

受理号：CSZ2300185

# 体外诊断试剂产品注册技术审评报告

产品中文名称：PD-L1（JS311）抗体试剂（免疫组织化学法）

产品管理类别：第三类

申请人名称：迈杰转化医学研究（苏州）有限公司

国家药品监督管理局

医疗器械技术审评中心

## 目 录

基本信息.....	3
一、 申请人名称.....	3
二、 申请人住所.....	3
三、 生产地址.....	3
技术审评概述.....	4
一、 产品概述.....	4
二、 临床前研究概述.....	5
三、 临床评价概述.....	19
四、 产品受益风险判定.....	21
综合评价意见.....	24

## 基本信息

### 一、申请人名称

迈杰转化医学研究（苏州）有限公司

### 二、申请人住所

苏州工业园区星湖街 218 号生物纳米园 B5 楼 901 室

### 三、生产地址

苏州工业园区星湖街 218 号生物纳米园 B5 楼 801 单元、  
901 单元

## 技术审评概述

### 一、产品概述

#### (一) 产品主要组成成分

本试剂盒由即用型 PD-L1 兔单抗和同型对照试剂组成（见下表），即用型 PD-L1 兔单抗的主要成分是使用抗体稀释液稀释的兔抗人 PD-L1 单克隆抗体（抗体浓度约 0.6 $\mu$ g/mL），抗体类型是 IgG，克隆号是 JS311。同型对照试剂的主要成分是使用抗体稀释液稀释的兔抗人 IgG 单克隆抗体（抗体浓度约 0.6 $\mu$ g/mL），抗体类型是 IgG。

组成	主要成分	规格		
		15 测试/盒	30 测试/盒	50 测试/盒
即用型 PD-L1 兔单抗	兔抗人 PD-L1 单克隆抗体（JS311）、抗体稀释液	1.5 mL/瓶	3.0 mL/瓶	5.0 mL/瓶
同型对照试剂	兔抗人 IgG 单克隆抗体、抗体稀释液	1.5 mL/瓶	3.0 mL/瓶	5.0 mL/瓶

#### (二) 产品预期用途

本试剂盒用于体外定性检测经 10% 中性福尔马林固定、石蜡包埋（FFPE）的三阴性乳腺癌组织中的程序性死亡受体-配体 1（Programmed Death-Ligand 1, PD-L1）蛋白表达情况，辅助鉴

别可使用特瑞普利单抗注射液（Toripalimab Injection，拓益®）治疗的三阴性乳腺癌患者，用作拓益®的伴随诊断。

### （三）产品包装规格

15 测试/盒、30 测试/盒、50 测试/盒。

### （四）产品检验原理

本产品是利用抗原抗体特异性结合的原理检测 PD-L1 蛋白表达情况。产品中的即用型 PD-L1 兔单抗作为一抗，在染色过程中特异性结合检测样本中的 PD-L1 蛋白，并形成抗原-抗体复合物（抗原建议采用高 pH 值的 EDTA 抗原修复液进行高温热修复），酶标记二抗与该复合物特异性结合，并通过酶促 DAB 显色试剂显色，使得检测样本切片中相应抗原部位出现着色。封片后，经光学显微镜观察，以此判断样本中 PD-L1 蛋白的表达情况。

## 二、临床前研究概述

### （一）主要原材料

#### 1. 主要原材料的选择

本产品主要原材料包括兔抗人 PD-L1 单克隆抗体、兔抗人 IgG 单克隆抗体和抗体稀释液。兔抗人 PD-L1 单克隆抗体和兔抗人 IgG 单克隆抗体为外购方式获得，抗体稀释液为申请人自制，并通过免疫组化验证。申请人选择有资质的供应商提供的

原料，并结合原料的特性，通过功能性试验，确定原料供应商。制定了各主要原材料质量要求并经检验合格。

## 2. 企业参考品和质控品设置情况

本产品企业参考品针对 PD-L1 染色评分和染色强度进行了设置，包括阳性参考品和阴性参考品，其中阳性参考品用于产品的符合性，批内重复性和批间重复性检测。阳性参考品包括三阴性乳腺癌和其他乳腺癌 FFPE 组织样本，并涵盖不同的 PD-L1 染色评分和不同的染色强度。阴性参考品用于产品的符合性检测，阴性参考品包括三阴性乳腺癌和其他乳腺癌 FFPE 组织样本。

本产品于说明书中推荐了质量控制方案。同时提供了同型对照试剂，确保染色过程的特异性。

### (二) 生产工艺及反应体系研究

申请人通过企业参考品试验确定最佳的生产工艺及反应体系，包括：即用型 PD-L1 兔单抗、同型对照试剂的配液工序、分装工序、组装工序等，同时对反应体系中的样本切片厚度、预处理温度及时间、抗原修复温度及时间、一抗孵育温度及时间、过氧化物酶灭活时间、二抗孵育时间、DAB 显色时间、苏木素复染时间等进行研究，确定了最佳的反应体系。

### (三) 分析性能评估

本产品分析性能包括免疫反应性、分析灵敏度、分析特异性和精密度研究。

### 1. 免疫反应性

申请人对30种正常人体组织进行免疫反应性研究，对着色位置及染色特点进行描述，每种组织类型均不少于3例。在检测的细胞类型或者组织类型中没有观察到超出预期的结果，对于正常组织中的PD-L1免疫组化表达，观察到的染色与文献报道一致。结果总结见下表：

表 1：30 种正常人组织 PD-L1 免疫反应检测结果

组织类型（检测数量）	着色位置和染色特点		
	阳性细胞膜染色：组 织成分	阳性细胞质染色：组 织成分	非特异性 染色
大脑（3）	0/3	0/3	0/3
小脑（3）	0/3	0/3	0/3
肾上腺（3）	0/3	0/3	0/3
卵巢（3）	0/3	0/3	0/3
胰腺（3）	1/3 淋巴细胞	0/3	0/3
甲状腺（3）	0/3	0/3	0/3
甲状旁腺（3）	0/3	0/3	0/3
睾丸（3）	1/3 支持细胞 1/3 精原细胞	0/3	0/3
乳腺（3）	1/3 淋巴细胞	1/3 淋巴细胞	0/3
脾（3）	3/3 巨噬细胞	3/3 巨噬细胞	0/3

扁桃体 (3)	3/3 隐窝上皮 3/3 生发中心	3/3 隐窝上皮 3/3 生发中心	0/3
胸腺 (3)	3/3 胸腺细胞	3/3 胸腺上皮细胞	0/3
骨髓 (3)	3/3 淋巴细胞	3/3 淋巴细胞	0/3
肺 (3)	3/3 肺泡巨噬细胞	3/3 淋巴细胞	0/3
心脏 (3)	0/3	0/3	0/3
食管 (3)	0/3	0/3	0/3
胃 (3)	1/3 腺上皮细胞 1/3 淋巴细胞	2/3 腺上皮细胞 1/3 淋巴细胞	0/3
小肠 (3)	2/3 淋巴细胞	2/3 淋巴细胞	0/3
结直肠 (3)	3/3 淋巴细胞 2/3 上皮组织	3/3 淋巴细胞	0/3
肝脏 (3)	0/3	2/3 淋巴细胞	0/3
唾液腺 (3)	0/3	0/3	0/3
肾 (3)	1/3 间质淋巴细胞	1/3 间质淋巴细胞	0/3
前列腺 (3)	2/3 淋巴细胞 2/3 上皮组织	0/3	0/3
子宫 (3)	0/3	0/3	0/3
膀胱 (3)	2/3 血管内皮细胞 1/3 淋巴细胞	1/3 淋巴细胞	0/3
结肠 (3)	3/3 淋巴细胞	3/3 淋巴细胞	0/3
皮肤 (3)	0/3	0/3	0/3
外周神经 (3)	3/3 神经节	0/3	0/3
间皮 (3)	0/3	0/3	0/3
阑尾 (3)	上皮组织 2/3 淋巴细胞 3/3	上皮组织 2/3 淋巴细胞 3/3	0/3

申请人对 26 种相关良性、恶性病变组织（非正常组织）进行免疫反应性研究，对着色位置及染色特点进行描述，每种组织类型均不少于 3 例。在检测的细胞类型或者组织类型中没有观察到超出预期的结果，对于非正常组织中的 PD-L1 免疫组化表达，观察到的染色与文献报道一致。结果总结见下表：

表 2：26 种非正常人组织 PD-L1 免疫反应检测结果

组织类型（检测数量）	着色位置和染色特点		
	阳性细胞膜染色：组织成分	阳性细胞质染色：组织成分	非特异性染色
宫颈鳞癌（3）	1/3 纤维间质	1/3 纤维间质	0/3
	2/3 淋巴细胞	2/3 淋巴细胞	
	2/3 肿瘤细胞	2/3 肿瘤细胞	
前列腺增生（3）	2/3 腺体细胞	3/3 腺体细胞	0/3
乳腺纤维腺瘤（3）	1/3 血管内皮细胞	1/3 血管内皮细胞	0/3
	1/3 腺体细胞	1/3 腺体细胞	
	/	1/3 血管	
胰岛细胞瘤（3）	1/3 肿瘤细胞	1/3 肿瘤细胞	0/3
黑色素瘤（3）	3/3 淋巴细胞	3/3 淋巴细胞	0/3
	3/3 肿瘤细胞	3/3 肿瘤细胞	
	1/3 吞噬细胞	1/3 吞噬细胞	
	2/3 间质纤维母细胞	2/3 间质纤维母细胞	
	1/3 血管内皮细胞	1/3 血管内皮细胞	
淋巴瘤（6）	1/6 滤泡树突状细胞	1/6 滤泡树突状细胞	0/6
	6/6 淋巴细胞	6/6 淋巴细胞	

