

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2015.01.002

· 专家论坛 ·

肿瘤免疫细胞治疗的质量管理和疗效评价

张斌, 陈虎(解放军第307医院 全军造血干细胞研究所 造血干细胞移植科暨肿瘤生物治疗中心, 北京 100071)



张斌 医学博士, 副教授, 副主任医师, 硕士生导师。解放军第307医院全军造血干细胞研究所副所长、造血干细胞移植科副主任、细胞与基因治疗中心暨肿瘤生物治疗中心主任, 307医院伦理委员会副主任委员。全军血液学专业委员会委员, 国内多所大学和研究机构特聘教授, 多个SCI杂志审稿人和国内外期刊编委。先后在新加坡国立大学医学院、第四军医大学肿瘤生物学国家重点实验室工作。长期从事肿瘤分子诊断新技术和分子靶向治疗研究、树突状细胞肿瘤疫苗研究、NK细胞及嵌合抗原受体修饰T细胞抗肿瘤研究、急性移植抗宿主病的间充质干细胞治疗研究, 成功开展了千余例肿瘤患者的免疫细胞治疗。负责国家863课题、国家自然科学基金及省部级科研课题7项, 获国家科技进步一等奖1项, 在*PNAS*、*JCS*、*JCB*等杂志发表论文50余篇。E-mail: zb307ctc@163.com



陈虎 主任医师, 教授, 博士生导师。中国人民解放军第307医院全军造血干细胞研究所所长、造血干细胞移植科主任, 军事医学科学院细胞与基因治疗中心主任。全军血液学专业委员会副主任委员, 中国红十字会中华骨髓库专家委员会副主任委员, 中华医学会血液学专业委员会委员, 中国免疫学会移植免疫分会副主任委员, 中国医师协会血液科医师分会副会长, 解放军第三类医疗技术评审专家。从事造血干细胞移植和细胞免疫治疗基础和临床研究30年, 曾赴法国巴黎第六大学学习; 成功开展了3200余例各类造血干细胞移植和1500余例的肿瘤细胞免疫治疗。获国家科技进步一等奖1项, 军队科技进步一、二等奖4项; 承担国家973、863计划课题及省部级科研课题10余项。在*Blood*、*Leukemia*等杂志发表论文100余篇, 主编和参编学术专著7部。E-mail: chenhu217@yahoo.com.cn

[摘要] 针对肿瘤的治疗策略中, 抗肿瘤免疫逃逸成为普遍关注的治疗手段, 肿瘤免疫治疗成为快速发展的研究领域, 特别是FDA批准肿瘤免疫细胞疫苗用于治疗前列腺癌、针对PD-1和CTLA-4单克隆抗体的成功上市。从2010年开始, 国内肿瘤免疫细胞治疗研究迅速发展, 围绕免疫细胞治疗临床工作的一些问题摆在面前。如何选择肿瘤免疫细胞治疗方法和时机? 治疗过程中的质量管理和疗效评价应当怎么做? 如何得到更有说服力的循证医学证据? 都是值得深入探索的重要问题。肿瘤免疫细胞治疗临床研究中的质量管理和疗效评价与传统的生物药和化疗药相比, 有共同点也有差别。质量管理涉及组织结构、人员培训、试验方案等多个环节。免疫细胞治疗的疗效评价不能简单套用传统实体瘤治疗的评价方法, 国外学术界已经提出了一些免疫治疗评价标准, 但还处在发展与完善的阶段。笔者通过对上述这些问题的讨论, 希望能得到国内从事该领域临床研究和技术研发同行们的重视, 只有在解决好这些问题的基础上不断前行, 才能促进肿瘤生物治疗的不断发展, 更好地服务于肿瘤患者。

[关键词] 肿瘤; 免疫细胞治疗; 临床试验; 质量管理; 疗效评价

[中图分类号] R730.51; R969.4

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2015)01-0008-08

Quality management and outcome evaluation of cellular immunotherapy of cancer

Zhang Bin, Chen Hu(Tumor Biotherapy Center & Department of Hematopoietic Stem Cell Transplantation, Institute of Hematopoietic Stem Cell of PLA, 307th Hospital of PLA, Beijing 100071, China)

[Abstract] Among the various available cancer treatment modalities, anti-tumor immune escape is attracting tremendous

[基金项目] 国家高技术研究发展计划(863计划)资助项目(No. 2013AA020103); 国家新药创制重大专项(No. 2011ZX09102-001)。Project supported by the National High Technology Research and Development Program (863 program) of China, and the Key New Drug Creation and Manufacturing Program of China (No. 2011ZX09102-001)

[优先出版] <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20150205.1441.002.html>

attention worldwide and has become one of the fast-developing research fields, especially when the anti-prostate cancer vaccine was approved by the FDA and the monoclonal antibodies, which targeted PD-1 and CTLA-4, were successfully launched into market. Since 2010, tremendous research progress has been made on cellular immunotherapy of cancer in China. Nevertheless, practically cellular immunotherapy of cancer is facing several challenging issues. Including: 1) how to choose the proper treatment modality and time duration; 2) how to manage the quality control; 3) how to evaluate the treatment outcome; and 4) how to obtain stronger empirical evidence to support the benefits of the treatment. With regard to quality management and outcome evaluation, there exist similarities and differences between cellular immunotherapy and traditional biological and chemical drugs for cancers. Similar to the quality control of biological and chemical treatments of cancer, the quality management of cellular immunotherapy of cancer involves such aspects as the structure of the clinic or center, personnel training and testing program. In contrast, the outcome evaluation of cellular immunotherapy of cancer cannot simply follow the traditional method for biological and chemical cancer therapies. This paper aims to review the recent development in the quality management and outcome evaluation of cellular immunotherapy of cancer, hoping to bring these issues to the attention of peers in China.

