

受理号：JSZ1800102

体外诊断试剂产品注册技术审评报告

产品中文名称：抗 PD-L1（SP142）兔单克隆

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：罗氏诊断公司

Roche Diagnostics GmbH

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
产品审评摘要.....	4
一、 产品概述.....	4
二、 临床前研究摘要	6
三、 临床评价摘要	18
四、 风险分析及说明书提示	23
综合评价意见.....	26

基本信息

一、申请人名称

罗氏诊断公司 Roche Diagnostics GmbH

二、申请人住所

Sandhofer Strasse 116 68305 Mannheim GERMANY

三、生产地址

1910 E. Innovation Park Drive Tucson AZ 85755 USA

产品审评摘要

一、产品概述

(一) 产品主要组成成分

重组兔单克隆抗体（克隆号：SP142），抗体使用含载体蛋白、叠氮化钠、EDTA 和 Brij-35 的 Tris 缓冲溶液稀释。具体内容如下：

该产品是一种从细胞纯化培养液上清液中生产获得的重组兔单克隆抗体。一支 5mL VENTANA PD-L1 (SP142) Assay 分液器含有约 36 μg 的兔单克隆抗体。抗体使用含有 0.3% 载体蛋白和 0.05 % 叠氮化钠（一种防腐剂）、0.01 M EDTA 和 0.05% Brij-35 的 0.05 M Tris 缓冲溶液稀释。该试剂的总蛋白浓度约为 3 mg/mL。特异性抗体浓度约为 7 $\mu\text{g/mL}$ 。

(二) 产品预期用途

该产品用于定性检测福尔马林固定、石蜡包埋的组织切片中的程序性死亡配体-1 (PD-L1) 蛋白表达水平。用于辅助识别采用 TECENTRIQ®（阿替利珠单抗）治疗非小细胞肺癌（NSCLC）的患者，阈值为任何染色强度的 $\geq 50\%$ TC (PD-L1 表达肿瘤细胞百分比) 或任何染色强度的 $\geq 10\%$ IC (PD-L1 表达肿瘤浸润性免疫细胞占肿瘤区域面积的比例)。

(三) 产品包装规格

50 测试/盒

(四) 产品检验原理

抗 PD-L1 (SP142) 兔单克隆抗体试剂(免疫组织化学法) 是一种免疫组织化学检测, 利用抗 PD-L1 兔单克隆一抗识别并检测 PD-L1 蛋白。该检测由 Roche/Ventana Medical Systems, Inc. (Ventana) 和 Roche/Genentech 共同开发, 用于鉴别最有可能对 TECENTRIQ® (阿替利珠单抗) 治疗响应的患者。

PD-L1 是一种跨膜蛋白, 可通过与其两个受体程序性死亡-1 (PD-1) 和 B7.1 结合, 下调免疫应答。PD-1 是一种在 T 细胞活化后表达于 T 细胞的抑制性受体, 在慢性刺激 (如慢性感染或癌症) 状态下持续激活。PD-L1 与 PD-1 结合后, 抑制 T 细胞增殖、细胞因子产生和细胞凋亡程序, 导致 T 细胞功能失活或衰竭。B7.1 是在抗原呈递细胞和活化 T 细胞上表达的一种分子。PD-L1 与 T 细胞和抗原呈递细胞上的 B7.1 结合后, 下调免疫应答反应, 包括抑制 T 细胞活化和细胞因子生成。已在免疫细胞和肿瘤细胞检测到 PD-L1 表达, 另据报道, 肿瘤细胞上的 PD-L1 异常表达会阻碍抗肿瘤免疫, 导致免疫逃逸。因此, 阻断 PD-L1/PD-1 通路是重新激活被肿瘤微环境中 PD-L1 表达抑制的肿瘤特异性 T 细胞免疫的一个极具潜力的治疗策略。在多种癌症中报告了肿瘤细胞或肿瘤浸润免疫细胞 (IC) 中的 PD-L1 表达与 PD-L1/PD-1 检查点抑制剂的临床治疗获益之间的相关性。

抗 PD-L1 (SP142) 兔单克隆抗体试剂(免疫组织化学法) 是一种兔单克隆一抗, 可与石蜡包埋组织切片中的 PD-L1 蛋白特异性结合。这种特异性抗体可通过 DAB 染色液(OptiView DAB IHC Detection Kit) 联合 DAB 染色增强液 (OptiView Amplification Kit) 显色, 以进行可视化观察。欲了解更多信息, 请参见相应的 DAB 染色液 (OptiView DAB IHC Detection Kit) 和 DAB 染色增强液(OptiView Amplification Kit) 试剂盒的说明书。

二、临床前研究摘要

(一) 主要原材料

1. 主要原材料的选择

本产品的主要原材料为兔单克隆抗体。

该抗体为外购方式获得, 申请人制定了主要原材料质量标准, 对主要原材料的标识、外观等进行了验证, 并测定了主要原材料的滴度, 检验主要原材料是否合格。

2. 质控设置情况

兔单克隆阴性质控抗体

必须为每个标本运行匹配的阴性试剂质控切片, 以辅助结果解读。兔单克隆阴性质控抗体(阴性试剂质控抗体)与该检测特异性匹配, 并用于替代一抗以评估非特异性染色。阴性试剂质控品的染色程序应与一抗孵育期相同。使用不同的阴性质控试剂, 或未使用推荐的阴性质控试剂可能会导致

错误的结果。

扁桃体组织质控

每次染色运行必须包含组织质控。推荐良性人体扁桃体组织作为质控组织。质控组织应尽快固定，并使用与患者组织相同的方式处理。该组织可以监测从组织制备到染色的所有分析步骤。扁桃体组织包含 PD-L1 蛋白的阳性和阴性染色成分，因此适合作为组织质控品。阳性和阴性染色组织成分可用于验证检测功能正常。

(二) 生产工艺及反应体系研究

申请人通过对试剂主要生产工艺的研究，确定了最佳生产工艺。申请人生产了两个批次试剂，以表明试剂的生产过程可在要求的参数范围内生产出符合规格的产品，并且是一致的可以重复生产的产品。

申请人分别对反应体系中的细胞前处理时间、抗体孵育时间、复染时间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

本产品分析性能评估内容包括：免疫反应性、特异性、精密度、组织厚度、读片者精密度和外部重复性研究。

1. 免疫反应性研究：

1.1 正常组织免疫反应性研究（特异性）

在正常组织免疫反应性研究中，申请人检测了 33 种正

常组织的免疫反应性（特异性）。33 种正常组织的免疫反应性（特异性）总结如下表 1 所示。

表 1 正常组织免疫反应性（特异性）总结

组织	阳性例数 ^a /总例数	组织	阳性例数 ^a /总例数
肾上腺	1/3	心肌	0/3
膀胱 ^b	0/3	骨骼肌	0/6
乳腺	1/3	骨髓	0/3
小脑 ^c	0/3	外周神经	0/3
大脑	0/3	卵巢	0/3
宫颈	0/2	胰腺 ^d	0/3
结肠	2/3	甲状旁腺	0/3
子宫内膜	2/3	前列腺	0/3
食管	0/3	唾液腺	2/3
垂体 ^d	0/3	皮肤	0/3
小肠	1/3	脾脏	3/3
肾	2/3	胃	0/3
舌腺	0/1	睾丸 ^c	0/3
肝	0/3	胸腺	3/3
肺	1/25	甲状腺	1/3
淋巴结	3/3	扁桃体 ^c	3/3
间皮	0/3		

