

罕见病酶替代疗法药物药学研究与评价技术

指导原则

(征求意见稿)

国家药品监督管理局药品审评中心

2026年3月

一、概述

罕见病酶替代疗法（Enzyme Replacement Therapy, ERT）药物（以下简称 ERT 药物）是通过基因工程技术生产的一种具有高特异性的活性蛋白物质以用于特定罕见病的治疗。针对特定酶缺乏或功能缺陷导致的罕见遗传性代谢疾病，例如溶酶体贮积症（Lysosomal Storage Diseases, LSDs），包括戈谢病（Gaucher disease）和法布雷病（Fabry disease）等，ERT 药物可以在患者体内部分或全部替代天然内源性酶的功能，以恢复正常的生化代谢过程，最终减缓疾病进程。

ERT 药物是一类特殊的重组蛋白产品，其生产、质控的技术要求与常规重组蛋白制品有相同或共通之处，同时也具有其特殊性。该产品作用机制复杂，可能涉及特殊生产工艺，同时由于罕见病用药的特殊性，如批量较小、批次较少等，其相关药学研究中可合理引入基于风险的灵活策略。因此，现有重组蛋白相关指南不能完全覆盖 ERT 药物的药学研究要点。为了进一步明确 ERT 药物的药学研究与评价技术要求，在治疗用重组蛋白相关指南的基础上，制定本指导原则。

本指导原则基于当前的科学认知，主要针对 ERT 药物申报上市阶段的药学研究提出相关技术要求。鉴于先进制造工艺、表征分析方法等持续发展，申请人亦可基于产品自身特点和研发实际情况，采用经验证的替代技术和方法开展研究，

并提供证明其科学性和适用性的资料。随着技术的发展、认知的深入和经验的积累，本指导原则的相关内容将逐步完善和更新。

二、适用范围

本指导原则所述 ERT 药物，系指通过基因工程技术生产的、含有特定内源性代谢酶相关序列的重组蛋白产品。该类产品的序列或结构包括但不限于以下三类：

- 1、氨基酸序列与罕见病患者体内缺乏或功能缺陷的特定内源性代谢酶一致；
- 2、在天然内源性酶氨基酸序列基础上经过合理改构；
- 3、蛋白结构经分子修饰（如化学合成聚糖、PEG 等）或与蛋白/多肽融合表达等技术进行改造；

此外，对于不属于以上范围，但工艺特点、质量控制等方面与本指导原则所述相似的重组蛋白产品，亦可酌情参考本指导原则的相关要求。

三、总体考量

ERT 药物的药学研究应符合《中华人民共和国药品管理法》、《药品注册管理办法》、《中华人民共和国药典》（以下简称《中国药典》）等相关法规和技术要求。

ERT 药物具有罕见病用药的相关特性，例如生产批量小、生产频率低、临床需求针对性强等。为鼓励和促进 ERT 药物的研发和注册，在确保质量可控的前提下，基于 ICH 相

关技术要求和风险评估理念，可对 ERT 药物的工艺验证、稳定性研究、注册检验等方面采用科学、合理的灵活策略，以提升研究效率，促进产品临床可及性。

（一）工艺验证

常规需在商业规模生产条件下完成连续三批样品的工艺验证。由于 ERT 药物作为罕见病用药在开发等方面的特殊性，如有需要，建议申请人根据产品批量与临床需求的匹配性、不同阶段样品的质量可比性、工艺成熟度等因素，基于质量风险管理原则确定验证批次数量及规模。若采用其他验证批数和/或规模，需提供充分的科学依据证明其合理性。

对于生产频率较低的 ERT 药物，可考虑采用同步验证（Concurrent validation）、解耦型验证（Decoupled validation）等灵活策略，在确保既有工艺理解充分、风险可控的基础上，使验证研究与商业化生产更好衔接。

对于多规格或多剂型的 ERT 药物，可考虑根据风险评估采用简并的验证方式（如括号法、矩阵法），如根据最不利工艺条件选取具有代表性的规格进行验证，合理优化验证批次配置。

此外，在具备充分先验知识且已积累成熟生产验证经验的基础上，鼓励采用平台化验证技术合理减免验证研究，如病毒清除平台验证。

（二）稳定性研究

在充分评估既有工艺产品质量与稳定性数据的基础上，可考虑采用具有商业化工艺代表性的批次（如关键临床批次、工艺开发批次）稳定性数据，用于支持商业化产品效期的拟定。基于 ICH 相关要求，可考虑根据适当的先验知识辅助确定有效期。

