

13/SN-271/ME

SANDOZ FORSCHUNGSINSTITUT
GESELLSCHAFT M.B.H.
Dr. Peter Dukor

A-1235 WIEN/AUSTRIA
POSTFACH 80
BRUNNER STRASSE 59
TELEFON ..43(1)86634-200
TELEFAX ..43(1)86634-205
TELEX 132287 SFI A

durch Boten

Zu H. 32.290/17-93

Bundesministerium für Gesundheit,
Sport und Konsumentenschutz
z. H. Herrn Sektionschef Dr. Ernst Bobek
Radetzkystraße 2
1031 Wien

REPUBLIK ÖSTERREICH	
Bundesministerium für Gesundheit, Sport und Konsumentenschutz	
Eingel.:	19. MRZ. 1993
Zl.	19
Blg.	2
Vorzahl	19

Betr.: Entwurf eines Bundesgesetzes über Maßnahmen zum Schutz der Gesundheit
des Menschen einschließlich der Nachkommenschaft und der Umwelt vor Schäden durch
gentechnische Eingriffe (Gentechnikgesetz) (GZ 32.290/55-III/9/92)

GESETZENTWURF	
Zl.	16 - GE/19
Datum:	10. MAI 1993
Verteilt	11. Mai 1993

Sehr geehrter Herr Sektionschef,

Zusätzlich zu unserer Stellungnahme vom 26. Februar 1993 (GSF/6838) erlauben wir uns, Ihnen unsere Vorschläge zu den Themen "Transgene Tiere" und "Somatische Gentherapie" zur Kenntnis zu bringen.

Transgene Tiere:

Der Einsatz transgener Tiere hat in der biomedizinischen Forschung in den letzten Jahren eine zunehmende Bedeutung erlangt und ist zu einem unverzichtbaren Instrument für die Identifizierung molekularer Krankheitsursachen und die funktionelle Analyse von pathogenetisch relevanten Genprodukten geworden. Ethisch stellen sich dabei grundsätzlich keine anderen Probleme als bei der Prüfung von pharmakologischen Wirkstoffen im Tierversuch.

Damit sind im Zusammenhang mit dem Einsatz transgener Tiere für Forschungszwecke drei Parameter zu regeln:

1. Die sicherheitstechnischen Aspekte der verwendeten Genkonstrukte in geschlossenen Systemen, wie sie im Gentechnikgesetzentwurf im Abschnitt II geregelt sind.
2. Aspekte des Tierschutzes, wie sie im Tierversuchsgesetz geregelt sind.
3. Sicherheitstechnische Aspekte der Haltung von transgenen Tieren, wie sie unseres Erachtens in modellhafter Weise im Handbuch II zur Störfallverordnung (Richtlinien für Betriebe mit Mikroorganismen des Schweizerischen Bundesamts für Umwelt, Wald und Landschaft in der Ausgabe vom Februar 1992) im Anhang I (Sicherheitsmaßnahmen für Tierhaltungsräume) geregelt sind (siehe Anlage 1).

Das im Gentechnik-Gesetzentwurf §18 vorgesehene Anmeldeverfahren mit Angaben über die beabsichtigte Verwendung der entstehenden Tiere, mit der Darstellung des mit der gentechnischen Arbeit verfolgten Forschungsziels und mit der vorgesehenen Begutachtung der Übereinstimmung mit dem ethischen Prinzip bringen einerseits eine unnötige Überlappung mit dem Tierversuchsgesetz und damit eine erhebliche administrative Komplikation sowie andererseits eine, unseres Erachtens unzulässige Beeinträchtigung der Forschungsfreiheit mit sich.

Für die Durchführung gentechnischer Arbeiten zur Herstellung transgener Tiere würden wir deshalb folgende Regelungen vorschlagen:

