

肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)制剂制备质量管理专家共识

陈萌¹, 王涛², 初明^{3,4}, 王星星⁵, 董兆惠⁵, 王铁山⁶, 严冬⁷, 金华君⁸, 隋礼丽⁹,
张立娜¹⁰, 孙晓男¹¹, 黎春盈¹², 奚晓鹏¹³, 周足力^{14*}, 张秀军^{5*}

- [1. 中国标准化研究院, 北京 100191; 2. 解放军总医院第五医学中心, 北京 100039;
3. 北京大学基础医学院, 北京 100191; 4. 国家卫生健康委员会医学免疫学重点实验室, 北京 100191;
5. 北京循生免疫医学转化研究院, 北京 102600; 6. 北京中医药大学, 北京 100029;
7. 北京首都医科大学附属北京潞河医院, 北京 101149; 8. 上海君赛生物科技有限公司, 上海 201801;
9. 毕诺济(上海)生物技术有限公司, 上海 200120; 10. 吉林中科生物工程股份有限公司, 吉林 长春 130000;
11. 青岛华赛伯曼医学细胞生物有限公司, 山东 青岛 266000; 12. 北京伯诺生物科技有限公司, 北京 102600;
13. 北京戴纳魔方生物科技有限公司, 北京 100070; 14. 北京大学人民医院, 北京 100044]

[摘要] 近年来,采用肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)进行过继性T细胞疗法(ACT)的新型免疫治疗方式备受关注。TIL是从肿瘤组织中分离出的一种新型的抗肿瘤效应淋巴细胞,具有高效、特异、不良反应小等优点,临床应用潜在治疗价值巨大。国内外已有多家企业布局TIL疗法:2024年,美国FDA加速批准了LN-144,用于治疗PD-1耐药的晚期黑色素瘤患者;国内暂无TIL疗法的上市产品。鉴于TIL细胞的来源、类型、生产工艺等方面异质性较大,以及肿瘤组织的获取与运输要求、纯化TIL细胞获取方法、产品放行检测项目等有关TIL制剂生产安全性和质量方面的国家标准和行业标准均无统一规范,因此,制订针对性的TIL制剂制备标准对于全面保证TIL细胞制剂质量的安全性、有效性和可控性具有积极意义。为加强TIL制剂的质量控制,规范和指导TIL细胞制剂制备的质量管理,我院集合领域内专家学者,参考国家免疫细胞治疗产品有关文件,结合TIL细胞特点,针对TIL制剂关键工艺步骤对质量控制要素和质量控制技术方法进行规定,特别编撰了《肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)制剂制备质量管理专家共识》,以期为国家制定TIL制剂制备管理相关政策提供借鉴和参考。该共识明确了编制背景、TIL制剂生产术语、生产条件、质量控制要求、检测方法,重点阐述了肿瘤组织的采集和运输、TIL细胞的分离和纯化、TIL细胞的激活与扩增、TIL细胞制剂的放行等TIL制剂生产质量管理内容,适用于TIL制剂生产的质量控制。

[关键词] 肿瘤浸润淋巴细胞;制剂制备;质量管理;专家共识

[引用格式] 陈萌,王涛,初明,等. 肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)制剂制备质量管理专家共识[J]. 中国医药导刊, 2024, 26(4): 323-327.

[中图分类号] R730 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1009-0959(2024)04-0323-05

Expert Consensus on Quality Management of Tumor-Infiltrating Lymphocyte (TIL) Preparation

CHEN Meng¹, WANG Tao², CHU Ming^{3,4}, WANG Xingxing⁵, DONG Zhaohui⁵, WANG Tieshan⁶, YAN Dong⁷,
JIN Huajun⁸, SUI Lili⁹, ZHANG Lina¹⁰, SUN Xiaonan¹¹, LI Chunying¹², XI Xiaopeng¹³,
ZHOU Zuli^{14*}, ZHANG Xiujun^{5*}

- [1. China National Institute of Standardization, Beijing 100191, China;
2. The Fifth Medical Center of the PLA General Hospital, Beijing 100039, China;
3. School of Basic Medicine, Peking University, Beijing 100191, China;
4. Key Laboratory of Medical Immunology, National Health Commission, Beijing 100191, China;
5. Aeonvital Institute of Clinical and Evolutionary Immunology, Beijing 102600, China;

[作者简介] 陈萌,女,助理研究员,研究方向:健康产业标准化。E-mail: chenmeng@enis.ac.cn

***[通讯作者]** 周足力,男,主任医师,研究方向:肺癌诊断及研究。E-mail: azhang@aeonvital.com; 张秀军,女,工程师,研究方向:肿瘤治疗及免疫医学产品转化。
E-mail: azhang@aeonvital.com