（三）注册检验

ERT 药物的注册检验应根据《药品注册检验工作程序和技术要求规范（试行）》等相关检验规范开展。结合罕见病药物研发特点，注册检验批次可由 3 批减为 1 批，每批次检验用量从全检用量的 3 倍减为 2 倍。若 ERT 药物制剂生产涉及多个原液生产场地，为充分验证不同来源原液对制剂的影响，建议采用具有代表性的原液批次生产制剂开展注册检验，确保原液来源不同不会引入额外质量风险。

灵活策略的应用本质上系对研究策略的优化，而非技术要求的降低。鼓励申请人在研发关键阶段（如关键临床试验前、上市申请前）、上市后变更等节点，对所用灵活策略与药品监管机构进行沟通交流，充分提供相关支持性资料，以证明相关策略能够切实保证产品的安全有效和质量可控。

四、生产用原材料

（一）上游构建和细胞库建立与检定

1. 重组 DNA 技术表达

对于采用重组 DNA 技术表达的 ERT 药物，其上游构建的技术要求相较其他重组表达生物制品基本一致。申请人应明确目的基因的来源，并清晰说明其氨基酸序列与人源天然内源性酶（包括亚型）的异同。若对序列进行改构，需阐明改构的依据及其对功能的影响。

部分 ERT 产品可通过上游构建阶段的特殊设计进行结构优化，一般考量如下：

对于涉及修饰酶共表达的产品，例如与增加甘露糖-6-磷酸（M6P）含量（如糖链修饰相关酶 GNPT、UCE 等）或修饰特定酶类的关键活性位点（如 FGE 修饰硫酸酯酶中的半胱氨酸残基）相关的修饰酶，应明确修饰酶的基因来源与改构信息，并选择与预期功能相匹配的信号肽，工程细胞克隆筛选及细胞库相关研究中，均应纳入修饰酶的序列准确性、基因组整合位点及表达活性等考察。此外，共表达操作可能增加生产用细胞的代谢负荷，应于细胞库传代稳定性研究和实际细胞培养过程中，密切关注共表达细胞的生长情况、目标产物产量及质量能否满足后续工艺要求。

对于酶与蛋白/多肽融合表达的产品，例如融合特定受体抗体以实现跨血脑屏障转运、融合 IgG Fc 片段以延长产品体

内半衰期、融合 IGF2 配体肽等以增强 M6P 受体对产品的摄取，上游构建时建议综合考虑蛋白/多肽的融合位置、连接子（linker）的选择等，细胞株开发研究中应表征融合表达产物的构象并进行初步的体外活性检测，确保融合片段不会因遮蔽酶活性结构域或影响关键修饰在蛋白表面的暴露等因素而导致 ERT 药物的功能受损。

对于涉及宿主细胞基因编辑的产品，如敲除特定糖基转移酶以维持糖链的高甘露糖结构，应明确基因编辑的目标基因、机制与预期功能，提供基因编辑工具的设计、导入方式与脱靶风险评估等资料。细胞库研究中应从核苷酸、蛋白、产物质量等方面确认基因编辑达到预期效果，并关注不同代次生产用细胞中以上表征结果是否稳定。基因编辑工具蛋白（如 Cas 蛋白）一般采用瞬时表达，应证明细胞库中无相关蛋白残留或验证下游纯化工艺可对其进行有效清除。

2. 插入激活序列以增强内源基因表达

对于采用插入激活序列增强内源性目的基因表达的策略，应进一步明确插入序列的具体信息与对应各元件的功能，明确插入位点在基因组的位置，并评估在该插入操作是否会导致非预期的基因组改变。必要时，应在细胞库检定中增加成瘤性和致瘤性检查。另外，如果基因激活元件的插入导致内源性目的基因的外显子区域发生部分替换或缺失，应通过插入位点上下游的基因组测序，明确插入操作对内源性基因