1. Arbeiten mit transgenen Tieren zu Forschungszwecken sind grundsätzlich durch die Bestimmungen zur Anwendung gentechnisch veränderter Organismen in geschlossenen Systemen und durch das Tierversuchsgesetz geregelt und bedürfen nur einer zusätzlichen Mitteilung an die Gentechnikkommission.
2. Transgene Tiere müssen unter Einhaltung spezieller Sicherheitsmaßnahmen gehalten werden, die jeweils der Sicherheitsstufe des zu ihrer Herstellung verwendeten Genkonstrukts entsprechen. Diese Maßnahmen sind Bestandteil der Durchführungsverordnung zum Gentechnikgesetz. (Als Modell siehe Anlage 1).
3. Der Begriff des transgenen Tieres im Sinne des Gentechnikgesetzes ist auf Wirbeltiere beschränkt.
4. Die Herstellung von transgenen Wirbeltieren, die in wesentlichen Merkmalen des Baus und der Funktion mit dem Ausgangsorganismus nicht mehr übereinstimmen, ist ausschließlich für wissenschaftliche Zwecke erlaubt.
5. Gentechnische Arbeiten zur Herstellung transgener Tiere für die gewerbliche Produktion von Wirkstoffen und für andere Nutzungen im nicht-wissenschaftlichen Bereich bedürfen der Genehmigung durch die Behörde.

Somatische Gentherapie:

Verfahren zur somatischen Gentherapie befinden sich weltweit in einer stürmischen Phase der Entwicklung. Grundsätzlich stellen sich bei ihrer Anwendung (klinische Prüfung und Zulassung) ähnliche Probleme wie beim Einsatz von neuartigen Arzneimitteln. Im Vordergrund stehen medizinische Aspekte, die der entsprechenden Expertise bedürfen. Angesichts des erheblichen Erfahrungsvorsprungs der USA empfiehlt sich unseres Erachtens eine Regelung der Materie in Anlehnung an die in USA geläufige Praxis.

Derzeit erfolgt dort das Genehmigungsverfahren für klinische Gentherapieprotokolle in zwei bzw. drei Stufen:

1. **Institutionelles Genehmigungsverfahren:**
Der Vorschlag wird dem Institutional Review Board (vergleichbar der Ethikkommission an österreichischen Krankenhäusern) und dem lokalen Komitee für biologische Sicherheit (Institutional Biosafety Committee) zur Begutachtung vorgelegt.
2. Vorhaben, die ganz oder teilweise mit Bundesmitteln (National Institutes of Health [NIH]) gefördert wurden, werden dem Recombinant DNA Advisory Committee (RAC) zur Begutachtung im Zusammenhang mit besonderen Richtlinien ("Points to consider", Anlage 2) vorgelegt. Dieses Komitee berät den Direktor der NIH, der das Protokoll genehmigen muß. An allen RAC-Begutachtungen nimmt ein Vertreter der Food and Drug Administration (FDA) teil.
3. Alle Vorhaben, sowohl die mit Bundesmitteln geförderten wie auch die nicht vom NIH geförderten Gentherapieprotokolle, müssen von der FDA begutachtet und genehmigt werden. Wiederum werden die "Points to consider" berücksichtigt. (In der Regel ist dieses Verfahren für RAC-genehmigte Protokolle recht zügig, da das RAC regelmäßig tagt und die Beteiligten Mitglieder echte Spezialisten sind).

Zusätzlich zu den im Gentechnikgesetzentwurf §44 Abschn. 1-4 vorgesehenen Bestimmungen sollten deshalb die folgenden Regelungen vorgesehen werden:

1. Klinische Prüfungen zum Zwecke der somatischen Gentherapie sind zunächst intern durch die Ethik-Kommission der berechtigten Krankenanstalt und das für sie zuständige Komitee für biologische Sicherheit zu genehmigen.
2. Institutionell genehmigte Vorhaben sind durch einen erweiterten wissenschaftlichen Ausschuß der Gentechnik-Kommission innerhalb von maximal 4 Wochen zu begutachten und an die Arzneimittelkommission weiterzuleiten. Dem erweiterten Ausschuß haben je ein Vertreter des Gesundheitsministeriums, des Wissenschaftsministeriums, der Fachgebiete Mikrobiologie, Molekularbiologie und Biotechnologie, sowie drei Kliniker mit spezieller Erfahrung im vorgesehenen Indikationsgebiet anzugehören.
3. Die Bewilligung zur Durchführung der Prüfung erfolgt durch die Arzneimittelkommission.
4. Die Zulassung von gentechnisch veränderten Organismen für die somatische Gentherapie erfolgt analog zur Zulassung von neuen Arzneistoffen durch die Arzneimittelkommission und ist im Rahmen der Novellierung des Arzneimittelgesetzes zu regeln.
5. Bei der Bewilligung von klinischen Prüfungen und beim Zulassungsverfahren sind dem jeweiligen Stand der wissenschaftlichen Forschung kurzfristig anzupassende Richtlinien zu beachten, die in Durchführungsverordnungen zum Gentechnikgesetz bzw. Arzneimittelgesetz enthalten sind. Dabei empfiehlt sich zurzeit die Übernahme der von der amerikanischen FDA formulierten "Points to consider in human somatic cell therapy and gene therapy 1991" (Human Gene Therapy 2:251-256 [1991], Anlage 2).