^a 任何强度的免疫细胞染色

^b 局灶免疫细胞染色

^c 在 1/3 小脑、1/3 睾丸组织和正常扁桃体质控品中观察到局灶性 DAB 斑点

^d 1/3 胰腺和 1/3 脑垂体组织可见核染色

1.2 肿瘤组织的免疫反应性研究（灵敏度）：

在肿瘤组织的免疫反应性研究中，申请人对 51 种组织 54 个样本进行了检测。肿瘤组织免疫反应性（灵敏度）研究

总结如下表 2 所示。

表 2 肿瘤组织免疫反应性（灵敏度）研究总结

病理	阳性例数 ^a /总例数	
	免疫细胞	肿瘤细胞
间皮瘤（腹部）	1/1	0/1
纤维神经瘤（背部）	1/1	0/1
平滑肌肉瘤（膀胱）	0/1	0/1
尿路上皮癌（膀胱）	1/1	0/1
骨肉瘤（骨）	0/1	0/1
浸润性导管癌（乳腺）	1/2	0/2
导管内癌伴早期浸润（乳腺）	1/1	0/1
胶质母细胞瘤（大脑）	1/1	0/1
脑膜瘤（大脑）	0/1	0/1
室管膜瘤（大脑）	0/1	0/1
少突神经胶质瘤（大脑）	0/1	0/1
腺癌（结肠）	1/1	0/1
间质瘤（结肠）	0/1	0/1
神经内分泌癌（食道）	0/1	0/1
腺癌（食道）	1/1	0/1
腺癌（肠）	1/1	0/1
基质肉瘤（肠）	1/1	0/1
透明细胞癌（肾脏）	1/1	0/1
肝细胞癌（肝脏）	0/1	0/1
肝母细胞瘤（肝脏）	1/1	0/1
腺癌（肺）	0/1	0/1
小细胞未分化癌（肺）	1/1	1/1
肺鳞状细胞癌（肺）	1/1	0/1
弥漫性 B 细胞淋巴瘤（淋巴结） ^a	1/1	1/1
霍奇金淋巴瘤（淋巴结）	1/1	1/1
弥漫性 B 细胞淋巴瘤（纵隔） ^b	1/1	1/1
平滑肌肉瘤（平滑肌）	1/1	0/1
胚胎性横纹肌肉瘤（横纹肌）	0/1	0/1
浆液性腺癌（卵巢）	1/1	0/1

腺癌（卵巢）	1/1	0/1
神经内分泌肿瘤（胰腺）	0/1	0/1
胰腺癌（胰腺）	1/1	0/1
间变性大细胞淋巴瘤（盆腔） ^b	1/1	1/1
腺癌（前列腺）	0/2	0/2
腺癌（直肠）	1/1	1/1
中度恶性间质瘤（直肠）	0/1	0/1
黑色素瘤（直肠）	1/1	0/1
神经母细胞瘤（腹膜后腔）	1/1	0/1
梭形细胞横纹肌肉瘤（腹膜后）	0/1	0/1
基底细胞癌（皮肤）	1/1	0/1
鳞状细胞癌（皮肤）	1/1	0/1
弥漫性 B 细胞淋巴瘤（脾脏） ^a	1/1	1/1
印戒细胞癌（胃部）	1/1	0/1
精原细胞瘤（睾丸）	1/1	0/1
胚胎性癌（睾丸）	0/1	0/1
髓样癌（甲状腺）	0/1	0/1
乳头状癌（甲状腺）	0/1	1/1
鳞状细胞癌（宫颈）	2/2	0/2
平滑肌瘤（子宫）	0/1	0/1
腺癌（子宫）	1/1	0/1
子宫内膜透明细胞癌（子宫）	1/1	1/1

^a 任何强度的免疫细胞或肿瘤细胞染色

^b 肿瘤细胞和免疫细胞染色无法区分

2. 特异性研究

申请人在以下不同的条件下孵育同一批抗体：无肽，无关的非特异性肽，或包含抗体结合表位的不同浓度的特异性肽。这些孵育的溶液均代表了抗体最优浓度的 1/2，因为抗体已用肽溶液或单独的缓冲液按 1：1 比例稀释。免疫组化染色结果表明，高摩尔浓度特异性肽对抗体的染色具有完全

抑制作用。非特异性肽对抗体染色没有影响。

对具有不同 PD-L1 蛋白表达水平的 4 种细胞系的全细胞裂解液进行了免疫印迹 (Western Blot) 分析。基于 PD-L1 (SP142) 的免疫组化染色, 选择了用于该研究的细胞系。免疫印迹结果表明这四个细胞系中观察到的 PD-L1 蛋白质的相对水平与通过 IHC 染色确定的 PD-L1 蛋白质表达水平以及 PD-L1 的 mRNA 表达水平相关。未在任何全细胞裂解物中观察到非预期染色或背景染色。

3. 精密性研究

申请人采用三批试剂盒进行了仪器、抗体和检测试剂批次间检测, 采用一批试剂盒分别进行日内、日间、平台内和平台间的检测。

重复性和中间精密度

已完成 VENTANA PD-L1 (SP142) 检测对 NSCLC 标本染色的研究, 可表明:

日内重复性: 每例 NSCLC 标本包含 5 份重复切片, 一日内在单个 BenchMark ULTRA 仪器上使用 VENTANA PD-L1 (SP142) 检测进行染色 (一天一次), 并评估 PD-L1 TC 和 IC 表达。样本组包括了每个 TC 和 IC 检测水平下一定 PD-L1 表达范围内的 24 例 NSCLC 样本。

日间精密度-每例 NSCLC 标本包含 10 份切片, 在 5 个非连续日内在单个 BenchMark ULTRA 仪器上使用 VENTANA PD-L1

(SP142) 检测染色。样本组包括了每个 TC 和 IC 检测水平下一定 PD-L1 表达范围内的 24 例 NSCLC 样本。

仪器、抗体和检测试剂批次精密度-每例 NSCLC 标本至少包含 9 份切片, 使用 VENTANA PD-L1 (SP142) 检测进行染色, 分别使用 3 个批次的 VENTANA PD-L1 (SP142) 抗体、3 对配对批次 OptiView DAB IHC 检测试剂盒和 OptiView 扩增试剂盒在 3 台 Benchmark ULTRA 仪器上进行。样本组包括了每个 TC 和 IC 检测水平下一定 PD-L1 表达范围内的 18 例 NSCLC 样本。

平台内精密度 - 使用三台 Benchmark ULTRA、三台 BenchMark XT 和三台 BenchMark GX 仪器, 通过抗 PD-L1 (SP142) 兔单克隆抗体试剂 (免疫组织化学法) 对每个 NSCLC 标本的 2 个重复切片进行染色。样本组包括了每个 TC 和 IC 检测水平下一定 PD-L1 表达范围内的 10 例 NSCLC 样本。相对每个平台的标本模式计算一致率。

对所有切片进行设盲和随机化研究, 然后评估 PD-L1 TC 或 IC 表达水平。结果总结见表 3 和表 4。

表 3 PD-L1 (SP142) 抗体对 NSCLC 标本(PD-L1 表达 $\geq 50\%$ TC)

染色的重复性和中间精密度

重复性/中间精密度参数	一致率% (95% CI) ^a
日内重复性 (一日之内)	PPA: 100.0 (94.4-100.0)
	NPA: 100.0 (93.5-100.0)
	OPA: 100.0 (96.9-100.0)
日间精密度	PPA: 100.0 (97.1-100.0)

(5 个非连续日)	NPA: 100.0 (96.5-100.0) OPA: 100.0 (98.4-100.0)
仪器间和批次间精密度 (与标本级模式、仪器间和批次间相比)	PPA: 99.7 (98.1-99.9) NPA: 95.2 (91.2-97.5) OPA: 97.9 (96.2-98.9)
平台内精密度 (3 台 BenchMark ULTRA 仪器)	PPA: 100.0 (88.6-100.0) NPA: 100.0 (88.6-100.0) OPA: 100.0 (94.0-100.0)
平台内精度 (3 台 BenchMark XT 仪器)	PPA: 96.7 (83.3-99.4) NPA: 100.0 (88.6-100.0) OPA: 98.3 (91.1-99.7)
平台内精度 (3 台 BenchMark GX 仪器)	PPA: 100.0 (88.6-100.0) NPA: 100.0 (88.6-100.0) OPA: 100.0 (94.0-100.0)