	1/6 巨噬细胞	1/6 巨噬细胞	
	1/6 血管内皮细胞	1/6 血管内皮细胞	
	4/6 吞噬细胞	4/6 吞噬细胞	
	2/6 淋巴窦	2/6 淋巴窦	
卵巢癌 (7)	3/7 吞噬细胞	3/7 吞噬细胞	0/7
	4/7 肿瘤细胞	4/7 肿瘤细胞	
	2/7 纤维脉管束	2/7 纤维脉管束	
	1/7 淋巴细胞	1/7 淋巴细胞	
胃腺癌 (3)	1/3 纤维脉管束	1/3 纤维脉管束	0/3
	2/3 吞噬细胞	2/3 吞噬细胞	
	2/3 肿瘤细胞	2/3 肿瘤细胞	
	2/3 淋巴细胞	2/3 淋巴细胞	
肺腺癌 (3)	3/3 吞噬细胞	3/3 吞噬细胞	0/3
	2/3 肿瘤细胞	2/3 肿瘤细胞	
	3/3 淋巴细胞	3/3 淋巴细胞	
结肠癌 (3)	2/3 吞噬细胞	2/3 吞噬细胞	0/3
	2/3 肿瘤细胞	2/3 肿瘤细胞	
	3/3 淋巴细胞	3/3 淋巴细胞	
	1/3 空腔间隙	1/3 空腔间隙	
	1/3 血管内皮细胞	1/3 血管内皮细胞	
食管癌 (5)	4/5 吞噬细胞	4/5 吞噬细胞	0/5
	2/5 血管内皮细胞	2/5 血管内皮细胞	
	4/5 淋巴细胞	4/5 淋巴细胞	
	3/5 肿瘤细胞	3/5 肿瘤细胞	
肝细胞癌 (3)	3/3 淋巴细胞	3/3 淋巴细胞	0/3
	1/3 肿瘤细胞	1/3 肿瘤细胞	

	3/3 吞噬细胞	3/3 吞噬细胞	
肾透明细胞癌 (3)	1/3 血管内皮细胞	1/3 血管内皮细胞	0/3
	1/3 纤维脉管束	1/3 纤维脉管束	
	/	1/3 肿瘤细胞	
子宫内膜癌 (3)	1/3 巨噬细胞	1/3 巨噬细胞	0/3
	2/3 纤维母细胞	2/3 纤维母细胞	
	2/3 肿瘤细胞	2/3 肿瘤细胞	
	1/3 血管	1/3 血管	
乳腺浸润性导管癌 (3)	2/3 淋巴细胞	2/3 淋巴细胞	0/3
	2/3 纤维脉管束	2/3 纤维脉管束	
	1/3 肿瘤细胞	1/3 肿瘤细胞	
膀胱癌 (6)	3/6 纤维及纤维母细胞	3/6 纤维及纤维母细胞	0/6
	3/6 肿瘤细胞	3/6 肿瘤细胞	
	2/6 吞噬细胞	2/6 吞噬细胞	
	2/6 淋巴细胞	2/6 淋巴细胞	
肺鳞癌 (3)	3/3 肿瘤细胞	3/3 肿瘤细胞	0/3
	1/3 纤维间质	1/3 纤维间质	
	2/3 血管	2/3 血管	
	3/3 淋巴细胞	3/3 淋巴细胞	
	1/3 吞噬细胞	1/3 吞噬细胞	
胰腺导管癌 (3)	1/3 纤维脉管束	1/3 纤维脉管束	0/3
	1/3 肿瘤细胞	1/3 肿瘤细胞	
	1/3 淋巴细胞	1/3 淋巴细胞	
	2/3 吞噬细胞	2/3 吞噬细胞	
尿路上皮癌 (6)	1/6 纤维脉管束	1/6 纤维脉管束	0/6
	3/6 肿瘤细胞	3/6 肿瘤细胞	

	2/6 淋巴细胞	2/6 淋巴细胞	
横纹肌肉瘤 (3)	0/3	0/3	0/3
前列腺癌 (5)	2/5 腺体细胞	2/5 腺体细胞	0/5
平滑肌瘤 (3)	0/3	0/3	0/3
贲门癌 (3)	3/3 肿瘤细胞	3/3 肿瘤细胞	0/3
	3/3 淋巴细胞	3/3 淋巴细胞	
	2/3 纤维脉管束	2/3 纤维脉管束	
	1/3 吞噬细胞	1/3 吞噬细胞	
胶质瘤 (3)	0/3	0/3	0/3
肉瘤 (3)	1/3 肿瘤细胞	2/3 肿瘤细胞	0/3
肾癌 (3)	1/3 淋巴细胞	1/3 淋巴细胞	0/3
	1/3 肿瘤细胞	1/3 肿瘤细胞	
	2/3 纤维脉管束	2/3 纤维脉管束	

## 2.分析灵敏度

申请人对 103 例三阴性乳腺癌 (TNBC) 组织样本进行检测, 结果显示其 PD-L1 综合阳性评分 (Combined Positive Score, CPS) 在 0~100。以  $CPS \geq 1$  作为阳性判断值, 申报试剂 PD-L1 (JS311) 抗体试剂 (免疫组织化学法) 的 PD-L1 蛋白表达阳性率为 51.46% (53/103)。本产品 在 8 例  $CPS=1$  的三阴性乳腺癌样本中进行灵敏度评价, 研究结果显示, 所有样本均能准确检出, 与预期结果一致。

## 3.分析特异性

申请人使用不同 PD-L1 表达水平的细胞系进行特异性研究，研究结果表明本产品的检测结果与细胞系的 PD-L1 蛋白表达水平一致。

申请人使用包含人 PD-L1 和 PD-L2 蛋白的细胞裂解液进行免疫印迹分析 (Western Blot Analysis, WB)。研究结果表明本产品能特异性识别 PD-L1 蛋白，不识别 PD-L2 蛋白。证明 PD-L1 单克隆抗体对人 PD-L1 蛋白具有特异性，与 PD-L2 蛋白无交叉反应性。

申请人分别在无肽、无关的非特异性肽、以及包含抗体结合表位的不同浓度的特异性肽的条件下孵育同一批抗体，结果显示本产品能够被含抗体结合表位的特异性肽抑制，无肽和无关的非特异性肽均能正常染色，研究结果表明本产品能够特异性识别 PD-L1 蛋白。

#### 4. 精密度

申请人采用三批试剂盒进行了实验室内精密度研究 (同一场所)，包括批间精密度、批内精密度、同一轮内精密度、日内精密度、日间精密度、检测人员间精密度；阅片一致性研究，包括不同阅片者之间、同一阅片者不同阅片时间之间；外部重复性研究 (三个外部场所)，包括不同阅片者之间、不同实验室之间、实验室内非连续日间；申请人对检测结果进行配对比较，确

定阳性一致率(PPA)、阴性一致率(NPA)和总体一致率(OA),采用 Wilson 评分方法计算双侧 95%置信区间。研究结果表明本产品的精密度良好,符合预期要求。

表 3 同一场所精密度

精密度	研究设计	一致率
批内精密度	采用 1 个批次的试剂对 20 例 PD-L1 表达程度不同的三阴性乳腺癌样本在 BenchMark ULTRA 上进行 IHC 检测, 每例样本重复检测 3 次, 每次的检测结果与共识标准结果进行比较, 共计进行了 60 次独立成对比较结果。	NPA: 100.00% (88.43%-100.00%) PPA: 100.00% (88.43%-100.00%) OA: 100.00% (94.04%-100.00%)
批间精密度	采用 3 个不同批次的试剂对 20 例 PD-L1 表达程度不同的三阴性乳腺癌样本在 BenchMark ULTRA 上进行 IHC 检测, 每次的检测结果与共识标准结果进行比较, 共计进行了 60 次独立比较结果。	NPA: 100.00% (88.43%-100.00%) PPA: 100.00% (88.43%-100.00%) OA: 100.00% (94.04%-100.00%)
同一轮内精密度	采用 1 个批次的试剂对 20 例 PD-L1 表达程度不同的三阴性乳腺癌样本在 BenchMark ULTRA 上进行 IHC 检测, 每例样本重复检测 6 次, 每次的检测结果与共识标准结果进行比较, 共计进行了 120 次独立比较结果。	NPA: 100.00% (94.04%-100.00%) PPA: 100.00% (94.04%-100.00%) OA: 100.00% (96.97%-100.00%)
日内精密度	采用 1 个批次的试剂分别在 BenchMark ULTRA 上一天内 2 个不同时间点对 20 例	NPA: 100.00% (94.04%-100.00%)

