

受理号：CSZ2200100

体外诊断试剂产品注册技术审评报告

产品中文名称：PD-L1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：苏州药明泽康生物科技有限公司

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	14
四、 产品受益风险判定	16
综合评价意见	19

基本信息

一、申请人名称

苏州药明泽康生物科技有限公司

二、申请人住所

中国（江苏）自由贸易试验区苏州片区苏州工业园区桑田街218号生物医药产业园30号楼

三、生产地址

苏州市吴中区越溪街道吴中大道1336号7幢房屋1层、3层；
中国（江苏）自由贸易试验区苏州片区苏州工业园区桑田街218号生物医药产业园30号楼

技术审评概述

一、产品概述

(一) 产品主要组成成分

PD-L1抗体试剂,空白对照抗体试剂,具体内容详见说明书。

(二) 产品预期用途

本产品用于体外定性检测中性福尔马林固定、石蜡包埋 (FFPE) 的宫颈癌组织中的程序性死亡配体-1 (以下简称PD-L1) 蛋白表达水平,用于既往接受含铂化疗治疗失败的复发或转移性且PD-L1表达阳性 (CPS \geq 1) 的宫颈癌患者使用赛帕利单抗注射液 (重组全人源抗PD-1单克隆抗体) 治疗的伴随诊断。

(三) 产品包装规格

50 测试/盒。

(四) 产品检验原理

本产品利用免疫学抗原抗体分子由于结构的互补和彼此亲和性所发生特异性结合原理,并通过氧化还原化学反应使标记抗体的酶显色剂显色来确定组织细胞内抗原,对其进行定位、定性。首先是(鼠抗人)PD-L1单克隆抗体特异性结合组织切片中的PD-L1抗原,然后加入含有标记辣根过氧化物酶的二抗系统,最后加入DAB显色液,辣根过氧化物酶可以催化DAB显色

液中的 H_2O_2 分解，使联苯胺氧化变成联苯亚胺，组织切片中抗原位点上则出现黄色至深棕色不等的着色。对样本进行苏木素核复染和封片，通过显微镜观察显色情况，判断组织切片上PD-L1抗原的存在位点和表达情况。

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PD-L1单克隆抗体、空白对照抗体等。PD-L1单克隆抗体为鼠源单克隆抗体，空白对照抗体为鼠IgG1。

主要原材料均为外购。申请人制定了各主要原材料质量标准并经检验合格。

2. 企业参考品和质控品设置情况

企业参考品均采用临床样本制备而成，扁桃体、胎盘作为阴阳性参考品，PD-L1表达阳性（ $CPS \geq 1$ ）的宫颈癌样本作为阳性参考品，PD-L1表达阳性（ $CPS = 1$ ）的宫颈癌样本作为灵敏度参考品，PD-L1表达阴性（ $CPS \leq 1$ ）的宫颈癌样本作为阴性参考品。

本产品于说明书中推荐了质量控制方案，同时提供了空白对照抗体。

(二) 生产工艺及反应体系研究

申请人通过企业参考品检验等功能性试验确定最佳的生产工艺及反应体系，包括：PD-L1单克隆抗体工作浓度和空白对照抗体工作浓度；同时通过临床样本对反应体系中的样本切片厚度、脱蜡与水化和脱水透明方法、抗原修复试剂、抗原修复方式和时间、阻断剂和阻断时间、一抗孵育时间和温度、二抗系统、DAB显色时间、苏木素孵育、封闭液的选择等条件进行筛选和优化，通过参数测试的可行性研究，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、灵敏度和分析特异性、精密度和外部重复性。

1. 免疫反应性研究

在正常组织免疫反应性评估中，申请人检测了34种正常人体组织的免疫反应性。此试剂盒在检测的细胞类型或组织类型中均没有观察到超出预期的结果，对于所有正常组织中PD-L1免疫组化表达，观察到的染色与文献报道一致。

34种正常人组织的免疫反应性总结如下表1所示。

表1 正常人组织免疫反应性总结表

组织类型	检测数量	阳性膜染色： 组织成分	阳性胞质染色： 组织成分	非特异性染色
------	------	----------------	-----------------	--------

大脑	7	0/7	0/7	0/7
小脑	3	0/3	0/3	0/3
肾上腺	4	0/4	0/4	0/4
卵巢	4	1/4 巨噬细胞 1/4 淋巴细胞	1/4 淋巴细胞	0/4
胰腺	5	0/5	0/5	0/5
甲状旁腺	3	0/3	0/3	0/3
淋巴结	5	3/5 巨噬细胞 4/5 淋巴细胞	3/5 巨噬细胞 4/5 淋巴细胞 1/5 网状细胞	0/5
垂体	3	0/3	0/3	0/3
睾丸	3	0/3	0/3	0/3
甲状腺	5	0/5	0/5	0/5
乳腺	6	0/6	0/6	0/6
脾脏	3	0/3	0/3	0/3
扁桃体	3	2/3 隐窝鳞状上皮细胞 2/3 巨噬细胞	0/3	0/3
胸腺	5	3/5 巨噬细胞 3/5 淋巴细胞	3/5 淋巴细胞	0/5
骨髓	3	0/3	0/3	0/3
肺	8	0/8	0/8	0/8
喉	3	0/3	0/3	0/3
心肌	3	0/3	0/3	0/3
食道	6	0/6	0/6	0/6
胃	6	0/6	2/6 腺上皮	0/6
小肠	6	0/6	2/6 淋巴细胞	0/6
结直肠	7	0/7	0/7	0/7
肝脏	5	0/5	0/5	0/5
涎腺	3	0/3	0/3	0/3
肾	5	0/5	0/5	0/5
前列腺	4	0/4	0/4	0/4
子宫体	5	0/5	0/5	0/5
子宫颈	3	0/3	0/3	0/3
膀胱组织	5	3/5 巨噬细胞 3/5 淋巴细胞	3/5 巨噬细胞 3/5 淋巴细胞	0/5
骨骼肌	4	0/4	0/4	0/4
皮肤	3	0/3	0/3	0/3
外周神经	3	0/3	0/3	0/3
间皮	3	0/3	0/3	0/3

眼	3	0/3	0/3	0/3
---	---	-----	-----	-----

在非正常人体组织免疫反应性评估中：申请人检测了32种非正常人体组织的免疫反应性。此试剂盒在检测的细胞类型或组织类型中均没有观察到超出预期的结果，对于所有非正常组织中PD-L1免疫组化表达，观察到的染色与文献报道一致。

32种非正常人组织的免疫反应性总结如下表2所示。

表2 非正常人组织免疫反应性总结表

组织类型		检测数量	阳性膜染色： 组织成分	阳性胞质染色： 组织成分	非特异性染色
脑	神经胶质瘤	7	1/7 肿瘤细胞	1/7 肿瘤细胞	0/7
肾上腺	肾上腺癌	4	0/4	0/4	0/4
卵巢	卵巢浆液性癌	4	2/4 巨噬细胞 1/4 肿瘤细胞	2/4 淋巴细胞	0/4
胰腺	胰腺腺癌	3	0/3	0/3	0/13
	胰腺内分泌癌	3	2/3 肿瘤细胞 2/3 巨噬细胞 2/3 淋巴细胞	2/3 淋巴细胞 1/3 胰岛细胞	
	胰腺导管癌	4	1/4 肿瘤细胞	2/4 淋巴细胞	
	胰岛素瘤	3	0/3	1/3 肿瘤细胞	
睾丸	胚胎性横纹肌肉瘤	3	0/3	1/3 淋巴细胞	0/9
	胚胎性癌	3	3/3 淋巴细胞 3/3 巨噬细胞	3/3 淋巴细胞 1/3 巨噬细胞	
	精原细胞瘤	3	3/3 肿瘤细胞 3/3 淋巴细胞 3/3 巨噬细胞	3/3 淋巴细胞	
甲状腺	甲状腺癌	5	0/5	0/5	0/5
乳腺	乳腺导管癌	4	0/4	0/4	0/10
	乳腺非导管癌	3	2/3 肿瘤细胞 2/3 巨噬细胞	2/3 淋巴细胞	