[**Key words**] cancer; cellular immunotherapy; clinical trial; quality management; therapeutic evaluation

[Chin J Cancer Biother, 2015, 22(1): 8-15]

通过对恶性肿瘤生物学性质的深入研究,肿瘤免疫细胞治疗已成为肿瘤治疗研究中的热点领域之一,其对于肿瘤的疗效已经逐渐得到临床医生和广大患者的认可^[14]。美国 FDA 于 2010 年批准肿瘤免疫细胞疫苗 Sipulecel-T 用于无症状或轻微症状的转移性去势拮抗性前列腺癌^[5],嵌合抗原受体 T 细胞(chimeric antigen receptor T cells, CART)治疗 B 细胞淋巴瘤取得令人振奋的疗效^[6];我国 CFDA 批准了直肠癌肿瘤细胞疫苗的 III 期临床试验^[7],国内研究者注册了多项免疫细胞治疗肿瘤的临床试验,并在 SCI 杂志上报道了多项免疫细胞治疗的成果。

与美国细胞治疗中心的管理模式不同,我国的细胞治疗中心多数位于医院,整个研究过程在医院进行,医院除了要负责患者治疗过程的管理外,还要对细胞制备的整个过程进行严格的质量管理,确保安全、有效的细胞产品用于临床。如何实现这一目标? 我国颁布了细胞治疗指导原则等一系列文件(如人体细胞治疗研究和制剂质量控制技术指导原则等),如何将指导原则细化,并落实到肿瘤免疫细胞治疗的各个环节,是值得深入思考的问题。笔者认为,可以借鉴质量管理的理念。质量管理是保证机构、产品和服务的始终一致,质量管理包括质量策划、质量控制、质量保证和质量改进。将这一理念融入到肿瘤生物治疗中心的工作中,建立中心的质量管理体系。

同时,需要重视的是,免疫细胞治疗区别于传统的化疗和单克隆抗体药物治疗,前者的治疗目标在于恢复/建立机体免疫系统对肿瘤细胞的监视作用,后者治疗的目标在于清除肿瘤细胞。两种治疗方式

在原理上的差异,决定了在它们在疗效评价方法上应该有所区别。然而,在很长的一段时间里,并没有做到这一点。目前免疫细胞治疗评价方法的欠缺,导致了对其治疗效果的误判,并影响了肿瘤医师对免疫细胞治疗效果的认识。

国内目前迫切需要更为详细的原则、规范和标准操作规程(standard operating procedure, SOP),用以指导整个肿瘤免疫细胞治疗流程,其中包括质量管理和疗效评价两个关键环节,使得免疫细胞治疗方法可信、可靠、可比和可重复。笔者总结了质量管理和疗效评价的研究进展和存在问题,并提出了一些观点,供业内同行专家参考,共同促进该领域科学、可持续发展。

1 肿瘤免疫细胞治疗的质量管理

质量管理涉及范围较广,包括制度建设、治疗流程(门诊-采集-细胞制备-病房回输)、治疗方案、人员培训与管理等多个要素(图 1)。

1.1 组织结构、场地、人员和实验室的质量管理

1.1.1 肿瘤细胞治疗中心组织架构 美国批准的治疗前列腺癌的疫苗 Sipulecel-T 隶属于 Provenge 公司,其组织实施模式为细胞产品归公司所有,细胞制备在公司所属的细胞中心完成,各家医院统一接受公司制备的过继免疫细胞实施和完成治疗过程。而我们国家,目前多数细胞治疗中心位于医院内部,归医院直接管理(图 2)。这一模式的区别反映了不同的监管理念,也带来了两种不同的细胞治疗中心组织架构。美国模式便于 FDA 的 OCTGT(Office of Cellular, Tissue, and Gene Therapies)监管,FDA 已

经发布了一系列质量管理方面文件^[8]。国内较为完善的肿瘤生物治疗中心,其人员设置包括医疗、科研、技术员、护理系列和后勤人员,需要有高级职称、中级职称和初级职称人员。硬件包括细胞制备中心和细胞治疗病区,细胞制备中心包括细胞采集室、GMP 细胞制备室、质控室等。