Mit dem Ausdruck meiner vorzüglichen Hochachtung,



Dr. Peter Dukor, Geschäftsführer
Sandoz Forschungsinstitut Gesellschaft m.b.H.

Anlagen 1 und 2

Bundesamt für Umwelt, Wald und Landschaft (BUWAL)
Office fédéral de l'environnement, des forêts et du paysage (OFEFP)
Ufficio federale dell'ambiente, delle foreste e del paesaggio (UFAPF)
Uffizi federal d'Ambient, Gaud e Cuntrada (UFAGC)



Handbuch II zur Störfallverordnung StFV

**Richtlinien für
Betriebe mit Mikroorganismen**

Februar 1992

Diesem Handbuch liegt ein Bericht der Firma Holinger AG, Dübendorf zugrunde. Verschiedene Anhänge basieren zudem auf den Richtlinien der Interdisziplinären Schweiz. Kommission für Biologische Sicherheit in Forschung und Technik (SKBS) für das Arbeiten mit gentechnisch veränderten Organismen.

Bezugsquelle: Eidg. Drucksachen- und Materialzentrale (EDMZ)
3000 Bern

Form. 319.761d 2.92 2'000 A58855/1

SICHERHEITSMASSNAHMEN FÜR TIERHALTUNGSRÄUMEN

Dieser Anhang basiert auf den Richtlinien der SKBS.

Die folgenden Vorschriften gelten für den Bau und Betrieb von Tierhaltungsräumen zusätzlich zu den Laborsicherheitsmassnahmen nach Anhang G. Ergänzungen und Abweichungen sind nachstehend aufgeführt; wichtige Sicherheitsmassnahmen werden z.T. wiederholt.

Stufe	Sicherheitsmassnahmen
1	<ol style="list-style-type: none"> 1. Der Raum muss ausreichend belüftet sein. 2. Die Räume müssen abschliessbar und für die Tiere ausbruchssicher konstruiert sein. Sie sind auch vor dem Eindringen von Wildformen derselben Tierart zu schützen. 3. Käfige sind klar zu beschriften. Herkunft und Abstammung der Tiere müssen eindeutig ersichtlich sein. Jedes einzelne in einen Versuch einbezogene Tier muss eine Nummer tragen. Nach Gebrauch sind die Käfige keimarm zu machen. 4. Transport von Abfällen, die zur Sterilisierung oder Verbrennung bestimmt sind oder von Tierkäfigen hat so zu erfolgen, dass eine Verunreinigung der Umgebung ausgeschlossen wird. 5. Nach dem Umgang mit Tieren und Abfällen sind die Hände zu waschen. Tiere dürfen auch in Aussangenegen gehalten werden, sofern horizontaler Gentransfer auszuschliessen ist. Gehege sollten ausbruchssicher und gegen Diebstahl möglichst geschützt sein. Überwachung ist notwendig, damit ein Entweichen sofort festgestellt wird. 6. Fortpflanzung ist zu verhindern, sofern diese nicht Teil des Experiments ist. 7. Über den Transfer fremder Gene, die Züchtung, den Eingang, die Umsetzung und Beseitigung von Tieren ist Buch zu führen. Experimente über misslungenen Gentransfer sind ebenfalls zu protokollieren. 8. Transgene Tiere sind von den übrigen getrennt zu halten. 9. Werden Versuche mit im Wasser lebenden Vertebraten durchgeführt, so ist zu vermeiden, dass die Geschlechtszellen von transgenen Individuen entweichen können. 10. Werden Versuche mit Invertebraten durchgeführt, so ist der Einsatz eines UV-Insektenstrahlers zu empfehlen. Behälter mit Zecken und Milben sind über ölbedeckten Tablets zu installieren. 11. Durch Tiere verursachte Verletzungen sind der vorgesetzten Person zu melden und zu protokollieren. 12. Beim Arbeiten mit potentiellen Überträgern von Infektionskrankheiten sind die notwendigen Schutzmassnahmen zu treffen. 13. In den Tierhaltungsräumen ist Essen, Trinken und Rauchen verboten. 14. Es soll Schutzkleidung und geeignetes Schuhwerk getragen werden.

