

پزشک و دکتری تخصصی ژنتیک

تولید سلول درمانی و ژن درمانی: چالش‌ها، فناوری‌ها و افزایش مقیاس

تولید سلول درمانی و ژن درمانی به پردازش پیچیده سلولی، تولید ناقل ویروسی، کنترل کیفیت و گردش‌های کاری مطابق با GMP متکی است تا به طور مداوم درمان‌های ایمن و مؤثر را در مقیاس تجاری تولید کند. پیشرفت‌ها در اتوماسیون، زیست‌پردازش، تولید دیجیتال و مدل‌های تولید یکپارچه، کارایی تولید، انطباق با مقررات و پذیرش بالینی گسترده این درمان‌های پیشرفته را بهبود می‌بخشند.

مقدمه

درمان‌های سلولی و ژنی (CGT) به طور فزاینده‌ای در پزشکی مدرن برای بیماری‌های ژنتیکی، انکولوژیک و دژنراتیو ادغام می‌شوند. دانشمندان سلول‌ها، ژن‌ها یا سلول‌های اصلاح‌شده ژنی را به همراه اسیدهای نوکلئیک نوترکیب به بیمار تزریق می‌کنند تا از بیماری پیشگیری یا آن را درمان کنند. درمان‌های تأیید شده شامل درمان‌های گیرنده آنتی‌ژن کایمیریک (CAR-T) و رویکردهای ویرایش ژن هستند. این رویکردها گزینه‌های درمانی را برای شرایطی با جایگزین‌های درمانی محدود ارائه می‌دهند.^{۱،۲} با این حال، مقیاس‌پذیری تولید به یک چالش بزرگ در صنعت تبدیل شده است. اگرچه چندین محصول به مرحله تجاری‌سازی رسیده‌اند، اما پیشبرد درمان‌های جدید به آزمایش‌های مرحله آخر و عمل بالینی معمول همچنان چالش برانگیز است. گذار از توسعه فرآیند در مقیاس آزمایشگاهی به تولید تجاری قوی و مطابق با رویه‌های تولید خوب (GMP) همچنان یکی از موانع اصلی برای پذیرش بالینی گسترده‌تر است. فرآیندهای تولید باید به طور مداوم کیفیت محصول، ایمنی، قدرت و انطباق با مقررات را ارائه دهند و در عین حال تقاضای فزاینده را برآورده کرده و هزینه‌های تولید را کاهش دهند. تولیدکنندگان باید فرآیندهای تولید خود را بهبود بخشند و تکنیک‌های نسل بعدی را برای افزایش مقیاس و تسریع انتقال از توسعه بالینی به تولید تجاری به کار گیرند.^{۳،۴،۵}

چرا تولید سلول درمانی و ژن درمانی دشوار است؟

چشم‌انداز تجاری

سارتریوس: ابزارهای پردازش زیستی سرتاسری را برای مقیاس‌بندی تولید سلول درمانی و ژن درمانی، به ویژه بیوراکتورهای تک منظوره، فیلتراسیون و تجزیه و تحلیل فرآیند، ارائه می‌دهد که از گردش‌های کاری قوی‌تر و سازگار با GMP برای وکتورهای ویروسی و پردازش سلولی پشتیبانی می‌کنند. سیتیوا (داناها): زیرساخت‌های تولید برای CGT، از جمله سیستم‌های تک منظوره و خالص‌سازی پایین‌دستی (به عنوان مثال، کروماتوگرافی) را فراهم می‌کند که به رفع تنگنای افزایش مقیاس و خالص‌سازی برای وکتورهای ویروسی کمک می‌کند و از تولید صنعتی GMP پشتیبانی می‌کند. درمان‌های مبتنی بر سلول از سلول‌هایی مانند سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSCs) استفاده می‌کنند، در حالی که درمان‌های مبتنی بر ژن از وکتورهایی مانند وکتورهای ویروسی مرتبط با آدنو (AAV) یا وکتورهای لنتی ویروسی (LVs) برای مدیریت بیماری استفاده می‌کنند. برای درمان‌های مبتنی بر سلول، چالش‌های کلیدی شامل نگهداری ماده اولیه در شرایط مناسب، حذف آلودگی و ساده‌سازی رویه‌های چند مرحله‌ای است. برای درمان‌های مبتنی بر ژن، دانشمندان در تلاشند تا رده‌های سلولی تولیدکننده پایداری را توسعه دهند که برای تولید ناقل به اسید دئوکسی ریبونوکلیک پلاسمید (DNA) نیاز نداشته باشند و تیتراهای AAV و LV را به حداکثر برسانند و در عین حال هزینه‌های تولید را به حداقل برسانند. تلاش‌هایی برای بهبود جداسازی کپسیدهای خالی از پر AAV و حذف ناخالصی‌های باقیمانده و سرم بیگانه‌زا در طول درمان‌های مبتنی بر ناقل LV در حال انجام است. تا به امروز، تولید مقادیر کافی از محصولات نو ترکیب AAV برای پاسخگویی به تقاضای بالینی رو به رشد، همچنان یک گلوگاه در صنعت است. ۱،۴. پلتفرم‌های تولیدی که برای تولید ناقل به ترانسفکشن گذرا وابسته هستند، اغلب به دلیل مقیاس و تراکم سلولی محدود می‌شوند. مقادیر زیادی از معرف‌های ترانسفکشن و مواد ژنتیکی (DNA) برای افزایش مقیاس سیستم‌های بیان گذرا مورد نیاز است که منجر به افزایش هزینه‌های تولید و تغییرپذیری بالقوه دسته به دسته می‌شود. دستیابی به بازده و خلوص کافی مواد اولیه، مانند DNA پلاسمید، در عین حفظ قدرت می‌تواند چالش برانگیز باشد زیرا برخی از ناقل‌های ویروسی شکننده هستند. ترانسفکشن

