

DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2016.06.001

· 热点评论 ·

## 肿瘤免疫细胞治疗临床试验的要点与难点

赵华,任秀宝(天津医科大学肿瘤医院免疫室,国家肿瘤临床医学研究中心,天津市肿瘤免疫与生物治疗重点实验室,天津 300060)

[摘要] 肿瘤免疫细胞治疗是肿瘤免疫治疗的重要手段,在临床研究中显示出良好的应用前景。但在肿瘤免疫细胞治疗快速发展的同时,应该看到该疗法独有的特点对临床试验的设计和评价带来了新的困难与挑战。免疫相关反应标准(im-mune-related response criteria, irRC)旨在更好地评价免疫疗法的疗效,在临床试验中 irRC 作为评价标准被广泛使用,配合传统的 WHO 或 RECIST 评价体系,成为临床研究的有力工具,并进一步为免疫治疗提供了更多的临床试验终点的选择。基于免疫细胞治疗的药物和技术的双重属性,本文对免疫细胞采集、筛选、处理过程中所使用的试剂及其他材料,以及工艺、成品质控等多个环节的要点进行总结,并对多中心临床试验统一技术规范和检定标准进行探讨。笔者衷心希望我国肿瘤免疫细胞治疗行业在不断创新的同时,拿出更多令人信服的多中心随机对照的临床证据,从而推动我国肿瘤免疫治疗蓬勃发展。

[关键词] 肿瘤;免疫细胞治疗;临床试验;质量控制

[中图分类号] R730.51

[文献标识码] A

[文章编号] 1007-385X(2016)06-0741-04

## Key points and difficulties in clinical trials of cellular immunotherapy of cancer

ZHAO Hua, REN Xiubao (Department of Immunology, National Clinical Research Center for Cancer; Tianjin Key Laboratory of Cancer Immunology and Biotherapy, Cancer Hospital Affiliated to Tianjin Medical University, Tianjin 300060, China)

[Abstract] Cellular immunotherapy of cancer is an important approach of cancer immunotherapy which showed a bright prospect for practical application in clinical research. However, with the rapid development of cellular immunotherapy of cancer, it should be aware that the unique characteristics of the therapy have also brought new challenges and difficulties to the design and evaluation of clinical trials. Immune related response criteria (irRC) has been designed to better evaluate curative efficacy of the immunotherapies. In clinical trials, irRC as evaluation standards was widely used, and became a powerful tool in clinical research coordinating with traditional WHO or RECIST evaluation system. And it further offer more choices of clinical trial endpoints for the immunotherapy. In this review, based on the dual attributes of drug and technique for cellular immunotherapy, reagents and other materials used in collection, screen and process of immunocytes as well as key points of technics and product quality control and other aspects were summed up. Uniform technical specification and testing standards used in multi-centers of clinical trials were also explored. It was sincerely hoped that more convincing evidences of multi-center randomized controlled clinical trials could be provided by workers of cancer cellular immunotherapy in China with continuous innovation, of the cellular immunotherapy, so then to promote vigorous development of the cellular immunotherapy in China.

[Key words] tumor; cellular immunotherapy; clinical trial; quality control

[Chin J Cancer Biother, 2016, 23(6): 741-744. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2016.06.001]



**任秀宝** 主任医师,教授,博士生导师。天津医科大学肿瘤医院生物治疗科主任,天津市医学生物技术应用研究中心主任。主持国家 973 子课题、国家自然科学基金、市科委重点项目等多项课题。近 5 年发表论文 50 余篇;获省部级科研奖励 3 项;获国家“百千万工程领军人才”等称号。

[基金项目] 国家科技支撑计划(No. 2015BAI12B12);国家自然科学基金青年项目资助(No. 81401888)。Project supported by the National Science and Technology Support Program (No. 2015BAI12B12), and the National Natural Science Foundation for Youth Program (No. 81401888)

[作者简介] 赵华(1982-),女,河北饶阳人,助理研究员,主要从事肿瘤免疫细胞治疗相关研究。E-mail: abc289@163.com

[通信作者] 任秀宝(REN Xiubao, corresponding author), E-mail: renxiubao@tjmuch.com

[优先发表] <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20161110.1131.008.html>