图1 肿瘤免疫细胞治疗质量管理金字塔及其构成要素

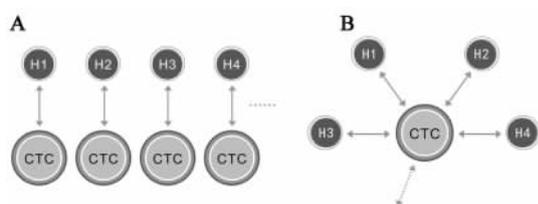


图2 中国和美国肿瘤细胞治疗中心模式的比较

A: 中国模式; B: 美国模式

H1 ~ H4: 医院 1 ~ 4; CTC: 细胞治疗中心

1.1.2 细胞制备团队建设与培训 细胞制备团队人员素质决定了细胞培养的质量,其素质包括专业素质和责任素质。细胞制备团队人员需要掌握的技能有细胞培养技术,细胞培养仪器设备使用、检查、校准,细胞培养物资采购、准备,cGMP 实验室环境控制,细胞培养质量的持续改进与提高。目前,市场上出现了一些自动化细胞培养设备,其优点在于电脑控制培养液和细胞因子的添加。希望有一天,这些自动化设备能降低技术员的劳动强度,提高细胞制备效率。

1.1.3 细胞制备质控实验室 细胞质控实验室负责落实各项细胞质量检测指标,这是决定细胞产品质量的关键环节。其人员必须是有丰富经验的流式细胞仪操作人员、微生物检测人员;细胞制品放行标准包括微生物检测、流式细胞术检测、细胞活率检测等;定期参加卫生部临检中心组织的实验室室间质

评,检测试剂采购、准备,细胞质控 SOP 修订,检测质量的持续改进与提高。如果本实验室没有相关设备及检验人员,可以依托三甲医院的检验科完成。

1.1.4 门诊与病房医生的培训与提高 门诊和病房医生除了掌握必要的肿瘤患者处置原则之外,需要掌握的技能还包括:细胞治疗适应证的判断,制定、修改岗位职责,掌握肿瘤免疫细胞治疗的最新进展,能够及时主动发现治疗过程中的问题,提出优化治疗方案。在常规细胞治疗的基础上,制订针对不同肿瘤类型患者的治疗方案,优化多种联合治疗流程,提高细胞治疗的疗效。

1.1.5 护理团队的建设与培训 护理团队的人员素质可影响患者对整个治疗过程的依从性。护士长应负责 SOP 的制定和监督落实;所有护士均需具备护士执业资格,上岗前需要经过专业技术培训。掌握的关键技能包括:肿瘤免疫细胞治疗的基本原理,治疗流程,细胞采集技术(血细胞分离机的使用与日常维护),与肿瘤患者的沟通能力,安排细胞采集与回输时间,细胞的交接,紧急情况处理。护理团队应重视护理质量的持续改进与提高。

1.1.6 中心负责人能力的建设与提高 细胞治疗领域是肿瘤研究的热点,进展非常快。要求中心负责人能够掌握该领域的最新进展和文献,确定中心在免疫细胞治疗领域的研究方向,负责中心所有 SOP 的制定与修改;加强人员培训和研究生培养,申请研究课题,组织技术创新;及时发现整个治疗环节中的问题,组织每季度的医疗质量分析会,依照 PDCA(plan-do-check-action)的理论和原则管理中心日常工作与建设。

1.2 肿瘤免疫细胞治疗临床研究中的质量管理

1.2.1 临床试验方案的设计 肿瘤免疫细胞治疗目前还不是肿瘤治疗的一线治疗,还需要经过长期的临床试验来回答医生和患者关心的安全性和有效性问题。设计临床试验,尽可能采取随机对照的方法,制定入组、排除标准和终点指标,并采取正确的统计学方法。治疗方案的设计,可以根据目标的不同,选取单独免疫细胞治疗方案或者与靶向/化疗/放疗联合方案^[9]。

1.2.2 肿瘤免疫细胞治疗的伦理问题 免疫细胞治疗有风险,为保护受试者,降低受试者的风险,在临床研究开始前,治疗方案需经过医院伦理委员会的讨论和批准;必要时,相关技术可以提交医院临床科学技术委员会讨论,讨论形成意见后再上报医院伦理委员会讨论审批。同时还必须做好患者及其家属知情同意等一系列工作。

1.2.3 临床治疗方案的注册 临床研究结果的同行评审和发表是研究过程中的重要一环。国际医学编辑委员会(International Committee of Medical Journal Editors, ICMJE)所有的成员杂志及其他一些国际知名杂志均要求临床试验注册后才考虑发表。常用的临床试验注册途径包括中国临床试验注册中心(Chinese Clinical Trial Register, ChiCTR)和 Clinical Trials. gov 等多个国际临床试验注册平台。

1.2.4 多中心临床试验的管理

和所有药物临床试验一样,多中心临床试验的设计与结果对于明确肿瘤治疗方案的安全性和有效性具有重要意义。组织实施多中心肿瘤免疫细胞治疗临床方案时,笔者认为,其质量管理的核心要点在于如何建立安全、高效和可控的细胞制备体系。细胞产品,由于其特殊性,如果采用图 2B 的美国细胞中心模式,须加强细胞采集和长途运输的风险管理;如果采用图 2A 的中国细胞中心模式,其各个分中心人员的培训、仪器设备的统一和校准、细胞品质控制和放行的检测方法,以及患者随访^[10]、数据管理和统计方法等问题^[11],应在试验开始前必需加以考虑和认真解决。