	PD-L1 表达程度不同的三阴性乳腺癌样本进行 IHC 检测，每次的检测结果与共识标准结果进行比较。共计进行了 120 次独立比较结果。	PPA: 100.00% (94.04%-100.00%) OA: 100.00% (96.97%-100.00%)
人员间精密度	5 名实验人员，采用 3 个批次的试剂对 20 例 PD-L1 表达程度不同的三阴性乳腺癌样本在 BenchMark ULTRA 上进行 IHC 检测，每次的检测结果与共识标准结果进行比较，共计进行了 300 次独立比较结果。	NPA: 98.00% (94.27%-99.79%) PPA: 100.00% (97.51%-100.00%) OA: 99.00% (97.11%-99.79%)
日间精密度	在非连续的 5 天内，采用 3 个批次的试剂对 20 例 PD-L1 表达程度不同的三阴性乳腺癌样本在 BenchMark ULTRA 上进行 1 次 IHC 检测，每次的检测结果与共识标准结果进行比较，共计进行了 300 次独立比较结果。	NPA: 98.00% (94.27%-99.79%) PPA: 100.00% (97.51%-100.00%) OA: 99.00% (97.11%-99.79%)
批内精密度	采用 1 个批次的试剂对 20 例 PD-L1 表达程度不同的三阴性乳腺癌样本在 BenchMark ULTRA 上进行 IHC 检测，每例样本重复检测 3 次，每次的检测结果与共识标准结果进行比较，共计进行了 60 次独立成对比较结果。	NPA: 100.00% (88.43%-100.00%) PPA: 100.00% (88.43%-100.00%) OA: 100.00% (94.04%-100.00%)

表 4 阅片一致性研究

精密度	研究设计	一致率
不同阅片者之间	由 3 名不同的阅片者对 50 例 PD-L1 表达程度不同的三阴性乳腺癌样本进行 1	NPA: 94.74% (85.63%-98.19%)

	次比较，共计进行了 150 次独立成对比较结果。	PPA: 100.00% (96.11%-100.00%) OA: 98.00% (94.29%-99.32%)
不同阅片时间之间	由 3 名不同的阅片者在 3 个不同时间点对 50 例 PD-L1 表达程度不同的三阴性乳腺癌样本进行 1 次比较，共计进行了 450 次独立成对比较结果。	NPA: 94.15% (89.57%-96.79%) PPA: 98.57% (96.37%-99.61%) OA: 96.89% (94.85%-98.14%)

表 5 外部重复性研究

精密度	研究设计	一致率
不同阅片者之间	采用 1 个批次的试剂在 BenchMark ULTRA 上对 25 例 PD-L1 表达程度不同的三阴性乳腺癌样本在非连续的五天进行 IHC 检测，测试完成后由每个场所的两名病理医生在非连续的五天分别进行独立判读，比较每个场所内两位医师判读一致性。	NPA: 96.30% (90.86%-98.55%) PPA: 98.13% (95.69%-99.20%) OA: 97.60% (95.50%-99.20%)
不同实验室之间	采用 1 个批次的试剂在 BenchMark ULTRA 上对 25 例 PD-L1 表达程度不同的三阴性乳腺癌样本在非连续的五天进行 IHC 检测，测试完成后由每个场所的两名病理医生在非连续的五天分别进行独立判读，比较每个场所判读一致性。	NPA: 95.85% (92.31%-97.80%) PPA: 98.31% (96.80%-99.11%) OA: 97.60% (96.24%-98.48%)

<p>实验室内非连续 日间</p>	<p>采用 1 个批次的试剂在 BenchMark ULTRA 上对 25 例 PD-L1 表达程度不同的三阴性乳腺癌样本在非连续的五天进行 IHC 检测，测试完成后由每个场所的两名病理医生在非连续的五天分别进行独立判读，比较每个场所五天的测试的一致性。</p>	<p>NPA: 96.31% (92.90%-98.12%) PPA: 98.50% (97.07%-99.24%) OA: 97.87% (96.56%-98.68%)</p>
-----------------------	---	---

#### (四) 阳性判断值或参考区间研究

申请人采用 103 例三阴性乳腺癌组织样本，使用已上市的 PD-L1 检测试剂作为参考方法，通过受试者工作特征曲线 (ROC) 和一致性比对的方法初步确立了本产品的阳性判断值为 PD-L1 综合阳性评分  $CPS \geq 1$ 。

申请人在 TORCHLIGHT 研究 (NCT04085276) (一项多中心、随机、双盲、安慰剂对照性 III 期研究，旨在评估特瑞普利单抗联合白蛋白紫杉醇对比安慰剂联合白蛋白紫杉醇在首诊 IV 期或复发/转移性三阴性乳腺癌患者的有效性和安全性) 中，使用确立的阳性判断值 (综合阳性评分  $CPS \geq 1$ ) 作为受试者分层标准，以无进展生存期 (PFS) 为主要终点，比较了特瑞普利单抗联合注射用紫杉醇 (白蛋白结合型) 与安慰剂联合注射用紫杉醇 (白蛋白结合型) 对首诊 IV 期或复发转移性 TNBC 患者的疗效。研究结果显示，特瑞普利单抗联合化疗对比安慰剂联合

化疗显著延长 PD-L1 阳性人群无进展生存期 (PFS), 达到临床试验预设的主要终点。

综合以上研究, 最终确定本产品的阳性判断值为 PD-L1 综合阳性评分  $CPS \geq 1$ 。

### (五) 稳定性研究

申请人对本产品的实时稳定性、使用稳定性和运输稳定性进行了系统的研究, 确定了在各种条件下试剂的有效保存时间。同时也对样本稳定性进行了研究。

实时稳定性: 采用三批次试剂盒放置于  $2^{\circ}\text{C} \sim 8^{\circ}\text{C}$  条件下保存, 分别于第 0 个月, 第 6 个月, 第 9 个月, 第 12 个月, 第 13 个月, 第 14 个月, 第 15 个月, 使用包含 PD-L1 蛋白表达不同染色强度和不同染色评分的 TNBC 组织样本对试剂盒的性能进行检测。结果显示, 各项性能指标均符合要求。确定本产品可在  $2^{\circ}\text{C} \sim 8^{\circ}\text{C}$  条件下保存, 有效期 12 个月。

使用稳定性: 将运输模拟结束后三批次试剂盒放置于  $2^{\circ}\text{C} \sim 8^{\circ}\text{C}$  条件下保存, 保存期间进行 16 次开瓶/机载稳定性研究。进行开瓶/机载稳定性研究时, 将本研究的所有待测试剂盒转移至室温下放置 6 小时, 重复 16 次。研究显示, 本产品每次上机使用不超过 6 小时, 上机次数不超过 16 次, 每次使用后应立即密闭并置于  $2^{\circ}\text{C} \sim 8^{\circ}\text{C}$  保存, 禁止冷冻, 有效期为 12 个月。本产品采用

一个批次的试剂盒进行了机载稳定性挑战试验，将试剂置于在 45℃ 条件下连续放置 14 天后，产品各项性能指标均符合要求。

**运输稳定性：**采用三批次试剂盒进行运输稳定性研究，使用企业参考品对运输后及运输后放置到有效期末的试剂盒进行检测，研究结果表明该产品在冷链运输的条件下运输 5 天后以及在效期末的检测结果的各项性能指标均能够满足质量的要求。试剂盒的运输时间在 5 天内不影响产品质量。

**样本稳定性：**对经 10% 中性福尔马林固定、石蜡包埋的三阴性乳腺癌组织切片在室温（10℃~30℃）、2℃~8℃、和 -20℃ ±5℃ 条件下进行了切片稳定性。研究结果显示，经 10% 中性福尔马林固定、石蜡包埋的三阴性乳腺癌组织切片样本在室温（10℃~30℃）保存 14 天，对检测结果无影响，满足检测要求，在 2℃~8℃ 保存 2 个月，对检测结果无影响，满足检测要求，在 -20℃ ±5℃ 保存 6 个月，对检测结果无影响，满足检测要求。

### 三、临床评价概述

申请人针对试验体外诊断试剂检测性能提交了 PD-L1 检测结果重现性研究资料，试验体外诊断试剂伴随诊断用途提供了特瑞普利单抗注射液同步开发的药物临床试验 JS001-026-III-TNBC 研究资料。

#### （一）PD-L1 检测结果重现性研究

申请人在中国医学科学院北京协和医院、复旦大学附属肿瘤医院、浙江省肿瘤医院共 3 家临床机构完成了临床试验。包括环比试验和阅片一致性评价试验。

环比试验入组样本 120 例，结果显示：与参考结果比较，总一致率 95.7% (95%CI: 93.6%, 97.9%)；两两比对研究平均总一致率 91.4% (95%CI: 88.5%, 94.3%)。

阅片一致性评价试验入组样本 180 例，三家机构各 60 例，结果显示：与参考结果比较，机构内同一病理医师阅片重复性总一致率 98.3% (95% CI: 97.3%, 99.4%)，不同临床试验机构间阅片总一致率 95.7% (95%CI: 93.9%, 97.4%)，机构内不同病理医师阅片重复性总一致率为 97.8% (95%CI: 96.5%, 99.0%)。两两比对研究显示，机构内同一病理医师阅片重复性平均总一致率 96.7% (95% CI: 95.2%, 98.2%)，机构内不同病理医师阅片重复性平均总一致率为 95.6% (95%CI: 93.8%, 97.3%)，不同临床试验机构间阅片总一致率 91.4% (95%CI: 88.9%, 93.8%)。研究结果表明产品临床性能满足要求。

## (二) 伴随诊断性能研究

试验体外诊断试剂的伴随诊断意义通过同步开发的药物临床试验进行确认，本产品作为药物临床试验 (JS001-026-III-TNBC) 入组人群的筛选试剂。JS001-026-III-TNBC 是一项随机、

双盲、安慰剂对照、多中心、III 期临床研究，旨在评估特瑞普利单抗联合白蛋白紫杉醇对比安慰剂联合白蛋白紫杉醇在首诊 IV 期或复发/转移性三阴性乳腺癌患者的有效性和安全性。入组人群为经组织学确诊的首诊 IV 期或复发/转移性、且不适合手术治疗的三阴性乳腺癌患者。