			1/3 淋巴细胞		
	乳腺纤维腺瘤	3	0/3	0/3	
脾脏	淋巴瘤	3	3/3 肿瘤细胞 2/3 巨噬细胞 1/3 淋巴细胞	2/3 淋巴细胞	0/6
	血管肉瘤	3	2/3 巨噬细胞	2/3 肿瘤细胞 1/3 血管内皮细胞	
淋巴结	淋巴瘤	5	3/5 肿瘤细胞 1/5 淋巴细胞 2/5 巨噬细胞	1/5 巨噬细胞 3/5 淋巴细胞	0/5
胸腺	胸腺癌	5	2/5 肿瘤细胞	1/5 肿瘤细胞 1/5 巨噬细胞 3/5 淋巴细胞	0/5
肺	肺鳞癌	3	2/3 肿瘤细胞 1/3 巨噬细胞	1/3 淋巴细胞	0/10
	肺腺癌	4	0/4	1/4 肿瘤细胞 1/4 淋巴细胞 1/4 纤维细胞	
	小细胞肺癌	3	2/3 巨噬细胞 1/3 肿瘤细胞 1/3 淋巴细胞	2/3 淋巴细胞	
食管	食管鳞癌	5	2/5 肿瘤细胞 2/5 巨噬细胞 2/5 淋巴细胞	2/5 淋巴细胞 1/5 纤维细胞 1/5 中性粒细胞	0/8
	食道黏液腺癌	3	0/3	0/3	
胃	胃腺癌	6	1/6 肿瘤细胞 1/6 巨噬细胞	3/6 淋巴细胞	0/6
小肠	小肠腺癌	6	2/6 淋巴细胞 2/6 巨噬细胞	2/6 淋巴细胞 1/6 巨噬细胞	0/12
	小肠 GIST	3	2/3 肿瘤细胞 2/3 淋巴细胞 1/3 巨噬细胞	2/3 淋巴细胞	
	小肠神经内分泌癌	3	2/3 淋巴细胞 1/3 肿瘤细胞 1/3 巨噬细胞	2/3 淋巴细胞	
结直肠	结直肠腺癌	7	1/7 巨噬细胞 1/7 肿瘤细胞	1/7 淋巴细胞	0/7
肝脏	肝细胞肝癌	4	0/4	1/4 淋巴细胞	0/7
	肝内胆管癌	3	1/3 肿瘤细胞	2/3 淋巴细胞	

			1/3 巨噬细胞		
口腔	鳞状细胞癌	3	1/3 肿瘤细胞 1/3 巨噬细胞	1/3 肿瘤细胞 1/3 淋巴细胞	0/9
	腺癌	3	1/3 巨噬细胞	1/3 淋巴细胞	
	舌鳞癌	3	2/3 肿瘤细胞 1/3 淋巴细胞 1/3 巨噬细胞	2/3 淋巴细胞	
胆囊	胆囊腺癌	3	0/3	1/3 淋巴细胞	0/3
腮腺	腮腺癌	3	1/3 肿瘤细胞 1/3 巨噬细胞	1/3 淋巴细胞	0/3
肾	肾透明细胞癌	3	0/3	0/3	0/9
	乳头肾状细胞癌	3	2/3 肿瘤细胞 2/3 巨噬细胞 2/3 淋巴细胞	2/3 淋巴细胞 1/3 肿瘤细胞 1/3 中性粒细胞	
	嫌色性肾细胞癌	3	2/3 肿瘤细胞 1/3 巨噬细胞 1/3 淋巴细胞	2/3 淋巴细胞	
前列腺	前列腺癌	4	0/4	0/4	0/7
	前列腺增生	3	1/3 巨噬细胞 1/3 淋巴细胞	1/3 淋巴细胞	
子宫	子宫癌	5	1/5 淋巴细胞	2/5 淋巴细胞 1/5 巨噬细胞	0/5
宫颈	子宫颈鳞状细胞癌	4	4/4 肿瘤细胞 3/4 巨噬细胞 1/4 淋巴细胞	4/4 淋巴细胞	0/8
	宫颈腺癌	4	1/4 肿瘤细胞	1/4 中性粒细胞	
膀胱	尿路上皮癌	5	1/5 肿瘤细胞	1/5 淋巴细胞	0/5
输卵管	输卵管癌	3	2/3 肿瘤细胞	2/3 巨噬细胞 2/3 淋巴细胞	0/3
骨骼肌	横纹肌肉瘤	3	0/3	0/3	0/3
骨	骨肉瘤	3	1/3 肿瘤细胞	1/3 肿瘤细胞 1/3 淋巴细胞	0/3
皮肤	黑色素瘤	4	1/4 巨噬细胞 1/4 淋巴细胞	1/4 淋巴细胞	0/10
	鳞状细胞癌	3	2/3 肿瘤细胞 2/3 巨噬细胞 2/3 淋巴细胞	2/3 淋巴细胞	
	基底细胞癌	3	2/3 淋巴细胞	2/3 淋巴细胞	

外周神经	恶性神经鞘瘤	3	0/3	0/3	0/3
间皮	恶性间皮瘤	3	0/3	0/3	0/3
脂肪组织	脂肪肉瘤	3	0/3	1/3 淋巴细胞	0/3
心脏	粘液瘤	3	0/3	0/3	0/3

2. 灵敏度和分析特异性

在灵敏度评估中，申请人检测覆盖宫颈癌 I ~ IV 期的 166 例宫颈癌 FFPE 样本中 PD-L1 的表达量。结果显示：可评估的 PD-L1 阳性细胞染色范围为 0~100。申请人采用 7 例 CPS=1 的宫颈癌组织评估此试剂盒的检测灵敏度，结果显示：所有样本检测结果均为 CPS=1。

在分析特异性评估中，申请人利用 PD-L2 高表达细胞系评估单克隆抗 PD-L1 抗体（克隆 WD160）与 PD-L2 交叉反应性的可能性。此试剂盒对 PD-L2 细胞切片进行免疫组织化学检验，实验证明 PD-L1 抗体试剂（免疫组织化学法）与 PD-L2 没有交叉反应。

3. 精密度

在精密度评估中，申请人在同一场所采用三批试剂盒分别进行了批内重复性、批间重复性、天内重复性、天间重复性、操作者间重复性检测，采用 Wilson Score 法计算阴性百分比一致率（NPA）、阳性百分比一致率（PPA）和总体一致率（OPA），双侧 95% 置信区间。结果显示检测结果符合率均为 100%，批内、

批间、天内、天间精密度及不同操作者之间的精密度均较好，试剂性能稳定。

4. 外部重复性

在外部重复性评估中，申请人采用随机盲法，使用消除识别信息的宫颈癌样本，在三个外部实验室进行检测以确定外部重复性。采用 Wilson Score 法计算阴性百分比一致率（NPA）、阳性百分比一致率（PPA）和总体一致率（OPA），双侧 95% 置信区间。结果显示同一个实验室 5 次检测结果均一致，三个实验室之间的检测结果均一致；同时，同一名病理医生的三次阅片结果均一致，不同病理医生之间的阅片结果均一致。

（四）阳性判断值或参考区间研究

本产品采用免疫组织化学法，阳性判断值为综合阳性评分 $CPS \geq 1$ 。

在一项评价赛帕利单抗注射液治疗复发或转移性宫颈癌有效性和安全性的开放、多中心、单臂、II 期临床研究中，临床试验第一阶段研究中采已上市 PD-L1 检测试剂共检测 109 个宫颈癌患者样本， $CPS \geq 1$ 的阳性受试者有 72 例，最终入组数为 45 例，其中可评估的受试者有 44 例，客观缓解为 11 例，客观缓解率 (Objective response rate, ORR) 为 25.0%(11/44)。

申请人进一步采用 949 例临床样本（包含阳性 739 例、阴

性 210 例) 对该产品和已上市 PD-L1 检测试剂进行一致性比较研究。结果显示本产品与对比试剂总符合率为 96.42%，Kappa 值为 0.8896，具有很好的一致性。

在第二阶段关键研究中，使用该产品检测 $CPS \geq 1$ 作为受试者入组标准。结果显示：赛帕利单抗注射液达到关键注册临床试验预设的主要终点。

综合以上研究确认，如果宫颈癌样本中肿瘤细胞呈现任意强度的完全或部分细胞膜染色而非仅有细胞质染色及位于肿瘤巢内或相邻基质内直接与肿瘤反应相关的淋巴细胞和巨噬细胞呈现任意强度的细胞膜染色和/或细胞质染色且 $CPS \geq 1$ ，则应判定样本中存在 PD-L1 表达。

(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。

实时稳定性研究：试剂盒在 $2 \sim 8^{\circ}\text{C}$ 条件下保存，分别在 0、3、6、9、12、14、18、20、24 和 25 个月取出三批对外观、符合性、批内/批间重复性、灵敏度进行测定，结果符合接受标准。确定申报产品在 $2 \sim 8^{\circ}\text{C}$ 条件下保存，有效期 24 个月。

使用稳定性研究：采用一批次试剂进行使用稳定性研究，

结果显示：使用时采用即取即用的原则，开瓶使用后，应立即放回2~8℃保存，可稳定保存28天。

运输稳定性研究：在运输模拟结束后，将试剂在2~8℃条件下保存，对产品的运输后稳定性进行研究，结果显示：本产品运输后在2~8℃保存至24个月。

样本稳定性：对宫颈癌组织切片中PD-L1在25±2℃和2~8℃稳定性进行评价。结果表明，宫颈癌组织切片在2~8℃可存放16周和在25±2℃可存放4周。

三、临床评价概述

申请人针对试验体外诊断试剂伴随诊断用途提供了赛帕利单抗注射液的药物临床试验研究资料，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。