Sicherheitsmassnahmen für Tierhaltungsräume

Anhang I

<p style="text-align: center;">2</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Die Tierhaltungsräume sind in einem eigenen Bau oder in einem räumlich klar abgegrenzten Bereich innerhalb eines Gebäudes unterzubringen. 2. Tierhaltungsräume müssen gegen Entweichen und Diebstahl gesichert sein. 3. Im Bereich der Tierhaltungsräume ist für eine Handwaschgelegenheit zu sorgen. 4. Räume, in denen Arbeiten mit im Wasser lebenden Tieren durchgeführt werden, sind so zu konstruieren, dass beim Zerbrechen der Behälter keine Organismen oder Geschlechtszellen ohne Abtöten in das Abflusssystem des Gebäudes gelangen können. 5. Beim Arbeiten mit Invertebraten müssen die Räume, inkl. Leitungen insektendicht sein. Abfälle sowie Zuchtbehälter sind nach der Verwendung zu autoklavieren. 6. Die Tierhaltungsräume und ihre Einrichtungen sind regelmässig zu reinigen und zu desinfizieren. In den Auffangbehältern für Bodenabflüsse muss Wasser vorhanden sein. 7. Die Arbeitsflächen sind nach jedem Arbeitsgang zu desinfizieren. 8. Arbeiten mit infizierten Geweben und Flüssigkeiten, die zur Aerosoibildung führen könnten, sollten in Sicherheitswerkbänken durchgeführt werden. 9. Es sind Massnahmen zur Bekämpfung von Insekten und Nagetieren zu treffen. 10. Abfallstoffe, eingeschlossen Exkremente und Einstreu, sind vor der Entsorgung zu sterilisieren. 11. Nach der Benutzung sind die Tierkäfige zu desinfizieren. 12. Beim Beimpfen von Tieren ist Gesichtsschutz zu tragen. 13. Es ist Schutzkleidung (inkl. Schuhe) zu tragen, die vor Verlassen des Tierhaltungsraumes zu reinigen oder abzulegen ist. Vor dem Eingang zum Tierhaltungsraum ist eine mit Desinfektionsmitteln getränkte Fussmatte hinzulegen.
<p style="text-align: center;">3</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Es muss eine Schleuse mit Waschbecken und Dusche vorhanden sein. Die Türen verfügen über Schliessvorrichtungen. 2. Fenster sind dicht und dürfen sich nicht öffnen lassen. 3. Die sicherheitsrelevanten Einrichtungen verfügen über eine Notstromversorgung. 4. Die Räume sind mit einer Notruf- oder Alarmanlage ausgerüstet. 5. Ein Autoklav ist in den Tierhaltungsräumen vorhanden. 6. Arbeiten mit Kleintieren sind in einem Sicherheitswerkbank der Klasse II durchzuführen. 7. Einrichtungen zur Verhinderung des Eindringens von Insekten, Nagern und Vögeln müssen vorhanden sein. 8. Das Ausschleusen von Proben mit Organismen darf nur in bruchsicheren, dicht verschlossenen, entsprechend gekennzeichneten und aussen desinfizierten Behältern durchgeführt werden. 9. Abfälle und Tierkadaver sind zu sterilisieren. Ist dies in den Tierhaltungsräumen nicht möglich, so hat der Transport in Behältern unter den oben beschriebenen Bedingungen zu erfolgen. Die Beseitigung von Abfällen und Tierkadavern ist zu protokollieren. 10. Das Betreten ist nur Berechtigten erlaubt und hat über die Schleuse zu erfolgen.