^a 双侧 Wilson 评分法置信区间 (CI)

表 4 PD-L1 (SP142) 抗体对 NSCLC 标本(PD-L1 表达 $\geq 10\%$ IC)

染色的重复性和中间精密度

重复性/中间精密度参数	一致率% (95% CI) ^a
日内重复性 (一日之内)	PPA: 98.3 (91.1-99.7) ^a NPA: 100.0 (94.0-100.0) ^a OPA: 99.2 (95.4-99.9) ^a
日间精密度 (5 个非连续日)	PPA: 96.2 (91.3-98.3) ^a NPA: 98.2 (93.6-99.5) ^a OPA: 97.1 (94.1-98.6) ^a
抗体间和检测试剂间一致率 (配对比较)	APA: 95.1 (91.1-98.1) ANA: 90.2 (82.3-96.2) OPA: 93.4 (88.7-97.5)
仪器间和检测试剂间一致率 (成对比较)	APA: 96.3 (93.2-98.8) ANA: 92.7 (86.0-97.7) OPA: 95.1 (91.2-98.4)
仪器间和抗体间一致率 (配对比较)	APA: 96.3 (93.1-98.8) ANA: 92.6 (85.9-97.8) OPA: 95.1 (91.1-98.4)
平台内精密度	PPA: 100.0 (94.0-100.0) ^a

(3 台 BenchMark ULTRA 仪器)	NPA: 100.0 (94.0-100.0) ^a OPA: 100.0 (96.9-100.0) ^a
平台内精度 (3 台 BenchMark XT 仪器)	PPA: 100.0 (94.0-100.0) ^a NPA: 100.0 (94.0-100.0) ^a OPA: 100.0 (96.9-100.0) ^a
平台内精度 (3 台 BenchMark GX 仪器)	PPA: 100.0 (94.0-100.0) ^a NPA: 100.0 (94.0-100.0) ^a OPA: 100.0 (96.9-100.0) ^a

^a 双侧 Wilson 评分法置信区间 (CI)

平台间一致性

PD-L1 表达 $\geq 50\%$ TC 或 $\geq 10\%$ IC (21 例 PD-L1 $\geq 50\%$ TC 或 $\geq 10\%$ IC, 以及 23 例 PD-L1 $< 50\%$ TC 和 $< 10\%$ IC) 的 44 个 NSCLC 标本的单张切片在一台 Benchmark ULTRA (参考平台)、一台 BenchMark XT 和一台 BenchMark GX 仪器上用 PD-L1 (SP142) 抗体染色。

所有切片使用盲法和随机化进行研究, 然后使用针对 NSCLC 的 VENTANA PD-L1 (SP142) 检测评分算法进行评估。结果总结于表 5。

表 5 NSCLC 标本 (PD-L1 表达 $\geq 50\%$ TC 或 $\geq 10\%$ IC) PD-L1 (SP142) 抗体染色的平台间一致性

平台间一致性	一致率 % (95% CI) ^[a]
BenchMark ULTRA: BenchMark XT	PPA: 95.2 (77.3-99.2) NPA: 100.0 (85.7-100.0) OPA: 97.7 (88.2-99.6)
BenchMark ULTRA: BenchMark GX	PPA: 95.2 (77.3-99.2) NPA: 100.0 (85.1-100.0) OPA: 97.7 (87.9-99.6)

^a 双侧 Wilson 评分法置信区间 (CI)

4. 组织厚度研究

申请人使用 NSCLC 标本评估组织厚度。用 VENTANA PD-L1 (SP142) 检测对 3、4、5、6 和 7 微米处的重复切片进行染色，并评估 PD-L1 TC 和 IC 表达。样本组包括了每个 TC 和 IC 检测水平下一定 PD-L1 表达范围内的至少 8 例 NSCLC 样本。

所有组织厚度均显示了适当的 PD-L1 特异性染色和可接受的 VENTANA PD-L1 (SP142) 检测试剂染色背景水平。在检测的厚度范围内，所有切片均未显示 PD-L1 TC 或 IC 表达水平的变化。使用 VENTANA PD-L1 (SP142) 检测染色时，NSCLC 标本应切为 4 微米厚。

5. 读片者精密度研究

申请人为了评估读片者间和读片者内精密度，3 名病理学家评估了 80 例经 VENTANA PD-L1 (SP142) 检测染色的独立 NSCLC 标本。使用 NSCLC 的 VENTANA PD-L1 (SP142) 检测评分算法评估 PD-L1 表达前，标本均使用盲法和随机化进行研究。读片者对所有标本进行两次评分，两次阅片间隔至少两周。读片者之间和每名病理学家读片之间的一致率总结于表 6 中。

表 6 NSCLC 标本 (PD-L1 表达 $\geq 50\%$ TC 或 $\geq 10\%$ IC) PD-L1 (SP142) 抗体染色的读片者精密度

读片者精密度	一致率%(95% CI)
读片者间精密度	APA : 88.8 (82.0-94.1)
(第一次读片读片者之间)	ANA : 89.0

配对比较的平均值)	(82.2-94.4) OPA : 88.9 (82.8-94.1)
读片者内精密度 (所有3位读片者的首次和第二次读片结果的一致率的平均值)	APA : 93.7 (89.9-96.6) ANA : 93.6 (89.8-96.7) OPA : 93.6 (90.3-96.6)

CI= 置信区间

6. 外部重复性研究

申请人进行了 VENTANA PD-L1 (SP142) 检测的实验室间可重复性研究, 以证明该检测试剂盒测定 NSCLC 组织标本中 PD-L1 状态的可重复性。28 例有 PD-L1 表达的独立 NSCLC 标本在跨越至少 20 天的每个 5 个非连续日内, 在 3 个外部实验室进行染色。染色前, 对切片进行设盲和随机化研究。在每个研究中心, 由 2 名病理学家(读片者)使用 VENTANA PD-L1 (SP142) 检测的 NSCLC 评分算法独立评估染色切片。结果总结于表 7。

表 7 NSCLC 标本 (PD-L1 表达 $\geq 50\%$ TC 或 $\geq 10\%$ IC) 抗 PD-L1 (SP142) 兔单克隆抗体试剂 (免疫组织化学法) 染色的实验

室间可重复性

实验室间可重复性	一致率% (95% CI)
总一致性 (与研究中心、研究日和读片者的一致评分相比)	PPA: 86.6 (83.0-89.5) ^a NPA: 99.8 (98.7-100.0) ^a OPA: 93.2 (91.3-94.7) ^a
中心间一致性 (中心之间配对比较的平均值)	APA: 89.5 (80.9-95.5) ANA: 92.1 (84.4-97.1)

	OPA: 91.0 (90.3-91.6) ^a
读片者间一致性 (每个中心内读片者之间配对比较的平均值)	APA: 93.9 (89.3-97.4) ANA: 95.4 (90.6-98.2) OPA: 94.7 (92.2-96.5) ^a

^a 双侧 Wilson 评分法置信区间 (CI)

(四) 阳性判断值或参考区间研究

在一项 III 期、开放性、多中心、随机研究 G029431 (IMpower110) 中评价了阿替利珠单抗在根据 VENTANA PD-L1 (SP142) 测定 PD-L1 表达 $\geq 1\%$ TC (PD-L1 染色 $\geq 1\%$ 的肿瘤细胞) 或 $\geq 1\%$ IC (PD-L1 染色的肿瘤浸润免疫细胞覆盖 $\geq 1\%$ 的肿瘤区域) 的未经过化疗治疗的初治转移性 NSCLC 患者中的有效性和安全性。

主要终点为总生存期 (OS)。在 OS 中期分析时, PD-L1 高表达患者 (不包括 EGFR 突变或 ALK 重排患者) (n=205) 中, 与化疗组 (B 组) 相比, 随机分配至阿替利珠单抗组 (A 组) 的患者的 OS 出现具有统计学意义的改善。