رویکردهای سلول درمانی اتولوگ با استفاده از خون یا سلول‌های بنیادی دشوار است. جداسازی سلول‌ها از بیمار (برای درمان‌های اتولوگ) و از اهداکنندگان همسان (برای درمان‌های آلوژنیک) می‌تواند چالش برانگیز باشد، زیرا این سلول‌ها ممکن است بسیار متغیر باشند و رفتار متفاوتی داشته باشند. ۱،۳. تولید سلول درمانی همچنین نیاز به کنترل دقیق تنوع اهداکننده، تهیه بافت، جداسازی سلول، تکثیر، برداشت، فرمولاسیون، انجماد، ذخیره‌سازی و حمل و نقل دارد. تنوع ایجاد شده در طول تکثیر طولانی مدت سلول می‌تواند قدرت، ظرفیت تکثیر و اثربخشی درمانی را تغییر دهد، و استانداردهای فرآیند و کنترل کیفیت را به ویژه مهم می‌کند. ۱. باید تلاش‌هایی برای توسعه فناوری‌هایی انجام شود که بتوانند کیفیت ماده اولیه یا فرآیند را بهبود بخشند، به طوری که محصول نهایی در نهایت با معیارهای آزادسازی مطابقت داشته باشد. مواد اولیه مانند سیتوکین‌ها و فاکتورهای رشد اغلب در دسترس نیستند، بسیار گران هستند یا در شرایط مناسب قابل دستیابی نیستند. علاوه بر این، تغذیه/تعویض دستی مداوم محیط کشت برای جایگزینی فاکتورهای رشد و حذف ضایعات، کاری طاقت‌فرسا است. روش‌های جداسازی سلول نیز باید برای افزایش تولید، مقرون به صرفه‌تر و قابل اعتمادتر باشند. چه تولید یک دسته کوچک‌تر از سلول‌های بیمار برای درمان اتولوگ و چه تولید یک دسته بزرگ از سلول‌های اهداکننده سالم، چالش‌های اصلی شامل حفظ استریل بودن و اجتناب از عوامل اکتسابی است که تضمین آنها در سیستم‌های باز که امروزه به طور گسترده استفاده می‌شوند، دشوار است. ۳. فراتر از موانع فنی، تولیدکنندگان اغلب با کمبود نیروی کار، تخصص محدود GMP، محدودیت‌های بودجه برای توسعه‌دهندگان در مراحل اولیه و الزامات مستندسازی نظارتی که به طور فزاینده‌ای سختگیرانه می‌شوند، مواجه می‌شوند. این چالش‌های عملیاتی به طور قابل توجهی در تأخیر در ترجمه بالینی و تجاری‌سازی نقش دارند. ۵.