**Sicherheitsmassnahmen für
Tierhaltungsräume****Anhang I**

4	<ol style="list-style-type: none">1. Der Tierhaltungsraum ist ein eigenes Gebäude oder ein klar abgegrenzter Bereich innerhalb eines Gebäudes.2. Der Tierhaltungsraum enthält eine dreikammerige Schleuse.3. Im Gebäude ist ein Unterdruck aufrechtzuerhalten.4. Beim Ein- und Ausschleusen werden Material und Gegenstände in einer Schleuse desinfiziert. Tiere sind ebenfalls zu desinfizieren. Die Schleuse selbst ist nach jedem Arbeitsgang zu desinfizieren.5. Arbeiten mit humanpathogenen Organismen der Sicherheitsstufe 4 haben im Tierhaltungsraum, soweit dies möglich ist (z.B. bei kleinen Versuchstieren) in einer Sicherheitswerkbank der Klasse III oder in geschlossenen Apparaturen oder mit fremdbekühteten Vollschutzanzügen zu erfolgen.6. Schutzmassnahmen beim Betreten wie unter Anhang G für Stufe 4. Der Zutritt ist nur Personen erlaubt, deren Anwesenheit für die Versuchsdurchführung notwendig ist.
----------	---

HUMAN GENE THERAPY 2:251-256 (1991)
Mary Ann Liebert, Inc., Publishers

Points to Consider in Human Somatic Cell Therapy and Gene Therapy (1991)

This document was prepared by staff of the Center for Biologics Evaluation and Research, Food and Drug Administration. Periodic revisions are planned as the technology for the covered product area develops. The document is also being announced in the Federal Register.

Contents

- I. Introduction
 - A. Definitions of somatic cell therapy and gene therapy
 - B. Types of therapies
 - C. General considerations
- II. Development and characterization of cell populations for administration
 - A. Collection of cells
 - B. Cell culture procedures
 - C. Cell banking procedures
 - D. Materials used *in vitro* for cell manipulation and growth
 - E. Molecular genetic characterization of constructs for gene therapy
- III. Preclinical testing
 - A. Safety evaluation
 - B. Efficacy evaluation
 - C. Immunological concerns
- IV. Lot-to-lot manufacturing control and release testing
 - A. Cell identity
 - B. Potency
 - C. Cell viability
 - D. Sterility
 - E. Endotoxin testing
 - F. General safety test
 - G. Frozen cell banks
 - H. Live vectors
- V. Additional applications: addition of radioisotopes or toxins to cell preparations
- VI. Considerations regarding clinical trials
- VII. Conclusion

I. Introduction

These "Points to Consider" are concerned with somatic cell therapy and gene therapy, and are intended to provide information to manufacturers engaged in the production and testing of products for these therapies.

These "Points" are not regulations, but rather represent issues that the Center for Biologics Evaluation and Research (CBER) staff believes should be considered at this time.

Because advances in biotechnology are occurring at a rapid pace, it is anticipated that this document will be updated in the future, and these Points should not be regarded as being either definitive or all-inclusive. They are presented as a draft subject to further modification, and readers are invited to submit comments to the address noted at the conclusion.

A. Definitions of somatic cell therapy and gene therapy Recently, various innovative therapies involving the *ex vivo* manipulation and subsequent reintroduction of somatic cells into humans have been used or proposed. Somatic cell therapy is the administration to humans of autologous, allogeneic, or xenogeneic living cells, which have been manipulated or processed *ex vivo*. Manufacture of products for somatic cell therapy involves the *ex vivo* propagation, expansion, selection, or pharmacologic treatment of cells, or other alteration of their biological characteristics. Such cellular biological products might also be used for diagnostic or preventive purposes.

Gene therapy is a medical intervention based on modification of the genetic material of living cells. Cells may be modified *ex vivo* for subsequent administration to humans, or may be altered *in vivo* by gene therapy given directly to the subject. When the genetic manipulation is performed *ex vivo* on cells which are then administered to the patient, this is also a form of somatic cell therapy. The genetic manipulation may be intended to have a therapeutic or prophylactic effect, or may provide a way of marking cells for later identification. This document does not discuss genetic manipulation aimed at modification of germ cells.

B. Types of therapies Examples of somatic cell therapies include implantation of cells as an *in vivo* source of a molecular species such as an enzyme, cytokine, or coagulation factor; infusion of activated lymphoid cells such as lymphokine-activated killer cells and tumor-infiltrating lymphocytes (addressed in a separate Points to Consider document; see list in Section C below); and implantation of manipulated cell populations, such as hepatocytes, myoblasts, or pancreatic islet cells, intended to perform a complex biological function.

Initial approaches to gene therapy have involved the alteration and administration of somatic cells. However, future techniques may include approaches such as the direct administration to patients of retroviral vectors or other forms of genetic material. The concerns described below apply regardless of the method used, though the applicable tests may be different.