以上研究表明如果 PD-L1 表达 $\geq 50\%$ TC 或 $\geq 10\%$ IC 则应判定标本存在 PD-L1 高表达。

(五) 稳定性研究

申请人对试剂盒的稳定性研究包括实时稳定性, 开瓶稳定性和机载稳定性研究。

实时稳定性: 使用三批 $2^{\circ}\text{C} \sim 8^{\circ}\text{C}$ 保存的试剂盒, 分别在第 0、6、14、20、26、26 个月取出检测不同样本, 包括非

小细胞肺癌、尿路上皮癌、三阴性乳腺癌、肾细胞癌、卵巢癌和扁桃体组织，结果符合接收标准。因此确定申报产品的货架稳定性为：2~8℃保存，有效期 24 个月。

开瓶稳定性：由于试剂瓶的物理特性，该产品的开瓶稳定性与未开瓶产品的稳定性相同，即 2~8℃保存，有效期 24 个月。

机载稳定性：一个批次的试剂盒进行机载稳定性研究，将该试剂置于 45℃下连续暴露 171 小时（7 个连续日）后样本仍能保持稳定。结果显示机载稳定性为 7 天（基于 45℃稳定性数据）。

三、临床评价摘要

本产品为伴随诊断试剂，是罗氏诊断与罗氏制药共同开发的产品。本次申请提交的临床试验，即为共同开发的临床试验包括 IMpower110 国际多中心临床试验。申请人另外提供了中国境内完成的国内病理医生读片一致性研究。

1. IMpower110

在 IMpower110(NCT02409342)中研究了抗 PD-L1 (SP142) 兔单克隆抗体试剂（免疫组织化学法）的性能，这是一项 III 期、多中心、国际、随机化、开放性试验，纳入 572 例既往未接受过转移性疾病化疗的 IV 期 NSCLC 患者，包括携带 EGFR 突变或 ALK 重排的患者。该研究旨在评估 TECENTRIQ 相对于由铂类药物（顺铂或卡铂，由研究者酌情决定）联合培美曲

塞（非鳞状疾病）或吉西他滨（鳞状疾病）组合化疗的安全性和疗效。

使用 VENTANA PD-L1（SP142）Assay 对患者标本进行染色，并评估染色可接受性和 PD-L1 表达。患者标本为来自活检（66.0%）、切除（15.7%）或其他类型（18.3%）的 FFPE NSCLC 组织；72.4%来自原发性肿瘤，27.6%来自转移性肿瘤。

表 8 描述了 VENTANA PD-L1（SP142）Assay 在评估研究中的所有 NSCLC 受试者中的总体染色可接受率。还报告了 PD-L1 染色切片的形态学可接受率和背景染色可接受率。在共计 2909 例受试者中，65 例受试者的样本未能通过初始染色尝试。重复染色时，65 例受试者中有 15 例的结果仍不可接受（14 例由于不可接受的阴性试剂质控品，1 例由于不可接受的形态学结果）。VENTANA PD-L1（SP142）Assay 显示出较高的初始（即，初始染色-通过）和最终总体染色可接受率：分别为 97.8%和 99.5%。背景染色和形态的初始和最终可接受率均大于 99%。

表 8 在 IMpower110 中 VENTANA PD-L1（SP142）Assay 对 NSCLC 染色的性能特征

属性	可接受率% (n/N) (95% CI) ^a	
	初始 ^b	最终 ^c
总体染色可接受率	97.8 (2844/2909) (97.2-98.2)	99.5 (2894/2909) (99.2-99.7)
形态学	99.4 (2844/2860) (99.1-99.7)	100.0 (2894/2895) (99.8-100.0)

背景	100.0 (2844/2844) (99.9-100.0)	100.0 (2894/2894) (99.9-100.0)
----	-----------------------------------	-----------------------------------

^a 双侧 Wilson 评分法置信区间 (CI)

^b 初始染色尝试 ° 最终染色尝试

IMpower110 研究评价了阿替利珠单抗在未经化疗的转移性 NSCLC 患者中的疗效和安全性。基于抗 PD-L1 (SP142) 兔单克隆抗体试剂 (免疫组织化学法), 患者的 PD-L1 表达 $\geq 1\%$ TC ($\geq 1\%$ 的肿瘤细胞 PD-L1 染色) 或 $\geq 1\%$ IC (PD-L1 染色的肿瘤浸润免疫细胞覆盖 $\geq 1\%$ 的肿瘤区域)。

总共 572 例患者以 1:1 的比例随机分配接受阿替利珠单抗 (A 组) 或化疗 (B 组)。每 3 周静脉输注阿替利珠单抗 1200 mg 固定剂量, 直到研究者评估其已丧失临床获益或出现不可接受的毒性。根据性别、ECOG 体能状态、组织学以及 TC 和 IC 的 PD-L1 肿瘤表达对随机分组进行分层。

如果患者有自身免疫性疾、在随机化前 28 天内接受过减毒活疫苗接种、在随机化前 4 周内接受过全身性免疫刺激剂给药或在随机化、活动性或未经治疗的 CNS 转移前 2 周内接受过全身性免疫抑制剂给药或未经治疗或皮质类固醇依赖性脑转移的病史, 则将其排除。在第 1 周期第 1 天后, 前 48 周内, 每 6 周进行一次肿瘤评估, 此后每 9 周进行一次。

治疗组之间 PD-L1 表达 $\geq 1\%$ TC 或 $\geq 1\%$ IC 且无 EGFR 突变或 ALK 重排的患者 ($n = 554$) 的人口统计信息和基线疾病特征良好平衡。中位年龄为 64.5 岁 (范围: 30 至 87), 70% 的患者是男性。大部分患者是白人 (84%) 和亚裔 (14%)。

大多数患者为目前吸烟者或既往吸烟者（87%），患者基线 ECOG 体能状态为 0（36%）或 1（64%）。总体而言，69% 的患者患有非鳞状疾病，31% 的患者为鳞状疾病。高 PD-L1 表达（PD-L1 $\geq$ 50% TC 或 $\geq$ 10% IC）且无 EGFR 突变或 ALK 重排的患者（n=205）的人口统计信息和基线疾病特征基本代表了广泛的研究人群，并且治疗组之间良好平衡。

主要终点为总生存期（OS）。中期 OS 分析时，在 PD-L1 高表达患者（不包括 EGFR 突变或 ALK 重排的患者）（n=205）中，随机分配接受阿替利珠单抗的患者（A 组）与化疗（B 组）相比，OS 具有统计学显著改善（HR 为 0.59，95% CI: 0.40, 0.89；中位 OS 为 20.2 个月 vs 13.1 个月）。PD-L1 高表达患者的中位生存随访时间为 15.7 个月。在对这些患者进行更长时间随访（中位数：31.3 个月）的探索性 OS 分析中，相对于主要 OS 中期分析（20.2 个月），阿替利珠单抗组的中位 OS 保持不变，而化疗组为 14.7 个月（HR 0.76，95% CI: 0.54, 1.09）。中期分析的关键结果总结在表 9 中。

表 9 PD-L1 高表达 $\geq$ 50% TC 或 $\geq$ 10% IC 的患者的疗效总结
(IMpower110)

疗效终点	A 组 (阿替利珠单抗)	B 组 (化疗)
主要终点		
OS 分析	n = 107	n = 98
死亡数量 (%)	44 (41.1%)	57 (58.2%)
至事件发生的中位时间 (月)	20.2	13.1