药物临床试验入组人群采用本产品进行筛选。研究共入组 531 例患者，其中 PD-L1 阳性人群 (CPS $\geq$ 1) 入组 300 例，特瑞普利单抗联合化疗组 200 例，安慰剂联合化疗组 100 例。结果显示，特瑞普利单抗联合化疗对比安慰剂联合化疗显著延长 PD-L1 阳性人群的 PFS，降低疾病进展或死亡风险 34.7% (HR=0.653; 95%CI: 0.470, 0.906), P=0.0102。此外，对于 PD-L1 阳性人群，特瑞普利单抗联合化疗相较于安慰剂联合化疗的 OS 获益，HR=0.615 (95%CI: 0.414, 0.914), P=0.0148。

#### 四、产品受益风险判定

根据“YY/T 0316-2016 医疗器械风险管理”标准，对本产品进行风险和受益分析。经综合评价，本产品的受益大于风险。

##### (一) 受益评估

本试剂盒用于体外定性检测经 10% 中性福尔马林固定、石蜡包埋 (FFPE) 的三阴性乳腺癌组织中的程序性死亡受体-配体 1 (Programmed Death-Ligand 1, PD-L1) 蛋白表达情况，辅助鉴

别可使用特瑞普利单抗注射液（Toripalimab Injection，拓益<sup>®</sup>）治疗的三阴性乳腺癌患者，用作拓益<sup>®</sup>的伴随诊断。

本产品临床应用的主要获益在于：三阴性乳腺癌是雌激素受体、孕激素受体、人表皮生长因子受体 2 表达缺乏的乳腺癌，在我国约占所有乳腺癌的 19%-25%。三阴性乳腺癌愈后较差，复发风险较高。特瑞普利单抗联合化疗是目前国内唯一获批的用于 PD-L1 表达阳性（CPS $\geq$ 1）的复发或转移性三阴性乳腺癌一线治疗的免疫检查点抑制剂药物。本产品作为特瑞普利单抗的伴随诊断试剂对用药人群进行筛选，可让三阴性乳腺癌患者获得及时的治疗。

## （二）风险评估

本产品检测的主要风险来自错误结果带来的风险。假阳性结果可能会导致患者接受特瑞普利单抗的治疗没有显著的临床获益，同时可能出现与特瑞普利单抗治疗相关的不良反应。假阴性结果可能会导致患者失去使用特瑞普利单抗治疗的机会，无法获得潜在益处。

IHC 检测过程相对比较复杂，不规范的操作和解读可能带来假阴性或假阳性结果。检测过程应严格按照说明书要求进行操作，并进行充分和合理的质控，且任何检测结果均应结合临床病史、形态学、其他组织病理学诊断结果等进行综合分析。

该产品的风险管理计划已得到适当实施，所有的剩余风险达到可以接受的程度，本产品上市带来的受益大于风险。

为保证用械安全，基于对主要剩余风险的规避，需要在说明书中提示以下信息：

1.本试剂盒用于体外定性检测经 10%中性福尔马林固定、石蜡包埋（FFPE）的三阴性乳腺癌组织中的程序性死亡受体-配体 1（Programmed Death-Ligand 1，PD-L1）蛋白表达情况，辅助鉴别可使用特瑞普利单抗注射液（Toripalimab Injection，拓益<sup>®</sup>）治疗的三阴性乳腺癌患者，用作拓益<sup>®</sup>的伴随诊断。本产品仅用于体外诊断，不做其他用途。对任何阳性或阴性结果的解读，应由资深的病理医生结合病理形态学、临床表现及其他检测方法进行评估，不作为单独的诊断指标。

2.警示及注意事项：产品说明书中介绍了该产品检验方法的局限性及使用中的注意事项。

## 综合评价意见

本申报项目为境内第三类体外诊断试剂产品注册，属于进入医疗器械优先审批程序的产品。依据《医疗器械监督管理条例》(国务院令第739号)、《体外诊断试剂注册与备案管理办法》(国家市场监督管理总局令第48号)等相关医疗器械法规与配套规章，经对申请人提交的注册申报资料进行系统评价，申报产品符合安全性、有效性的要求，符合现有认知水平，建议准予注册。

2024年10月24日

附件：产品说明书

## PD-L1 (JS311) 抗体试剂 (免疫组织化学法) 说明书

### 【产品名称】

PD-L1 (JS311) 抗体试剂 (免疫组织化学法)

### 【包装规格】

15 测试/盒、30 测试/盒、50 测试/盒。

### 【预期用途】

本试剂盒用于体外定性检测经 10% 中性福尔马林固定、石蜡包埋 (FFPE) 的三阴性乳腺癌组织中的程序性死亡受体-配体 1 (Programmed Death-Ligand 1, PD-L1) 蛋白表达情况, 辅助鉴别可使用特瑞普利单抗注射液 (Toripalimab Injection, 拓益<sup>®</sup>) 治疗的三阴性乳腺癌患者, 用作拓益<sup>®</sup>的伴随诊断。

### 伴随诊断适应症

肿瘤适应症	PD-L1 表达水平	预期用途
TNBC	CPS $\geq$ 1	PD-L1 (JS311) 抗体试剂 (免疫组织化学法) 用于辅助鉴别可使用拓益 <sup>®</sup> (Toripalimab, 特瑞普利单抗注射液) 治疗的三阴性乳腺癌患者*。

\*特定临床环境下的用药治疗指导, 请参阅拓益<sup>®</sup>产品说明书。

PD-1/PD-L1 信号通路是参与肿瘤免疫逃逸的重要途径, 肿瘤细胞通过表达 PD-L1 与 T 细胞表面的 PD-1 结合, 下调或抑制 T 细胞功能, 导致肿瘤细胞免疫逃逸。通过抗 PD-1 或抗 PD-L1 单抗对此种免疫检查点的阻断可以增强 T 细胞增殖、生存、杀伤活性而达到肿瘤免疫治疗效果。

乳腺癌 (Breast Cancer, BC) 是中国女性发病率第二高的癌症, 居癌症相关死亡原因的第五位, 严重威胁女性健康。三阴性乳腺癌是雌激素受体 (Estrogen Receptor, ER)、孕激素受体 (Progesterone Receptor, PR)、人表皮生长因子受体-2 (Human epidermal growth factor receptor-2, HER-2) 表达缺乏的 BC, 在我国约占所有乳腺癌

的 19%-25%。TNBC 具有其独特的临床病理学特征，发病年龄较小，组织学分级较高，肿瘤原发灶平均长径较大，淋巴结阳性率较高。TNBC 肿瘤侵袭性较强，常见软组织及内脏转移，总体愈后较差，复发风险较高。

中国国家药品监督管理局（NMPA）已批准特瑞普利单抗注射液（Toripalimab Injection）上市，TORCHLIGHT 研究（NCT04085276）是一项多中心、随机、双盲、安慰剂对照性 III 期研究，分别在 PD-L1 综合阳性评分 CPS $\geq$ 1 阳性亚组人群和意向治疗人群（ITT）中评估特瑞普利单抗注射液（JS001）联合注射用紫杉醇（白蛋白结合型）与安慰剂联合注射用紫杉醇（白蛋白结合型）治疗首诊 IV 期或复发转移性三阴性乳腺癌（TNBC）的疗效和安全性，试验表明在 PD-L1 综合阳性评分 CPS $\geq$ 1 阳性亚组人群中，与安慰剂联合注射用紫杉醇（白蛋白结合型）相比，特瑞普利单抗联合注射用紫杉醇（白蛋白结合型）用于首诊 IV 期或复发转移性 TNBC 患者的治疗可显著延长无进展生存期（PFS）。因此，肿瘤组织中 PD-L1 的表达情况，可能成为预测 PD-1/PD-L1 抑制剂有效率的一个重要指标。通过检测 PD-L1 表达情况可指导特瑞普利单抗注射液（Toripalimab Injection）的使用。

本品仅用于体外诊断，不做其它用途。对任何阳性或阴性结果的解读，应由资深的病理医生结合病理形态学、临床表现及其他检测方法进行评估，不作为单独的诊断指标。

### 【检验原理】

本产品是利用抗原抗体特异性结合的原理检测 PD-L1 蛋白表达情况。产品中的即用型 PD-L1 兔单抗作为一抗，在染色过程中特异性结合检测样本中的 PD-L1 蛋白，并形成抗原-抗体复合物（抗原建议采用高 pH 值的 EDTA 抗原修复液进行高温热修复），酶标记二抗与该复合物特异性结合，并通过酶促 DAB 显色试剂显色，使得检测样本切片中相应抗原部位出现着色。封片后，经光学显微镜观察，以此判断样本中 PD-L1 蛋白的表达情况。

### 【主要组成成分】

本试剂盒由即用型 PD-L1 兔单抗和同型对照试剂组成（见下表），即用型 PD-L1 兔单抗的主要成分是使用抗体稀释液稀释的兔抗人 PD-L1 单克隆抗体（抗体浓度约 0.6 $\mu$ g/mL），抗体类型是 IgG，克隆号是 JS311。同型对照试剂的主要成分是使用抗体稀释液稀释的兔抗人 IgG 单克隆抗体（抗体浓度约 0.6 $\mu$ g/mL），抗体类型是 IgG。

组成	主要成分	规格		
		15 测试/盒	30 测试/盒	50 测试/盒
即用型 PD-L1 兔单抗	兔抗人 PD-L1 单克隆抗体（JS311）、抗体稀释液	1.5 mL/瓶	3.0 mL/瓶	5.0 mL/瓶
同型对照试剂	兔抗人 IgG 单克隆抗体、抗体稀释液	1.5 mL/瓶	3.0 mL/瓶	5.0 mL/瓶

