療製劑臨床試驗審查基準
2. Draft Guidance for Industry: Considerations for the Development of Chimeric Antigen Receptor (CAR) T Cell Products. USFDA. 2022
3. Chemistry, Manufacturing, and Control (CMC) Information for Human Gene Therapy Investigational New Drug Applications (INDs): Guidance for Industry, January 2020,
4. 人類細胞治療製劑捐贈者合適性判定基準
5. ICH Harmonised Tripartite Guideline: Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1), November 2005,
6. ICH Harmonized Tripartite Guideline: Comparability of Biotechnological/Biological Products Subject to Changes in their Manufacturing Process: Q5E, November 2004,