6. *Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;*
7. *Beijing Luhe Hospital, Capital Medical University, Beijing 101149, China;*
8. *Shanghai Junsai Biotechnology Co., LTD, Shanghai 201801, China;*
9. *Binochi (Shanghai) Biotechnology Co., LTD, Shanghai 200120, China;*
10. *Jilin Zhongke Biological Engineering Co., LTD, Jilin Changchun 130000, China;*
11. *Sino-Cell Biomed Co., LTD, Shandong Qingdao 266000, China;*
12. *Beijing Bonuo Biotechnology Co., LTD, Beijing 102600, China;*
13. *Beijing Dana Cube Biotechnology Co., LTD, Beijing 100070, China;*
14. *Peking University People's Hospital, Beijing 100044, China]*

[Abstract] In recent years, adoptive T cell therapy (ACT) with tumor-infiltrating lymphocyte (TIL) has received much attention. TIL is a new type of lymphocyte with anti-tumor effect which is isolated from tumor tissue, and has the advantages of high efficiency and specificity, low side effects, and has great potential therapeutic value in clinical application. TIL therapy has been developed by several companies at home and abroad. LN-144 was approved by US FDA in 2024 for PD-1-resistant advanced melanoma patients, and there is no approved TIL therapy product in China yet. In view of the great heterogeneity in the source, type and production process of TIL cells, and there is no unified national and industry standards on the safety and quality of TIL preparations, such as the requirements of obtaining and transporting tumor tissues, the methods of obtaining purified TIL cells, and the items of product release and testing. Therefore, the establishment of specific TIL preparation standards is of positive significance for ensuring the safety, effectiveness and controllability of TIL preparations. In order to strengthen the quality control of TIL preparation, standardize and guide the quality management of TIL preparation, referring to the relevant documents on immunocyte therapy products and combining the characteristics of TIL cells, the "Expert Consensus on Quality Management of Tumor-Infiltrating Lymphocyte (TIL) Preparation" was compiled, in which the quality control elements and quality control technical methods were described according to the key process steps of TIL preparation, so as to provide reference for the formulation of relevant policies on TIL preparation management in China. The background, terminology, production conditions, quality control requirements and testing methods of TIL preparation were defined in this consensus, and the content of production quality management of TIL preparations, such as collection and transportation of tumor tissues, isolation and purification of TIL cells, activation and expansion of TIL cells, release of TIL preparations were emphasized. This consensus is suitable for the quality control of TIL preparations.

[Key Words] Tumor-infiltrating lymphocyte; Preparation; Quality management; Expert consensus

肿瘤浸润淋巴细胞(tumor-infiltrating lymphocyte, TIL)是一群存在于患者自身肿瘤组织间质的异质性淋巴细胞,主要由CD4⁺、CD8⁺ T淋巴细胞组成。受肿瘤微环境的影响, TIL的免疫功能通常受到抑制。近年来,采用TIL进行过继性T细胞疗法(adoptive T cell therapy, ACT)成为一种备受关注的免疫治疗方式^[1]。TIL-ACT的基本原理是从患者肿瘤组织中提取TIL,在体外经过激活及扩增后恢复TIL的肿瘤杀伤活性,回输给患者后可针对肿瘤细胞产生特异性免疫反应,从而更有效地杀伤肿瘤细胞。目前文献已从多方面证实了TIL对治疗复发性宫颈癌、黑色素瘤、非小细胞肺癌有较好的临床表现,效果突出的为Iovance公司开发的TIL产品LN-145和LN-144^[2]。2024年,美国FDA加速批准美国Iovance Biotherapeutics公司的LN-144,主要用于治疗PD-1耐药的晚期黑色素瘤患者。国内也有多家企业布局TIL疗法。

由于TIL来自患者自体肿瘤组织,与其他ACT相比, TIL-ACT具有以下优势:①大多数ACT采用从血液中提取免疫细胞的工艺,该方法提取到的肿瘤特异性T细胞的比例较低,约为0.5%。TIL通常提取自肿瘤组织,获得的肿瘤特异性T细胞的比例高达60%。②来自自体肿瘤组织中的TIL含有更多的肿瘤特异性CTL群体,可以对个体患者肿瘤中的特异性突变(新抗原)产生反应,从而具有更广泛的肿瘤细胞杀伤作用。③天然未经修饰的TIL细胞来源于患者肿瘤组织,体外激活后再回输给同一患者,基本排除那些在其他ACT常见的脱靶毒性^[3-5]。总之,与其他细胞免疫疗法相比,以自体肿瘤组织为来源特征的TIL疗法在提供有效性、安全性、个性化、特异性抗肿瘤作用方面更具优势。