Cells for therapeutic purposes may be delivered in various ways. For example, they may be infused, injected at various sites, or surgically implanted in aggregated form or along with solid supports or encapsulating materials. Any matrices, fibers,

beads, or other materials which are used in addition to the cells may be categorized either as excipients, additional active components, or medical devices.

Because of the complexities of potential interactions with the cells and other constituents, additional components should be considered as part of the final biological product for purposes of preclinical evaluation.

C. General considerations Biological products are often complex mixtures that cannot be completely defined. Quality control of the manufacturing process as well as the final product is necessary. Poor control of production processes can lead to the introduction of adventitious agents of other contaminants, and to inadvertent changes in the properties or stability of the biological product which may not be detectable in final product testing.

For these reasons, the methods and reagents involved in the production process should be defined. Also, cell banks and key intermediates in the production process should be subject to quality control. Lot-to-lot reproducibility of both the final product and critical materials such as vector-containing supernatants should be examined. Existing general regulations (21 CFR 210, 211, 312 and 600) may be relevant and should be consulted for guidance.

Some of the issues regarding cellular and gene therapy products overlap with those discussed in other Points to Consider documents. It is suggested that the most recent versions be reviewed. The following documents are relevant:

Points to Consider in the Production and Testing of New Drugs and Biologicals Produced by Recombinant DNA Technology (1985)

Points to Consider in the Characterization of Cell Lines Used to Produce Biologicals (1987)

Points to Consider in the Manufacture and Testing of Monoclonal Antibody Products for Human Use (1987)

Points to Consider in the Collection, Processing, and Testing of *Ex-Vivo*-Activated Mononuclear Leukocytes for Administration to Humans (1989).

The following sections indicate areas of concern and questions to be addressed by manufacturers of such products when filing applications. Initial clinical trials should be preceded by submission of data adequate to assure a reasonable degree of safety. A description of the methods, actual data from appropriate tests, and evidence of assay validation should be included.

It may not be practical or possible to address all of the issues discussed below for a given system. In some instances, tests mentioned will be inapplicable or inappropriate, or alternative procedures may be more appropriate. The methods and procedures mentioned are suggestions; sponsors may propose alternative techniques which will be acceptable if these issues are adequately addressed. In addition, all the information discussed below may not be necessary before clinical trials are initiated.

The points to consider suggested in this document are based in part on an assessment of the limited experience available with cell and gene therapy products and methods of production. Modifications of procedures in use will occur with time, and alternate control procedures will be needed. The principles included here can serve as guidance for developing these procedures.

II. Development and Characterization of Cell Populations for Administration

A. Collection of cells The following information should be provided:

1. Cell types. The type(s) of cell to be used should be described as autologous, allogeneic, or xenogeneic in origin. The tissue source and other relevant identifying information should be provided.
2. Donor selection criteria. Any relevant characteristics of the donor(s) should be specified, including age and sex. If animal species other than humans are used, a description should be provided of the origin, relevant genetic traits, husbandry, and health status of the herd or colony.

As stated in the "Points to Consider in the Collection, Processing, and Testing of *Ex-Vivo*-Activated Mononuclear Leukocytes for Administration to Humans," as a minimum, allogeneic donors should meet the standards for blood donors (21 CFR 640.3), the testing and acceptance procedures should be described, and any deviations should be justified. Where applicable, additional Public Health Service recommendations regarding organ and tissue donors should be incorporated. Exclusion criteria should focus on the presence or likelihood of infection by HIV-1 and HIV-2, hepatitis B and C viruses, HTLV-1, and other infectious agents. Serological, diagnostic, and clinical history data to be obtained from donors should be specified. Provision for follow-up of donors will be appropriate in some cases and methods of obtaining donor data and record keeping should be thoroughly described.

3. Tissue typing. If allogeneic donors are to be used, typing for polymorphisms such as blood type should be included when appropriate. The importance of matching for histocompatibility antigens (HLA class I and/or II, perhaps minor antigens in some cases) between donor and recipient should be addressed, and typing procedures and acceptance criteria provided.

Should it be indicated or necessary to use mixtures of cells from multiple donors, special attention should be paid to possible cell interactions that could result in immune responses or other changes that might alter the performance of the cells. Characterization of multiple-donor cell mixtures may be problematic.

4. Procedures. The procedures for the collection of cells, including location of the facility and any materials or devices used, should be submitted.