2013年12月20日出版的《Science》杂志,将肿瘤免疫治疗列为该年度十大科学突破之首<sup>[1]</sup>。花旗集团的分析师2013年预测,肿瘤免疫治疗的市场规模10年内可望达到每年350亿美元,约60%的癌症将从免疫治疗中获益。如此广阔的前景带动了我国肿瘤免疫治疗领域的快速发展,其中免疫细胞治疗的发展最具代表性,是当前国内外研究的热点之一。

肿瘤免疫细胞治疗指的是分离肿瘤患者自体或同种异体的免疫细胞,在体外分选、扩增、活化,并回输至患者体内,用以治疗肿瘤。该过程通常还包括免疫刺激剂的应用,有的方案还涉及对免疫细胞进行基因修饰。肿瘤免疫细胞治疗包括多种类型,其中肿瘤浸润淋巴细胞(tumor-infiltrating lymphocyte, TIL)<sup>[2]</sup>、细胞因子诱导的杀伤细胞(cytokine-induced killer, CIK)<sup>[3]</sup>、自然杀伤细胞(natural killer, NK)<sup>[4]</sup>、T细胞受体基因修饰T淋巴细胞(T cell receptor-modified T cell, TCR-T)<sup>[2]</sup>、嵌合抗原受体基因修饰T淋巴细胞(chimeric antigen receptor-modified T cell, CAR-T)<sup>[5]</sup>在我国已有登记进入临床试验,而嵌合抗原受体基因修饰自然杀伤细胞(CAR-modified natural killer, CAR-NK)<sup>[6]</sup>等则主要处在临床前研发阶段。以近年最引人注目的CAR-T为例,我国开展的CAR-T临床试验数量增长十分迅猛,现已仅次于美国。与此同时,应该清醒地认识到,肿瘤免疫细胞治疗独有的特点也对临床试验的设计和评价带来了新的困难与挑战。

## 1 肿瘤免疫治疗临床试验疗效评价和终点的选择

对于细胞毒性药物来说,WHO标准和RECIST(response evaluation criteria in solid tumors)标准通常选择肿瘤体积大小变化作为疗效评估的主要指标,根据病灶缩减的百分比,将临床疗效分为完全缓解(complete response, CR)、部分缓解(partial remission, PR)、稳定(stable disease, SD)和疾病进展(progressive disease, PD)。对于评估或筛选化疗药物来说,这是一个比较合适的指标,但如果用于评价细胞免疫治疗对肿瘤患者生存期延长的效果,则未必是理想的指标<sup>[7]</sup>。

不同于细胞毒性药物,细胞免疫治疗的抗肿瘤机制有以下三个特点<sup>[8-9]</sup>:(1)免疫细胞的活化需要时间,可能导致临床效应延迟出现;(2)T细胞聚集到肿瘤局部发挥作用的同时能够短暂地假性增大肿瘤体积(即所谓假性进展);(3)免疫系统和肿瘤之间的复杂相互作用,使得临床疗效可能较慢出现甚至发生反复。假性进展其实是免疫治疗起效的表

现,但如果照搬WHO标准或RECIST标准,则可能得出相反的结论。问题是,当疾病出现进展时,从临床角度应用影像学技术如何判断是假性进展还是真进展?

2009年美国纪念斯隆-凯特琳癌症中心的Wolchok博士等提出了免疫治疗疗效评价(immune-related response criteria, irRC)新标准,用以评价当时抗CTLA-4抗体ipilimumab在恶性黑色素瘤中的疗效<sup>[10]</sup>。笔者也曾在本杂志专门撰文介绍了irRC<sup>[11]</sup>。2015年,在Clinical Cancer Research 20周年年会上,irRC得到了进一步的总结和补充,其应用范围也不局限于恶性黑色素瘤(表1)<sup>[9]</sup>。

表1 irRC的定义和进展

irRC的定义	通过一系列后续检查确认迟发的反应,评价疾病进展情况; 检测新出现的所有可测量病灶的肿瘤体积总和; 将持续的疾病稳定定义为获益; 在临床表现尚可的情况下允许在传统定义的疾病进展情况下继续治疗。
irRC的新进展	irRC可与WHO的二维标准和RESICT的一维标准相转换,结果具有很高的-致性; 应用范围不局限于恶性黑色素瘤; irRC的概念已被纳入美国FDA和欧洲药品管理局(EMA)的规范性指导文件; irRC的概念扩展至多种免疫治疗; 为免疫治疗提供更多的临床试验终点的选择,如irORR、irDCR和irPFS等。