1. 伴随诊断性能药效研究

在一项研究为单臂、开放、多中心、II期临床试验，入组经过一线或以上含铂标准化疗后进展的复发或转移性宫颈癌患者，PD-L1表达阳性（CPS≥1）、至少有一个可测量病灶、体能状态评分达标、并有足够的器官功能。共计入组105例，其中15例不符合入组标准，最终纳入全分析集90例。PD-L1表达采用试验体外诊断试剂（克隆号WD160）检测。药物临床试验以客观缓解率（ORR）为主要终点，90例患者中位随访时间17.5

个月，客观缓解率 27.8% (95%CI: 18.85%, 38.22%, $P < 0.0001$)。试验结果显示，赛帕利单抗注射液在经过一线或以上含铂标准化疗后进展的复发或转移性、采用试验体外诊断试剂检测 PD-L1 表达阳性 (CPS ≥ 1) 的宫颈癌患者中具有显著疗效，且结果稳健。

2. PD-L1 检测结果重现性研究

申请人在河南省肿瘤医院、河南省人民医院、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 169 例，覆盖各个 CPS 评分范围，结果显示三家机构两两比对平均一致率 92.5% (95%CI: 89.88%, 94.49%)，一致性良好。阅片一致性评价试验入组样本 171 例，覆盖各个 CPS 评分范围，结果显示：与诊断共识比较，病理医师间阅片重复性总一致率为 97.42% (95% CI: 96.51%, 98.10%)，同一病理医师阅片重复性总一致率 98.58% (95% CI: 97.87%, 99.06%)，不同临床试验机构间阅片总一致率 96.49% (95% CI: 94.52%, 97.77%)；成对比较研究中，病理医师间阅片重复性平均总一致率为 94.84% (95% CI: 93.63%, 95.84%)，同一病理医师阅片重复性平均总一致率 97.17% (95% CI: 96.22%, 97.88%)，不同临床试验机构间阅片平均总一致率

92.98% (95% CI: 90.44%, 94.89%)。

研究结果表明产品临床性能满足要求。

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,对本产品进行风险分析。经综合评价,本产品的受益和风险总结如下:

(一) 受益评估

本产品用于既往接受含铂化疗治疗失败的复发或转移性且PD-L1表达阳性 (CPS \geq 1) 的宫颈癌患者使用赛帕利单抗注射液 (重组全人源抗PD-1单克隆抗体) 治疗的伴随诊断。其临床应用的主要受益在于: 产品可以作为赛帕利单抗注射液的伴随诊断试剂对用药人群进行筛选, 让宫颈癌患者获得及时的治疗。依据现有的临床试验结果显示, 该试剂盒环形比对和阅片一致性研究结果一致性良好, 该试剂盒所筛选患者人群的客观缓解率 (ORR) 为27.8%。

(二) 风险评估

本产品检测的主要风险来自于不准确或错误的结果带来的风险。假阳性结果可能会导致患者接受赛帕利单抗注射液的治疗没有显著的临床获益, 同时可能出现与赛帕利单抗注射液治疗相关的不良反应。假阴性结果可能会导致患者不考虑使用赛帕利单抗注射液治疗, 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综合分析。

通过环比试验和阅片一致性评价，确认本产品在规范操作和标准化解读的前提下，不同机构、不同操作者和操作者不同次检测/阅片之间，平均一致率均较高，满足要求。

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. 预期用途：本产品用于体外定性检测中性福尔马林固定、石蜡包埋（FFPE）的宫颈癌组织中的程序性死亡配体-1（以下简称PD-L1）蛋白表达水平，用于既往接受含铂化疗治疗失败的复发或转移性且PD-L1表达阳性（CPS \geq 1）的宫颈癌患者使用赛帕利单抗注射液（重组全人源抗PD-1单克隆抗体）治疗的伴随诊断。

使用PD-L1检测作为伴随诊断以确定患者是否符合药物的治疗标准，请参阅赛帕利单抗注射液产品说明书。

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和境内同品种首个产品。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。

2023年11月06日

附件：产品说明书

PD-L1抗体试剂（免疫组织化学法） 说明书

【产品名称】

通用名称：PD-L1 抗体试剂（免疫组织化学法）

【包装规格】

50 测试/盒

【预期用途】

本产品用于体外定性检测中性福尔马林固定、石蜡包埋（FFPE）的宫颈癌组织中的程序性死亡配体-1（以下简称PD-L1）蛋白表达水平，用于既往接受含铂化疗治疗失败的复发或转移性且PD-L1表达阳性（CPS \geq 1）的宫颈癌患者使用赛帕利单抗注射液（重组全人源抗PD-1单克隆抗体）治疗的伴随诊断。

使用PD-L1检测作为伴随诊断以确定患者是否符合药物的治疗标准，请参阅赛帕利单抗注射液产品说明书。

PD-L1 抗体试剂（免疫组织化学法）是一种含有小鼠抗 PD-L1 单克隆抗体（克隆号 WD160）的免疫组化检测试剂盒。宫颈癌中 PD-L1 蛋白的表达水平由综合阳性评分（Combined Positive Score, CPS）来确定，即 PD-L1 阳性细胞与可计数肿瘤细胞的比例乘以 100，其中 PD-L1 阳性细胞包括任何强度下具有完全或部分细胞膜染色而非仅有细胞质染色的肿瘤细胞及位于肿瘤巢内或相邻基质内表现细胞膜染色和/或细胞质染色的直接与肿瘤反应相关的淋巴细胞和巨噬细胞^[1]。如果 CPS \geq 1，则认为该样本存在 PD-L1 表达。

PD-L1 是 I 型跨膜蛋白，能够通过与其的抑制性受体结合参与细胞调节和免疫反应。其主要受体为程序性细胞死亡蛋白（PD-1），在激活的 T 细胞和 B 细胞中表达，功能是抑制细胞的激活和功能。PD-L1 主要表达于免疫细胞和一些肿瘤组织细胞的膜表面，与肿瘤微环境中 T 细胞表面的受体 PD-1 结合，抑制 T 细胞的增殖和功能，使得肿瘤细胞逃避 T 细胞杀伤，获得免疫逃逸。PD-1 的抗体可以阻断这一通路，部分恢复 T 细胞的功能，使这些细胞能够继续杀伤肿瘤细胞^[2-6]。

PD-L1 在多种肿瘤细胞中均有上调表达，如乳腺癌、非小细胞肺癌、肾癌、肠癌、食管鳞癌、卵巢癌、宫颈癌、胰腺癌、黑色素瘤、神经胶质瘤等。因此，利用免疫组织化学方法检测肿瘤细胞中 PD-L1 的表达成为预测免疫检查点抑制剂临床用药的一种常规手段^[5-6]。

广州誉衡生物科技有限公司发起的赛帕利单抗注射液临床研究，研究了赛帕利单抗注射液在既往接受含铂化疗治疗失败的复发或转移性且 PD-L1 表达阳性（CPS \geq 1）的宫颈癌患者中的有效性和安全性。

本产品预期用于体外诊断（IVD）。

【检验原理】

利用免疫学抗原抗体分子由于结构的互补和彼此亲和性所发生特异性结合原理，并通过氧化还原

化学反应使标记抗体的酶显色剂显色来确定组织细胞内抗原，对其进行定位、定性。首先是（鼠抗人）PD-L1单克隆抗体特异性结合组织切片中的PD-L1抗原，然后加入含有标记辣根过氧化物酶的二抗系统，最后加入DAB显色液，辣根过氧化物酶可以催化DAB显色液中的H₂O₂分解，使联苯胺氧化变成联苯亚胺，组织切片中抗原位点上则出现黄色至深棕色不等的着色。对样本进行苏木素核复染和封片，通过显微镜观察显色情况，判断组织切片上PD-L1抗原的存在位点和表达情况。

【主要组成成分】

表 1 PD-L1 抗体试剂（免疫组织化学法）主要组成成分表

组分名称	主要成分	规格	数量
PD-L1 抗体试剂	PD-L1 单克隆抗体（小鼠 IgG1 亚型）（1μg/mL）、 一抗稀释液	5.5mL/瓶	1 瓶
空白对照抗体试剂	空白对照抗体（小鼠 IgG1 亚型）（1μg/mL）、 空白对照抗体稀释液	5.5mL/瓶	1 瓶

注：不同批号产品中各组分不可互换、混用。

需要但未提供的材料：

1. DAB染色液试剂盒（货号：2130WPI1A25A，备案号：苏苏械备20190923号，生产厂家：苏州药明泽康生物科技有限公司）
2. 免疫组化抗原修复缓冲液（货号：2130WPI1A216G/H/I，备案号：苏苏械备20221150，生产厂家：苏州药明泽康生物科技有限公司）
3. DAB增强液（货号：2130WPI1A218M，备案号：苏苏械备20211223号，生产厂家：苏州药明泽康生物科技有限公司）
4. 苏木素染色液（货号：2130WPI1A242M，备案号：苏苏械备20221148，生产厂家：苏州药明泽康生物科技有限公司）
5. 内源性过氧化物酶阻断剂（3%H₂O₂）
6. 阴/阳性质控片（推荐使用扁桃体或胎盘组织切片作为阴/阳性质控片）
7. PBST磷酸盐缓冲液（0.01M，0.05% Tween 20，pH 7.4）
8. 中性树胶
9. 二甲苯
10. 乙醇
11. 纯化水