2 肿瘤免疫细胞治疗的疗效评价

肿瘤免疫治疗的进展也带来了传统疗效评价的挑战,由于免疫治疗制剂与细胞毒性化疗药物在作用机制上有本质的区别,前者抗肿瘤效应先涉及一种免疫反应动力学的建立,然后才有患者肿瘤负荷和生存期的变化^[12]。因此,疗效评价标准是需要慎重考虑的重要方面^[13]。

2.1 免疫治疗效果评价不能简单套用 WHO 或 RECIST 标准

因为转移性肿瘤病灶主要由肿瘤细胞和基质细胞组成,伴随淋巴细胞和巨噬细胞浸润。患者接受免疫治疗后,少数有客观反应患者的转移病灶可能会减小,并伴随淋巴细胞和巨噬细胞浸润,WHO 或 RECIST 标准能很好地评判出这一肿瘤反应。但是,一些按 WHO 或 RECIST 标准判定为 PD 的患者不完全是由于肿瘤细胞的生长,有些可能由免疫治疗募集免疫细胞大量浸润引起的,按照新提出的 irRC (immune-related response criteria) 标准对这种情况则判定为有反应^[12,14]。以 DC 疫苗 Sipuleucel-T 治疗为例,Sipuleucel-T 体外经过 36~44 h 制备之后,通过静脉给患者输注,进入体内的 Sipuleucel-T 首先要建立细胞免疫反应,也即需要激活相应的 CD4⁺T 和 CD8⁺T 细胞,之后借助特异性 CD8⁺T 细胞的细

胞毒作用来杀伤前列腺癌细胞^[15],降低前列腺癌负荷和延长患者生存期。因此,从发挥抗癌作用机制角度来看,对于免疫治疗的疗效评估,需要采用新的方法和疗效标准,而不能完全套用传统的基于化疗的 WHO 或 RECIST 标准。

2.2 irRC 评价标准

鉴于现有 WHO 或 RECIST 标准很难对肿瘤免疫治疗的临床疗效进行准确的解读和确切的评价,国际免疫治疗协会相关专家于 2009 年在《Clinical Cancer Research》杂志上正式提出了新的免疫相关疗效标准,即 irRC^[12]。irRC 采用 SPD 评价肿瘤大小,与 WHO 标准对每个病灶分别评价不同,irRC 以所有可测量的指标病灶总的肿瘤负荷进行比较,肿瘤负荷定义为所有病灶 SPD 之和,包括新病灶的 SPD。这样,irRC 进行评价时必需测量新病灶的大小,而 WHO 标准定义为 PD 时可以不测量。irRC 的可测量病灶定义为 CT 影像大于 5 mm×5 mm,指标病灶每个脏器最多 5 个病灶,所有脏器不超过 10 个,体表病灶不超过 5 个^[16]。2010 年,irRC 已被上述专家建议作为改良终点之一,并纳入肿瘤免疫临床研究。

2.3 由脑肿瘤引发对 irRC 的争议

根据 WHO 制定的麦克唐纳标准(Macdonald criteria)是神经肿瘤疗效评价的常用标准。有研究^[17]表明,irRC 标准未必适用于脑癌患者,采用 irRC 标准对脑癌患者进行评价的时候必需考虑一些特别的因素。例如,大部分恶性胶质瘤的复发位点位于瘤块的残留区,在计算总的肿瘤负荷的时候要特别注意。irRC 标准中评价为 irPD 需要 4 周后再次确认,由于脑部肿瘤的特殊性,在实施再次确认时需要小心应对。RANO(Response Assessment in Neuro-Oncology)建议在放疗后 12 周内确认是否进展,这个确认可能要优先于 irRC。尽管如此,在一些脑瘤的免疫治疗中,也发现了“假性进展”(pseudoprogression)和延迟效应。考虑到脑瘤的这些独特的因素,为了给脑癌患者免疫治疗临床效应进行恰当的评估,修改 irRC 和 RANO 的部分建议可能是合理的,但需要更多的研究给予支持。

虽然现在免疫治疗的疗效评价有了 irRC 标准,但仍然没有被广泛的使用,需要在更多的临床实践中完善与发展。如 irPD 为什么要 4 周确认而不是 3 周? 如果病灶增加了 100% 是否有必要再次确认? 从 Kaplan-Meier 生存曲线上很难辨别延迟效应,非风险比例模型的生存分析是否可用等等^[18]。

3 肿瘤免疫细胞治疗免疫反应的检测

免疫细胞的激活是肿瘤免疫治疗后的第一个生物学事件,标志着肿瘤免疫应答是否产生,因此检测一些能反映免疫细胞激活状态的免疫指标有一定意义。但这些检测结果与治疗效果之间的关系尚无确定的结论,有的甚至得出了相反的结论^[19]。可能的原因存在于实验方法的不统一,细胞取材的时机和部位不同等。