然而,取自患者肿瘤组织这一特征在为TIL-ACT带来诸多优势的同时,也为TIL制剂的生产带来了不便,如肿瘤组织的获取与运输有哪些要求,采用什么

方法能获得纯化的TIL细胞,产品放行要进行哪些检测以保证产品的安全性等。

2022年,国家药品监督管理局药品审评中心发布《细胞治疗产品生产质量管理指南(试行)》《免疫细胞治疗产品药学研究与评价技术指导原则(试行)》^[6,7],旨在规范和指导免疫细胞治疗产品的药学研发、生产和注册,指导药品上市许可持有人规范开展细胞治疗产品的生产和质量管理,确保产品质量。然而,由于免疫细胞的来源、类型、生产工艺等方面异质性较大,迫切需要制订更具有针对性的标准来全面保证TIL细胞制剂质量的安全性、有效性和可控性。

鉴于此,为加强TIL制剂的质量控制,规范和指导TIL制剂制备的质量管理,我院集合领域内众专家学者,在充分参考《药品生产质量管理规范》《细胞治疗产品生产质量管理指南(试行)》《免疫细胞治疗产品药学研究与评价技术指导原则(试行)》等文件的基础上,结合TIL细胞特点,针对TIL细胞制剂关键工艺步骤对质量控制要素、质量控制技术方法进行规定,特制定《肿瘤浸润淋巴T细胞(TIL)制剂制备质量管理专家共识》,以期为国家制定TIL制剂制备管理相关政策提供借鉴和参考。该共识明确了TIL制剂生产的术语、生产条件、质量控制要求、检测方法,适用于TIL制剂生产的质量控制。

1 范围

该共识规定了TIL制剂生产的术语、生产条件、质量控制要求、检测方法。

该共识适用于TIL制剂生产的质量控制。

2 规范性引用文件

该共识中的内容通过规范性引用而构成共识中必不可少的条款。其中,注明日期的引用文件,仅该日期对应的版本适用于该共识;未注明日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于该共识。

《中华人民共和国药典》(2020版)国家药典委员会

《免疫细胞制剂制备质量管理自律规范》中国医药生物技术协会〔中生协字(2016)035号〕

TCMBA 021-2023《细胞治疗产品生产用原材料的质量管理规范》

3 术语和定义

以下术语和定义适用于该共识。

3.1 肿瘤浸润淋巴细胞(tumor-infiltrating lympho-

cytes, TIL)

来自患者肿瘤组织中的一群异质性的免疫细胞。

注:包括T细胞、B细胞、自然杀伤细胞以及自然杀伤T细胞等。

3.2 TIL中间体(TIL intermediates)

肿瘤组织经分离、纯化后得到的新鲜或冻存TIL。

3.3 TIL制剂(TIL preparation)

从患者肿瘤采集到的TIL经过体外分离、纯化、激活、扩增、制剂、罐装等生产加工后得到的,可回输至患者体内的细胞注射剂。

注:通常有新鲜细胞制剂和冻存细胞制剂2种。

3.4 生产质量控制(quality control for production)

在TIL制剂生产过程中,为达到和保持产品质量要求所采取的操作和活动。

3.5 肿瘤组织的采集(collection of tumor tissue)

从符合选择标准的肿瘤患者中,在无菌操作条件下经物理操作采集符合TIL生产规模的肿瘤组织标本的过程。

3.6 新鲜肿瘤组织(fresh tissue biomaterial)

由专业人员在规定时间内按照标准化取材流程取到的未经任何处理的离体肿瘤病灶。

3.7 洁净区(clean area)

需要对环境中尘埃及微生物数量进行控制的房间(区域)。

3.8 放行(release)

TIL产品在整个制备和研究过程中,当符合特定标准时,将其从一个阶段或状态转入下一个阶段的过程指令。

4 生产条件

4.1 人员

按《免疫细胞制剂制备质量管理自律规范》第三章执行。

4.2 场所及设施

按《免疫细胞制剂制备质量管理自律规范》第四章执行。

4.3 设备

按《免疫细胞制剂制备质量管理自律规范》第五章执行。

4.4 物料

按《免疫细胞制剂制备质量管理自律规范》第六章以及TCMBA 021-2023《细胞治疗产品生产用原材

料的质量管理规范》执行。

5 TIL细胞制剂的制备及质量控制

5.1 肿瘤组织的采集和运输

5.1.1 肿瘤组织的采集一般采用穿刺或手术切除的方式完成。应根据不同疾病和病灶直径大小等因素,与主治医师详细讨论后确定取材方案。

5.1.2 肿瘤组织采集时应遵循无污染原则,做好器具消毒、清洁工作,避免样本间的交叉污染,宜使用一次性器具,在同一样本不同位置操作应使用不同的干净无污染的刀片和器具。应在无菌条件下取材。