95% CI	(16.5, NE)	(7.4, 16.5)
分层风险比 ^a (95% CI)	0.59 (0.40, 0.89)	
p 值 ^a	0.0106	
12 个月 OS (%)	64.9	50.6
次要终点		
研究人员评估 PFS (RECIST v1.1)	n = 107	n = 98
事件数 (%)	67 (62.6%)	79 (80.6%)
PFS 的中位持续时间 (月)	8.1	5.0
95% CI	(6.8, 11.0)	(4.2, 5.7)
分层风险比 ^a (95% CI)	0.63 (0.45, 0.88)	
12 个月 PFS (%)	36.9	21.6
研究者评估的 ORR (RECIST 1.1)	n = 107	n = 98
缓解者人数 (%)	41 (38.3%)	28 (28.6%)
95% CI	(29.1, 48.2)	(19.9, 38.6)
完全缓解数量 (%)	1 (0.9%)	1 (1.0%)
部分缓解数量 (%)	40 (37.4%)	27 (27.6%)
研究者评估的 DOR (RECIST 1.1)	n = 41	n = 28
中位, 月	NE	6.7
95% CI	(11.8, NE)	(5.5, 17.3)

^a 按性别和 ECOG 体能状态进行分层 (0 vs. 1)

PFS = 无进展生存期; RECIST = 实体瘤疗效评价标准 v1.1; CI = 置信区间;
ORR = 客观缓解率; DOR = 缓解持续时间; OS = 总生存期; NE = 不可估计。

2. 国内病理医生读片一致性研究

申请人在北京肿瘤医院、华中科技大学同济医学院附属同济医院和南京大学医学院附属鼓楼医院进行了国内病理医生读片一致性研究。选定 1 家参与本研究的临床试验机构入组本次试验所需的所有福尔马林固定、石蜡包埋的组织标本。切片后用考核试剂上机检测并判读, 随后筛选出至少 120 张涵盖 PD-L1 不同表达水平的合格染色片。由 3 家临床试验机构的 6 位经判读培训合格的病理医生 (每家临床试验机构

2 位病理医生，病理专业执业年限分别 <5 年和 ≥ 5 年）将所有至少 120 张染色片每人独立判读一次。对判读结果进行定性统计分析，评价不同临床试验机构之间、及不同资历病理医生之间判读的精密度。

基于纳入判读精密度试验标本的结果，将 3 家研究机构病理医生按资历水平进行分组（高资历病理医生组和低资历病理医生组），分别比较不同研究机构之间的判读精密度，两组的总体符合率均大于 85%，95%CI 下限均大于 80%；平均阴性符合率均大于 90%，95%CI 下限均大于 85%；关于平均阳性符合率，高资历水平组为 81.5%，低资历水平组为 78.3%，其 95%CI 下限分别为 72.8%和 68.8%；Kappa 值分别为 0.736 [95%CI: 0.628, 0.833]、0.693 [95%CI: 0.578, 0.797]。结果显示不同临床试验机构之间的判读精密度较好。

对 3 家临床试验机构不同资历病理医生之间的判读结果进行汇总分析，不同资历病理医生之间判读的总体符合率、平均阴性符合率、平均阳性符合率均大于 90%，95% CI 均大于 85%，Kappa 值为 0.880 [95%CI: 0.818, 0.930]。结果显示同一临床试验机构内不同资历病理医生间的判读精密度良好。

综上所述，该产品临床试验资料对产品的临床性能进行了较全面研究，临床试验符合要求。

四、风险分析及说明书提示

参照“ISO 14971:2012 医疗器械风险管理对医疗器械的应用”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：

IHC 是一个多步骤的诊断过程，需要对选择合适的试剂、组织选择、固定、处理、制备免疫组织化学切片和解读染色结果进行专门培训。

组织染色取决于染色前组织的处理。不正确的固定、冻存、解冻、清洗、干燥、加热、切片或被其他组织或液体污染，均可能会产生假象、抗体捕获或假阴性结果。不一致的结果可能是由于固定和包埋方法变化，或组织内固有的不规则性造成的。

过度或不完全的复染可能会影响对结果进行正确解读。

必须在临床病史、形态学和其他组织病理学标准的背景下，对存在任何阳性染色或无阳性染色的临床解读进行评估。对于存在任何染色或无染色的临床解读，必须通过形态学检测和系统水平质控品以及其他诊断性测试来进行补充。合格病理学家有责任熟悉用于解读染色制备过程中的抗体、试剂和方法。必须在经过认证的许可实验室中，且在病理学家的监督下进行染色，病理学家负责检查染色切片，并确保阳性和阴性质控品的充分性。

提供最佳稀释度的 VENTANA 抗体和试剂以供使用，请遵循提供的说明。任何与推荐检测程序的偏差都可能会导致预

期结果无效。必须合理地使用质控品并记录。

本产品不适用于流式细胞仪，其性能特征尚未确定。

试剂在既往未经检测的组织中可能出现意外反应。由于肿瘤或其他病理组织中抗原表达存在生物学差异，即使在受检测组织组中也不可能完全排除意外反应的可能性。

感染乙型肝炎病毒并含有乙型肝炎表面抗原（HBsAg）的人组织可能出现辣根过氧化物酶非特异性染色

由于蛋白质或底物反应产物的非免疫结合，可能出现假阳性结果。其也可能由假过氧化物酶活性（红细胞）、内源性过氧化物酶活性（细胞色素 C）或内源性生物素（例如：肝，脑，乳腺，肾）导致，这取决于所用免疫染色的类型。

与任何免疫组织化学检测一样，阴性结果意味着未检测到抗原，而不意味着受检测的细胞或组织中不存在抗原。

该产品的风险管理计划已得到适当实施，并采取了适当的方法来获得生产和后期生产信息。在风险管理计划中提到的适当研发时间点对风险文件进行了审查。通过风险分析，确定其效益大于剩余的残余风险。

尽管目前认为该产品的受益大于风险，但为保证用械安全，基于对主要剩余风险的防控，已在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

本申报项目为境外第三类体外诊断试剂产品注册，属于优先审批项目（编号：20180033）。申请人的注册申报资料符合现行要求，依据《医疗器械监督管理条例》（国务院令 第 680 号）、《体外诊断试剂注册管理办法》（国家食品药品监督管理总局令 2014 年第 5 号）等相关医疗器械法规与配套规章，经系统评价后，建议准予注册。鉴于本试剂是与药物联合开发的伴随诊断试剂，其药品“阿替利珠单抗（泰圣奇 Tecentriq）”在境内为附条件批准：在 5 年内完成“一项在 PD-L1 高表达、未接受过化疗的 IV 期非鳞状或鳞状非小细胞肺癌患者中比较阿替利珠单抗（抗 PD-L1 抗体）与含铂双药化疗的 III 期随机研究（方案编号：ML42606）”。延续注册时，该产品应同步提交相关研究资料，届时将依据此项资料对产品进行再次评价。

2021 年 06 月 17 日

附件：产品说明书

抗 PD-L1 (SP142)兔单克隆抗体试剂（免疫组织化学法）

【产品名称】

通用名称：抗 PD-L1 (SP142)兔单克隆抗体试剂（免疫组织化学法）

英文名称：VENTANA PD-L1 (SP142) Assay

【包装规格】

50 测试/盒

【预期用途】

该产品用于定性检测福尔马林固定、石蜡包埋的组织切片中的程序性死亡配体-1 (PD-L1) 蛋白表达水平。用于辅助识别采用 TECENTRIQ®（阿替利珠单抗）治疗非小细胞肺癌（NSCLC）的患者，阈值为任何染色强度的 $\geq 50\%$ TC（PD-L1 表达肿瘤细胞百分比）或任何染色强度的 $\geq 10\%$ IC（PD-L1 表达肿瘤浸润性免疫细胞占肿瘤区域面积的比例）。具体内容如下：

抗 PD-L1 (SP142)兔单克隆抗体试剂（免疫组织化学法）（VENTANA PD-L1 (SP142) Assay）预期用于在 BenchMark IHC/ISH 全自动染色仪