3.1 非特异性免疫反应的检测

非特异性免疫反应主要是对淋巴细胞亚群和细胞因子进行检测。应用较广泛的检测法有流式细胞术检测外周血淋巴细胞亚群、酶联免疫吸附试验(ELISA)或流式免疫磁珠阵列(CBA)法检测血清细胞因子分泌水平。在肿瘤患者外周血中T淋巴细胞亚群数值都有异常,其特征是患者体内CD3⁺细胞、CD4⁺细胞明显减少,而CD8⁺细胞明显增加,CD4⁺/CD8⁺比值显著降低,说明肿瘤患者的细胞免疫功能处于抑制状态,患者对识别和杀伤突变细胞的能力下降,引起了肿瘤的生长转移。在一项脑胶质瘤的免疫治疗研究^[20]中,发现免疫治疗后,外周淋巴细胞分泌的IFN- γ 水平显著升高,并且在免疫应答(IFN- γ 水平升高1.5倍以上)的患者中,其对数值与患者的生存期呈正相关,说明细胞因子的检测对免疫功能的评价有一定的意义。在恶性胶质瘤浸润的T淋巴细胞中FoxP3⁺调节性T细胞的比例与肿瘤的复发和预后差有关^[19]。

3.2 特异性免疫反应检测

特异性免疫反应检测主要是检查患者治疗后是否激发了抗原特异性的T细胞,检测方法主要包括:以迟发型超敏反应法(delayed type hypersensitivity, DTH)检测治疗后患者体内是否存在抗原特异性T细胞;酶联免疫斑点法(enzyme-linked immunospot assay, ELISPOT)、MHC-肽复合物四聚体法(MHC-peptide tetramer)和细胞内细胞因子染色法(intracellular cytokine staining, ICCS)检测特异性T细胞数量或比例;此外,还可通过检测外周血淋巴细胞的体外杀伤活性了解抗原特异性T细胞的功能。此外,需要考虑T细胞是否能有效到达肿瘤局部?能否突破肿瘤微环境对免疫细胞的抑制作用?这对于提高免疫细胞对于实体瘤和转移灶的治疗效果具有重要意义^[21]。

3.3 特异性免疫反应检测面临的挑战

特异性免疫反应检测由于检测步骤、试剂、方法和质控的不尽相同,不同实验室对同一样品的检测

结果存在较大的差异,同一实验室不同时间的检测结果也存在一定的差异,有时候这种差异甚至是相反的结果。总之,特异性免疫反应检测的重复性和可比性不高。有研究^[18]报道,36个实验室利用ELISPOT方法检测同一患者外周血单个核细胞分泌细胞因子水平,结果存在很大差异,从阴性到强阳性不等。

上述问题产生的原因存在于缺乏一种可作为金标准的基于特异性T细胞检测方法的质量控制措施,这种情况影响其与临床结果之间关系的可靠性。CIC-CRI和C-IMT等学术组织组织了多个国际多中心免疫指标检测的质控研究^[22-23],对检测方法提供了一些建议,采用标准化的方法进行特异性T细胞检测可以减少差异、提高特异性T细胞的检测质量。只有当检测结果变异性问题得以充分解决,细胞免疫反应才能成为一个可靠的参数,并可能对它与临床反应间的关系进行更可靠的研究。同时,由于免疫监测的复杂性,与临床反应的关系还缺乏大样本的资料与证据,相关学术组织的建议^[24]是:(1)尽可能多地从每个患者收集到最大许可的样本材料以供检测和重复测试;(2)应当采集系列样本至少应包括基线和2个跟踪时间点在内的3个时间点;(3)建立的检测方法应能够重现,在不同的实验室经过技术验证(可不要求与临床反应建立起相关性);(4)至少应采用2种以上的检测方法;(5)对受试人群的免疫应答频率和强度应事先界定。体内的免疫反应和机制更为复杂,以针对PD-1和CTLA-4抗体治疗为例,单独使用这两种抗体或者联合使用,在体内会导致明显不同的免疫变化,包括免疫细胞类型、细胞因子等^[25]。

3.4 免疫指标变化 \neq 临床疗效

虽然肿瘤免疫治疗通过激活机体的免疫反应发挥抗肿瘤作用,但患者接受免疫治疗后的临床疗效是否与免疫反应直接相关目前尚无定论。相对于其他较繁琐的检测过程,DTH是相对简单和直观的检测方法,仅凭肉眼就能观察到结果。对43例晚期恶性黑色素瘤患者进行免疫治疗后,发现DTH阳性的患者有更长的无进展生存期(22个月 vs 7个月, $P=0.0017$)和总生存期(33个月 vs 11个月, $P=0.0014$),说明DTH结果与临床反应有一定的关联^[26]。但是另外一研究^[27]表明,DTH似乎与临床反应没有必然的联系,研究者在免疫治疗之前就对肿瘤患者(恶性黑色素瘤12例、肾癌22例)进行了DTH检测,发现DTH阳性患者疾病进展时间较DTH阴性患者显著延长($P=0.0049$);免疫治疗后,之前DTH阴

性患者有部分患者 DTH 转化为阳性,说明激发了特异性的细胞免疫,但 DTH 阳性和阴性患者的疾病进展时间没有显著差别($P=0.4430$),似乎说明 DTH 与临床获益没有明显的相关性。另一项针对 600 多例恶性黑色素瘤 DC 免疫治疗的研究^[28]表明,由于 DTH 阳性的患者近 50% 评价为进展,DTH 似乎与临床反应没有统计学的相关性($P=0.18$),而 ELISPOT 阳性有更高的临床有效率,与临床反应有统计学的相关性($P=0.0004$)。

