

T/CMBA

中国医药生物技术协会团体标准

T/CMBA 025—2024

肿瘤浸润淋巴细胞（TIL）制剂制备和质量 控制指南

Guidelines for processing and quality control of tumor infiltrating Lymphocyte (TIL) preparation

2024 - 12 - 18 发布

2024 - 12 - 18 实施

中国医药生物技术协会 发布

目 次

前 言	I
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 基本原则	1
5 制备条件	2
6 肿瘤组织的采集	2
7 肿瘤组织的接收、分离和纯化.....	3
8 中间体的激活和扩增.....	3
9 TIL 制剂.....	3
10 TIL 制剂的储运.....	4
11 检测方法	4
参考文献	6

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件由中国医药生物技术协会提出并归口。

本文件起草单位：上海君赛生物科技有限公司、北京循生生物医学研究有限公司、中国标准化研究院、山东第二医科大学附属医院、常州市第一人民医院、天津医科大学肿瘤医院、解放军总医院第五医学中心、北京大学、北京大学人民医院、北京中医药大学、北京伯诺生物科技有限公司、北京戴纳魔方生物科技有限公司、吉林省中科生物工程股份有限公司、毕诺济（上海）生物技术有限公司、青岛华赛伯曼医学细胞生物有限公司。

本文件主要起草人：张秀军、金华君、陈萌、付强、杜玥瑾、郑娟尔、蒋敬庭、侯非、王娜、黎春盈、何周、李明洁、张立娜、隋礼丽、孙晓男、任秀宝、张雨辰、王涛、初明、周足力、王铁山、奚晓鹏、陈陆俊、李昂、王晓熙。

肿瘤浸润淋巴细胞（TIL）制剂制备和质量控制指南

1 范围

本文件提供了肿瘤浸润淋巴细胞（TIL）制剂制备的基本原则、制备条件、关键质控环节以及检测方法。

本文件适用于TIL制剂的制备管理和质量控制。

注：基因修饰TIL制剂的制备质量管理可根据实际情况参考本文件内容。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 36988 组织工程人源组织操作规范指南

T/CMBA 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

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

肿瘤浸润淋巴细胞 tumor infiltrating lymphocytes; TIL

来自患者肿瘤组织中的一群异质性的免疫细胞。

注：肿瘤浸润淋巴细胞包括淋巴细胞、树突状细胞、单核/巨噬细胞、粒细胞、肥大细胞等。

3.2

TIL 制剂制备 TIL processing

在患者体外对其肿瘤组织进行分离、纯化、激活、扩增、配制、灌装，获得可用于回输至患者体内的TIL制剂的操作活动。

3.3

TIL 中间体 TIL intermediate

TIL制剂制备过程中，TIL经过分离、纯化、激活、扩增等步骤中的一步或几步，但尚未配制、罐装的细胞中间产物。

3.4

质量控制 quality control

为确定和达到TIL制剂质量要求所采取的技术、方法、行为和措施。

4 基本原则

4.1 硬件条件

TIL制剂制备机构宜按照GB/T 36988的适用条款及《免疫细胞制剂制备质量管理自律规范》的相应章节建立质量管理体系,以防止TIL制剂制备全过程外源物质的引入和传播为宗旨,以产品溯源性为主线,以期提高产品的安全性。质量管理体系宜包括:

- a) 患者管理:宜对患者及其肿瘤组织进行传染病筛查,建立降低病原微生物传播的策略。
- b) 物料管理:宜保证制备所用生物材料来源合法、安全并符合质量标准,防止引入外源因子。
- c) 制备管理:宜采取措施防止污染和交叉污染,控制质量风险,如制定培养体系隔离策略,避免不同患者的TIL制剂混淆或交叉污染;制定微生物风险控制策略,降低微生物污染风险等。
- d) 追溯管理:宜建立产品标识和追溯系统,确保患者材料在制备、使用全过程,以及来源于不同患者的产品不会发生混淆、差错,确保产品与患者之间的匹配性。

5 制备条件

关于人员、场所、设施和设备、物料的管理按照GB/T 36988相关条款给出的要求执行。物料的管理同时按照T/CMBA 021-2023执行。

6 肿瘤组织的采集

6.1 TIL制剂制备机构只能接收具备手术或穿刺资质的医疗机构采集的肿瘤组织;采集单位宜确保符合环境控制、设施设备、物料和试剂、标签管理、储运等方面的要求。

6.2 委托采集机构(医疗机构)在采集肿瘤组织前,应向患者说明采集肿瘤组织的用途、采集方式、采集流程,应与患者本人或其法定代理人签署知情同意书。

6.3 TIL制剂制备机构应建立患者筛查标准,患者应同时满足以下条件方可为其提供TIL制剂制备服务。

- 确诊患有恶性肿瘤;
- 身体条件可承受淋巴细胞清除;
- 无甲类或乙类传染病或患有不处于急性发作期的丙类传染病,具体参照GB/T 36988附录A中的供体筛查要求。