【储存条件及有效期】

本产品于 2℃~8℃ 条件下保存，有效期 24 个月。

使用时采用即取即用的原则，开瓶使用后，应立即放回 2℃~8℃ 保存，有效期 28 天。

生产日期，失效日期详见标签。

【样本要求】

新鲜活检或手术样本组织，经中性福尔马林固定，参照《临床技术操作规范-病理学分册》取材、

固定、脱水、石蜡包埋并制成蜡块。

组织切片厚度建议3~5 μm 。将切片黏附在聚赖氨酸载玻片或带正电荷的玻片上，在空气中略干燥后，60 $^{\circ}\text{C}$ ~65 $^{\circ}\text{C}$ 烤片1~2小时，2~8 $^{\circ}\text{C}$ 或25 \pm 2 $^{\circ}\text{C}$ 存放待用。

为了防止抗原降解，准备好的组织切片应尽快使用。如需保存，2~8 $^{\circ}\text{C}$ 条件下保存的切片，需在16周内完成检测；25 \pm 2 $^{\circ}\text{C}$ 条件下保存的切片，需在4周内完成检测。

【检验方法】

1. 检验所需仪器、耗材：

移液器

免疫组化油笔

电磁炉或高压锅（也可使用自动抗原修复仪）

孵箱

计时器

孵育盒

染色架

盖玻片

光学显微镜（需配备4 \times 、10 \times 、20 \times 、40 \times 物镜）

洗瓶

2. 溶液配制：

PBST磷酸盐缓冲液（0.01M，0.05% Tween-20，pH7.4）、免疫组化抗原修复缓冲液（配制1L免疫组化抗原修复液，使用20mL 50 \times 免疫组化修复缓冲液与980mL纯化水混合）以及DAB显色液的配制参见各产品说明书。

3. 温度条件：室温。

4. 检测步骤：

4.1 样本准备

将福尔马林固定石蜡包埋切片于60 $^{\circ}\text{C}$ ~65 $^{\circ}\text{C}$ 孵箱中烤片1~2小时，室温保存备用。

4.2 脱蜡与水化

石蜡切片置于新鲜二甲苯中，浸泡10分钟 \times 2次；

去除多余的液体后，置无水乙醇中，浸泡3分钟，1~2次；

去除多余的液体后，置95%乙醇中，浸泡3分钟；

去除多余的液体后，置85%乙醇中，浸泡3分钟；

去除多余的液体后，置70%乙醇中，浸泡3分钟；

纯化水冲洗3分钟 \times 2次。

4.3 抗原修复

推荐使用 pH9.0 EDTA (碱修复) 热修复法, 水浴可设置 98°C 高温修复 20~30 分钟; 若使用高压修复法, 建议修复 2~3 分钟 (高压阀门顶起开始计时)。完成修复后, 让切片自然冷却至室温。用免疫组化笔将待测组织圈起来, 纯化水冲洗 2 次, 每次 3 分钟。

4.4 内源性过氧化物酶灭活

滴适量 (约 150 μ L) 内源性过氧化物酶阻断剂完全覆盖组织, 室温孵育 10 分钟后, 纯化水冲洗 2 次, 每次 3 分钟, PBST 冲洗 1 次。

4.5 一抗及空白对照抗体试剂孵育

加入 1~3 滴 PD-L1 抗体试剂或空白对照抗体试剂完全覆盖组织, 室温孵育 30 分钟后, PBST 冲洗 3 次, 每次 5 分钟。

4.6 二抗孵育

免疫显色试剂1孵育: 加入1~3滴免疫显色试剂1完全覆盖组织, 室温孵育10分钟, PBST冲洗5次, 每次3分钟。

免疫显色试剂2孵育: 加入1~3滴免疫显色试剂2完全覆盖组织, 室温孵育30分钟, PBST冲洗3次, 每次5分钟, 纯化水冲洗2次, 每次3分钟。

4.7 DAB显色

滴适量配好的 DAB 显色液完全覆盖组织, 依据颜色变化终止染色, 纯化水冲洗 3 次。

如有必要可进行以下步骤增强 DAB 染色: DAB 显色后, 冲洗干净, 加入 DAB 增强液完全覆盖组织, 推荐孵育 8 分钟, 纯化水冲洗 2 次。

4.8 苏木素衬染

苏木素染色液复染1~3分钟 (可根据染色结果和要求调整时间), PBST或自来水冲洗返蓝。

4.9 脱水透明

依次浸泡梯度酒精 70%, 85%, 95%, 100% (1~2 次), 每次 3 分钟; 2 次二甲苯透明, 每次 10 分钟。

4.10 封片

用中性树脂对切片进行封片。

5. 质量控制

免疫组化检测结果要由有资质的病理医生在显微镜下对染色后的切片进行观察, 对染色定位进行判断。

5.1 阴/阳性质控片

用扁桃体组织作为阴/阳性质控片时, 扁桃体的隐窝上皮细胞膜表现为强染色, 生发中心的巨噬细胞表现为中等到弱的膜染色, 内皮细胞、纤维细胞和表面上皮细胞没有染色。

或用胎盘组织作为阴/阳性质控片时，滋养层细胞膜呈现很强的一致性染色，胎盘间质组织和脉管系统没有染色。

建议优先选取扁桃体组织为阴/阳性质控品。阴/阳性质控片染色结果必须与以上描述相符合，否则结果不可信，应重新实验。

5.2 空白对照抗体试剂：

每次染色应包含同一测试条件下的空白对照抗体试剂进行对比。用空白对照抗体试剂来代替 PD-L1 抗体试剂对组织切片进行染色，用来判断非特异性染色，并对抗原部位特异性染色提供更好的解释。空白对照抗体试剂的孵育时间必须与 PD-L1 抗体试剂一致。空白对照抗体试剂对组织切片进行染色应为阴性，即无任何细胞膜染色，否则结果不可信，应重新实验。

6. 结果判断：

免疫组化检测结果应由有资质的病理医生在显微镜下对染色后的切片进行观察，在切片染色结果符合质量控制条件下：

6.1 建议医生在视野为 10×、20×或 40×下观察，对样本（宫颈癌）病理切片中 PD-L1 细胞阳性率进行评估，切片上所有的肿瘤细胞以及巨噬细胞和淋巴细胞都应参与阳性率评估，且样本中包含的肿瘤细胞总数不应少于 100 个；

6.2 样本病理组织切片中，阳性肿瘤细胞应呈现不同强度的局部或全部细胞膜的染色，颜色从黄色至深棕色不等；

6.3 仅有细胞质染色而无膜染色的肿瘤细胞，不参与结果判断或评估。

【阳性判断值】

广州誉衡生物科技有限公司发起的赛帕利单抗注射液临床研究，研究了赛帕利单抗注射液治疗既往接受含铂化疗治疗失败的复发或转移性且经 PD-L1 抗体试剂（免疫组织化学法）鉴别具有 PD-L1 表达（CPS≥1）宫颈癌患者的有效性和安全性。

宫颈癌中 PD-L1 蛋白的表达水平由综合阳性评分（Combined Positive Score, CPS）进行确定，即 PD-L1 阳性细胞与可计数肿瘤细胞的比例乘以 100，其中 PD-L1 阳性细胞包括任何强度下具有完全或部分细胞膜染色而非仅有细胞质染色的肿瘤细胞及位于肿瘤巢内或相邻基质内表现细胞膜染色和/或细胞质染色的直接与肿瘤反应相关的淋巴细胞和巨噬细胞。

$$CPS = \frac{PD-L1 \text{ 阳性细胞}}{\text{可计数肿瘤细胞}} \times 100$$

评分方法：由专业的病理医生在光学显微镜下进行判读。首先在低倍镜（如 4×-10×物镜）下对整张切片中保存完好的可计数肿瘤区域和 PD-L1 染色区域进行初步评估；然后在高倍镜（如 20×物镜）下评估任何染色强度下完全或部分细胞膜染色的肿瘤细胞及位于肿瘤巢内或相邻基质内表现细胞膜染色和/或细胞质染色的直接与肿瘤反应相关的淋巴细胞和巨噬细胞所占的比例（可根据需要在 40×物镜下进行确认）。判读时应注意，肿瘤细胞细胞质染色不应纳入计算。在宫颈癌肿瘤细胞中，CPS≥1 时，判断为样本存在 PD-L1 表达为阳性；CPS<1 时，判断为样本无 PD-L1 表达为阴性。评分示例如下图 1~图 3。