شکاف افزایش مقیاس در زیست‌فرآوری

دانشمندی که دستکش‌های آبی استریل و روپوش سفید آزمایشگاهی پوشیده و فریزر کرایوژنیک را برای نگهداری نمونه‌ها در دمای -۸۰ درجه سانتیگراد در آزمایشگاه علمی باز می‌کند. ذخیره‌سازی در دمای بسیار پایین، جزء حیاتی تولید سلول و ژن درمانی است و باعث حفظ حیات، قدرت و پایداری سلول‌ها و ناقل‌های

ویروسی در طول تولید، ذخیره‌سازی و توزیع GMP می‌شود. فرآیندهای بهینه‌سازی‌شده در مقیاس آزمایشگاهی اغلب در مقیاس تجاری شکست می‌خورند. لجستیک زنجیره تأمین نیاز به توسعه بیشتر دارد. در حالی که فرآورده‌های خونی دارای ماندگاری هستند که امکان تأخیرهای جزئی در فرآیند توزیع را فراهم می‌کند، بازه زمانی حمل و نقل برای CGT ها و مواد پیش‌ساز دقیق‌تر است. مدیریت موجودی بلندمدت تا حد زیادی به انجماد وابسته است. با این حال، تعداد کمی از کلینیک‌ها دارای ذخیره‌سازی نیتروژن مایع یا فریزرهای -۸۰ درجه سانتیگراد هستند. ۲. ترانسفکشن گذرای سوسپانسیون (sTT) امکان اجرای سریع را فراهم می‌کند. با این حال، افزایش مقیاس این فرآیندها چالش برانگیز است و به مواد اولیه گران‌قیمتی مانند پلاسمیدها و پلی‌اتیلن‌ایمین (PEI) نیاز دارند. در سیستم‌های وکتور بیان باکولوویروس (BEV)، AAV نوترکیب معمولاً با عفونت همزمان سلول‌های حشره با دو باکولوویروس نوترکیب که ژن‌های حیاتی را تأمین می‌کنند، تولید می‌شود. این روش‌ها امکان تولید حجم‌های بزرگتری نسبت به پلتفرم‌های کشت سلولی پستانداران را فراهم می‌کنند. با این حال، دانشمندان با مشکلاتی مربوط به ناپایداری ژنتیکی باکولوویروس نوترکیب و بار تولید باکولوویروس مواجه هستند. علاوه بر این، نگرانی‌های ایمنی در مورد ناخالصی‌های ویروس کمکی وجود دارد. خالص‌سازی همچنان یک مانع بزرگ برای AAV ها و LV ها است. ۱،۴. سیستم‌های رده سلولی تولیدکننده (PCL) یکی دیگر از پلتفرم‌های تولید مقیاس‌پذیر با قابلیت تولید در مقیاس تجاری هستند. اگرچه PCL ها می‌توانند استحکام را بهبود بخشند، هزینه‌های تولید را کاهش دهند و به تولید در مقیاس‌های بیوراکتور بیش از ۲۰۰۰ لیتر دست یابند، اما توسعه رده‌های سلولی تولیدکننده پایدار نیاز به زمان قابل توجه، تخصص تخصصی و بانک‌های سلولی واجد شرایط GMP دارد. فناوری‌های نوظهور رده سلولی تولیدکننده القایی ممکن است با جداسازی رشد سلولی از تولید ناقل، بهره‌وری حجمی را بیشتر افزایش دهند. ۴. تکثیر سلولی همچنین می‌تواند چالش برانگیز باشد، زیرا حجم زیادی از سلول‌ها باید با کیفیت ثابت و عاری از ذرات خارجی تولید شوند. این سلول‌ها همچنین ممکن است به معرف‌های شیمیایی ترانسفکشن که معمولاً برای معرفی ماده‌ای که سلول‌ها را برنامه‌ریزی می‌کند، استفاده می‌شوند، حساس باشند. کیفیت ماده اولیه لوکافریس باید به دقت بررسی شود تا اثربخشی و قدرت درمان با سلول‌های CAR-T افزایش