B. Cell culture procedures

1. Quality control procedures. In general, cell culture operations should be carefully managed in terms of quality of materials, manufacturing controls, and equipment validation and monitoring. See I. C. General Considerations.
2. Culture media. Acceptance criteria should be established for all media and components, including validation of serum additives and growth factors, as well as verification of freedom from adventitious agents. Records should be kept detailing the components used in the culture media, includ-

viruses, and producer cell lines used for preparation of the final construct should be given, including their derivation, characterization, conditions for growth, and the materials and methods used. Known regulatory elements such as promoters or enhancers contained within the construct should be identified. Stability of the vector with respect to potential for rearrangement, recombination, and mutation should be assessed, both under the conditions actually employed and after prolonged culture to permit emergence of variants from the packaging cell line and possibly from preclinical cell preparations similar to the final product. If genetic elements are incorporated as safety measures to permit recall/inactivation of cells after administration to the patient, they should be described, and data evaluating the safety and effectiveness of the cell inactivation system submitted.

For product control purposes, each distinct vector is considered a different product, and should be fully characterized and tested for safety.

2. Methods of vector insertion and implications. Recombinant sequences may be introduced into cells by site-specific recombination techniques or by methods that result in random insertion, e.g., retroviral vectors. If site-specific gene insertion is used, the segment inserted and adjacent sequences should be characterized, to demonstrate that the insertion occurred as expected. If random gene insertion techniques are used, tests should be performed on representative preparations to determine the average number of copies inserted per cell, and whether the integration is chromosomal or extrachromosomal.

3. Packaging cell lines.

Packaging cell lines are often used to produce vector-containing supernatants for transduction of cells with exogenous genes. In such cases, the origin, history, and biological properties of the packaging cell should be described. The structure and stability of the genes responsible for viral packaging should be characterized along with any safety features of the line. A master cell bank of the vector-containing packaging cells should be characterized and subjected to quality control (see Part II, C). The permissible number of passages or population doublings between the master cell bank and production cells used to make working vector supernatants should be established, and should reflect both the transducing ability of the supernatants and the absence of replication-competent virus. Each lot of vector-containing supernatant for use in transduction should also be tested for transducing ability and for the absence of replication-competent virus.

III. Preclinical Testing

A. Safety evaluation Some combination of animal model studies and *in vitro* testing that will be informative about product safety should be performed. Safety testing should cover a dose range that includes and exceeds the doses to be used in humans.

1. Growth factor-dependence. In cell cultures dependent on exogenous growth factors, growth patterns should be monitored. If a cell line exhibits uncontrolled growth, and in particular if a cell line was formerly factor-dependent and becomes factor-independent, the cells should not be used. If transformed xenogeneic cell lines are to be encapsulated and used *in vivo*, their use and control will probably involve special considerations not addressed in this document.
2. Tumorigenicity. Tests of tumorigenicity will be appropriate in cases when the manipulation could alter the normal growth pattern or the regulation of expression of a cellular oncogene, *trans*-acting factor, growth factor, or growth factor receptor. Alterations of any of these could affect the growth properties of the implanted cells or of other cells in the recipient. For example, this concern could arise when cells are propagated over long periods of time *in vitro* or when cells are manipulated genetically.

Tumorigenicity testing is commonly done using suitable animal models such as nude mice or immunosuppressed animals. A detailed description of tumorigenicity testing is found in the "Points to Consider on Cell Lines Used for Production of Biologicals."

If non-malignant cells for therapeutic use are prepared from human tumor tissue, residual tumor cells in the cell preparation should be quantitated and the completeness of tumor cell removal from the cell population should be documented before reintroduction into the patient.
3. Gene insertion.
 - a. Viral replication. Proposed retroviral vector preparations should be tested for replicating virus, and the limits of detection established for the assays used. Producer cell lines should be tested for replicating virus after culturing cells beyond the normal culture period used for production, to favor emergence of any competent virus. Available evidence should be provided from the genetically modified cell population demonstrating by a sensitive method that any viral vector used in its production, mutants derived from it, or portions of it which may have recombined with endogenous retroviral sequences, are not reproducing.
 - b. Insert stability. The stability of the inserted genetic material should be characterized, for example, by tests for integrity of the insert itself or the RNA transcribed from it, with respect to mutations, recombinations, and rearrangements. Note that sequence changes may occur at any time and are not ruled out by testing at a single point in time. Data should be provided describing the fraction of cells in the population containing the insert and the length of time the insert is retained. The study of growth prolonged beyond the normal culture period can be used to define the limits of the system's stability.
 - c. Function of the inserted gene. The appropriate functioning of the inserted gene should be established. The possibility of poorly regulated cell function or gene expression (under- or overproduction of biologically active substances) should be considered in the safety evaluation. For key products made by the cells, the level of expression should be evaluated for risk potential by comparison to the level produced by normal cells or by the same patient's cells prior to manipulation. Stability of function over time should also be demonstrated by quantitative measures of biological activity.
 - d. Insertional mutagenesis. Interruption of the function of a cellular gene by insertional mutagenesis may affect