注意：不同批号试剂中各组成成分不可以互换使用。

本试剂盒不包含，需要自备的材料如下：

材料名称	材料要求	用途
DAB 染色液 OptiView DAB IHC Detection Kit	备案人/生产企业名称：Ventana Medical Systems, Inc. 文塔纳医疗系统公司； 货号：760-700； 备案号：国械备 20151018	主要组成成分为 OptiView 过氧化物酶抑制剂、OptiView HQ 通用连接剂、OptiView HRP 标记的小分子多聚体 (Multimer)、OptiView 双氧水、OptiView DAB、OptiView 硫酸铜，用于免疫组织化学染色的显色。
缓冲液 ULTRA LCS (Predilute)	备案人/生产企业名称：Ventana Medical Systems, Inc. 文塔纳医疗系统公司； 货号：650-210； 备案号：国械备 20151711 号	主要组成成分为含有低密度石蜡化烃以及矿物油，用于提供/维持反应环境。
清洗液 EZ Prep Concentrate (10 $\times$ )	备案人/生产企业名称：Ventana Medical Systems, Inc. 文塔纳医疗系统公司； 货号：950-102； 备案号：国械备 20151560 号	主要组成成分为含有 0.5% ProClin 300 作为防腐剂的水基洗涤剂，用于检测过程中反应体系的清洗，以便于对待测物质进行

		体外检测。
清洗液 Reaction Buffer Concentrate (10x)	备案人/生产企业名称: Ventana Medical Systems, Inc. 文塔纳医疗系统公司; 货号: 950-300; 备案号: 国械备 20160944 号	主要组成成分为 Tris 缓冲液和防腐剂, 用于检测过程中反应体系的清洗, 以便于对待测物质进行体外检测。
免疫组化抗原修复缓冲液 ULTRA Cell Conditioning Solution, ULTRA CC1)	备案人/生产企业名称: Ventana Medical Systems, Inc. 文塔纳医疗系统公司; 货号: 950-224; 备案号: 国械备 20151060	主要组成成分包括 Tris 缓冲液和防腐剂, 用于免疫组织化学染色前的抗原修复。
苏木素染色液 Hematoxylin II	备案人/生产企业名称: Ventana Medical Systems, Inc. 文塔纳医疗系统公司; 货号: 790-2208; 备案号: 国械备 20150245	主要组成成分为苏木精, 乙二醇和醋酸稳定溶液, 用于对组织细胞切片及涂片中的细胞核染色。
返蓝染色液 Bluing Reagent	备案人/生产企业名称: Ventana Medical Systems, Inc. 文塔纳医疗系统公司; 货号: 760-2037; 备案号: 国械备 20150244	主要组成成分为 25 mL 即用型稀释剂, 内含 0.1M 碳酸锂溶于 0.5M 碳酸钠溶液中, 用于调节苏木素的染色, 从紫色变为蓝色。
试剂填充瓶	生产商: 文塔纳医疗系统公司 Ventana Medical Systems, Inc.;	配套耗材
注册卡	生产商: 文塔纳医疗系统公司 Ventana Medical Systems, Inc.;	配套耗材
载玻片	黏附载玻片	配套耗材
盖玻片	足以覆盖组织	配套耗材
二甲苯	AR 级	辅助试剂
乙醇	AR 级	辅助试剂
试验用水	去离子水或蒸馏水	辅助试剂
光学显微镜	/	阅片
阴、阳性质控片	参见【质量控制】	质量控制

### 【储存条件及有效期】

2~8℃保存，有效期12个月。

开瓶稳定性：每次开瓶使用应不超过6小时，上机次数不超过16次，每次使用后应立即密闭并置于2~8℃保存，禁止冷冻，有效期为12个月。

机载稳定性：每次上机使用应不超过6小时，上机次数不超过16次，每次使用后应立即密闭并置于2~8℃保存，禁止冷冻，有效期为12个月。

生产日期及有效期见标签。

### 【适用仪器】

文塔纳医疗系统公司 Ventana Medical Systems, Inc.，全自动免疫组化染色系统 BenchMark ULTRA Advanced Staining System，型号：BenchMark ULTRA，备案号：国械备20160026号

### 【样本要求】

#### 1、样本准备

建议使用经10%中性福尔马林固定、石蜡包埋（FFPE）的组织样本。新鲜活检或手术切除组织样本离体后应在30分钟内使用10%中性福尔马林固定，固定液量与所浸泡组织的比例应足够。固定时间以6~72小时为宜。参照病理技术规范要求取材、脱水、石蜡包埋并制成石蜡包埋组织样本。

石蜡包埋组织样本应切成厚度为3~5 μm的切片。切片后，组织切片黏附在防脱载玻片上，65±5℃烤片10~60分钟。

#### 2、切片保存

为了防止蛋白丢失，保持抗原活性，一旦将组织黏附在载玻片上制成切片，切片应置于2~8℃、室温（10~30℃）或-20±5℃避光保存。置于2~8℃保存的切片应在2个月内使用；置于室温（10~30℃）保存的切片应在14天内使用；置于-20±5℃保存的切片应在6个月内使用。

应有H&E（苏木精-伊红染色法）染色结果作为对照。

## 【检验方法】

### 1、检测所需仪器、设备和耗材

文塔纳全自动免疫组化染色系统BenchMark ULTRA，试剂填充瓶及注册卡等。

### 2、染色程序

#### 1) 试剂准备

清洗液 EZ Prep Concentrate (10×)：使用蒸馏水或去离子水（试剂级水），按1:10比例稀释清洗液 EZ Prep Concentrate (10×)，配制足量的清洗液 EZ Prep Concentrate (1×) 供清洗步骤使用。

清洗液 Reaction Buffer Concentrate (10×)：使用蒸馏水或去离子水（试剂级水），按1:10比例稀释清洗液 Reaction Buffer Concentrate (10×)，配制足量的清洗液 Reaction Buffer Concentrate (1×) 供清洗步骤使用。

#### 2) 设置染色程序

程序设置过程中，一抗试剂滴加方式分为仪器自动滴加或手工滴加。

仪器自动滴加：先注册试剂填充瓶及注册卡信息，再将本检测试剂灌注到瓶中备用，程序中默认仪器自动滴加。

手工滴加：无需注册试剂填充瓶，设置程序中勾选“Antibody Titration”设置一抗孵育时间，仪器运行至一抗孵育步骤时，每张切片手工滴加100uL一抗试剂。

上机染色程序设置如下：

步骤	试剂	时间	温度
烤片	/	8分钟	60℃
脱蜡	清洗液 EZ Prep Concentrate (1×)	默认	75℃
抗原修复	免疫组化抗原修复缓冲液 (ULTRA Cell Conditioning Solution, ULTRA CC1)	64分钟	95℃
过氧化物酶灭活	OptiView 过氧化物酶抑制剂 (OptiView Peroxidase Inhibitor)	默认	/
一抗孵育	即用型 PD-L1 兔单抗 或同型对照抗体试剂	16分钟	37℃

二抗孵育	OptiView HQ 通用连接剂 (OptiView HQ Universal Linker)	8 分钟	✓
	OptiView HRP 标记的小分子多聚体 (Multimer) (OptiView HRP Multimer)	8 分钟	/
显色	OptiView 双氧水 OptiView H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + OptiView DAB	8 分钟	✓
	OptiView 硫酸铜 (OptiView Copper)	默认	/
苏木素复染	苏木素染色液 (Hematoxylin II)	8 分钟	/
返蓝	返蓝染色液 (Bluing Reagent)	8 分钟	/

### 3) 样本准备

将待检样本切片和质控片置于65±5℃烘箱烤片10~60分钟，取出冷却至室温，10%全脂牛奶浸泡10分钟，自来水冲洗2遍。选择上述染色程序，打印标签，准备上机染色。

### 4) 封片

染色程序结束后取下切片，洗去油膜；经脱水、透明、封片后，镜检观察。切片于室温避光保存。

## 3、质量控制

每一例待检样本均应进行H&E（苏木精-伊红染色法）染色，用于判断样本的组织形态和类型、保存质量和肿瘤细胞数量。每一轮样本检测均应同时设置阴、阳性质控片（质控品）进行质控，用于判断试验的有效性。每一例待检样本均应用同型对照抗体试剂在同一测试条件下进行染色，用于判断待检样本是否存在非特异性染色。

### 3.1. 阳性质控（实验室自备）

评估阳性质控片（已知PD-L1阳性）的PD-L1抗体染色以及同型对照抗体试剂的染色，用于检测固定方法和抗原修复过程是否有效。PD-L1阳性的肿瘤组织、正常扁桃体组织、正常胎盘组织或PD-L1阳性细胞系（如：ES-2、NCI-H596或NCI-H226等）等样本均可作为本试剂的阳性质控片。

即用型PD-L1兔单抗在阳性质控品的肿瘤细胞、扁桃体生发中心的免疫细胞和隐

窝上皮细胞、胎盘滋养层细胞或ES-2、NCI-H596、NCI-H226细胞上应呈棕褐色细胞膜和/或细胞质染色信号。阴性对照试剂在阳性质控品中应不见任何目标染色信号。

如果阳性质控片染色不符合要求，则试验样本的检测结果应视为无效。

### 3.2. 阴性质控（实验室自备）

评估阴性质控品（已知PD-L1阴性）的PD-L1抗体染色以及同型对照抗体试剂的染色，以验证抗原抗体结合的特异性。PD-L1阴性的肿瘤组织、胃组织（腺上皮细胞）或PD-L1阴性细胞系（如：K562或KM12等）等样本均可作为本试剂的阴性质控片。