产生的具体影响，并深入评估由此产生的氨基酸序列的部分替换或缺失对产品安全有效性的潜在影响。

（二）其他生产用原材料

ERT 药物生产用原材料方面的开发与评价基本遵循重组蛋白类药物的一般原则，但针对采用特殊工艺的产品，其生产用原材料应根据产品特点和特定工艺有如下特殊考虑。

细胞培养相关原材料方面，如采用灌流培养模式，因其高频次补料、长培养周期等特点，对原材料控制提出一定挑战。首先，应严格控制输入物料（如培养基、补料溶液）的质量批间一致性，避免不同培养周期间、同一周期内不同收获时间点的批次间，因物料质量差异而引入产品质量波动风险。建议基于风险控制的理念，制定关键物料的入厂检定和复检策略。此外，长培养周期导致产品溶液长时间、反复与生产组件接触，相容性风险相应升高。建议尽量选择低析出风险的接触性组件，并规范开展接触性组件的可提取物和浸出物研究，验证条件应能覆盖实际生产中的最差接触条件（如时间、温度、物质组成等），确保在拟定的运行条件下，各组件的溶出情况不会对工艺性能和产品质量产生不利影响。

修饰工艺相关原材料方面，如采用酶促方法“修剪”糖链进而暴露末端甘露糖，所用重构酶应避免来源于动物源性组织提取，建议采用重组表达技术进行生产，以确保生产用

原材料无引入外源因子的显著风险。如生产工艺涉及在胞外通过化学反应将酶分子与含有多个 M6P 的聚糖分子进行人工连接，聚糖分子的工艺开发和质量控制等应参照化学原料药的要求进行，可参考化学药物和 ICH 相关指导原则。

五、生产工艺

ERT 药物的生产工艺开发应遵循“质量源于设计”的原则，其工艺开发、表征和验证等方面的一般要求可基本参照其他重组治疗类生物制品。ERT 药物的酶活性通常是关键质量属性之一且对环境因素较为敏感，出于缩短中间产物的暂存时间、保持酶活性的考虑，鼓励申请人结合产品特点，探索采用连续制造等先进生产技术，其相关技术要求可参考 ICH Q13 指南，重点关注过程控制、实时检测、批次界定、工艺验证等方面的策略。申请人应平衡工艺创新与质量可控性，在保障患者用药安全有效和供应稳定的前提下，积极推动先进生产工艺的开发和应用。

（一）细胞培养工艺

灌流培养工艺在 ERT 药物的生产中应用相对普遍，主要基于两方面的考虑：其一，该产品于处方配制前往往稳定性较差，而灌流培养方式可以通过连续收获操作使表达并分泌至细胞外的活性蛋白尽快地进入下游纯化阶段并进行处方原液配制，有利于最大限度保持 ERT 药物的活性；其二，罕见病药物通常需求量有限，而灌流培养具备每日收获、长

收获周期的特点，可以显著提高生产灵活性。灌流培养的工艺开发应重点关注如细胞灌注速率、发酵终点指标等关键工艺参数，结合不同灌流时间节点的细胞生长情况和不同收获阶段所获产品的产量与质量属性等因素，合理拟定商业化工艺的工艺参数范围。此外，灌流培养工艺的工艺验证策略应予以重点关注。连续灌流培养的特点之一为收获周期较长，随着培养天数逐渐增长，生产用细胞可能存在细胞生长受限、表达产物质量漂移等风险。因此，在商业化工艺验证时应充分考虑因收获时间点不同而带来的细胞生长/产物质量差异风险，即 PPQ 批次应尽可能覆盖灌流培养生产周期的前、中、后期，确保在拟定的收获周期内细胞生长状态的稳健性和目标产物的质量一致性。

对于依赖特定修饰进行跨细胞膜转运的 ERT 药物，可在细胞培养阶段调控其修饰程度。以通过 M6P 受体介导转运的 ERT 药物为例，调控内源性初始糖基化链装配后的修剪速率是提高产物 M6P 含量的切入点。糖基化链在合成早期通常呈高甘露糖型，其多个末端甘露糖尚未被其他单糖封闭，因而更有利于发生 M6P 修饰。基于上述机制，适度维持糖链合成早期的高甘露糖状态可作为工艺开发方向，例如敲除特定糖基转移酶、筛选糖基化加工速率较慢的细胞克隆、合理缩短培养收获周期、培养过程中适当添加甘露糖苷酶抑制剂等。

（二）下游工艺

收获阶段，如上游采用灌流培养模式，在单个收获周期内会产生多个收获液批次，可能涉及混批操作。建议在工艺验证数据支持的范围内，制定明确的合批原则，对合批数量、批次来源（如涉及不同生物反应器、不同收获时间点的批次合批）等进行规定。