POINTS TO CONSIDER IN HUMAN SOMATIC CELL THERAPY AND GENE THERAPY

Method should be validated to show that the cell preparation does not interfere with endotoxin detection.

F. The general safety test (21 CFR 610.11) should be performed on the final product when it is prepared in large batches to make this test feasible. When appropriate, special procedures may be developed.

G. Cell population frozen for subsequent implantation. If cells are thawed, perhaps expanded, and then administered to patients, lot release testing on the thawed cells is needed. This can be adapted from Part II, E on cell banking practices.

H. Live vectors. Live virus vectors intended for use as final product should be subjected to lot-by-lot testing designed to be relevant to the product system and characteristics of the vector. Procedures analogous to those used for lot-by-lot testing of live virus vaccines should be employed.

V. Additional Applications: Addition of Radioisotopes or Toxins to Cell Preparations

Therapeutic or diagnostic applications may be proposed involving cells which are modified by radiolabeling or pre-loading with bioactive materials such as toxins. Thus, the cell implant may be used as a delivery system not only for its own products and functions but for other products. Similar special issues have been raised in the past by use of radiolabelled or toxin-conjugated antibodies, and are addressed in the "Points to Consider in the Manufacture and Testing of Monoclonal Antibody Products for Human Use." While the applications to somatic cell therapies may differ, that document should be consulted.

In addition, novel safety concerns may arise related to the site of cell implantation and localization of the radionuclide or toxin, or due to metabolic properties of the cells. These should be anticipated and addressed where possible.

VI. Considerations regarding Clinical Trials

The use of somatic cell therapy or gene therapy in clinical trials raises some novel concerns due to the nature of the therapeutic agents. Although a complete discussion of clinical trial design will not be presented here, some of the special concerns in cellular therapies can be highlighted. Patients should be monitored for survival of the cells, localization of implanted

cells in the body, cell function, quantitation of key products made by the cells and their pharmacokinetics and biodistribution, presence of any exogenous sequences inserted into the genetic material of cells, replication of any viral vectors, and adverse reactions including infections related to infusion or implantation. The nature of the proposed indications and patient populations may often require long-term follow-up, in some cases for the lifetime of the recipient. Use of viral vectors may in special cases require testing of clinical personnel or household contacts to confirm lack of infectious spread. The inclusion of children or pregnant women in such trials will raise special concerns about developmental effects.

In gene therapy, the product of the inserted gene must be considered as a potential source of immune reactions; a person who is genetically defective for the production of a given molecular species may not be immunologically tolerant to it. Animal models may give only limited guidance as to the effects in humans. When applicable, information on testing procedures and results should be provided regarding evidence of immune responses to the cells or their products, and whether immune responses that do occur alter safety or therapeutic effectiveness; any evidence of a graft-versus-host response and its clinical consequences; immunosuppressive regimens used with the therapy or evidence of immune suppression by the therapy; any data suggesting development of autoimmune reactions during therapy; evidence of allergic reactions to therapy; and information about attempts to identify the component responsible for any immune responses seen.

VII. Conclusion

Concerns about somatic cell therapy and gene therapy include those concerns common to control of all biological products, those applying to cell preparations, and those unique to genetic alterations. New issues are likely to emerge in the future, as experience is gained. For the present, however, the issues mentioned here should be considered by those developing biological products to be used for such therapies.

To receive a copy of these Points to Consider or other Points to Consider documents issued by the Center for Biologics Evaluation and Research, contact: Congressional, Consumer Affairs and International Affairs Staff, HFB-142, Suite 109, Metro Park North III, 5600 Fishers Lane, Rockville, MD 20857; Telephone (301) 295-8228. Fax (301) 295-8266.