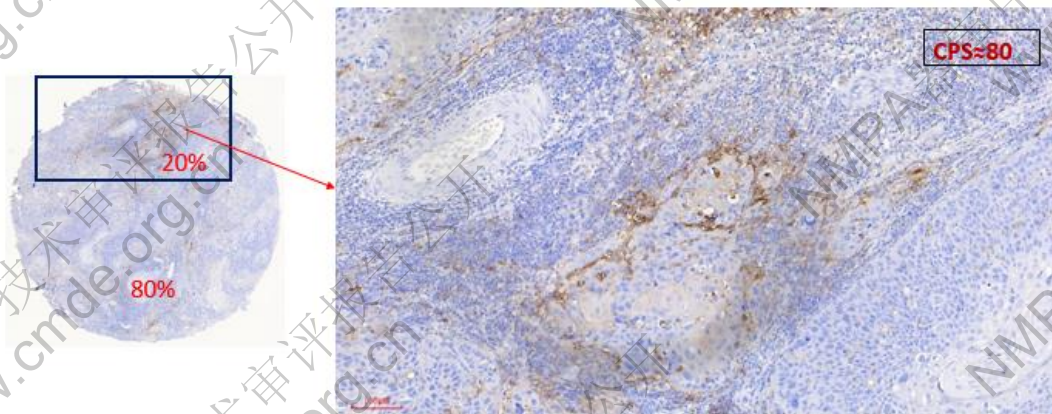


图 1 小部分/局部 PD-L1 染色区域示例
 在 20× 镜下计算该染色区域具体 CPS 值: CPS≈80
 该样本 CPS=20%×80=16

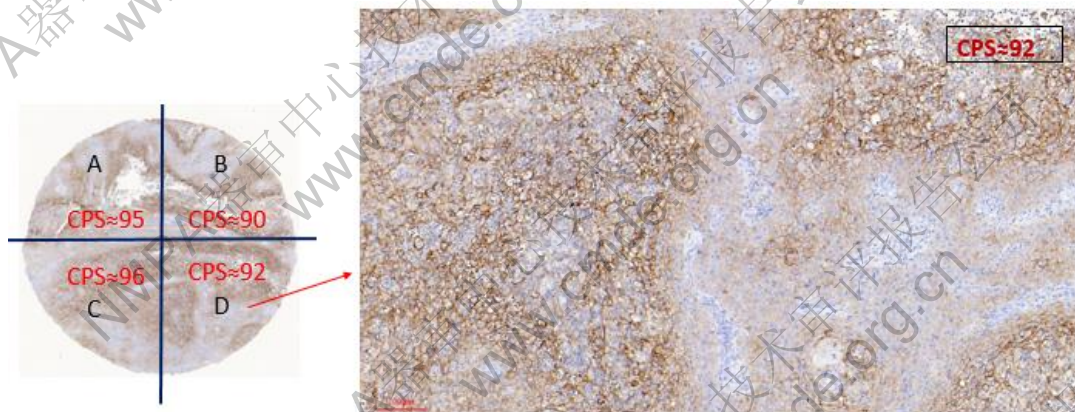


图 2 异质性 PD-L1 染色示例
 划分的四个肿瘤区域中, 每个部分的 CPS: ~CPS 95、~CPS 90、~CPS 96 和~CPS 92
 该样本 CPS=(A+B+C+D)/4=(95+90+96+92)/4=93

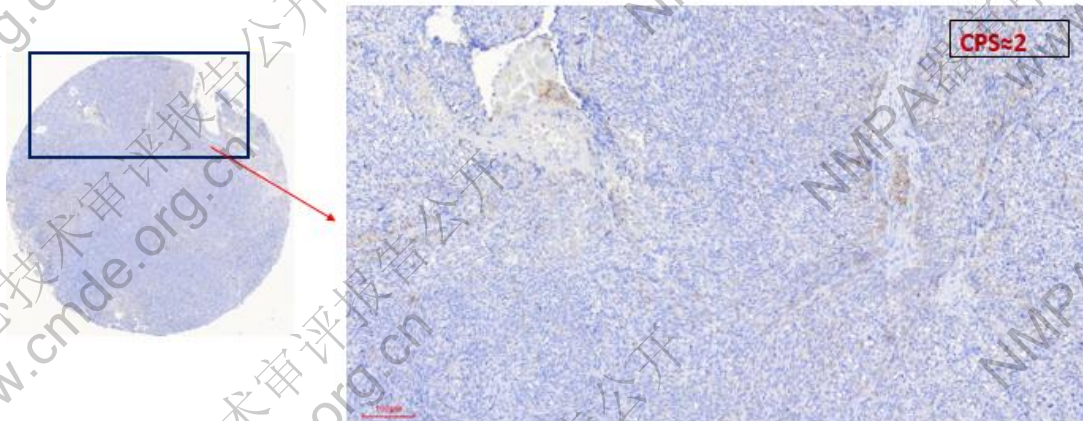


图3 阳性判断值附近 (CPS 0-10)样本示例

20×（必要时可在 40×）镜下计数所有染色细胞（肿瘤细胞，巨噬细胞，淋巴细胞），计数染色细胞约为 450 个，可计数肿瘤细胞约 30000 个。

$$CPS=450/30000 \times 100 \approx 2$$

【检验结果的解释】

1. 每批次检测时，必须使用 PD-L1 阴/阳性质控片作为阴/阳性对照，且每个待检样本必须采用空白对照抗体进行实验。判断阴/阳性质控片和空白对照抗体试剂染色正常，具体如下：

阳性：组织切片中预期细胞的细胞膜呈黄色至深棕色，无背景染色，则判为阳性。

阴性：组织切片中预期细胞无染色，则判为阴性。

2. 若阳性质控片染色结果为阴性，应判为假阴性，此次试验无效。出现假阴性的可能原因有：使用错误或失效的质控片；组织前处理不当；抗原修复条件不当；抗体孵育时间或孵育温度的修改；选择错误的二抗等。

3. 若阴性质控片染色结果为阳性，应判为假阳性，此次试验无效。出现假阳性的可能原因有：组织前处理不当；抗原修复条件不当；显色时间过长等。

4. 若空白对照抗体试剂染色结果为阳性，则操作步骤出现错误，应排查原因重新检测。

5. PD-L1 阳性（表达）的宫颈癌样本中呈现不同程度着色（显色剂为 DAB（3,3'-二氨基联苯胺），显示颜色为黄色至深棕色）的 PD-L1 阳性细胞必须达到大于等于全片可计数肿瘤细胞的 1%，同时细胞核无染色（如图 4，图 5 所示）。

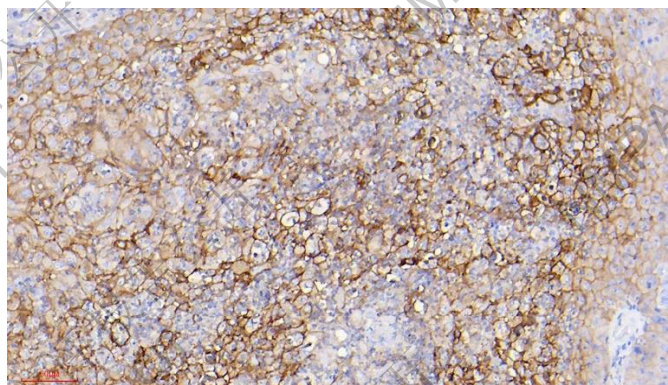


图4 PD-L1 阳性（高表达）染色效果示例（20×放大）

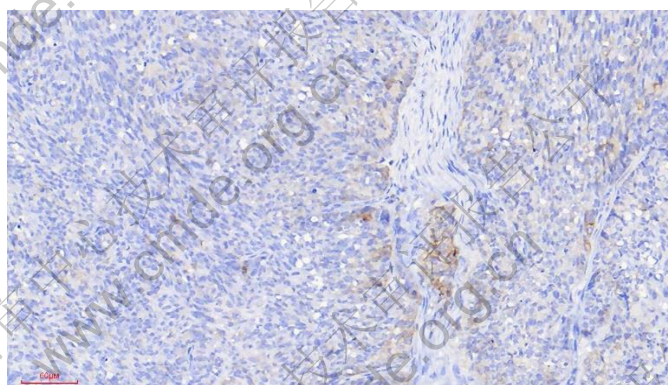


图5 PD-L1 阳性（弱表达）染色效果示例（20×放大）

6. PD-L1 阴性（无表达）的宫颈癌样本中呈现不同程度着色的 PD-L1 阳性细胞需小于全片可计数肿瘤细胞的 1%，或全片完全无着色（如图 6 所示）。

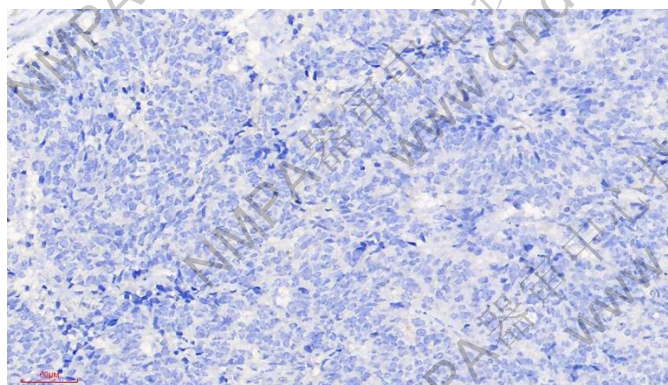


图6 PD-L1 阴性（无表达）染色效果示例（20×放大）

7. 纳入 CPS 分母的可计数肿瘤细胞为浸润性肿瘤细胞，不应被计入细胞包括：坏死的肿瘤细胞、所有类型的免疫细胞、宫颈鳞状上皮内病变细胞、良性细胞、基质细胞、其他坏死细胞和细胞碎片。