纯化工艺一般包括多步正交层析、除病毒过滤等步骤。由于该类产品的构象和特定结构修饰（如有）易受到环境因素影响，进而影响产品生物学活性，工艺开发研究中应重点关注层析洗脱的 pH 值、过滤步骤的跨膜压力等参数对产品结构的影响，并进行合理优化。同时，应尽可能减少 ERT 药物在生产过程中的暂存时间，特别是产品处于非处方缓冲体系时，任一节点的暂存均应有相应验证数据支持。

病毒安全性控制方面，低 pH/去垢剂灭活步骤并非适用于所有 ERT 药物，但仍必须至少设置两个稳健且原理正交的病毒清除步骤，整体工艺的安全因子范围也需符合 ICH Q5A（R2）的要求。

中间体与过程控制方面，申请人应结合具体工艺特征，将产品相关杂质、工艺相关杂质及关键工艺添加物残留的监测纳入常规过程控制体系，以确保生产过程处于受控状态。在纯化工艺开发与确认阶段，建议系统评估各单元操作对目标杂质的清除能力。可通过杂质加标研究、设计空间研究

(DoE) 等手段, 量化各关键纯化步骤对特定杂质含量的对数降低值 (LRV), 并结合多批次过程监测数据, 综合评价在工艺参数设计范围内整体工艺对各类杂质的累积清除能力, 从而为安全裕度的建立和相关控制限度的设定提供依据。

(三) 修饰工艺

对于依赖特定修饰进行跨细胞膜转运的 ERT 药物, 在其下游生产中, 可通过针对性结构修饰工艺优化产品的细胞摄取效率。此类工艺通常属于功能增强型工艺步骤, 其开发应基于对作用机制的充分理解, 并围绕构效关系开展系统研究。申请人应在工艺开发阶段明确修饰目标、作用原理及其对生物学活性的影响机制, 建立科学合理的工艺参数范围; 在工艺验证阶段, 应证明修饰过程的可控性和稳健性, 并评估其对产品整体质量属性 (包括构象稳定性、酶活性、杂质谱及微生物安全性等) 的影响。同时, 应评估潜在的工艺相关杂质残留及副反应风险, 并建立相应的控制策略。以依赖 M6P 受体进行跨膜转运的 ERT 药物为例, 目前, 修饰工艺主要以提高产品中 M6P 含量为目的, 形式包括化学合成聚糖结合、糖链体外去封端等。

化学分子修饰工艺: 该工艺通常先对产物蛋白进行氧化等预处理, 再将含有 M6P 的聚糖分子共价结合至其糖基化侧链, 以提高 M6P 含量及巨噬细胞摄取效率。预处理和结合步骤是工艺开发的重点, 建议系统优化相关工艺参数, 如预

处理/结合的时间、温度、聚糖/蛋白摩尔比等，并结合质量研究，逐步探索预处理可能对目标蛋白产生的不良影响（如影响活性或稳定性的翻译后修饰等）与结合效率之间的平衡，在深入理解工艺参数对关键质量属性影响的基础上合理拟定参数范围。

酶促介导糖链去封端工艺：重组蛋白的 N-糖基化修饰一般呈现高度复杂性，糖链合成早期的甘露糖末端可能会在进一步修饰过程中被半乳糖等单糖遮蔽，进而影响甘露糖末端暴露的整体比例。可采用特异性糖苷酶剪切复合型糖链中的单糖，在糖链末端暴露被遮蔽的 M6P，提高靶细胞对 ERT 药物的摄取效率。建议根据 ERT 药物的单糖类型与含量合理选择对应的特异性糖苷酶，工艺开发应围绕特异性糖苷酶的用量、比例、共孵育 pH 和酶切时长等参数进行优化。建议采用实验设计（DoE）研究，以上述关键工艺参数作为输入，以重构效率、细胞摄取能力等关键质量属性作为输出，对工艺参数的设计空间进行探索和表征。

（四）制剂工艺

处方开发方面，一般以处方的 pH 缓冲能力、降低蛋白聚集及吸附、冻干过程赋型等为基础性能进行相应开发研究。此外，还应将以上处方性能与产品的酶活性和关键功能修饰（如有）相关联，考察在模拟储存和使用等过程中处方组成对产品关键质量属性的维持作用，必要时可设置极端条件对