即用型PD-L1兔单抗和同型对照试剂在阴性质控片中应不见目标染色信号。如果阴性质控片染色不符合要求，则试验样本的检测结果应视为无效。

### 3.3. 同型对照试剂质控

同型对照试剂质控用于替代即用型PD-L1兔单抗试剂对待检样本进行同步染色，用于判断待检样本是否存在非特异性染色，同型对照抗体试剂的染色结果应均为阴性，无任何目标染色。如果同型对照抗体试剂染色结果为阳性或大量背景着色，则试验样本的检测结果应视为无效。

## 4. 结果判读程序

病理医生应在光学显微镜下评估切片。建议先在4倍镜下对完整的样本进行初步评估，随后在10倍和20倍镜下进行评分，最后在40倍镜下进行染色信号定位确认。对于本试剂盒的详细判读指南，可参考试剂盒判读手册。

### 4.1. 评估样本H&E

首先应对待检样本进行H&E染色评估，用于判断待检样本组织形态和质量，待检样本应不少于100个活肿瘤细胞，才能认为待检样本可以进行PD-L1表达情况的评估。

### 4.2. 评估阳性质控片

评估阳性质控片的PD-L1抗体染色以及同型对照抗体试剂染色情况。阳性质控片的判读结果应与预期一致。

### 4.3. 评估阴性质控片

评估阴性组织质控片的PD-L1抗体染色以及同型对照抗体试剂染色。阴性质控片

的判读结果应与预期一致。

#### 4.4. 评估同型对照试剂染色的待检样本

评估PD-L1 (JS311) 抗体试剂 (免疫组织化学法) 内的同型对照抗体试剂染色的待检样本, 以判断染色的特异性, 判读结果应不见目标染色信号。

#### 4.5. 评估一抗试剂染色的待检样本

最后评估PD-L1 (JS311) 抗体试剂 (免疫组织化学法) 中的即用型PD-L1兔单抗试剂染色的整张待检样本切片, 判定待检样本中PD-L1的表达情况。

#### 【阳性判断值】

计算PD-L1综合阳性评分 (Combined Positive Score, CPS), 即PD-L1阳性染色细胞数 (包括细胞膜染色的肿瘤细胞、细胞质和/或细胞膜染色的肿瘤相关免疫细胞) 占有所有肿瘤相关区域中的所有肿瘤细胞和免疫细胞总数的比例乘以100, 其中肿瘤相关免疫细胞仅包括淋巴细胞, 巨噬细胞, 树突状细胞和粒细胞。

计算公式如下:

$$CPS = \frac{PD-L1 \text{ 阳性染色细胞总数 (肿瘤细胞, 淋巴细胞, 巨噬细胞, 树突状细胞, 粒细胞)}}{\text{肿瘤相关区域中的所有肿瘤细胞和免疫细胞的总细胞数}} \times 100$$

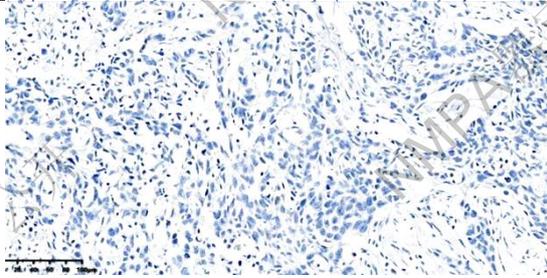
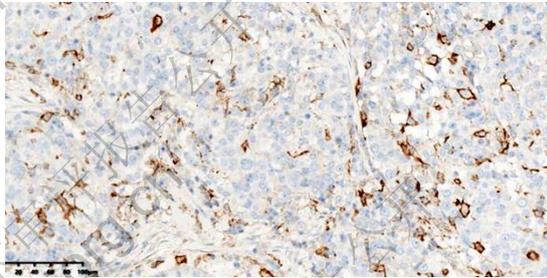
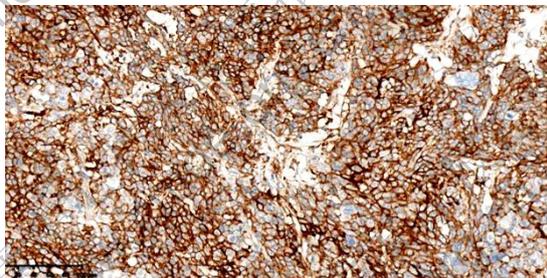
PD-L1在三阴性乳腺癌组织中的阴、阳性染色评分标准如下:

检测结果	评分标准
PD-L1 表达阳性	CPS≥1 判定为 PD-L1 表达阳性
PD-L1 表达阴性	CPS<1 判定为 PD-L1 表达阴性

#### 【检测结果的解释】

- 1、免疫组化染色结果建立在阴、阳性质控片 (质控品)、同型对照抗体试剂检测符合要求的基础上。根据染色情况对阳性染色结果进行评估。
- 2、出现假阴性的原因, 可能是试剂失效或抗原修复、孵育时间、温度等染色程序错误所致; 亦或样本保存时间过长, 抗原降解或变性所致。
- 3、出现假阳性的结果可能由于试剂与组织样本非特异性结合所致, 如红细胞和细胞色素C等也可造成非特异性染色。

4、利用本即用型PD-L1兔单抗进行免疫组织化学法检测三阴性乳腺癌组织样本，其染色说明及参考图片如下：

检测结果	PD-L1 表达情况	参考图片
阴性 (-) 无表达	CPS < 1	
阳性 (+) 低表达	1 ≤ CPS < 10	
阳性 (+) 高表达	CPS ≥ 10	

#### 【检测方法的局限性】

- 1、免疫组织化学法染色是一种需通过多个操作步骤完成的检测过程。试剂的选择和组织的选择、取材、固定、处理、切片的制备和染色结果的解释需要进行专门的培训。不恰当的上述步骤，都可能影响染色效果。
- 2、组织染色情况取决于染色前组织的操作和处理。不恰当的固定、冷冻、解冻、洗涤、干燥、烤片、切片，或其它组织或液体的污染，都可能产生干扰或假阴性结果等情况。

- 3、 阴性结果表示未检出抗原，不一定表示样本中无该抗原存在。待测抗原编码基因变异、抗原低表达或抗原修复不当等，都会造成抗原无法检出。
- 4、 本试剂盒已针对文塔纳的全自动免疫组化染色系统BenchMark ULTRA及配套的免疫显色试剂进行了优化，但用户使用该试剂盒前，须验证其使用效果。
- 5、 本试剂盒提供的试剂和操作说明已经过优化。进一步稀释试剂或改变染色方案等可能导致错误或不一致的结果。
- 6、 不当的保存条件可能会造成组织中抗原降解而导致假阴性结果，请根据推荐的组织切片保存条件进行储存，并在建议的时间内完成对切片的染色。
- 7、 本试剂盒仅对10%中性福尔马林固定、石蜡包埋（FFPE）的组织进行了验证，在非10%中性福尔马林固定的组织上的使用情况，尚未经过确认。

### 【产品性能指标】

#### 1、非临床评价指标

##### 1.1. 免疫反应性

免疫反应性中考察了本试剂对30种正常人组织及26种非正常人组织的免疫反应性。在检测的细胞类型或者组织类型中没有观察到超出预期的结果，对于正常组织/非正常组织中的PD-L1免疫组化表达，观察到的染色与文献报道一致。结果总结见下表：

表 1：30 种正常人组织 PD-L1 免疫反应检测结果

组织类型（检测数量）	着色位置和染色特点		
	阳性细胞膜染色： 组织成分	阳性细胞质染色： 组织成分	非特异性染色
大脑（3）	0/3	0/3	0/3
小脑（3）	0/3	0/3	0/3
肾上腺（3）	0/3	0/3	0/3
卵巢（3）	0/3	0/3	0/3
胰腺（3）	1/3 淋巴细胞	0/3	0/3
甲状腺（3）	0/3	0/3	0/3
甲状旁腺（3）	0/3	0/3	0/3
睾丸（3）	1/3 支持细胞 1/3 精原细胞	0/3	0/3

乳腺 (3)	1/3 淋巴细胞	1/3 淋巴细胞	0/3
脾 (3)	3/3 巨噬细胞	3/3 巨噬细胞	0/3
扁桃体 (3)	3/3 隐窝上皮 3/3 生发中心	3/3 隐窝上皮 3/3 生发中心	0/3
胸腺 (3)	3/3 胸腺细胞	3/3 胸腺上皮细胞	0/3
骨髓 (3)	3/3 淋巴细胞	3/3 淋巴细胞	0/3
肺 (3)	3/3 肺泡巨噬细胞	3/3 淋巴细胞	0/3
心脏 (3)	0/3	0/3	0/3
食管 (3)	0/3	0/3	0/3
胃 (3)	1/3 腺上皮细胞 1/3 淋巴细胞	2/3 腺上皮细胞 1/3 淋巴细胞	0/3
小肠 (3)	2/3 淋巴细胞	2/3 淋巴细胞	0/3
结直肠 (3)	3/3 淋巴细胞 2/3 上皮组织	3/3 淋巴细胞	0/3
肝脏 (3)	0/3	2/3 淋巴细胞	0/3
唾液腺 (3)	0/3	0/3	0/3
肾 (3)	1/3 间质淋巴细胞	1/3 间质淋巴细胞	0/3
前列腺 (3)	2/3 淋巴细胞 2/3 上皮组织	0/3	0/3
子宫 (3)	0/3	0/3	0/3
膀胱 (3)	2/3 血管内皮细胞 1/3 淋巴细胞	1/3 淋巴细胞	0/3
结肠 (3)	3/3 淋巴细胞	3/3 淋巴细胞	0/3
皮肤 (3)	0/3	0/3	0/3
外周神经 (3)	3/3 神经节	0/3	0/3
间皮 (3)	0/3	0/3	0/3
阑尾 (3)	上皮组织 2/3 淋巴细胞 3/3	上皮组织 2/3 淋巴细胞 3/3	0/3

