

系列 2. 为什么要检测宿主细胞 DNA 残余?

生物制剂是制药行业中发展最快的领域，2014 年全球十大畅销药中 7 个是生物制剂。这些销售上的重磅炸弹在临床上疗效确切，但研发成本高，生产和质量控制要求非常严格。绝大部分生物制剂是不经过胃肠道直接进入体内，所以除了生物活性外，监管部门对药品中杂质的限量要求非常严格。其中，宿主细胞残留 DNA 因为具有特别的潜在安全风险，一直是国内外药品监管机构关注的重点。美国药典会从 2011 年开始就组织专门小组讨论修订生物制品中残留 DNA 检测方法，并在 2014 年 Prescription/Non-Prescription Stakeholder Forum Meeting#5 上宣布将在 2015 年药典修订版中增加新的章节（General Chapter <30>）来规范检测方法和标准物质。为什么美国药典会的专家组花几年时间讨论一个微量成分（<100pg/剂量）的检测方法？还要专门增加章节来规范化？回答这些问题，先要了解它的来源和潜在危害性。生物制品中的重组蛋白药、抗体药、疫苗等产品是用连续传代的动物细胞株表达生产，虽然经过严格的纯化工艺，但产品中仍有可能残余宿主细胞的 DNA 片段。这些残余 DNA 可能带来传染性或致瘤性风险，比如残留 DNA 可能携带 HIV 病毒或 Ras 癌基因。分布在哺乳动物细胞基因组的 LINE-1 序列可能发挥逆转录转座子作用插入到染色体中，这种插入可能影响关键基因功能的发挥，比如激活癌基因或抑制抑癌基因。此外，由于微生物来源的基因组 DNA 富含 CpG 和非甲基化序列，增加了重组蛋白药物在体内的免疫源性风险。目前的研究结果显示，残留 DNA 的致瘤性相比传染性风险要低，但考虑到致瘤性实验是动物实验，传染性实验是在细胞水平做的，或许对两方面的风险都不能掉以轻心。众所周知，外源蛋白可能引起严重免疫反应，但关于残留 DNA 诱导的免疫反应的研究还不多。在一些临床前和临床研究中报道了高剂量的核酸样品，比如 DNA 疫苗或佐剂中的 CpG 寡聚核苷酸，可以诱导免疫反应，还诱导产生 DNA 抗体。

生物制品中宿主残余 DNA 既是是生产中带来的杂质，还存在一定安全隐患。因此，WHO 和各国药物注册监管机构一般只允许生物制剂中存在 100pg/剂量以下的残留 DNA。根据杂质来源和工艺，特殊情况下最高允许 10ng/剂量。

中国科学院上海生命科学研究院湖州营养与健康产业创新中心 王滔
2015 年 10 月 9 日