6.4 TIL制剂制备机构宜与委托采集机构协商制定采集方案,包括取材方式、取材部位、取材大小、取材流程、保存方式、运送要求等方面的内容。

6.5 TIL制剂制备机构宜与委托采集机构明确以下采集要求:

- 采集的肿瘤组织宜避开坏死和黏液区,宜优先选取血管丰富部位的肿瘤组织;
- 采集足够体积或重量的肿瘤组织;
- 肿瘤组织宜密封存放于无菌的组织保存液中;
- 肿瘤组织宜明确标识,标识内容应考虑患者隐私。

注:根据实际制备工艺确定采集肿瘤组织的大小和重量,推荐采集肿瘤组织的体积不小于 0.01cm^3 或重量不小于 0.1g 。

6.6 委托采集机构宜详细记录采集过程信息,包括但不限于患者姓名、疾病名称、样本采集部位、采集日期、采集人员、采集流程等。

6.7 委托采集机构宜设置采集组织暂存点,用于暂存不能及时运送的肿瘤组织,宜用温度合适的设施暂存。

6.8 TIL制剂制备机构宜与运输公司签订服务协议,明确肿瘤组织运输要求,如运输温度、运输时限、不可辐照检查等。

7 肿瘤组织的接收、分离和纯化

7.1 TIL 制剂制备机构宜建立肿瘤组织接收程序，检查肿瘤组织外包装是否损坏及污染，确认运输温度、运输时限和样品来源信息是否符合要求。满足以下要求的肿瘤组织方可接收：

- 外包装完整、无污损；
- 运输温度和运输时限能够满足制备工艺要求；
- 样品来源信息与患者信息一致。

7.2 接收的肿瘤组织应进行以下病原微生物的检查：

- 人类免疫缺陷病毒（HIV）；
- 乙型肝炎病毒（HBV）；
- 丙型肝炎病毒（HCV）；
- 梅毒螺旋体。

7.3 在检查结果完成前宜将不同患者肿瘤组织进行隔离，避免交叉污染风险。

7.4 病原微生物检查结果为阴性的肿瘤组织方可转移至制备车间按照规定的工艺规程进行制备；病原微生物检查结果为阳性的肿瘤组织，宜在专门的独立车间进行制备。

7.5 进行纯化去除培养体系中的非目的细胞时，采取的方法宜避免外源性物质的引入。可采用换孔、换液和扩孔的方式进行纯化。

7.6 宜根据培养体系细胞密度及时更换培养体系，以满足细胞增殖所需的空间和营养。

7.7 宜根据患者的治疗需求、收获细胞的总数以及采取的制备工艺等因素决定是否进行细胞冻存。

7.8 宜建立稳定可控的冻存方法：研究确定适宜的保存条件、冻存细胞有效期、包装材料，贮存过程中避免微生物污染的风险，以及冻存细胞的活率、活 TIL 细胞总数、纯度和生物学功能等可满足制剂的要求。

7.9 宜对纯化培养结束后的 TIL 中间体进行检测，检测指标包括但不限于：

- a) 活细胞总数及细胞活率；
- b) 细胞亚型及比例：如 T 细胞(CD3)比例，NK 细胞(CD56)比例；
- c) 安全性指标：如无菌检查、支原体检查等。

8 中间体的激活和扩增

8.1 中间体宜满足无菌检查和支原体检查的要求方可用于激活与扩增。无菌检查或支原体检查结果为阳性的中间体，宜终止培养并按照医疗废弃物的要求进行处理。

8.2 进行激活培养时，宜根据制备工艺加入诱导剂，以提高中间体的增殖效率和抗肿瘤活性。

8.3 进行扩增培养时，宜根据质量要求对细胞浓度及培养时间进行调整，以在规定时间内培养达到临床所需的细胞数量。

8.4 去除非细胞成分，采取的方法宜避免对细胞造成伤害。

9 TIL 制剂

9.1 TIL 制剂通常为液体剂型；宜研究确定制剂剂形及制剂用辅料，如采用新鲜产物或冻存产物，使用生理盐水或冻存液，是否添加细胞稳定剂等。

9.2 TIL 制剂制备机构宜具有相应的检测能力，并配备相关专业技术人员和设备，建立制剂质量控制检测标准和操作规程，确立制剂质量检验和放行的操作规程。

9.3 TIL 制剂的放行检测宜包括以下检测项目：

- a) 活 TIL 细胞总数；
- b) 细胞活率；
- c) 功能细胞数量和比例：如 T 细胞(CD3)比例，NK 细胞(CD56)比例；
- d) 一般性指标：如 pH、渗透压摩尔浓度、可见异物；
- e) 安全性指标：无菌检查、支原体检查、细菌内毒素检查、肿瘤细胞残留检查；
- f) 生物学活性：如 IFN- γ 分泌、细胞杀伤；
- g) 杂质：如制备工艺相关试剂、非 TIL 细胞产品相关杂质。