3.5 MIATA (minimal information about T-cell assays) 方案的意义

尽管采用标准操作程序,T 细胞检测结果的报告仍然可能不一致,从而导致结果间的不可比较。一项独立倡议正在为免疫监测试验结果可比性提供可能,称为“关于 T 细胞检测的最少信息”,即 MIATA。MIATA 是为 T 细胞检测报告的一致性提供最小的信息标准,通过建立一个最小的报告框架,使得数据可以相互比较,数据具有重复性。经过 3 年的严格审核,MIATA 的框架最终建立,并于 2012 年公布。MIATA 包含如下信息:样品(sample),检测过程(assay),数据获取(data acquisition),结果(results),实验室环境(lab environment)。MIATA 的一系列资料可从 www.miataproject.org 上获取。最少信息(minimal information, MI)已经在一些其他检测如高通量基因芯片检测中获得了成功(minimum information about microarray experiments, MIAME)。MIAME 在测试阶段由研究者自愿选择,后来成为一些生物医学杂志的强制要求。今天,如果没有遵循 MIAME,有关基因芯片的数据难以发表。MIATA 也有可能和 MIAME 一样成为数据发表的强制标准,一些杂志如《Onco Immunology》,已经加入 MIATA 的测试期,将来可能会强制要求投稿者采用 MIATA 推荐的格式^[29]。

3.6 FDA 指南对肿瘤免疫治疗疗效评价的建议

2007 年,美国 FDA 颁布了一个关于肿瘤疫苗的指导原则(草案),2009 年颁布了第二个版本的草案,2011 年 11 月,FDA 公布了正式的指导原则“Guidance for industry—clinical considerations for therapeutic cancer vaccines”(可在 FDA 网站上下载)。在欧洲,欧洲药品管理局(EMA)也在考虑出台关于肿瘤免疫治疗的相关指南。在 FDA 的这个指导原则中,对早期临床试验和 III 期临床试验需要关注的问题提出了众多建议,其中包括免疫功能监测、生物标志分子、终点评价指标、统计学考虑、延迟效应等。

4 重要事件的启示

抗 CTLA-4 单抗 Ipilimumab 的上市被认为是肿瘤免疫治疗的里程碑。CTLA-4 单抗的最初所有权是美国的 Medarex 公司,在 2000 年的时候就开始了 I/II 期临床试验,表明对晚期恶性黑色素瘤有近 10% 的有效率。随后一些制药大公司表达了对 CTLA-4 单抗的兴趣,Medarex 公司将针对 CTLA-4 的两个单抗开发权分别授权给辉瑞公司和百时美施贵宝公司,辉瑞公司获得了 Tremelimumab,百时美施贵宝公司获得了 Ipilimumab。在后续的研发过程中,两个药物都采用了化疗药物研发的途径,采用化疗的标准去指导这两个药物的研发。在 Tremelimumab 的 III 期临床试验中,辉瑞依据化疗药物相关标准进行了一次早期内部分析,发现没有提高总体生存期(OS),就此终止了 Tremelimumab 的 III 期临床试验。但是 2 年后,对入组人群的后续随访的分析表明 Tremelimumab 提高了 OS。Ipilimumab 发展过程中吸取了教训,将 III 期临床试验的终点评价指标更改为 OS,并且取消了早期的内部分析,因为早期时间点的分析可能会误导生存评估。最后的 III 期临床试验结果的确表明 Ipilimumab 使黑色素瘤患者得到了生存获益。如果回顾 Sipuleucel-T 的发展历程也有类似的经历,为了赢得 FDA 的上市批准,Dendreon 公司共开展了 1 项 I/II 期临床试验和 3 项 III 期临床试验,其中前 2 项 III 期临床试验(D9901 和 D9902A)的首要终点指标疾病进展时间(TTP)均未实现显著性,但在次要终点指标 OS 方面均实现了显著性。因此,为了证实 Sipuleucel-T 对 OS 的影响和满足 FDA 需要提供更多生存时间数据的要求,Dendreon 公司开展了 D9902B,也称为 IMPACT 试验,试验结果表明 Sipuleucel-T 能延长无症状或轻微症状的转移性去势拮抗性前列腺癌患者的 OS,但对 TTP 无影响。正是基于该试验的结果,Sipuleucel-T 最终获得 FDA 的上市批准^[30]。以上两件典型事例带给我们的启示是:(1)免疫治疗方法在肿瘤综合治疗中是值得深入探索和研究的,这种方法可以使一部分传统治疗无效的患者获益;(2)免疫疗法有效性的验证是一个长期、艰苦的过程,合理的试验设计、科学的终点指标、严谨的统计学方法相对于技术本身,同样具有举足轻重的意义。由于观察指标选取不当,将可能导致整个试验的失败,从而埋没一个好药。

对于肿瘤免疫细胞治疗而言,摆在我们面前的路还很长。Sipuleucel-T 和 Ipilimumab 都是经历 10

多年的研发才最终被认可,其成功也归功于对肿瘤学和免疫学研究的不断发展;关于检测点阻断剂(checkpoint inhibitors)作用机制的研究还在不断深入^[32]。不幸的是,2014年11月,Provenge公司申请破产保护。这个肿瘤免疫细胞治疗历史上的标志性事件,从2010年获得FDA批准才刚刚度过4年时间,这里面发生了什么?技术的问题?市场的问题?价格的问题?质量控制的问题?都应值得大家认真思考和分析。