已有许多临床试验表明,免疫细胞治疗可以减缓肿瘤进展或延长生存期,因此,患者的无进展生存期(progression-free survival, PFS)或总生存期(overall survival, OS)是免疫细胞治疗较为合适的临床试验终点。对于术后没有可观测肿瘤结节的患者,无病生存期(disease-free survival, DFS)和OS作为免疫细胞治疗疗效评价指标同样适用<sup>[7]</sup>。而irRC则进一步为免疫治疗提供了更多的临床试验终点的选择,包括总反应率(overall response rate, ORR)、免疫相关总反应率(immune-related overall response rate, irORR)、免疫相关疾病控制率(immune-related disease control rate, irDCR)或免疫相关无进展生存期(immune-related progression-free survival, irPFS)<sup>[9]</sup>。

此外,需要注意的是,根据免疫治疗的作用机制,免疫反应相关的指标也有利于正确评估免疫治

疗的疗效,比如外周血特定免疫细胞的比例、活性等,而且这些数据可以为进一步优化免疫细胞治疗的方案提供重要依据<sup>[12-13]</sup>。免疫状态评估,甚至进一步的免疫诊断,将有助于筛选免疫治疗的可能获益人群并预测其预后。遗憾的是,由于免疫系统的复杂性,迄今尚未建立公认的评价肿瘤患者免疫细胞治疗相关免疫反应的标准方法。但有理由相信,irRC 或者类似的其它工具将非常有助于深入理解肿瘤免疫治疗的强大潜力和全面评价肿瘤免疫治疗的作用与意义。

## 2 肿瘤免疫细胞治疗质控的要点

国家食品药品监督管理局(China Food and Drug Administration, CFDA)2003年发布的《药物临床试验质量管理规范》对药物的临床试验做了系统的规范,但细胞免疫治疗临床试验中涉及的“临床试验药物”是各种免疫细胞,其“处方组成、制造工艺和质量检验结果”均不同于常规化疗药物。

根据2015年修订的《中华人民共和国药品管理法》,药品是指用于预防、治疗、诊断人的疾病,有目的地调节人的生理功能并规定有适应证或者功能主治、用法和用量的物质,包括中药材、中药饮片、中成药、化学原料药及其制剂、抗生素、生化药品、放射性药品、血清、疫苗、血液制品和诊断药品等。对照这个定义,肿瘤免疫细胞治疗所用的免疫细胞可以看作具有一定的药的属性,但同时,它又明显具有技术的属性,毕竟免疫细胞的采集、分离、体外扩增、筛选、基因修饰等都属于技术范畴,这就使得免疫细胞治疗临床试验的质控有其特殊性。

对免疫细胞来说,首先要区分自体还是同种异体供体,自体供者应进行必要的病原体检测;对于同种异体供体,应建立选择标准,并进行必要的筛查(如HIV、HBV、HCV等),此外,既往病史、家族史、组织相容性抗原、血型抗原等都需要加以考虑。

免疫细胞采集、筛选、处理过程中所使用的试剂及其它材料需要有明确的规格和质量标准。应尽量避免使用动物来源的试剂,即使必须使用也应确认并非来自特定疫区(如牛海绵状脑病等)。细胞制备所使用的细胞因子、培养基等应尽量符合相应的药品或医疗器械管理规范,避免使用仅限实验室使用的研究级试剂。如必须采用某些已知或可能具有毒性的试剂,应确保在免疫细胞回输前的终产品中该试剂残留水平应符合相关要求。

具体工艺,应建立免疫细胞采集、分离、体外扩增、筛选、基因修饰各步骤的标准操作程序(Stand-

ard Operating Procedure, SOP)。如需冻存,应明确冻存条件和保存时限。如操作过程中需使用某些特定细胞系,应明确其来源并进行必要的检定。

对于最终的免疫细胞产品,CFDA在2003年发布的《人体细胞治疗研究和制剂质量控制技术指导原则》在得率和存活率、纯度和均一性、稳定性、微生物学检测、内毒素/残留物检测、安全性评价、有效性评价方面都做了原则性的规定。然而,由于肿瘤免疫细胞治疗方案的多样性、复杂性和特殊性,研究者应在这些原则基础上,针对具体实施的免疫细胞治疗制定更加详细和具体的质控方案。这类方案应该包括各类SOP、微生物学检测和内毒素/残留物检测的强制性达标标准,免疫细胞得率、存活率、纯度和均一性的最低要求及其生物学活性的检测方法及最低标准等。而且,每一环节数据都要有原始记录。这方面,国家卫计委2015年发布的《干细胞临床研究管理办法(试行)》和《干细胞制剂质量控制及临床前研究指导原则(试行)》具有很大的指导意义。