处方进行挑战，并根据研究结果持续进行辅料种类、含量的优化。

对于采用冻干剂型的 ERT 药物，其冻干工艺过程中样品一般会在温度、水分含量、pH 值等方面经历显著的变化，存在影响 ERT 药物的构象稳定性等潜在风险。申请人应深入理解冻干参数与样品物理化学环境、工艺性能之间的相关性，综合优化冻干工艺参数（包括预冻速率、升华温度、干燥速率等），建立稳健的冻干工艺设计空间，确保产品在冻干过程中保持酶空间构象稳定。工艺验证研究中应对冻干前后的样品进行全面的质量对比。

六、质量研究与质量控制

（一）质量研究

1. 特性鉴定

1.1 结构确证和理化性质

ERT 药物结构确证和理化性质研究的技术要求与重组治疗类生物制品的一般原则基本一致。结构确证研究应包括一级结构、高级结构、翻译后修饰等。理化性质研究应包括外观、pH、消光系数、蛋白质含量、等电点、产品/工艺相关杂质等。

酶分子的空间构象是其发挥催化活性的结构基础，也是结构确证研究的核心内容。酶的高级结构决定其活性中心的空间构型，而活性中心作为底物识别与催化反应发生的关键

结构域，其完整性与构象稳定性直接影响酶的生物学功能。申请人应结合已知的结构功能关系、同源蛋白信息及相关资料，或在具备条件时通过三维结构解析技术（如 X-射线晶体学或冷冻电镜），明确 ERT 药物的活性中心区域、关键氨基酸残基及其可能的翻译后修饰特征，阐明其与酶活性的关联性。表征方面，应建立系统的分析策略，对酶的一级/高级结构进行全面确证。一级结构可通过肽图分析及 LC-MS/MS 等方法验证氨基酸序列的正确性及关键位点的完整性；高级结构可采用圆二色谱(CD)、差示扫描量热法(DSC)、荧光光谱等方法表征其二级、三级结构特征。通过上述研究，申请人应证明目的产物在分子结构、关键功能位点及空间构象方面的正确性与批间一致性，并为关键质量属性的确定及工艺控制策略的建立提供科学依据。

对于依赖特定结构修饰进行跨细胞膜转运的 ERT 药物，其特定修饰的含量、分布将直接影响产品的受体结合活性、细胞摄取效率等，也是产品结构异质性的主要来源，应予以重点关注。以依赖 M6P 受体进行转运的 ERT 药物为例，建议从单糖、寡糖、糖肽分析等多个维度对产品的 N-糖基化修饰进行全面、正交的分析。单糖层面一般采用酸水解释放单糖后的色谱或质谱（如 RP-HPLC 或 LC-MS）分析进行单糖组成研究，对 M6P 及其他单糖含量进行整体水平的平均含量检测。该层面的总 M6P 含量检测结果也包括了处于非末

端的 M6P，需要结合唾液酸等末端修饰含量以及寡糖层面的数据，综合判断产品的末端 M6P 含量。在寡糖层面，M6P 在不同类型糖链上的数量及分布差异可能对产品的安全有效性产生影响，应对释放后的寡糖进行色谱/质谱（如 HILIC-HPLC 或 LC-MS）分析以对产品的寡糖图谱进行表征，重点关注含单磷酸、双磷酸（bis-M6P）等不同形式的寡糖链及含量，以及末端 M6P 被其他单糖遮蔽的程度。对于含有多个 N-糖基化位点的产品，其呈现为更加复杂的糖基化修饰和 M6P 分布。由于蛋白整体构象的影响，M6P 所在的糖基化位点的位置将直接决定末端 M6P 在蛋白表面的暴露程度及空间分布，因此建议将样品酶解后通过质谱分析等检测手段开展位点特异性的寡糖分析。

该产品一般涉及长期、多次给药，且患者群体可能为儿童，因此应特别关注不溶性微粒、可见异物的表征研究。如在产品放行、储存或使用过程中发现产品中存在不溶性微粒和/或可见异物，应采用多种正交分析方法对其进行定量/定性分析，明确微粒或异物来源、产生原因和物质组成，并结合给药剂量、患者易感性等因素进行安全性风险评估，必要时可考虑于给药时进行在线过滤操作以控制相关风险。鼓励申请人进一步开展小粒径（如 2~10 μm ）微粒表征研究。