表 2: 26 种非正常人组织 PD-L1 免疫反应检测结果

组织类型 (检测数量)	着色位置和染色特点		
	阳性细胞膜染色: 组织成分	阳性细胞质染色: 组织成分	非特异性染色
宫颈鳞癌 (3)	1/3 纤维间质	1/3 纤维间质	0/3
	2/3 淋巴细胞	2/3 淋巴细胞	
	2/3 肿瘤细胞	2/3 肿瘤细胞	
前列腺增生 (3)	2/3 腺体细胞	3/3 腺体细胞	0/3
乳腺纤维腺瘤 (3)	1/3 血管内皮细胞	1/3 血管内皮细胞	0/3

	1/3 腺体细胞	1/3 腺体细胞	
	/	1/3 血管	
胰岛细胞瘤 (3)	1/3 肿瘤细胞	1/3 肿瘤细胞	0/3
黑色素瘤 (3)	3/3 淋巴细胞	3/3 淋巴细胞	0/3
	3/3 肿瘤细胞	3/3 肿瘤细胞	
	1/3 吞噬细胞	1/3 吞噬细胞	
	2/3 间质纤维母细胞	2/3 间质纤维母细胞	
	1/3 血管内皮细胞	1/3 血管内皮细胞	
淋巴瘤 (6)	1/6 滤泡树突状细胞	1/6 滤泡树突状细胞	0/6
	6/6 淋巴细胞	6/6 淋巴细胞	
	1/6 巨噬细胞	1/6 巨噬细胞	
	1/6 血管内皮细胞	1/6 血管内皮细胞	
	4/6 吞噬细胞	4/6 吞噬细胞	
	2/6 淋巴窦	2/6 淋巴窦	
卵巢癌 (7)	3/7 吞噬细胞	3/7 吞噬细胞	0/7
	4/7 肿瘤细胞	4/7 肿瘤细胞	
	2/7 纤维脉管束	2/7 纤维脉管束	
	1/7 淋巴细胞	1/7 淋巴细胞	
胃腺癌 (3)	1/3 纤维脉管束	1/3 纤维脉管束	0/3
	2/3 吞噬细胞	2/3 吞噬细胞	
	2/3 肿瘤细胞	2/3 肿瘤细胞	
	2/3 淋巴细胞	2/3 淋巴细胞	
肺腺癌 (3)	3/3 吞噬细胞	3/3 吞噬细胞	0/3
	2/3 肿瘤细胞	2/3 肿瘤细胞	
	3/3 淋巴细胞	3/3 淋巴细胞	
结肠癌 (3)	2/3 吞噬细胞	2/3 吞噬细胞	0/3
	2/3 肿瘤细胞	2/3 肿瘤细胞	
	3/3 淋巴细胞	3/3 淋巴细胞	
	1/3 空腔间隙	1/3 空腔间隙	
	1/3 血管内皮细胞	1/3 血管内皮细胞	
食管癌 (5)	4/5 吞噬细胞	4/5 吞噬细胞	0/5
	2/5 血管内皮细胞	2/5 血管内皮细胞	
	4/5 淋巴细胞	4/5 淋巴细胞	

	3/5 肿瘤细胞	3/5 肿瘤细胞	
肝细胞癌 (3)	3/3 淋巴细胞	3/3 淋巴细胞	0/3
	1/3 肿瘤细胞	1/3 肿瘤细胞	
	3/3 吞噬细胞	3/3 吞噬细胞	
肾透明细胞癌 (3)	1/3 血管内皮细胞	1/3 血管内皮细胞	0/3
	1/3 纤维脉管束	1/3 纤维脉管束	
	/	1/3 肿瘤细胞	
子宫内膜癌 (3)	1/3 巨噬细胞	1/3 巨噬细胞	0/3
	2/3 纤维母细胞	2/3 纤维母细胞	
	2/3 肿瘤细胞	2/3 肿瘤细胞	
	1/3 血管	1/3 血管	
乳腺浸润性导管癌 (3)	2/3 淋巴细胞	2/3 淋巴细胞	0/3
	2/3 纤维脉管束	2/3 纤维脉管束	
	1/3 肿瘤细胞	1/3 肿瘤细胞	
膀胱癌 (6)	3/6 纤维及纤维母细胞	3/6 纤维及纤维母细胞	0/6
	3/6 肿瘤细胞	3/6 肿瘤细胞	
	2/6 吞噬细胞	2/6 吞噬细胞	
	2/6 淋巴细胞	2/6 淋巴细胞	
肺鳞癌 (3)	3/3 肿瘤细胞	3/3 肿瘤细胞	0/3
	1/3 纤维间质	1/3 纤维间质	
	2/3 血管	2/3 血管	
	3/3 淋巴细胞	3/3 淋巴细胞	
	1/3 吞噬细胞	1/3 吞噬细胞	
胰腺导管癌 (3)	1/3 纤维脉管束	1/3 纤维脉管束	0/3
	1/3 肿瘤细胞	1/3 肿瘤细胞	
	1/3 淋巴细胞	1/3 淋巴细胞	
	2/3 吞噬细胞	2/3 吞噬细胞	
尿路上皮癌 (6)	1/6 纤维脉管束	1/6 纤维脉管束	0/6
	3/6 肿瘤细胞	3/6 肿瘤细胞	
	2/6 淋巴细胞	2/6 淋巴细胞	
横纹肌肉瘤 (3)	0/3	0/3	0/3
前列腺癌 (5)	2/5 腺体细胞	2/5 腺体细胞	0/5
平滑肌瘤 (3)	0/3	0/3	0/3
贲门癌 (3)	3/3 肿瘤细胞	3/3 肿瘤细胞	0/3
	3/3 淋巴细胞	3/3 淋巴细胞	
	2/3 纤维脉管束	2/3 纤维脉管束	
	1/3 吞噬细胞	1/3 吞噬细胞	

胶质瘤 (3)	0/3	0/3	0/3
肉瘤 (3)	1/3 肿瘤细胞	2/3 肿瘤细胞	0/3
肾癌 (3)	1/3 淋巴细胞	1/3 淋巴细胞	0/3
	1/3 肿瘤细胞	1/3 肿瘤细胞	
	2/3 纤维血管束	2/3 纤维血管束	

### 1.2 分析灵敏度

采用本产品对103例三阴性乳腺癌 (TNBC) 组织样本进行检测, 结果显示其PD-L1综合阳性评分 (Combined Positive Score, CPS) 在0~100。以CPS $\geq$ 1作为阳性判断值, 申报试剂PD-L1 (JS311) 抗体试剂 (免疫组织化学法) 的PD-L1蛋白阳性表达率为51.46% (53/103)。本产品在8例CPS=1的三阴性乳腺癌样本中进行灵敏度评价, 研究结果显示, 所有样本均能准确检出, 与预期结果一致。

### 1.3 特异性

采用本产品对不同PD-L1表达水平的细胞系进行特异性研究, 研究结果表明本产品的检测结果与细胞系的PD-L1蛋白表达水平一致。

采用本产品对制备的包含人PD-L1和PD-L2蛋白的细胞裂解液进行免疫印迹分析 (Western Blot analysis, WB)。研究结果表明本产品能特异性识别PD-L1蛋白, 不识别PD-L2蛋白。证明PD-L1单克隆抗体 (克隆号, JS311) 对人PD-L1蛋白具有特异性, 与PD-L2蛋白无交叉反应性。

采用本产品分别在无肽、无关的非特异性肽、以及包含抗体结合表位的不同浓度的特异性肽的条件下孵育同一批抗体, 结果显示本产品能够被含抗体结合表位的特异性肽抑制, 无肽和无关的非特异性肽均能正常染色, 研究结果表明本产品能够特异性识别PD-L1蛋白。

### 1.4 精密度

采用本产品对实验室内部精密度研究 (批间精密度、批内精密度、同一轮内精密度、日内精密度、日间精密度、检测人员间精密度); 阅片一致性研究 (不同阅片者之间、不同阅片时间之间); 外部重复性研究 (不同阅片者之间、不同实验室之间、实验室内非连续日间), 对检测结果进行配对比较, 确定阳性一致率 (PPA)、阴性一致率 (NPA) 和总体一致率 (OA), 采用Wilson评分方法计算双侧95%置信区间。