8. 纳入 CPS 分子的肿瘤细胞为任何强度下具有完全（如图 7 所示）或部分（如图 8 所示）膜染

色的浸润性肿瘤细胞以及位于肿瘤巢内或相邻基质内表现细胞膜染色和/或细胞质染色的直接与肿瘤反应相关的淋巴细胞（如图 9 所示）和巨噬细胞（如图 10 所示）。

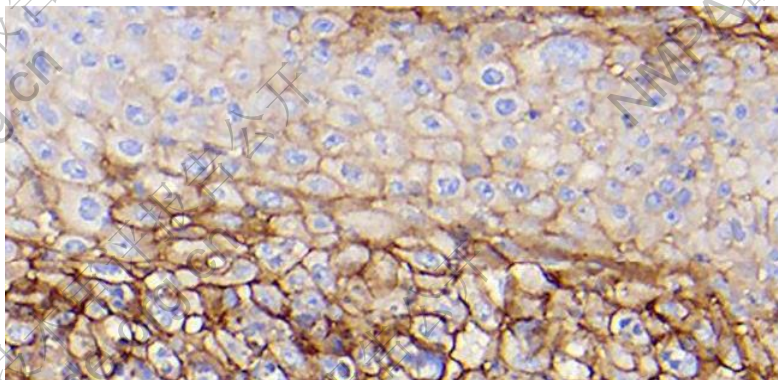


图 7 肿瘤细胞完全线性膜 PD-L1 染色(20×放大)

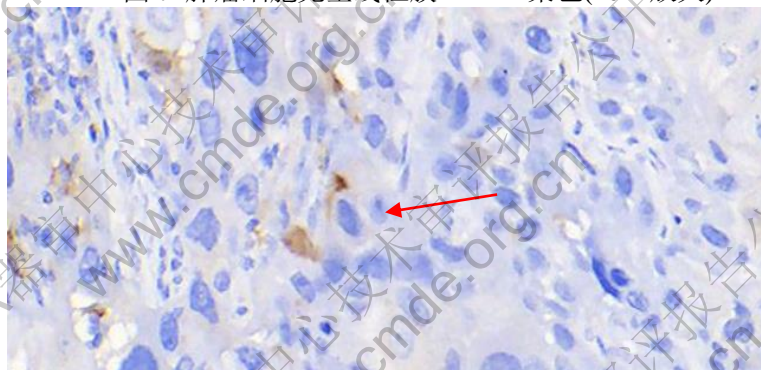


图 8 肿瘤细胞部分线性膜 PD-L1 染色(箭头所示) (20×放大)

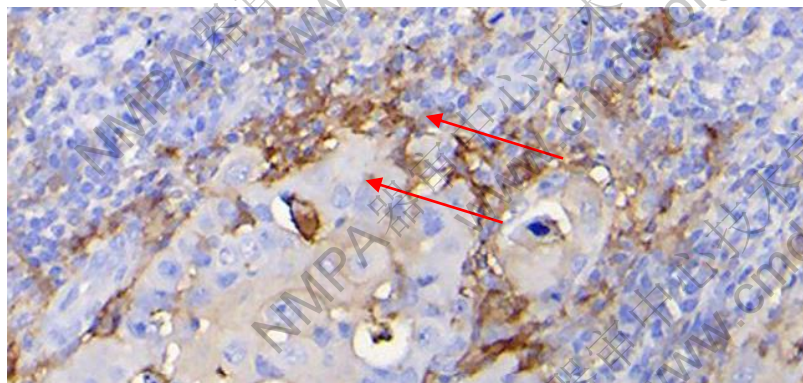


图 9 肿瘤相关淋巴细胞的 PD-L1 染色(箭头所示)(20×放大)

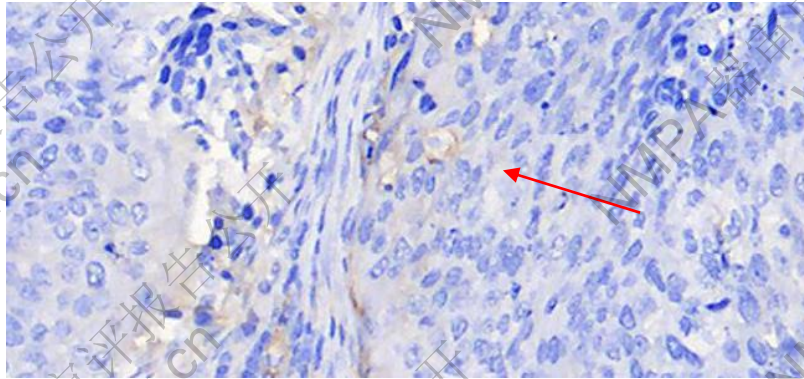


图 10 肿瘤相关巨噬细胞的 PD-L1 染色 (箭头所示)(20×放大)

9. 假阳性的结果可能会由于蛋白或底物反应产物的非免疫学结合造成的。它们也可能会由红血球和细胞色素 C 造成的^[7]。

【检验方法的局限性】

1. 免疫组化是一种多步骤病理诊断过程，包括试剂的选择，组织的选择，固定和处理，切片的准备，染色及结果解释。任何一个环节的不规范操作都有可能影响最终的检测结果。
2. 本品免疫组化检测结果需要由有资质的病理医生进行观察与判断，检测结果仅为医生提供辅助判断。
3. 本产品免疫组化检测结果属于定性检测，不属于半定量检测。
4. 过度或不充分的复染可能影响结果的正确解释。

【产品性能指标】

非临床性能评价：

免疫反应性：

正常人体组织免疫反应性：表 2 总结了本试剂在 34 种正常人体组织的免疫反应性。在检测的细胞类型或组织类型中均没有观察到超出预期的结果，对于所有正常组织中 PD-L1 免疫组化表达，观察到的染色与文献报道一致。

表 2 PD-L1 抗体试剂（免疫组织化学法）正常人体组织免疫反应性总结

组织类型	检测数量	阳性膜染色： 组织成分	阳性胞质染色： 组织成分	非特异性染色
大脑	7	0/7	0/7	0/7
小脑	3	0/3	0/3	0/3
肾上腺	4	0/4	0/4	0/4
卵巢	4	1/4 巨噬细胞 1/4 淋巴细胞	1/4 淋巴细胞	0/4
胰腺	5	0/5	0/5	0/5
甲状旁腺	3	0/3	0/3	0/3

淋巴结	5	3/5 巨噬细胞 4/5 淋巴细胞	3/5 巨噬细胞 4/5 淋巴细胞 1/5 网状细胞	0/5
垂体	3	0/3	0/3	0/3
睾丸	3	0/3	0/3	0/3
甲状腺	5	0/5	0/5	0/5
乳腺	6	0/6	0/6	0/6
脾脏	3	0/3	0/3	0/3
扁桃体	3	2/3 隐窝鳞状上皮细胞 2/3 巨噬细胞	0/3	0/3
胸腺	5	3/5 巨噬细胞 3/5 淋巴细胞	3/5 淋巴细胞	0/5
骨髓	3	0/3	0/3	0/3
肺	8	0/8	0/8	0/8
喉	3	0/3	0/3	0/3
心肌	3	0/3	0/3	0/3
食道	6	0/6	0/6	0/6
胃	6	0/6	2/6 腺上皮	0/6
小肠	6	0/6	2/6 淋巴细胞	0/6
结直肠	7	0/7	0/7	0/7
肝脏	5	0/5	0/5	0/5
涎腺	3	0/3	0/3	0/3
肾	5	0/5	0/5	0/5
前列腺	4	0/4	0/4	0/4
子宫体	5	0/5	0/5	0/5
子宫颈	3	0/3	0/3	0/3
膀胱组织	5	3/5 巨噬细胞 3/5 淋巴细胞	3/5 巨噬细胞 3/5 淋巴细胞	0/5
骨骼肌	4	0/4	0/4	0/4
皮肤	3	0/3	0/3	0/3
外周神经	3	0/3	0/3	0/3
间皮	3	0/3	0/3	0/3
眼	3	0/3	0/3	0/3