需要注意的是,肿瘤的免疫细胞治疗是一个飞速发展的领域,新技术新应用层出不穷,相应的质控标准、操作规范也必须与时俱进,才能满足临床试验的需要。例如,2016年6月,美国国立卫生研究院(NIH)下属的重组DNA咨询委员会在对安全、伦理等方面进行考查之后批准了宾夕法尼亚大学利用基因编辑技术CRISPR编辑免疫细胞的人体试验。7月,我国科学家宣布将进行世界首个CRISPR编辑免疫细胞治疗肺癌的临床试验<sup>[14]</sup>。以CRISPR为代表的基因编辑技术在肿瘤免疫细胞治疗中的应用是一个崭新的课题,在安全性、有效性以及伦理等方面对免疫细胞治疗的监管提出了新的挑战,其质控方案的确定也是一个需要解决的新问题。

## 3 肿瘤免疫细胞治疗多中心临床试验的难点

《药物临床试验质量管理规范》明确规定,多中心临床试验应该“保证在不同中心以相同程序管理试验用药品,包括分发和储藏”,而且“建立标准化的评价方法,试验中所采用的实验室和临床评价方法均应有统一的质量控制,实验室检查也可由中心实验室进行”。如前所述,免疫细胞治疗不同于化疗或靶向药物治疗,细胞来自不同的个体,并需在体外进行扩增和激活。因此免疫细胞治疗的多中心临床研究中,除患者入组、临床治疗及疗效评价执行统一标准外,更为重要的是各参与单位必须按照统一的技术规范进行细胞制品的制备,并且按照统一的标准进行细胞质控和检测,这样才能保证治疗的效

果以及数据的可比性。

在免疫细胞治疗多中心临床试验启动之前,项目承担单位应已建立该免疫细胞治疗的技术体系、统一技术规范和检测标准,包括病例选择,细胞采集、培养、检测和临床疗效评价等。项目承担单位应该对项目参与单位的实验室条件和人员资质进行考察,各单位均需具有符合 GMP 标准的实验室,同时配备相关的技术人员。前期可以通过培训班对相关人员进行培训,包括对临床医师培训试验方案,对技术人员进行实验操作等方面的培训等。项目执行过程中还可以通过培训、会议交流、到各参与单位检查以及 CRO(Contract Research Organization)公司监管<sup>[15]</sup>等方式,严格保证免疫细胞治疗体系的一致性。最终目的是要保证在开展免疫细胞治疗的多中心临床研究过程中,各参与单位执行统一的包括细胞制备及检测标准在内的技术规范。

另一种可以考虑的模式是由项目承担单位或者有资质的细胞制备中心负责所有参与单位的免疫细胞制备,这样在质控方面更加易于管理,但相应的,免疫细胞在各参与单位与制备中心之间的传递就必须严格规范并密切监控,运输时间、保存条件等都需制定相应的标准并详细记录。

无论采用哪一种方法,肿瘤免疫细胞治疗多中心临床试验都要严格遵守规范化操作流程和坚持系统性质控标准和检测体系,以最大限度发挥免疫细胞的抗肿瘤活性和保证试验结果的一致性和可比性。

#### 4 结 语

目前,我国肿瘤免疫细胞治疗行业在不断发展创新的同时,也确实存在一些乱象,主要表现为细胞治疗产品缺乏统一质量标准,从而也就缺乏强有力的多中心随机对照的临床证据。加强行业监管力度,执行严格的准入制度,建立免疫细胞治疗标准、规范临床试验与应用是我国肿瘤免疫细胞治疗事业健康有序发展的保障。希望诸位同仁在肿瘤免疫细胞治疗的临床试验中严格要求、精益求精,拿出坚实的试验数据,共同推动我国肿瘤免疫治疗蓬勃发展,实现我国在医药创新领域“弯道超车”的愿望。

#### [ 参 考 文 献 ]

- [ 1 ] COUZIN-FRANKEL J. Breakthrough of the year 2013. Cancer immunotherapy [ J ]. Science, 2013, 342( 6165 ):1432-1433. DOI: 10.1126/science.342.6165.1432.
- [ 2 ] IKEDA H. T-cell adoptive immunotherapy using tumor-infiltrating T cells and genetically engineered TCR-T cells [ J ]. Int Immunol,

2016, 28( 7 ):349-353. DOI: 10.1093/intimm/dxw022.