5 问题与对策

综上所述,肿瘤免疫细胞治疗中有关质量管理和疗效评价问题背后折射出来的关键问题是:(1)肿瘤免疫的细胞和分子机制问题;(2)肿瘤免疫细胞治疗如何科学发展问题。

笔者认为:(1)肿瘤和免疫相互作用的复杂性还远未被揭示,需要继续深入探索肿瘤免疫逃逸的本质,发现关键调控点及其机制^[33],找到关键作用分子,恢复机体的免疫功能或者免疫平衡,不断改进免疫细胞治疗技术,例如:通过改进CART技术,获得特异性更好的抗肿瘤免疫细胞以避免损伤正常组织细胞^[33-34];并且更简便地制备CART细胞^[35]。(2)为了能使患者的治疗效果最大化,不仅要关注创新技术,同时要关注细胞治疗过程中的质量管理和疗效评价指标,不断完善细胞治疗的各个细节。机体免疫细胞和肿瘤细胞之间的关系就像“跷跷板”(图3),疗效不仅取决于免疫细胞技术和肿瘤本身,还与质量管理(支点)的位置密切相关,优化支点,则可以保证在现有的技术条件下,使患者治疗尽可能多的获益。(3)选取合理的治疗方案和观察指标,才可能获得对免疫细胞治疗方法有效性、安全性的全面认识。质量管理(管理金字塔-跷跷板支点)关乎免疫细胞治疗的生命,其建设过程要以患者为中心,以解决目前肿瘤治疗的突出困境为突破点,制定严格的SOP、质控标准,选择热爱细胞治疗工作的从业人员。(4)对于确实有苗头的免疫细胞治疗技术,在完成安全性、有效性的初步验证后,尽快组织多中心临床试验,完成大样本人群的验证;不仅要考虑免疫细胞适应证的选择,还要思考免疫细胞治疗与传统治疗方式的组合、剂量和顺序,以及与其他免疫疗法的联合策略^[36]。(5)如果组织多中心、前瞻性的试验有困难,通过回顾性研究和分析已经完成免疫细胞治疗患者的数据,找出合适的目标人群,或者改进细胞制备的方法,或者优化治疗方案。

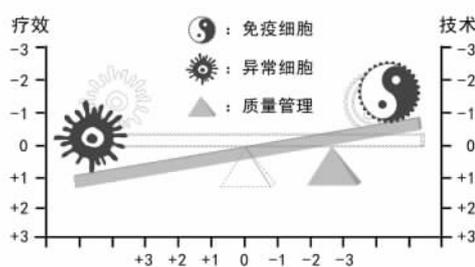


图3 肿瘤免疫细胞治疗的疗效取决于技术和质量管理水平

肿瘤免疫治疗,一个充满希望和挑战的领域,只有通过大家的不懈努力和辛勤耕耘,在质量管理中精益求精、一丝不苟,在临床治疗中勇于创新、不断前行,才能使更多的肿瘤患者从免疫治疗中获益。

致谢:项方博士、唐晓义博士在资料收集、文稿整理方面做了大量工作,王丹红副主任对于文稿修改提出了宝贵建议,特致谢意!

[参考文献]

- [1] Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation [J]. Cell, 2011, 144(5): 646-674.
- [2] Fin OJ. Immuno-oncology: understanding the function and dysfunction of the immune system in cancer [J]. Annals Oncol, 2012, 23(Suppl 8): viii6-viii9.
- [3] Chen DS, Mellman I. Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle [J]. Immunity, 2013, 39(1): 1-10.
- [4] Heigener D, Reck M. Exploring the potential of immuno-oncology-based treatment for patients with non-small cell lung cancer [J]. Exp Rev Anticancer Ther, 2014, 15(1): 69-83.
- [5] Kantoff PW, Higano CS, Shore ND, et al. Sipuleucel-T immunotherapy for castration-resistant prostate cancer [J]. N Engl J Med, 2010, 363(5): 411-422.
- [6] Porter DL, Levine BL, Kalos M, et al. Chimeric antigen receptor-modified T cells in chronic lymphoid leukemia [J]. N Engl J Med, 2011, 365(8): 725-733.
- [7] 王小宁. “雾里看花”的中国生物治疗产业 [J]. 中国医药生物技术, 2012, 7(3): 161-163.
- [8] Bross PF, Fan C, George B, et al. Regulation of biologic oncology products in the FDA's Center for Biologics Evaluation and Research [C/OL]//Urologic oncology: Seminars and original investigations. Elsevier [2014-09-20]. <http://pubmed.cn/25441459>.
- [9] Anguille S, Smits EL, Lion E, et al. Clinical use of dendritic cells for cancer therapy [J]. Lancet Oncol, 2014, 15(7): e257-e267.
- [10] Kannan R, Madden K, Andrews S. Primer on immuno-oncology and immune response [J]. Clin J Oncol Nurs, 2014, 18(3): 311-317.