非正常人体组织免疫反应性：表 3 总结了本试剂在 32 种非正常人体组织的免疫反应性。在检测的细胞类型或组织类型中均没有观察到超出预期的结果，对于所有非正常组织中 PD-L1 免疫组化表达，观察到的染色与文献报道一致。

表 3 PD-L1 抗体试剂（免疫组织化学法）非正常人体组织免疫反应性总结

组织类型	检测数量	阳性膜染色： 组织成分	阳性胞质染色： 组织成分	非特异性染色
------	------	----------------	-----------------	--------

脑	神经胶质瘤	7	1/7 肿瘤细胞	1/7 肿瘤细胞	0/7
肾上腺	肾上腺癌	4	0/4	0/4	0/4
卵巢	卵巢浆液性癌	4	2/4 巨噬细胞 1/4 肿瘤细胞	2/4 淋巴细胞	0/4
胰腺	胰腺腺癌	3	0/3	0/3	0/13
	胰腺内分泌癌	3	2/3 肿瘤细胞 2/3 巨噬细胞 2/3 淋巴细胞	2/3 淋巴细胞 1/3 胰岛细胞	
	胰腺导管癌	4	1/4 肿瘤细胞	2/4 淋巴细胞	
	胰岛素瘤	3	0/3	1/3 肿瘤细胞	
睾丸	胚胎性横纹肌肉瘤	3	0/3	1/3 淋巴细胞	0/9
	胚胎性癌	3	3/3 淋巴细胞 3/3 巨噬细胞	3/3 淋巴细胞 1/3 巨噬细胞	
	精原细胞瘤	3	3/3 肿瘤细胞 3/3 淋巴细胞 3/3 巨噬细胞	3/3 淋巴细胞	
甲状腺	甲状腺癌	5	0/5	0/5	0/5
乳腺	乳腺导管癌	4	0/4	0/4	0/10
	乳腺非导管癌	3	2/3 肿瘤细胞 2/3 巨噬细胞 1/3 淋巴细胞	2/3 淋巴细胞	
	乳腺纤维腺瘤	3	0/3	0/3	
脾脏	淋巴瘤	3	3/3 肿瘤细胞 2/3 巨噬细胞 1/3 淋巴细胞	2/3 淋巴细胞	0/6
	血管肉瘤	3	2/3 巨噬细胞	2/3 肿瘤细胞 1/3 血管内皮细胞	
淋巴结	淋巴瘤	5	3/5 肿瘤细胞 1/5 淋巴细胞 2/5 巨噬细胞	1/5 巨噬细胞 3/5 淋巴细胞	0/5
胸腺	胸腺癌	5	2/5 肿瘤细胞	1/5 肿瘤细胞 1/5 巨噬细胞 3/5 淋巴细胞	0/5
肺	肺鳞癌	3	2/3 肿瘤细胞 1/3 巨噬细胞	1/3 淋巴细胞	0/10
	肺腺癌	4	0/4	1/4 肿瘤细胞 1/4 淋巴细胞 1/4 纤维细胞	
	小细胞肺癌	3	2/3 巨噬细胞 1/3 肿瘤细胞 1/3 淋巴细胞	2/3 淋巴细胞	
食管	食管鳞癌	5	2/5 肿瘤细胞 2/5 巨噬细胞 2/5 淋巴细胞	2/5 淋巴细胞 1/5 纤维细胞 1/5 中性粒细胞	0/8
	食道黏液腺癌	3	0/3	0/3	
胃	胃腺癌	6	1/6 肿瘤细胞	3/6 淋巴细胞	0/6

小肠	小肠腺癌	6	1/6 巨噬细胞 2/6 淋巴细胞 2/6 巨噬细胞	2/6 淋巴细胞 1/6 巨噬细胞	0/12
	小肠 GIST	3	2/3 肿瘤细胞 2/3 淋巴细胞 1/3 巨噬细胞	2/3 淋巴细胞	
	小肠神经内分泌癌	3	2/3 淋巴细胞 1/3 肿瘤细胞 1/3 巨噬细胞	2/3 淋巴细胞	
结直肠	结直肠腺癌	7	1/7 巨噬细胞 1/7 肿瘤细胞	1/7 淋巴细胞	0/7
肝脏	肝细胞肝癌	4	0/4	1/4 淋巴细胞	0/7
	肝内胆管癌	3	1/3 肿瘤细胞 1/3 巨噬细胞	2/3 淋巴细胞	
口腔	鳞状细胞癌	3	1/3 肿瘤细胞 1/3 巨噬细胞	1/3 肿瘤细胞 1/3 淋巴细胞	0/9
	腺癌	3	1/3 巨噬细胞	1/3 淋巴细胞	
	舌鳞癌	3	2/3 肿瘤细胞 1/3 淋巴细胞 1/3 巨噬细胞	2/3 淋巴细胞	
胆囊	胆囊腺癌	3	0/3	1/3 淋巴细胞	0/3
腮腺	腮腺癌	3	1/3 肿瘤细胞 1/3 巨噬细胞	1/3 淋巴细胞	0/3
肾	肾透明细胞癌	3	0/3	0/3	0/9
	乳头肾状细胞癌	3	2/3 肿瘤细胞 2/3 巨噬细胞 2/3 淋巴细胞	2/3 淋巴细胞 1/3 肿瘤细胞 1/3 中性粒细胞	
	嫌色性肾细胞癌	3	2/3 肿瘤细胞 1/3 巨噬细胞 1/3 淋巴细胞	2/3 淋巴细胞	
前列腺	前列腺癌	4	0/4	0/4	0/7
	前列腺增生	3	1/3 巨噬细胞 1/3 淋巴细胞	1/3 淋巴细胞	
子宫	子宫癌	5	1/5 淋巴细胞	2/5 淋巴细胞 1/5 巨噬细胞	0/5
宫颈	子宫颈鳞状细胞癌	4	4/4 肿瘤细胞 3/4 巨噬细胞 1/4 淋巴细胞	4/4 淋巴细胞	0/8
	宫颈腺癌	4	1/4 肿瘤细胞	1/4 中性粒细胞	
膀胱	尿路上皮癌	5	1/5 肿瘤细胞	1/5 淋巴细胞	0/5
输卵管	输卵管癌	3	2/3 肿瘤细胞	2/3 巨噬细胞 2/3 淋巴细胞	0/3
骨骼肌	横纹肌肉瘤	3	0/3	0/3	0/3
骨	骨肉瘤	3	1/3 肿瘤细胞	1/3 肿瘤细胞 1/3 淋巴细胞	0/3
皮肤	黑色素瘤	4	1/4 巨噬细胞 1/4 淋巴细胞	1/4 淋巴细胞	0/10

	鳞状细胞癌	3	2/3 肿瘤细胞 2/3 巨噬细胞 2/3 淋巴细胞	2/3 淋巴细胞	
	基底细胞癌	3	2/3 淋巴细胞	2/3 淋巴细胞	
外周神经	恶性神经鞘瘤	3	0/3	0/3	0/3
间皮	恶性间皮瘤	3	0/3	0/3	0/3
脂肪组织	脂肪肉瘤	3	0/3	1/3 淋巴细胞	0/3
心脏	粘液瘤	3	0/3	0/3	0/3

灵敏度和分析特异性

用一批 PD-L1 抗体试剂（免疫组织化学法）检测覆盖宫颈癌 I ~ IV 期的 166 例宫颈癌 FFPE 样本中 PD-L1 的表达量，可评估的 PD-L1 阳性细胞染色范围为 0~100。

采用三批 PD-L1 抗体试剂（免疫组织化学法）在 7 例 CPS=1 的宫颈癌组织中进行验证，所有样本检测结果均为 CPS=1，验证了本试剂的灵敏度为 CPS=1。

PD-L1 抗体试剂（免疫组织化学法）的分析特异性是利用 PD-L2 高表达细胞系验证抗体特异性，实验证明 PD-L1 抗体试剂（免疫组织化学法）与 PD-L2 没有交叉反应。

精密度

在同一个场所采用三批 PD-L1 抗体试剂（免疫组织化学法）评价试剂盒精密度，采用 Wilson Score 法计算阴性百分比一致率（NPA）、阳性百分比一致率（PPA）和总体一致率（OPA），双侧 95% 置信区间。