（BenchMark GX、BenchMark XT 和 BenchMark ULTRA）上运行，通过 DAB 染色液（OptiView DAB IHC Detection Kit）和 DAB 染色增强液（OptiView Amplification Kit）染色，对福尔马林固定、石蜡包埋（FFPE）组织切片中肿瘤细胞和肿瘤浸润性免疫细胞中程序性死亡配体 1（PD-L1）蛋白进行定性免疫组化评估。PD-L1 状态的评估需要针对特定的适应症，可基于任何强度的 PD-L1 表达肿瘤浸润性免疫细胞占肿瘤区域面积的比例（%IC）或任何强度的 PD-L1 表达肿瘤细胞百分比（%TC）进行评估。

抗 PD-L1 (SP142)兔单克隆抗体试剂（免疫组织化学法）适用于辅助识别表 1 中列出的相应适应症和阈值进行治疗的患者。

表 1. 抗 PD-L1 (SP142)兔单克隆抗体试剂（免疫组织化学法）伴随诊断适应症。

适应症	治疗	阈值
非小细胞肺癌（NSCLC）	TECENTRIQ®（阿替利珠单抗）	$\geq 50\%$ TC 或 $\geq 10\%$ IC

该药品适应症的具体信息参见国家药监局批准的药品说明书。该药品适应症的完全批准将取决于 ML42606 试验证实本品在中国人群的临床获益。

该产品检测结果应由具备资质的病理科医生综合考虑组织学检查结果、相关临床信息以及适当的质控对本品加以解释。

本产品预期用于体外诊断（IVD）。

摘要和说明

抗 PD-L1 (SP142)兔单克隆抗体试剂（免疫组织化学法）是一种免疫组织化学检测，利用抗 PD-L1 兔单克隆一抗识别并检测 PD-L1 蛋白。该检测由 Roche/Ventana Medical Systems, Inc.（Ventana）和 Roche/Genentech 共同开发，用于鉴别最有可能对 TECENTRIQ®（阿替利珠单抗）治疗响应的患者。

PD-L1 是一种跨膜蛋白，可通过与其两个受体程序性死亡-1(PD-1)和 B7.1 结合，下调免疫应答。¹PD-1 是一种在 T 细胞活化后表达于 T 细胞的抑制性受体，在慢性刺激（如慢性感染或癌症）状态下持续激活。¹PD-L1 与 PD-1 结合后，抑制 T 细胞增殖、细胞因子产生和细胞凋亡程序，导致 T 细胞功能失活或衰竭。^{1,2}B7.1 是在抗原呈递细胞和活化 T 细胞上表达的一种分子。^{1,2}PD-L1 与 T 细胞和抗原呈递细胞上的 B7.1 结合后，下调免疫应答反应，包括抑制 T 细胞活化和细胞因子生成。²已在免疫细胞和肿瘤细胞检测到 PD-L1 表达，另据报道，肿瘤细胞上的 PD-L1 异常表达会阻碍抗肿瘤免疫，导致免疫逃逸。^{1,3}因此，阻断 PD-L1/PD-1 通路是重新激活被肿瘤微环境中 PD-L1 表达抑制的肿瘤特异性 T 细胞免疫的一个极具潜力的治疗策略。在多种癌症中报告了肿瘤细胞或肿瘤浸润免疫细胞（IC）中的 PD-L1 表达与 PD-L1/PD-1 检查点抑制剂的临床治疗获益之间的相关性。³⁻⁶

阿替利珠单抗是一种 Fc-工程化、人源化单克隆抗体，可结合 PD-L1 并阻断与 PD-1 和 B7.1 受体的相互作用。³⁻⁶Atezolizumab 阿替利珠单抗是一种非糖基化 IgG1 κ 免疫球蛋白，计算其分子量为 145 kDa。

【检测原理】

抗 PD-L1 (SP142)兔单克隆抗体试剂（免疫组织化学法）是一种兔单克隆一抗，可与石蜡包埋组织切片中的 PD-L1 蛋白特异性结合。这种特异性抗体可通过 DAB 染色液（OptiView DAB IHC Detection Kit）联合 DAB 染色增强液（OptiView Amplification Kit）显色，以进行可视化观察。欲了解更多信息，请参见相应的 DAB 染色液（OptiView DAB IHC Detection Kit）和 DAB 染色增强液（OptiView Amplification Kit）试剂盒的说明书。

【主要组成成分】

重组兔单克隆抗体（克隆号：SP142），抗体使用含载体蛋白、叠氮化钠、EDTA 和 Brij-35 的 Tris 缓冲溶液稀释。具体内容如下：

VENTANA PD-L1（SP142）Assay 含有足够供 50 次检测用的试剂。

一支 5mL VENTANA PD-L1（SP142）Assay 分液器含有约 36 µg 的兔单克隆抗体。

抗体使用含有 0.3%载体蛋白和 0.05 %叠氮化钠（一种防腐剂）、0.01 M EDTA 和 0.05% Brij-35 的 0.05 M Tris 缓冲溶液稀释。

该试剂的总蛋白浓度约为 3 mg/mL。特异性抗体浓度约为 7 µg/mL。

VENTANA PD-L1（SP142）Assay 是一种从细胞纯化培养液上清液中生产获得的重组兔单克隆抗体。

有关抗 PD-L1 (SP142)兔单克隆抗体试剂（免疫组织化学法）染色结果的详细判读说明，请参阅非小细胞肺癌（NSCLC）≥50% TC 或 ≥10% IC 逐步评分算法的抗 PD-L1 (SP142)兔单克隆抗体试剂（免疫组织化学法）判读指南（P/N 1015703）。

有关以下内容的详细说明，请参阅相应的 VENTANA 检测试剂盒方法说明书：检测原理、材料和方法、分析用样本采集和制备、质量控制过程、故障排除、结果解读和一般局限性。

需要但未提供的物品

未提供染色试剂，例如 VENTANA 检测试剂盒和辅助组分，包括阴性和阳性组织质控片。

染色可能需要以下试剂和材料，但未提供：

1. 用作质控组织的良性人体扁桃体组织
2. 带正电荷的显微镜载玻片
3. 兔单克隆阴性质控抗体 Rabbit Monoclonal Negative Control Ig（国械注进 20173406913）
4. DAB 染色液 OptiView DAB IHC Detection Kit（国械备 20151018）
5. DAB 染色增强液 OptiView Amplification Kit（国械备 20181039 号）
6. 清洗液 EZ Prep Concentrate (10X)（国械备 20151560 号）
7. 清洗液 Reaction Buffer Concentrate (10x)（国械备 20160944 号）
8. 缓冲液 LCS(Predilute)（国械备 20151562 号）
9. 缓冲液 ULTRA LCS (Predilute)（国械备 20151711 号）

10. 免疫组化抗原修复缓冲液 Cell Conditioning Solution (CC1)（国械备 20151564 号）
11. 免疫组化抗原修复缓冲液 ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1)（国械备 20151060）
12. 苏木素染色液 Hematoxylin II(国械备 20150245)
13. 返蓝染色液 Bluing Reagent（国械备 20150244）
14. 永久封片剂
15. 盖玻片
16. 自动封片机
17. 通用实验室设备
18. BenchMark IHC/ISH 全自动染色仪(BenchMark GX、BenchMark XT 和 BenchMark ULTRA)

【储存条件及有效期】

实时稳定性: 2~8℃ 保存，有效期 24 个月。

开瓶稳定性: 2~8℃ 保存，有效期 24 个月。

机载稳定性: 7 天(基于 45℃ 稳定性数据)。

生产日期和失效期：见标签。

在收到后不使用时，储存于 2~8° C，切勿冷冻。

为确保正确地试剂输送和抗体的稳定性，每次使用后要重新盖上分液器盖，并立即将分液器向上置于冰箱中。

每一支抗体分液器均标注有效期。如果正确储存，试剂可稳定至标签指示的有效期结束。切勿使用过期试剂。

【适用仪器】

自动染片机 BenchMark GX（国械备 20140160）

全自动免疫组化染色仪 BenchMark XT（国械备 20160025 号）

全自动免疫组化染色系统 BenchMark ULTRA（国械备 20160026 号）

【样本要求】

与 VENTANA 检测试剂盒以及 VENTANA BenchMark IHC/ISH 仪器（BenchMark GX、BenchMark XT 和 BenchMark ULTRA）一起使用时，该一抗适用于经过常规处理的 FFPE 组织。建议组织固定在 10%中性福尔马林缓冲液（NBF）中至少 6 小时，最长 72 小时。固定时间少于 6 小时可能会导致 PD-L1 染色缺失。使用的 NBF 体积为组织体积的 15 至 20 倍。在 24 小时内，没有一种固定剂会渗透超过 2 至 3mm 的实体组织或 5mm 的多孔组织。固定可在室温（15~25° C）下进行。^{7,8}