5.1.3 肿瘤组织采集时应避开坏死和黏液区,宜优先选取血管丰富部位的肿瘤组织。采集肿瘤组织的体积应不小于 0.15 cm^3 或重量不小于 0.01 g ,体积或重量较大的肿瘤组织宜分割为多份。

5.1.4 手术切除的肿瘤组织样本离体后,应快速将样本表面的血液、黏液以及污物清理干净。如遇到难清理的样本(如大肠样本),宜用无菌生理盐水清洗黏膜并吸干。

5.1.5 获取的肿瘤组织应立即放入装有样品稳定液的标本采集瓶中。应于肿瘤组织采集后 72 h 内开启生产,全程应于 $2\sim 8\text{ }^\circ\text{C}$ 条件下保存与运输。

5.1.6 肿瘤组织运输过程中不应通过具有辐射的检查装置,如果检查是必须的,容器内容物应当人工检查。

5.2 TIL细胞的分离和纯化

5.2.1 TIL细胞的分离与纯化应在A级洁净级别的环境中进行。

5.2.2 拟用于分离TIL细胞的肿瘤组织应经过检测,包括但不限于以下指标

- ①外观;
- ②大小;
- ③安全性:如病毒四项。

5.2.3 TIL细胞的分离和纯化应建立明确的过程控制参数,操作过程应按照经过验证的标准操作程序进行。

5.2.4 肿瘤组织中TIL细胞的分离方法一般包括机械方法和组织酶解法。操作过程应尽量保证TIL细胞活性和细胞数量。

5.2.5 纯化TIL细胞时,应尽量避免异源性物质的接触,宜采用换孔、换液和扩孔的方式除去培养体系中的肿瘤细胞、纤维细胞以及其他与TIL无关的细胞。应定期观察TIL细胞、肿瘤细胞等的状态及数量的变化情况,必要时应更换培养体系,以适应细胞生长的需求。

5.2.6 当发现TIL细胞明显成熟,无明显癌细胞时,可结束纯化培养,并根据患者需求、收获TIL细胞数量以及生产工艺决定是否细胞冻存。

5.3 TIL细胞的激活与扩增

5.3.1 纯化培养结束收获的TIL中间体应经过检测,包括但不限于以下指标。符合要求的TIL细胞方可用于激活与扩增。

- ①活细胞数量及细胞活率;
- ②细胞亚型及比例;
- ③安全性:如无菌、支原体。

5.3.2 如果用于激活和扩增的TIL中间体经过冻存和复苏,仍需对细胞活率进行检测。

5.3.3 TIL细胞激活培养时,应在培养基中加入并维持适宜浓度的细胞因子,以保证TIL细胞的增殖和抗肿瘤活性。

5.3.4 应定期观察TIL细胞生长状态并检测细胞数量,如TIL细胞逐渐增多,则应进行扩大培养。

5.3.5 应根据质量要求及时对培养体系进行调整,在规定时间内满足临床对细胞数量的要求。

5.3.6 收获TIL细胞前,应进行多次洗涤,以去除培养过程中加入的培养液、细胞因子等,并对以下指标进行检测,包括但不限于

- ①细胞总数;
- ②活细胞数量及细胞活率。

5.4 TIL细胞制剂的放行

5.4.1 制备机构应建立TIL细胞制剂放行的操作规程,符合质量标准的TIL细胞制剂由质量管理负责人或质量授权人批准后方可放行。

5.4.2 每批次的TIL细胞制剂放行检测项目应至少包括

- ①活TIL细胞总数(密度);
- ②细胞活率;
- ③功能细胞数量和比例;
- ④一般性指标:如pH值、渗透压摩尔浓度、无菌、支原体、细菌内毒素、外观、明显可见异物;
- ⑤生物学活性:如IFN- γ 分泌、细胞杀伤;
- ⑥杂质:如生产工艺相关试剂、非TIL细胞产品相关杂质;
- ⑦肿瘤细胞残留。