9.4 机构放行前宜核实 TIL 制剂的溯源信息，确认其与患者之间的匹配性。

9.5 符合放行标准的 TIL 制剂应由质量管理负责人或质量授权人批准方可放行。

9.6 TIL 制剂制备机构宜建立 TIL 制剂批号编制规程，每批细胞制剂应编制唯一的批号。编码宜能追溯到患者信息以及 TIL 制剂制备和使用的记录。

10 TIL 制剂的储运

10.1 TIL 制剂制备机构宜与运输公司签订服务协议，明确运输温度、运输时限等运输要求。

10.2 TIL 制剂制备机构宜建立应急处置规程，当发现 TIL 制剂有质量缺陷，如包装袋破损、标签信息错误或脱落、运输过程中温度超标等，宜立即启动应急处置规程并展开调查，相关应急处理和调查宜有记录和报告。必要时宜进行产品召回。

10.3 制备机构宜制定详细的 TIL 制剂核验手册，宜对产品使用机构接收到 TIL 制剂后核验内容及标准进行明确规定。核验的内容包括但不限于：标签，贮存和运输条件，外观、可见异物等的核验。

10.4 制备机构宜制定详细的 TIL 制剂使用指导手册，对产品使用要求做出明确规定，如产品暂存的温度和时限、转运方式、产品输注的方法和注意事项等。若产品要求防辐射或避免冻融等，均宜在指导手册中说明。

10.5 若产品要求防辐射或避免冻融等，均宜在指导手册中说明。

11 检测方法

11.1 一般指标

11.1.1 pH 值检查

按照 2020 版《中国药典》三部通则 0631 pH 值测定法进行检测。

11.1.2 渗透压检查

按照 2020 版《中国药典》三部通则 0632 渗透压摩尔浓度测定法进行检测。

11.1.3 可见异物检查

按照 2020 版《中国药典》三部通则 0904 可见异物检查法进行检测。

11.2 安全性指标

11.2.1 无菌检查

按照 2020 版《中国药典》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。

11.2.2 细菌内毒素检查

按照 2020 版《中国药典》三部通则 1143 细菌内毒素检查法或通则 1142 热原检查法进行检测。

11.2.3 支原体检查

采用 2020 版《中国药典》三部通则 3301 支原体检查法或 PCR 快检法进行检测。

11.3 其他指标检查

TIL 制剂制备机构宜研究制定检测细胞形态、细胞活率、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，并进行方法学验证。

参 考 文 献

- [1] 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）
 - [2] 国家食品药品监督管理总局. 细胞治疗产品研究与评价技术指导原则（试行），2017
 - [3] 国家药品监督管理局. 药品生产质量管理规范-细胞治疗产品附录（征求意见稿），2022
 - [4] 国家药品监督管理局. 免疫细胞治疗产品药学研究与评价技术指导原则（试行），2022
 - [5] 国家药品监督管理局. 细胞治疗产品生产质量管理指南（试行），2022
 - [6] Tran, Juhua Zhou, et al. Minimally cultured Tumor-infiltrating Lymphocytes display optimal characteristics for adoptive cell therapy. *J Immunother* 2008, 31:742–751
 - [7] Orit Itzhaki, Einat Hovav, et al. Establishment and Large-scale expansion of minimally cultured “Young” Tumor infiltration T lymphocytes for adoptive transfer therapy. *J Immunother* 2011, 34:212–220
 - [8] Whiteside TL. Tumour infiltrating lymphocytes as antitumour effector cells. *Biotherapy* 1992, 5:47–61
 - [9] Miescher S, Stoeck M, Qiao L, Barras C, Barrelet L, von Flidner V Proliferative and cytolytic potentials of purified tumour infiltrating T lymphocytes. Impaired response to mitogen-driven stimulation despite T cell receptor expression. *Int J Cancer* 1998, 42: 659–666
 - [10] Michal J. Besser, Ronnie Shapira-Frommer, et al. Minimally cultured or selected autologous tumor-infiltrating lymphocytes after a lympho-depleting chemotherapy regimen in metastatic melanoma patients. *J Immunother* 2009, 32:415–423
-