1.2 生物学活性

酶活性是 ERT 药物最为关键的质量属性之一，应合理设

计酶反应体系以对其生物学活性进行研究。酶体外活性测定中，底物的选择是分析方法建立的核心。目前常用的底物可分为合成底物和天然底物两类。其中，合成底物由于其通用性较强且通常自带荧光或显色基团，适用于产品的常规放行检测；天然底物（如糖原）的选择取决于酶的种类，由于部分 ERT 药物经体内修饰（如进入溶酶体酸性环境后经蛋白水解和糖链修剪）后才可发挥对天然底物的最大酶活性，因此建议进行活性表征研究即可。但对于化学修饰糖基化侧链的 ERT 药物，因修饰后的糖链相对更难被相关内源酶水解，应开展采用天然底物的体外酶活性试验，以尽可能模拟该产品在体内真实环境下的催化行为。在方法学验证阶段，需重点确认所用底物的适用性、灵敏度与定量范围，确保能够可靠反映产品酶活性。酶活性试验通常以最大反应速率 (V_{max})、催化常数 (K_{cat}) 和米氏常数 (K_m) 等动力学参数作为报告结果。

对于预期作用机制涉及跨细胞膜转运过程的 ERT 药物，其生物学活性研究不应仅限于体外酶催化活性的评价，还应结合其体内发挥作用的关键步骤，系统开展与作用机制相关的功能表征研究。除酶活性测定外，建议围绕受体结合能力、受体介导的内吞效率等关键环节，建立相应的体外或细胞模型评价体系，以全面反映产品的生物学功能特性。以依赖 M6P 受体进行转运的 ERT 药物为例，其生物学活性研究可

有以下考量：

受体亲和力/结合活性：建议采用酶联免疫吸附法（ELISA）、表面等离子共振（SPR）、生物膜干涉技术（Biacore）等分析方法正交表征 ERT 药物与 M6P 受体的结合活性及亲和力。M6P 受体蛋白分为阳离子依赖型（cation-dependent M6P receptor，CD-MPR）和非阳离子依赖型（cation-independent M6P receptor，CI-MPR）两种亚型，选择合适的受体类型是确保分析方法准确反映产品对于 M6P 受体亲和力的关键前提。CI-MPR 更多地分布于细胞膜表面，更直接参与胞外配体的识别与内化，因此一般建议优先采用 CI-MPR 进行亲和力分析。CI-MPR 分子量较大，且作为跨膜蛋白具有一定疏水性，其全长表达与纯化难度较高，因此可以考虑在尽可能保持 M6P 受体结合构象的基础上，仅对关键结构域（如 D3/5/9/15）进行表达纯化，平衡受体表达纯化的可行性与重组受体产物的可溶性/结合活性。

靶细胞摄取：靶细胞摄取实验是评估 ERT 药物被靶细胞内吞能力的关键环节。靶细胞应选择膜表面表达 ERT 药物靶向受体的细胞，如巨噬细胞等。将待测样品与靶细胞进行共孵育，试验设计中应考虑到不同时间点和不同酶浓度，以准确评估靶细胞对 ERT 药物的摄取效率和浓度依赖性。孵育结束后清洗并裂解靶细胞，测定裂解物的酶活性，根据总蛋白含量对活性进行标准化，摄取值报告为比活性，即活性/蛋

白含量。由于靶细胞中可能存在一定的内源酶干扰，建议选择高特异性的底物进行活性测定，或适当采用相关内源酶抑制剂。此外，也可对待测样品进行荧光标记或放射性标记，通过直接测定其在靶细胞中的丰度及分布，以定量/半定量反映靶细胞对 ERT 药物的摄取能力。为进一步验证摄取过程是否依赖于特定受体及内吞机制，可设置受体阻断剂或内吞抑制剂作为对照组，以明确摄取的机制依赖性。

2. 杂质研究

产品相关杂质：与酶空间构象及功能完整性相关的产品相关杂质是质量研究的重点。由于酶分子的高级结构直接决定其活性中心构型及催化功能，任何可能影响蛋白折叠状态或关键功能区域稳定性的修饰或变异，均可能导致酶活性降低或丧失。因此，应重点关注与构象稳定性相关的翻译后修饰（如氧化、脱酰胺、异构化等）、分子大小异构体（如聚集体或片段）、序列变异体等。申请人应对相关杂质峰进行分离与结构鉴定，并在必要时开展生物学活性研究，以阐明其对产品作用机制关键环节的影响，建立相应的监测与控制策略。