6 检测方法

6.1 一般指标

6.1.1 pH值

按照2020版《中华人民共和国药典》三部通则

0631 pH 值测定法进行检测。

6.1.2 渗透压

按照 2020 版《中华人民共和国药典》三部通则 0632 渗透压摩尔浓度测定法进行检测。

6.1.3 可见异物

按照 2020 版《中华人民共和国药典》三部通则 0904 可见异物检查法进行检测。

6.1.4 无菌

按照 2020 版《中华人民共和国药典》三部通则 1101 无菌检测法或基于呼吸信号法的快检法进行检测。

6.1.5 细菌内毒素

按照 2020 版《中华人民共和国药典》三部通则

1143 细菌内毒素检查法或通则 1142 热原检查法进行检查。

6.1.6 支原体

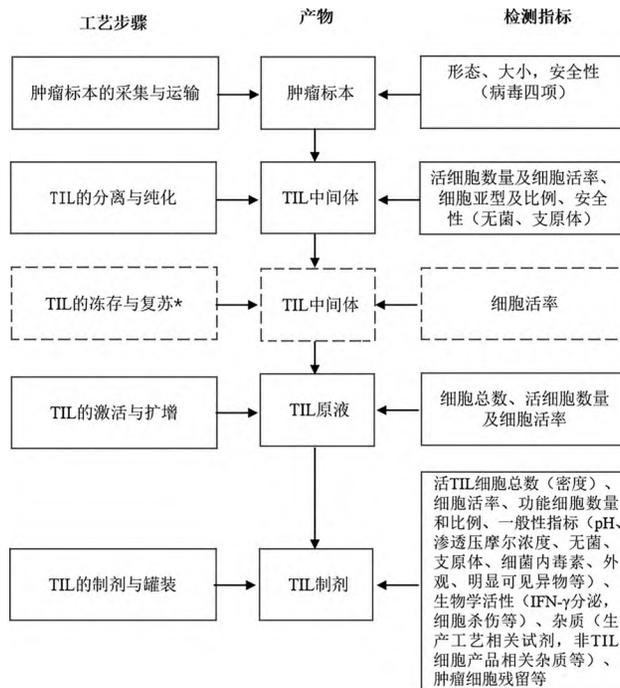
采用 2020 版《中华人民共和国药典》三部通则 3301 支原体检查法或 PCR 快检法进行检测。

6.2 其他检测

研究机构或生产企业应根据实际需求制定检测细胞形态、细胞存活率、功能细胞数量及比例、细胞生物学功能和肿瘤细胞残留的方法。

7 TIL 制剂生产质量控制流程

TIL 制剂生产质量控制流程见图 1。



注：“*”根据细胞数量、生产工艺以及患者实际情况确实是否冻存

图 1 TIL 制剂生产质量控制流程

参考文献

[1] Tran KQ, Zhou J, Durlinger KH, et al. Minimally cultured tumor-infiltrating lymphocytes display optimal characteristics for adoptive cell therapy[J]. J Immunother, 2008, 31(8):742-751.
 [2] Itzhaki O, Hovav E, Ziporen Y, et al. Establishment and large-scale expansion of minimally cultured "Young" tumor infiltrating lymphocytes for adoptive transfer therapy[J]. J Immunother, 2011, 34(2):212-220.
 [3] Whiteside TL. Tumour infiltrating lymphocytes as antitumour effector cells [J]. Biotherapy, 1992, 5(1):47-61.
 [4] Miescher S, Stoeck M, Qiao L, et al. Proliferative and cytolytic potentials of purified tumour infiltrating T lymphocytes impaired response to mitogen-driven stimulation despite T cell receptor expression[J]. Int J Cancer, 1988, 42(5):659-666.

[5] Michal J Besser, Ronnie Shapira-Frommer, Avraham J Treves, et al. Minimally cultured or selected autologous tumor-infiltrating lymphocytes after a lympho-depleting chemotherapy regimen in metastatic melanoma patients [J]. J Immunother, 2009, 32(4):415-423.
 [6] 国家药品监督管理局食品药品审核查验中心. 国家药品监督管理局食品药品审核查验中心关于发布《细胞治疗产品生产质量管理指南(试行)》的通告(2022 年第 4 号) [EB/OL]. (2022-10-28) [2024-03-05]. <https://www.cfdi.org.cn/resource/news/14938.html>.
 [7] 国家药品监督管理局药品审评中心. 国家药监局药审中心关于发布《免疫细胞治疗产品药学研究与评价技术指导原则(试行)》的通告(2022 年第 30 号) [EB/OL]. (2022-5-31) [2024-03-05]. <https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCommon/0584963a84e01bb4d83022f559d22144>.

(收稿日期:2024-03-22)