固定剂如酒精-福尔马林-醋乙酸（AFA）、PREFER 固定剂和其他含酒精的固定剂在所有检测的固定时间（1~72 小时）均显示 PD-L1 特异性染色缺失；不建议用于本检测。有关样本制备对 PD-L1 染色强度的影响的进一步讨论，请参见判读指南。

切片厚度应约为 4 μm，并固定在带正电荷的玻璃载玻片上。应立即对切片进行染色，因为切割组织切片的抗原性可能会随时间降低，并可能在从石蜡块切割 NSCLC 和扁桃体标本后 2 个月，其抗原性会降低（参见下文的判读指南和性能特征部分）。

【检测方法】

染色过程

VENTANA PD-L1（SP142）Assay 开发用于在 BenchMark IHC/ISH 全自动染色仪器（BenchMark GX、BenchMark XT 和 BenchMark ULTRA）上与 VENTANA 检测试剂盒和配件联合使用。有关推荐的染色方案和所需的染色程序，请参见表 2。任何与推荐检测程序的偏差都可能会导致预期结果无效。必须合理地使用质控并记录在案。偏离推荐检测程序的用户必须负责对检测结果作出解释。

该抗体已针对特定孵育时间进行了优化，但用户必须对该试剂获得的结果进行验证。

根据仪器用户指南中的程序，可以查看、打印和编辑自动程序的参数。有关免疫组织化学染色程序的更多详细信息，请参阅相应的 VENTANA 检测试剂盒说明书。

表 2 BenchMark IHC/ISH 全自动染色仪器上使用 VENTANA PD-L1（SP142）Assay、兔单克隆阴性质控抗体结合 DAB 染色液（OptiView DAB IHC Detection Kit）和 DAB 染色增强液（OptiView Amplification Kit）联合使用的推荐染色方案。

染色程序：	ULTRA VENTANA PDL1 （SP142） XT VENTANA PDL1（SP142） GX VENTANA PDL1（SP142）
方案步骤	参数输入
烤片	可选
抗体（一抗）	选择 VENTANA PD-L1 （SP142）或选择阴性质控品
复染	苏木素 II，4 分钟
后复染	蓝染试剂，4 分钟

【检测结果的解释】

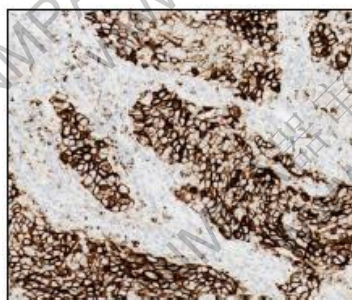


图 1：非小细胞肺癌中的 PD-L1 表达

质量控制程序

兔单克隆阴性质控抗体

必须为每个标本运行匹配的阴性试剂质控切片，以辅助结果解读。兔单克隆阴性质控抗体（阴性试剂质控抗体）与该检测特异性匹配，并用于替代一抗以评估非特异性染色。阴性试剂质控品的染色程序应与一抗孵育期相同。使用不同的阴性质控试剂，或未使用推荐的阴性质控试剂可能会导致错误的结果。

扁桃体组织质控

每次染色运行必须包含组织质控。推荐良性人体扁桃体组织作为质控组织。质控组织应尽快固定，并使用与患者组织相同的方式处理。该组织可以监测从组织制备到染色的所有分析步骤。扁桃体组织包含 PD-L1 蛋白的阳性和阴性染色成分，因此适合作为组织质控品。阳性和阴性染色组织成分可用于验证检测功能正常。

表 3 和判读指南中描述了扁桃体组织成分的可接受染色结果。

检测验证

在诊断程序中首次使用抗体或染色系统之前，应通过已知具有代表性 PD-L1 阳性和阴性的 IHC 染色结果的组织进行检测，来验证抗体的特异性（参见产品说明书本节之前概述的质量控制程序，并参见美国病理学家实验室认证计划中的质量控制建议，解剖病理检查表¹¹或 CLSI 指南¹²）。对于每个新的抗体批次，或者每当检测参数发生变化时，应重复进行这些质量控制程序。具有已知 PD-L1 状态 NSCLC 组织和良性人体扁桃体组织样本适用于进行检测验证。

染色解释/预期结果

VENTANA 自动免疫染色程序可使由 VENTANA PD-L1（SP142）Assay 抗体定位的抗原位点处产生棕色 DAB 反应产物沉淀。染色切片应由具备资质

的病理学家使用光学显微镜进行解读。对 IHC 程序有经验的合格病理学家必须在解读结果之前，评估组织质控品，并对染色产品进行性能评估。

扁桃体组织质控解释

应对染色的扁桃体组织质控进行适当染色检查。在生发中心的巨噬细胞和淋巴细胞以及扁桃体的网状隐窝上皮细胞中存在 PD-L1 染色，可作为阳性组织对照成分。浅表鳞状上皮无染色，扁桃体滤泡间区阴性免疫细胞可作为阴性组织对照成分。可接受标准见表 3（参阅判读指南，进行进一步讨论）。

如果组织质控品未能显示适当的染色，组织标本的任何染色结果均应视为不可评估，应重复染色程序。

表 3. 扁桃体组织质控评估标准

可接受	不可接受
阳性组织成分：生发中心处的淋巴细胞和巨噬细胞应呈中至强 PD-L1 染色，网状隐窝上皮细胞呈弥漫性染色。	过多的非特异性背景染色影响了 PD-L1 阳性细胞的评估。
阴性组织成分：滤泡间区域免疫细胞为 PD-L1 阴性染色以及浅表鳞状上皮染色阴性。	生发中心的淋巴细胞和巨噬细胞以及网状隐窝上皮细胞中的 PD-L1 染色较弱或没有染色。

阴性试剂质控品

如果存在非特异性染色，可以表现为弥漫性染色，并且可通过使用兔单克隆阴性质控抗体染色的阴性试剂质控片来评估。应使用完整细胞来解读染色结果，因为坏死或变形的细胞经常有非特异性染色。如果背景染色过度，则检测标本的结果视为无效。判读指南中提供了该检测的背景染色示例。

患者组织

肿瘤细胞（TC）评分为存在任何强度的可识别 PD-L1 膜染色的肿瘤细胞的百分比。肿瘤浸润免疫细胞（IC）按任何强度的 PD-L1 染色 IC 占据肿瘤区域面积的比例评分，包括相关的瘤内和邻近瘤周间质。必须根据该适应症的“性能特征”章节中提供的适应症特异性 VENTANA PD-L1（SP142）Assay 评分算法评估患者组织。更多说明和代表性图像请参见适应症特异性判读指南。