1) 实验室内部重复性研究总结，见下表：

精密度	研究设计	一致率
批内精密度	采用 1 个批次的试剂对 20 例 PD-L1 表达程度不同的三阴性乳腺癌样本在 BenchMark ULTRA 上进行 IHC 检测，每例样本重复检测 3 次，每次的检测方法与共识标准结果进行比较，共计进行了 60 次独立成对比较结果。	NPA: 100.00% (88.43%-100.00%) PPA: 100.00% (88.43%-100.00%) OA: 100.00% (94.04%-100.00%)
批间精密度	采用 3 个不同批次的试剂对 20 例 PD-L1 表达程度不同的三阴性乳腺癌样本在 BenchMark ULTRA 上进行 IHC 检测，每次的检测方法与共识标准结果进行比较，共计进行了 60 次独立比较结果。	NPA: 100.00% (88.43%-100.00%) PPA: 100.00% (88.43%-100.00%) OA: 100.00% (94.04%-100.00%)
同一轮内精密度	采用 1 个批次的试剂对 20 例 PD-L1 表达程度不同的三阴性乳腺癌样本在 BenchMark ULTRA 上进行 IHC 检测，每例样本重复检测 6 次，每次的检测方法与共识标准结果进行比较，共计进行了 120 次独立比较结果。	NPA: 100.00% (94.04%-100.00%) PPA: 100.00% (94.04%-100.00%) OA: 100.00% (96.97%-100.00%)
日内精密度	采用 1 个批次的试剂分别在 BenchMark ULTRA 上一天内 2 个不同时间点对 20 例 PD-L1 表达程度不同的三阴性乳腺癌样本进行 IHC 检测，每次的检测方法与共识标准结果进行比较。共计进行了 120 次独立比	NPA: 100.00% (94.04%-100.00%) PPA: 100.00% (94.04%-100.00%) OA: 100.00% (96.97%-100.00%)

	较结果。	
人员间精密度	5 名实验人员，采用 3 个批次的试剂对 20 例 PD-L1 表达程度不同的三阴性乳腺癌样本在 BenchMark ULTRA 上进行 IHC 检测，每次的检测结果与共识标准结果进行比较，共计进行了 300 次独立比较结果。	NPA: 98.00% (94.27%-99.79%) PPA: 100.00% (97.51%-100.00%) OA: 99.00% (97.11%-99.79%)
日间精密度	在非连续的 5 天内，采用 3 个批次的试剂对 20 例 PD-L1 表达程度不同的三阴性乳腺癌样本在 BenchMark ULTRA 上进行 1 次 IHC 检测，每次的检测结果与共识标准结果进行比较，共计进行了 300 次独立比较结果。	NPA: 98.00% (94.27%-99.79%) PPA: 100.00% (97.51%-100.00%) OA: 99.00% (97.11%-99.79%)
批内精密度	采用 1 个批次的试剂对 20 例 PD-L1 表达程度不同的三阴性乳腺癌样本在 BenchMark ULTRA 上进行 IHC 检测，每例样本重复检测 3 次，每次的检测结果与共识标准结果进行比较，共计进行了 60 次独立成对比较结果。	NPA: 100.00% (88.43%-100.00%) PPA: 100.00% (88.43%-100.00%) OA: 100.00% (94.04%-100.00%)

2) 阅片一致性研究总结见下表:

精密度	研究设计	一致率
不同阅片者之间	由 3 名不同的阅片者对 50 例 PD-L1 表达程度不同的三阴性乳腺癌样本进行 1 次比较，共计进行了 150 次独立成对比较结果。	NPA: 94.74% (85.63%-98.19%) PPA: 100.00% (96.11%-100.00%) OA: 98.00% (94.29%-99.32%)
不同阅片时间之	由 3 名不同的阅片者在 3 个不同时间	NPA: 94.15% (89.57%-96.79%)

间	点对 50 例 PD-L1 表达程度不同的三阴性乳腺癌样本进行 1 次比较, 共计进行了 450 次独立成对比较结果。	PPA: 98.57% (96.37%-99.61%) OA: 96.89% (94.85%-98.14%)
---	---	---

3) 外部重复性研究总结见下表:

精密度	研究设计	一致率
不同阅片者之间	采用 1 个批次的试剂在 BenchMark ULTRA 上对 25 例 PD-L1 表达程度不同的三阴性乳腺癌样本在非连续的五天进行 IHC 检测, 测试完成后由每个场所的两名病理医生在非连续的五天分别进行独立判读, 比较每个场所内两位医师判读一致性。	NPA: 96.30% (90.86%-98.55%) PPA: 98.13% (95.69%-99.20%) OA: 97.60% (95.50%-99.20%)
不同实验室之间	采用 1 个批次的试剂在 BenchMark ULTRA 上对 25 例 PD-L1 表达程度不同的三阴性乳腺癌样本在非连续的五天进行 IHC 检测, 测试完成后由每个场所的两名病理医生在非连续的五天分别进行独立判读, 比较每个场所判读一致性。	NPA: 95.85% (92.31%-97.80%) PPA: 98.31% (96.80%-99.11%) OA: 97.60% (96.24%-98.48%)
实验室内非连续日间	采用 1 个批次的试剂在 BenchMark ULTRA 上对 25 例 PD-L1 表达程度不同的三阴性乳腺癌样本在非连续的五天进行 IHC 检测, 测试完成后由每个场所的两名病理医生在非连续的五天分别进行独立判读, 比较每个场所五天的测试的一致性。	NPA: 96.31% (92.90%-98.12%) PPA: 98.50% (97.07%-99.24%) OA: 97.87% (96.56%-98.68%)

## 2. 临床评价结果

申请人在3家临床机构完成了本产品的临床检测性能研究，包括环比试验和阅片一致性评价试验。环比试验入组样本120例，结果显示：与参考结果比较，总一致率95.7%，两两比对研究平均总一致率91.4%；阅片一致性评价试验入组样本180例，结果显示：与参考结果比较，机构内同一病理医师阅片重复性总一致率98.3%，不同临床试验机构间阅片总一致率95.7%，机构内不同病理医师阅片重复性总一致率为97.8%。两两比对研究显示，机构内同一病理医师阅片重复性平均总一致率96.7%，机构内不同病理医师阅片重复性平均总一致率为95.6%，不同临床试验机构间阅片总一致率91.4%。

本产品的伴随诊断意义通过同步开发的药物临床试验进行确认，本产品作为药物临床试验（JS001-026-III-TNBC）入组人群的筛选试剂。本研究共入组531例患者，其中本产品检测的PD-L1阳性人群（CPS $\geq$ 1）入组300例，特瑞普利单抗联合化疗组200例，安慰剂联合化疗组100例。结果显示，特瑞普利单抗联合化疗对比安慰剂联合化疗显著延长PD-L1阳性人群的PFS，降低疾病进展或死亡风险34.7%（HR=0.653；95%CI: 0.470, 0.906），P=0.0102。此外，对于PD-L1阳性人群，特瑞普利单抗联合化疗相较于安慰剂联合化疗的OS获益，HR=0.615（95%CI: 0.414, 0.914），P=0.0148。

### 【注意事项】

- 1、本品仅用于体外诊断，不用于其它用途。
- 2、本品由接受专业培训的人员进行实验操作和检测结果的判读。
- 3、兔抗人PD-L1单克隆抗体(JS311)和试剂中的蛋白保护剂均来自生物或医学资源，对其处理应符合相关要求。
- 4、应用适当的防护措施，以避免试剂同皮肤和眼睛接触。
- 5、不得使用其它生产商产品来代替本试剂进行免疫组织化学法染色试验。
- 6、采取单支试剂即拿即用的原则，其余组分在2~8℃的冰箱保存。单支试剂在每次使用后，应立即放回冰箱中。

### 【标识的解释】

 : 向上	 : 易碎, 小心轻放	 : 保持干燥	 : 生产日期
 : 有效期至	<b>LOT</b> : 生产批号	 : 在 2~8℃ 条件下保存	

### 【参考文献】

- 1、 Freeman GJ. Engagement of the PD-1 immunoinhibitory receptor by a novel B7 family member leads to negative regulation of lymphocyte activation. J Exp Med. 2000 Oct 2;192(7):1027-34.
- 2、 Dong H. B7-H1, a third member of the B7 family, co-stimulates T-cell proliferation and interleukin-10 secretion. Nat Med. 1999 Dec;5(12):1365-9.
- 3、 Pardoll DM. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. Nat Rev Cancer. 2012 Mar 22;12(4):252-64.
- 4、 Lola Fashoyin-Aje. FDA Approval Summary: Pembrolizumab for Recurrent Locally Advanced or Metastatic Gastric or Gastroesophageal Junction Adenocarcinoma Expressing PD-L1. The Oncologist. 2019 Jan;24(1):103-109.
- 5、 中华医学会. 临床技术操作规范: 病理学分册. 人民军医出版社. 2004-04.
- 6、 Bixia Tang. Safety and clinical activity with an anti-PD-1 antibody JS001 in advanced melanoma or urologic cancer patients. Journal of Hematology & Oncology. 2019 Jan 14;12(1):7.
- 7、 Cunningham D. Perioperative chemotherapy versus surgery alone for resectable gastroesophageal cancer. N Engl J Med. 2006 Jul 6;355(1):11-20.
- 8、 Yung-Jue Bang. Pembrolizumab alone or in combination with chemotherapy as first-line therapy for patients with advanced gastric or gastroesophageal junction adenocarcinoma: results from the phase II nonrandomized KEYNOTE-059 study. Gastric Cancer. 2019 Jul;22(4):828-837.
- 9、 P. Schmid. Atezolizumab and Nab-Paclitaxel in Advanced Triple-Negative Breast Cancer. N Engl J Med. 2018 Nov 29;379(22):2108-2121.

**【基本信息】**

注册人/生产企业名称：迈杰转化医学研究（苏州）有限公司

住所：苏州工业园区星湖街218号生物纳米园B5楼901室

联系方式：

售后服务单位名称：

生产地址：苏州工业园区星湖街218号生物纳米园B5楼801单元、901单元

联系方式：

生产许可证编号：

**【医疗器械注册证编号/产品技术要求编号】**

**【说明书核准日期及修改日期】**