یابد. ایجاد کنترل بهینه سطح مواد مغذی، اکسیژن و دی اکسید کربن در مقیاس بزرگ نیز یک مسئله است، زیرا معرف‌ها بسیار گران هستند و محیط‌های کشت بدون سرم ممکن است در درازمدت پایدار نباشند. ۱،۳،۴. محققان باید آزمایش استریل بودن و قدرت را انجام دهند زیرا سلول‌های CAR-T معمولاً کمی پس از تولید تزریق می‌شوند. نگهداری و ذخیره سازی سلولی در سرما از دیگر نگرانی‌های لجستیکی است. دانشمندان و ارائه دهندگان خدمات درمانی در حال بررسی راه‌های جدیدی برای نگهداری مواد منجمد شده و افزایش دسترسی به بانک‌های سلولی اصلی (MCBs) برای حفظ بقای طولانی مدت سلول‌ها هستند. ۱،۳،۴. چالش‌های افزایش مقیاس همچنین به استفاده از امکانات GMP گسترش می‌یابد. برخی از تأسیسات تولیدی تجاری به دلیل هزینه‌های بالای عملیاتی، کمبود پرسنل باتجربه و پشتیبانی نظارتی محدود، همچنان کمتر از حد مجاز مورد استفاده قرار می‌گیرند، در حالی که تأسیسات GMP دانشگاهی و بزرگ دارویی اغلب تقریباً با ظرفیت کامل کار می‌کنند. هماهنگی بهتر منابع تولیدی و پذیرش بیشتر سیستم‌های مدیریت کیفیت دیجیتال می‌تواند کارایی تأسیسات را بهبود بخشد و ارسال داروهای جدید تحقیقاتی (IND) را تسریع کند. ۵.

فناوری‌هایی که به کاهش شکاف کمک می‌کنند

فناوری‌های تولید خودکار و سیستم بسته، نقش بسیار مهمی در غلبه بر چالش‌های مقیاس‌پذیری مرتبط با تولید CGT ایفا می‌کنند. تکنیک‌های سنتی مرتب‌سازی جریان مبتنی بر قطرات، دستی، باز، پرزحمت، زمان‌بر و بسیار حساس به تکنیک هستند و همین امر آنها را برای تولید تجاری هزاران دوز در سال نامناسب می‌کند. در نتیجه، تولیدکنندگان به طور فزاینده‌ای در حال اتخاذ پلتفرم‌های تولید خودکار هستند که هوش مصنوعی (AI)، دوقلوهای دیجیتال و فناوری‌های پیشرفته پردازش تصویر را برای بهبود تکرارپذیری و کاهش تغییرپذیری وابسته به اپراتور در خود جای داده‌اند. ۲. چندین پلتفرم تولید تجاری موجود و نوظهور، از جمله سیستم‌های بیوراکتور بسته مدولار، سیستم‌های انبساط فیبر توخالی، ایستگاه‌های کاری پردازش سلولی خودکار و پلتفرم‌های میکروکارخانه‌ای قابل تنظیم، برای استانداردسازی فرآیندهای تولید و در عین حال پشتیبانی از تولید غیرمتمرکز تحت شرایط عملیات تولید خوب (GMP) طراحی شده‌اند. سیستم‌های میکروکارخانه‌ای مستقل از کنترل‌های محیطی اختصاصی، حسگرهای درجا و ایزولاتورهای قابل پیکربندی

مجدد برای پشتیبانی از طرح‌بندی‌های تولیدی چندگانه استفاده می‌کنند و در عین حال خطرات آلودگی را به حداقل می‌رسانند و دخالت انسان را کاهش می‌دهند.۲. فناوری‌های تولید دیجیتال نیز در حال تغییر تولید CGT هستند. سیستم‌های مدیریت کیفیت الکترونیکی (QMS)، نظارت بر فرآیند در زمان واقعی، تجزیه و تحلیل پیشرفته، اتوماسیون و کنترل فرآیند مبتنی بر داده، ثبات دسته را بهبود می‌بخشند، بار مستندسازی را کاهش می‌دهند، قابلیت ردیابی را افزایش می‌دهند و انطباق با مقررات را در طول چرخه عمر تولید تسهیل می‌کنند.۵. تولید مداوم و فناوری‌های بیوراکتور بسته و خودکار به طور فزاینده‌ای برای بهبود راندمان تولید و تسهیل گسترش سلول در مقیاس بزرگ و در عین حال به حداقل رساندن آلودگی و از دست دادن دسته، مورد استفاده قرار می‌گیرند. با این حال، پیشرفت‌های بیشتری مورد نیاز است، به ویژه برای برداشت خودکار درمان‌های سلولی چسبنده، که در آن پردازش دستی همچنان منبع قابل توجهی از تغییرپذیری است. فناوری‌های برداشت خودکار استاندارد می‌توانند ثبات و کیفیت محصولاتی مانند سلول‌های CAR-T را بهبود بخشند و در عین حال هزینه‌های تولید را کاهش دهند.۱-۳. نوآوری‌ها در تولید بردار ویروسی نیز به رفع محدودیت‌های افزایش مقیاس کمک می‌کنند. فناوری‌های رده‌های سلولی تولیدکننده پایدار و رده‌های سلولی تولیدکننده القایی در حال توسعه هستند تا وابستگی به ترانسفکشن گذرا را کاهش دهند، تکرارپذیری تولید را بهبود بخشند، مصرف مواد خام را کاهش دهند و بازده ناقل را برای تولید ناقل ویروسی در مقیاس بزرگ افزایش دهند. این رویکردها پتانسیل بهبود استحکام فرآیند و در عین حال کاهش هزینه‌های تولید برای تولید تجاری CGT را دارند.۴،۵،۱