- [ 3 ] SCHMEEL L C, SCHMEEL F C, COCH C, et al. Cytokine-induced killer ( CIK ) cells in cancer immunotherapy: report of the international registry on CIK cells ( IRCC ) [ J ]. J Cancer Res Clin Oncol, 2015, 141( 5 ):839-849. DOI: 10.1007/s00432-014-1864-3.
- [ 4 ] BAGGIO L, LAUREANO A M, SILLA L M, et al. Natural killer cell adoptive immunotherapy: coming of age [ J ]. Clin Immunol, 2016, S1521-6616( 16 )30019-5. DOI: 10.1016/j.clim.2016.02.003.
- [ 5 ] ALMASBAK H, AARVAK T, VEMURI M C. CAR T cell therapy: a game changer in cancer treatment [ J/OL ]. J Immunol Res, 2016, 2016: 5474602 [ 2016-08-10 ]. http://dx.doi.org/10.1155/2016/5474602. DOI: 10.1155/2016/5474602.
- [ 6 ] BURGA R A, NGUYEN T, ZULOVICH J, et al. Improving efficacy of cancer immunotherapy by genetic modification of natural killer cells [ J/OL ]. Cytotherapy, 2016, 18( 1 ): 1410-1421. DOI: 10.1016/j.jct.2016.05.018.
- [ 7 ] Guidance Development Review C, Working Group for Clinical Studies of Cancer I, Working Group for Effector Cell T, et al. 2015 Guidance on cancer immunotherapy development in early-phase clinical studies [ J ]. Cancer Sci, 2015, 106( 12 ):1761-1771. DOI: 10.1111/cas.12819.
- [ 8 ] OKADA H, WELLER M, HUANG R, et al. Immunotherapy response assessment in neuro-oncology: a report of the RANO working group [ J/OL ]. Lancet Oncol, 2015, 16( 15 ): e534-542 [ 2016-08-10 ]. http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045( 15 )00088-1. DOI: 10.1016/S1470-2045( 15 )00088-1.
- [ 9 ] HOOS A, WOLCHOK J D, HUMPHREY R W, et al. CCR 20th anniversary commentary: immune-related response criteria--capturing clinical activity in immuno-oncology [ J ]. Clin Cancer Res, 2015, 21( 22 ): 4989-4991. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-14-3128.
- [ 10 ] WOLCHOK J D, 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. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-1624.
- [ 11 ] 任秀宝, 于津浦. 肿瘤免疫治疗疗效评价的新标准 [ J ]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2011, 18( 4 ): 351-353. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2011.04.02.
- [ 12 ] BLANK C U, HAANEN J B, RIBAS A, et al. Cancer immunology. The " cancer immunogram " [ J ]. Science, 2016, 352( 6286 ):658-660. DOI: 10.1126/science.aaf2834.
- [ 13 ] GREENPLATE A R, JOHNSON D B, FERRELL P B, Jr., et al. Systems immune monitoring in cancer therapy [ J ]. Eur J Cancer, 2016, 61:77-84. DOI: 10.1016/j.ejca.2016.03.085.
- [ 14 ] CYRANOSKI D. Chinese scientists to pioneer first human CRISPR trial [ J ]. Nature, 2016, 535( 7613 ): 476-477. DOI: 10.1038/nature.2016.20302.
- [ 15 ] ROBERTS D A, KANTARJIAN H M, STEENSMAN D P. Contract research organizations in oncology clinical research: challenges and opportunities [ J ]. Cancer, 2016, 122( 10 ):1476-1482. DOI: 10.1002/cncr.29994.

[ 收稿日期 ] 2016-09-26

[ 修回日期 ] 2016-10-15

[ 本文编辑 ] 宋关鸿