工艺相关杂质：根据 ERT 药物工艺特点，其工艺相关杂质通常包括：细胞培养工艺添加物（如胰岛素样生长因子、甘露糖苷酶抑制剂）、生产用原材料引入杂质（如宿主细胞 DNA/蛋白、层析填料残留）、下游阶段可能使用到的合成聚糖（包括聚糖残留、降解产物残留、氧化反应副产物等）、糖

苷酶等,以及微生物安全性相关杂质。应参考中国药典和 ICH Q3D 等相关技术指南,或依据特定杂质的毒理学安全阈值,结合投料量、实际残留量及整体工艺对特定杂质的清除能力等,综合评估杂质残留的安全性风险并制定科学合理的控制策略。

(二) 质量控制

ERT 药物的质量控制应在遵循重组蛋白类药物一般原则的基础上,结合产品自身结构特征、生产工艺特点、质量研究数据,综合拟定质量标准所含项目及其限度范围。原液和制剂的质量标准中一般包括鉴别、一般检查(如外观、渗透压摩尔浓度、蛋白质含量、pH 值、不溶性微粒、可见异物等)、纯度、电荷异质性、糖基化修饰(如涉及)、生物学活性(如受体亲和力/结合活性、细胞摄取、体外酶活性)、产品相关杂质(如氧化/脱酰胺、二硫键错配、C 末端缺失等)、工艺相关杂质(HCD、HCP、工艺添加物)、关键辅料含量、安全性检查(细菌内毒素、无菌、微生物限度)。各检测项目的接受标准应基于产品特性、工艺稳定性和临床安全性及有效性数据综合拟定,以确保持续生产出符合预期质量标准的产品。

七、稳定性研究

ERT 药物的稳定性研究应遵循 ICH Q1 等指导原则的要求,合理开展长期、加速及必要的强制降解研究。重点关注

酶活性等关键质量属性在拟定储存条件下的潜在变化，为效期和质量标准的拟定提供依据。

对于作用机制涉及受体介导跨细胞膜转运的 ERT 产品，除常规质量属性外，还应重点关注与细胞摄取效率相关的功能性结构修饰（如 M6P 等）的稳定性。该类修饰可能在特定条件下发生降解，从而影响受体结合能力及生物学活性。因此，应在稳定性研究各考察条件下，对关键功能性修饰的含量及分布、受体结合能力和细胞摄取效率进行监测。对于液体制剂，还应关注效期内特定宿主细胞蛋白残留（如磷酸酶等）对关键修饰稳定性的潜在影响，必要时结合风险评估结果优化纯化工艺和/或收紧特定杂质的质量控制限度。

产品使用过程中的复溶（如有）、稀释、储存等环节，可能涉及 pH 波动、光照、室温条件、机械应力等多种敏感条件，进而影响 ERT 药物的结构和酶活性。因此，使用过程中稳定性研究应充分模拟配伍和给药时的最差条件，全面考察产品的关键质量属性。如涉及在线过滤，应考察其对不溶性微粒和可见异物的过滤性能，并确保过滤前后蛋白含量及酶活性等无显著变化。

八、参考文献

- [1]国务院办公厅.《国务院办公厅关于全面深化药品医疗器械监管改革促进医药产业高质量发展的意见》.国办发〔2024〕53号. <https://www.gov.cn/zhengce/zhengcek>

u/202501/content_6996117.htm.

[2]国家药典委员会.中华人民共和国药典.糖蛋白的糖基化分析指导原则[S].2025版.北京:中国医药科技出版社, 2025:800-804.

[3]FDA. Rare Diseases Considerations for the Development of Drugs and Biological Products Guidance for Industry [EB/OL]. Dec 2023. <https://www.fda.gov/media/119757/download>.

[4]EMA. Toolbox guidance on scientific elements and regulatory tools to support quality data packages for PRIME and certain marketing authorisation applications targeting an unmet medical need [EB/OL]. Apr 2022. <https://www.ema.europa.eu/en/toolbox-guidance-scientific-elements-and-regulatory-tools-support-quality-data-packages-prime-and-certain-marketing-authorisation-applications-targeting-unmet-medical-need-scientific-guideline>.