- [11] Chen TT. Statistical issues and challenges in immuno-oncology [J]. *J Immunother Cancer*, 2013, 1(1): 18.
- [12] Wolchok JD, Hoos A, O' Day S, et al. Guidelines for the evaluation of immune therapy activity in solid tumors: Immune-related response criteria [J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(23): 7412-7420.
- [13] Li XD, Ji M, Zheng X, et al. Evaluation of tumor response to cytokine-induced killer cells therapy in malignant solid tumors [J]. *J Trans Med*, 2014, 12(1): 215.
- [14] Ribas A, Chmielowski B, Glaspy JA. Do we need a different set of response assessment criteria for tumor immunotherapy? [J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(23): 7116-7118.
- [15] Drake CG. Prostate cancer as a model for tumour immunotherapy [J]. *Nat Rev Immunol*, 2010, 10(8): 580-593.
- [16] Nishino M, Giobbie-Hurder A, Gargano M, et al. Developing a common language for tumor response to immunotherapy: immune-related response criteria using unidimensional measurements [J]. *Clin Cancer Res*, 2013, 19(14): 3936-3943.
- [17] Okada H, Pollack IF. Do we need novel radiologic response criteria for brain tumor immunotherapy? [J]. *Expert Rev Neurother*, 2011, 11(5): 619-622.
- [18] Hoos A, Eggermont AM, Janetzki S, et al. Improved endpoints for cancer immunotherapy trials [J]. *J Nat Cancer Inst*, 2010, 102(18): 1388-1397.
- [19] Ogi C, Aruga A. New concepts of biomarkers and clinical outcomes for therapeutic cancer vaccines in clinical trials [J]. *Immunotherapy*, 2014, 6(10): 1025-1036.
- [20] Wheeler CJ, Black KL, Liu G, et al. Vaccination elicits correlated immune and clinical responses in glioblastoma multiforme patients [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(14): 5955-5964.
- [21] Slaney CY, Kershaw MH, Darcy PK. Trafficking of T cells into tumors [J]. *Cancer Res*, 2014, 74(24): 7168-7174.
- [22] Britten C, Gouttefangeas C, Welters M, et al. The CIMT-monitoring panel: a two-step approach to harmonize the enumeration of antigen-specific CD8⁺ T lymphocytes by structural and functional assays [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2008, 57(3): 289-302.
- [23] Britten CM, Janetzki S, Ben-Porat L, et al. Harmonization guidelines for HLA-peptide multimer assays derived from results of a large scale international proficiency panel of the Cancer Vaccine Consortium [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2009, 58(10): 1701-1713.
- [24] Hoos A, Parmiani G, Hege K, et al. A clinical development paradigm for cancer vaccines and related biologics [J]. *J Immunother*, 2007, 30(1): 1-15.
- [25] Das R, Verma R, Sznol M, et al. Combination therapy with anti-CTLA-4 and anti-PD-1 leads to distinct immunologic changes in vivo [J]. *J Immunol*, 2015, 194(3): 950-959.
- [26] López MN, Pereda C, Segal G, et al. Prolonged survival of dendritic cell-vaccinated melanoma patients correlates with tumor-specific delayed type IV hypersensitivity response and reduction of tumor growth factor β -expressing T cells [J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27(6): 945-952.
- [27] Barbutto JAM, Ensina LF, Neves AR, et al. Dendritic cell-tumor cell hybrid vaccination for metastatic cancer [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2004, 53(12): 1111-1118.
- [28] Engell-Noerregaard L, Hansen TH, Andersen MH, et al. Review of clinical studies on dendritic cell-based vaccination of patients with malignant melanoma: assessment of correlation between clinical response and vaccine parameters [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2009, 58(1): 1-14.
- [29] Britten C, Janetzki S, Butterfield L, et al. T cell assays and MIA-TA: The essential minimum for maximum impact [J]. *Immunity*, 2012, 37(1): 1-2.
- [30] 唐晓义, 张斌, 陈虎. 美国 FDA 批准的首个自体细胞免疫治疗药物 sipuleucel-T 的转化之旅 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2012, 18(6): 672-677.
- [31] Snyder A, Makarov V, Merghoub T, et al. Genetic basis for clinical response to CTLA-4 blockade in melanoma [J]. *N Engl J Med*, 2014, 371(23): 2189-2199.
- [32] Antonia SJ, Larkin J, Ascierto PA. Immuno-oncology combinations: A review of clinical experience and future prospects [J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(24): 6258-6268.
- [33] Gubin MM, Zhang X, Schuster H, et al. Checkpoint blockade cancer immunotherapy targets tumour-specific mutant antigens [J]. *Nature*, 2014, 515(7528): 577-581.
- [34] Barrett DM, Singh N, Porter DL, et al. Chimeric antigen receptor therapy for cancer [J]. *Annu Rev Med*, 2014, 65: 333-347.
- [35] Aranda F, Vacchelli E, Eggermont A, et al. Trial watch: Immunostimulatory monoclonal antibodies in cancer therapy [J]. *Oncimmunology*, 2014, 3(1): e27297.
- [36] Tumaini B, Lee DW, Lin T, et al. Simplified process for the production of anti-CD19-CAR-engineered T cells [J]. *Cytotherapy*, 2013, 15(11): 1406-1415.

[收稿日期] 2014 - 12 - 08 [修回日期] 2015 - 01 - 20

[本文编辑] 阮芳铭

热烈庆祝《中国肿瘤生物治疗杂志》获评中国权威学术期刊