ملاحظات نظارتی و کیفی

تولید CGT باید با الزامات نظارتی سختگیرانه‌ای مطابقت داشته باشد تا ایمنی، اثربخشی و ثبات محصول تضمین شود. محققان همچنان از طریق بهینه‌سازی روبه‌ها، استفاده از بانک‌های سلولی و تأسیسات تولیدی سازگار با اصول تولید خوب (GMP) و سیستم‌های مدیریت کیفیت دیجیتال پیشرفته، ثبات دسته‌ای و قابلیت ردیابی را بهبود می‌بخشند. پرسنل ماهر برای حفظ اسناد، کنترل فرآیند و رعایت استانداردهای نظارتی مناسب فاز که توسط سازمان‌هایی مانند سازمان غذا و داروی ایالات متحده (FDA) و آژانس دارویی اروپا (EMA)

تعیین شده‌اند، ضروری هستند. ۴، ۵. کنترل کیفیت در سراسر فرآیند تولید گسترش می‌یابد و شامل پردازش سلول، تولید ناقل ویروسی، تهیه معرف و آزمایش محصول نهایی در شرایط آسپتیک می‌شود. ویژگی‌های کیفی حیاتی شامل هویت محصول، قدرت، خلوص، استریل بودن، زنده ماندن، غلظت ژنوم ناقل، DNA باقیمانده سلول میزبان، پروتئین‌های باقیمانده، آلودگی ویروسی و سایر مشخصات رهاسازی است که ثابت محصول و ایمنی بیمار را قبل از استفاده بالینی تضمین می‌کند. ۱. با تکامل فرآیندهای تولید در طول توسعه بالینی و افزایش مقیاس تجاری، نشان دادن قابلیت مقایسه پس از اصلاحات فرآیند به یک چالش نظارتی بزرگ تبدیل می‌شود. تولیدکنندگان باید تأیید کنند که تغییرات در پلتفرم‌های تولید، مواد اولیه، تجهیزات، سایت‌های تولید یا مقیاس تولید، تأثیر منفی بر کیفیت محصول، ایمنی، قدرت یا عملکرد بالینی آن ندارد. در نتیجه، مطالعات مقایسه‌ای همچنان یک جزء حیاتی از تأیید نظارتی و مدیریت چرخه عمر محصولات CGT هستند. ۱. استراتژی‌های نظارتی آینده به طور فزاینده‌ای بر مدل‌های تولید یکپارچه‌ای تأکید دارند که تولید، آزمایش و عرضه محصول را در محل مراقبت یا نزدیک آن ترکیب می‌کنند. این رویکردها با هدف کاهش الزامات حمل و نقل، کوتاه کردن زمان تزریق وریدی برای درمان‌های اتولوگ، ساده‌سازی لجستیک زنجیره تأمین و بهبود کارایی تولید در عین حفظ انطباق با مقررات و کیفیت محصول انجام می‌شود. ۲.

چشم‌انداز آینده

انتظار می‌رود پیشرفت‌های آینده در تولید CGT، اتوماسیون سیستم بسته، تولید غیرمتمرکز یا در محل، کنترل فرآیند با کمک هوش مصنوعی، مواد اولیه استاندارد، فناوری‌های سلول تولیدکننده پایدار و تجزیه و تحلیل پیشرفته را برای بهبود مقیاس‌پذیری در عین حفظ کیفیت ثابت محصول ترکیب کند. ۱، ۲، ۴، ۵. همکاری مستمر بین مؤسسات دانشگاهی، تولیدکنندگان، توسعه‌دهندگان فناوری، تنظیم‌کنندگان و سازمان‌های تأمین مالی برای گسترش ظرفیت تولید، توسعه نیروی کار ماهر، کاهش هزینه‌های تولید و تسریع دسترسی بیمار به درمان‌های سلولی و ژنی که زندگی را تغییر می‌دهند، ضروری خواهد بود. ۵.

<https://www.news-medical.net/life-sciences/Cell-Gene-Therapy-Manufacturing-Closing-the-Scale-Up-Gap.aspx>