表 4 PD-L1 抗体试剂（免疫组织化学法）检测的精密度汇总表

精密度研究	PD-L1 表达水平	研究设计	一致率（95% CI）
批内重复性	CPS ≥ 1	对 28 例不同程度 PD-L1 表达的宫颈癌样本（3 例 PD-L1 阴性和 25 例阳性）进行检测，每例重复检测 4 次。	NPA 100% (93.4-100.0%) PPA 100% (99.2-100.0%) OPA 100% (99.2-100.0%)
批间重复性	CPS ≥ 1	使用三个批次试剂对 28 例不同程度 PD-L1 表达的宫颈癌样本（3 例 PD-L1 阴性和 25 例阳性）进行检测，每例重复检测 4 次。	NPA 100% (97.4-100.0%) PPA 100% (99.7-100.0%) OPA 100% (99.7-100.0%)
天内重复性	CPS ≥ 1	使用三个批次试剂对 21 例不同程度 PD-L1 表达的宫颈癌样本（3 例 PD-L1 阴性和 18 例阳性）进行检测，	NPA 100% (87.5-100.0%) PPA 100% (97.7-100.0%) OPA 100% (98.0-100.0%)

		3 个工作日分别检测 2 轮。	
天间重复性	CPS ≥ 1	使用三个批次试剂对 21 例不同程度 PD-L1 表达的宫颈癌样本（3 例 PD-L1 阴性和 18 例阳性）在 5 个非连续工作日进行检测。	NPA 100% (95.9-100.0%) PPA 100% (99.3-100.0%) OPA 100% (99.4-100.0%)
操作者间重复性	CPS ≥ 1	使用三个批次试剂对 21 例不同程度 PD-L1 表达的宫颈癌样本（3 例 PD-L1 阴性和 18 例阳性）由 3 名操作者在同一天进行检测。	NPA 100% (96.6-100.0%) PPA 100% (99.4-100.0%) OPA 100% (99.5-100.0%)

外部重复性

在三个外部实验室对 PD-L1 抗体试剂（免疫组织化学法）的重复性进行评价。每个实验室分别在非连续的 5 天用同一批次产品对 34 例宫颈癌组织各进行一次检测和阅片。检测周期在 20 天以上，阅片间隔在 3 天以上。

表 5 PD-L1 抗体试剂（免疫组织化学法）外部重复性结果汇总表

重复性研究	PD-L1 表达水平	研究设计	一致率 (95% CI)
不同场所之间	CPS ≥ 1	分别在非连续五天中对 34 例不同程度 PD-L1 表达的宫颈癌样本（3 例 PD-L1 阴性和 31 例 PD-L1 阳性）进行检测。对三个不同场所的场所间分析，共 2550 对配对比较。	NPA 100% (98.3-100.0%) PPA 100% (99.8-100.0%) OPA 100% (99.8-100.0%)
同一场所内	CPS ≥ 1	分别在非连续五天中对 34 例不同程度 PD-L1 表达的宫颈癌样本（3 例 PD-L1 阴性和 31 例 PD-L1 阳性）进行检测。对三个不同场所的场所内分析，共 1020 对配对比较。	NPA 100% (95.9-100.0%) PPA 100% (99.6-100.0%) OPA 100% (99.6-100.0%)
不同观察者之间	CPS ≥ 1	对 34 例经 PD-L1 检测试剂盒（免疫组织化学法）染色的不同程度 PD-L1 表达的宫颈癌样本进行评分，评分由分别来自三个研究场所的三位病理医生在非连续三天中进行。对三个不同场所的不同观察者间分析 918 对配对比较。	NPA 100% (95.5-100.0%) PPA 100% (99.5-100.0%) OPA 100% (99.6-100.0%)
同一观察者内	CPS ≥ 1	对 34 例经 PD-L1 检测试剂盒（免疫组织化学法）染色的不同程度 PD-L1 表达的宫颈癌样本	NPA 100% (87.5-100.0%) PPA 100% (98.6-100.0%)

		进行评分，评分由分别来自三个研究场所的三位病理医生在非连续三天中进行。对三个不同场所的观察者内分析，共进行 306 对配对比较。	OPA 100% (98.8-100.0%)
--	--	--	------------------------


临床性能评价


- 1) 在3家临床试验机构开展了环比试验，3家机构共入组169例不同受试者的宫颈癌样本，范围覆盖CPS 0-100。3家临床机构分别对所有样本使用本试剂盒进行染色试验，并由本机构的一名病理医师对本机构的染色切片进行判读，试验结果表明，3家临床机构的判读结果一致性良好。
- 2) 在3家临床试验机构开展了阅片一致性研究，结果显示机构内不同病理医师阅片一致性、机构内同一病理医师多次阅片一致性和机构间阅片一致性良好。
- 3) 在一项评价赛帕利单抗注射液治疗复发或转移性宫颈癌有效性和安全性的开放、多中心、单臂、II期临床研究中，主要目的是评价赛帕利单抗注射液在既往接受含铂化疗治疗失败的复发或转移性且PD-L1表达阳性（CPS≥1）的宫颈癌患者中的有效性和安全性，主要研究终点为客观缓解率（ORR）。本研究采用两阶段设计，关键研究统计分析以第二阶段受试者为主。第二阶段以本产品检测结果 CPS≥1 入组 105 例患者，有 90 例患者符合全分析人群（FAS）定义。在 FAS 集中，完全缓解或部分缓解的受试者一共 25 例，ORR 为 27.8% (25/90)，95% CI 18.85% ~ 38.22%。

【注意事项】

1. 本产品仅用于体外诊断，不做其它用途。
2. 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. 实验过程中产生的所有废弃物应严格按照国家相关法规进行处理，避免对人体和环境造成伤害。
4. 实验中应采取适当的防护措施，如手套、口罩、护目镜和实验服，避免试剂同皮肤和眼睛接触。
5. 本产品是否可应用于非福尔马林固定组织还未得到证实。
6. 试剂含有叠氮钠作为防腐剂，叠氮钠可以和铅铜反应而形成易爆炸的金属叠氮化合物。为防止金属叠氮化合物的形成，应用大量的水冲洗以免其堆积^[8]。

【标识的解释】

 体外诊断医疗器械

 查阅使用说明

【参考文献】

[1] Paver EC, Cooper WA, Colebatch AJ, Ferguson PM, Hill SK, Lum T, Shin JS, O'Toole S, Anderson L, Scolyer RA, Gupta R. Programmed death ligand-1 (PD-L1) as a predictive marker for

immunotherapy in solid tumours: a guide to immunohistochemistry implementation and interpretation. Pathology. 2021 Feb;53(2):141-156. doi: 10.1016/j.pathol.2020.10.007. Epub 2020 Dec 30. PMID: 33388161.

[2] Berger KN, Pu JJ. PD-1 pathway and its clinical application: A 20year journey after discovery of the complete human PD-1 gene. Gene. 2018 Jan 5;638:20-25. doi: 10.1016/j.gene.2017.09.050. Epub 2017 Sep 23. PMID: 28951311.

[3] Chen BJ, Chapuy B, Ouyang J, Sun HH, Roemer MG, Xu ML, Yu H, Fletcher CD, Freeman GJ, Shipp MA, Rodig SJ. PD-L1 expression is characteristic of a subset of aggressive B-cell lymphomas and virus-associated malignancies. Clin Cancer Res. 2013 Jul 1;19(13):3462-73. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-13-0855. Epub 2013 May 14. PMID: 23674495; PMCID: PMC4102335.

[4] Brown JA, Dorfman DM, Ma FR, Sullivan EL, Munoz O, Wood CR, Greenfield EA, Freeman GJ. Blockade of programmed death-1 ligands on dendritic cells enhances T cell activation and cytokine production. J Immunol. 2003 Feb 1;170(3):1257-66. doi: 10.4049/jimmunol.170.3.1257. PMID: 12538684.

[5] Okazaki T, Honjo T. PD-1 and PD-1 ligands: from discovery to clinical application. Int Immunol. 2007 Jul;19(7):813-24. doi: 10.1093/intimm/dxm057. Epub 2007 Jul 2. PMID: 17606980.

[6] 国家病理质控中心, 中华医学会病理学分会, 中国临床肿瘤学会肿瘤病理专家委员会. 实体肿瘤 PD-L1 免疫组织化学检测专家共识 (2021 版)[J]. 中华病理学杂志, 2021, 50(7): 710-718. DOI: 10.3760/cma.j.cn.12151-20210228-00172.

[7] Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen. A possible source of error in immunohistochemistry. Am J Clin Pathol. 1980 May;73(5):626-32. doi: 10.1093/ajcp/73.5.626. PMID: 6155065.

[8] Department of Health, Education and Welfare, National Institutes for Occupational Safety and Health, Rockville, MD. "Procedures for the decontamination of plumbing systems containing copper and/or lead azides." DHHS (NIOSH) Publ. No. 78-127, Current 13, August 16, 1976.

【基本信息】

注册人/生产企业名称: 苏州药明泽康生物科技有限公司

住所: 中国(江苏)自由贸易试验区苏州片区苏州工业园区桑田街 218 号生物医药产业园 30 号楼

联系方式:

售后服务单位名称:

联系方式:

生产地址 1: 苏州市吴中区越溪街道吴中大道 1336 号 7 幢房屋 1 层、3 层

生产地址 2: 中国(江苏)自由贸易试验区苏州片区苏州工业园区桑田街 218 号生物医药产业园 30 号楼

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】