【检测方法的局限性】

一般局限性

1. IHC 是一个多步骤的诊断过程，需要对选择合

适的试剂、组织选择、固定、处理、制备免疫组织化学切片和解读染色结果进行专门培训。

2. 组织染色取决于染色前组织的处理。不正确的固定、冻存、解冻、清洗、干燥、加热、切片或被其他组织或液体污染，均可能会产生假象、抗体捕获或假阴性结果。结果的不一致可能是由于固定和包埋方法变化，或组织内固有的不规则性造成的。
3. 过度或不完全的复染可能会影响对结果进行正确解读。
4. 必须在临床病史、形态学和其他组织病理学标准，对存在任何阳性染色或无阳性染色的临床解读进行评估。对于存在任何染色或无染色的临床解读，必须通过形态学检测和系统级质控品以及其他诊断检测来进行补充。合格病理学家有责任熟悉用于解读染色制备过程中的抗体、试剂和方法。必须在经过认证的许可实验室中，且在病理学家的监督下进行染色，病理学家负责检查染色切片，并确保阳性和阴性质控品的充分性。
5. 提供最佳稀释度的 VENTANA 抗体和试剂以供使用，请遵循提供的说明。任何与推荐检测程序的偏差都可能会导致预期结果无效。必须合理地使用质控品并记录。偏离推荐检测程序的用户必须对患者结果的解读负责。
6. 本产品不适用于流式细胞仪，其性能特征尚未确定。
7. 试剂在既往未经检测的组织中可能出现非预期反应。由于肿瘤或其他病理组织中抗原表达存在生物学差异，即使在受检测组织组中也不可能完全排除非预期反应的可能性。^{13,14}
8. 感染乙型肝炎病毒并携带有乙型肝炎表面抗原（HBsAg）的人组织可能出现辣根过氧化物酶非特异性染色。¹⁵
9. 由于蛋白质或底物反应产物的非免疫结合，可能出现假阳性结果。其也可能由假过氧化物酶活性（红细胞）、内源性过氧化物酶活性（细胞色素 C）或内源性生物素（例如：肝，脑，乳腺，肾）导致，这取决于所用免疫染色的类型。¹⁶
10. 与任何免疫组织化学检测一样，阴性结果意味着未检测到抗原，而不意味着受检测的细胞或组织中不存在抗原。

特殊局限性

1. 抗 PD-L1 (SP142) 兔单克隆抗体试剂 (免疫组织化学法) 仅获批在 BenchMark IHC/ISH 全自动染色仪 (BenchMark GX, BenchMark XT 和 BenchMark ULTRA) 上与 DAB 染色液 (OptiView DAB IHC Detection Kit) 和 DAB 染色增强液 (OptiView Amplification Kit) 联合使用, 其未经批准用于任何其他检测或仪器。
2. 患者标本切片应使用兔单克隆阴性质控抗体染色。其他阴性质控试剂不适用于该检测。
3. 该检测未在细胞学样本或脱钙样本中进行验证。
4. 对于 NSCLC 和扁桃体组织, 组织标本应在组织块切片 2 个月内进行染色。在室温下储存超过该时间段的组织切片中, 使用 VENTANA PD-L1 (SP142) Assay 染色时, 观察到染色性能缺失。
5. 建议将样本在 10%NBF 中固定 6~72 小时。使用非推荐的固定时间或固定剂类型可能导致假阴性结果。固定剂 (例如 AFA、PREFER 固定剂和其他含酒精的固定剂) 已证实特异性 PD-L1 蛋白染色缺失。进一步讨论请参考判读指南。
6. 如果 DAB 斑点、空白斑点、DAB 斑点和/或斑点等伪影干扰 VENTANA PD-L1 (SP142) Assay 检测的判读, 则可能需要重复染色。始终将 PD-L1 染色的切片与阴性试剂质控进行比较, 以确保背景染色可接受。进一步讨论请参考判读指南。
7. 在良性人体扁桃体质控品、小脑和睾丸组织中偶尔观察到 DAB 斑点, 在正常胰腺 (腺泡细胞) 和垂体组织中观察到局灶性核染色 (表 4), 但是核染色不包括在 VENTANA PD-L1 (SP142) Assay 检测染色的评分中。

【产品性能指标】

分析性能 - 通用

进行了染色特异性、灵敏度、组织厚度影响、重复性和中间精密度试验, 以及阅片员精密度、实验室间再现性和临床试验的结果列于下一节。

一般分析评论

除非另有说明, 否则所有研究 (不包括临床疗效研究) 的一致性估计值的双侧 95% 置信区间均使用百分位数自举法 (bootstrap) 从 2000 份自举样本中计算。如果阳性一致率 (PPA)、阴性一致率 (NPA) 或总体一致率 (OPA) 的点估计值为 0% 或 100%, 则采用 Wilson 评分法计算 95% 置信区间。若配对比较的平均阳性一致率 (APA) 和平均阴性一致率

(ANA) 的点估计值均为 0% 或 100%, 则采用转换 Wilson 评分法计算 95% 置信区间。

灵敏性和特异性

如表 4 和表 5 中所述, 用 VENTANA PD-L1 (SP142) Assay 检测对含有各种正常和肿瘤组织的阵列进行染色, 并评估是否存在免疫细胞染色 (任何强度的任何免疫细胞染色)。

表 4. 通过检测福尔马林固定的、石蜡包埋的正常组织测, 确定 VENTANA PD-L1 (SP142) Assay 染色的灵敏度/特异性。

组织	阳性例数 ^a /总例数	组织	阳性例数 ^a /总例数
肾上腺	1/3	心肌	0/3
膀胱 ^b	0/3	骨骼肌	0/6
乳腺	1/3	骨髓	0/3
小脑 ^c	0/3	外周神经	0/3
大脑	0/3	卵巢	0/3
宫颈	0/2	胰腺 ^d	0/3
结肠	2/3	甲状旁腺	0/3
子宫内膜	2/3	前列腺	0/3
食管	0/3	唾液腺	2/3
垂体 ^d	0/3	皮肤	0/3
小肠	1/3	脾脏	3/3
肾	2/3	胃	0/3
舌腺	0/1	睾丸 ^c	0/3
肝	0/3	胸腺	3/3
肺	1/25	甲状腺	1/3
淋巴结	3/3	扁桃体 ^c	3/3
间皮	0/3		

^a 任何强度的免疫细胞染色 ^b 局灶免疫细胞染色

^c 在 1/3 小脑、1/3 睾丸组织和正常扁桃体质控组织中观察到局灶性 DAB 斑点

^d 1/3 胰腺和 1/3 脑垂体组织可见核染色

灵敏度

如表 5 所述, 针对 VENTANA PD-L1 (SP142) Assay 染色的免疫细胞和肿瘤细胞, 评估了一个肿瘤组织阵列。

表 5.通过检测多种福尔马林固定、石蜡包埋肿瘤组织测定了 VENTANA PD-L1 (SP142) Assay 染色的灵敏度/特异性。

病理	阳性例数 ^a /总例数	
	免疫细胞	肿瘤细胞
间皮瘤（腹部）	1/1	0/1
纤维神经瘤（背部）	1/1	0/1
平滑肌肉瘤（膀胱）	0/1	0/1
尿路上皮癌（膀胱）	1/1	0/1
骨肉瘤（骨）	0/1	0/1
浸润性导管癌（乳腺）	1/2	0/2
导管内癌伴早期浸润（乳腺）	1/1	0/1
胶质母细胞瘤（大脑）	1/1	0/1
脑膜瘤（大脑）	0/1	0/1
室管膜瘤（大脑）	0/1	0/1
少突神经胶质瘤（大脑）	0/1	0/1
腺癌（结肠）	1/1	0/1
间质瘤（结肠）	0/1	0/1
神经内分泌癌（食道）	0/1	0/1
腺癌（食道）	1/1	0/1
腺癌（肠）	1/1	0/1
基质肉瘤（肠）	1/1	0/1
透明细胞癌（肾脏）	1/1	0/1
肝细胞癌（肝脏）	0/1	0/1
肝母细胞瘤（肝脏）	1/1	0/1
腺癌（肺）	0/1	0/1
小细胞未分化癌（肺）	1/1	1/1
肺鳞状细胞癌（肺）	1/1	0/1
弥漫性 B 细胞淋巴瘤（淋巴结） ^b	1/1	1/1
霍奇金淋巴瘤（淋巴结）	1/1	1/1
弥漫性 B 细胞淋巴瘤（纵隔） ^b	1/1	1/1
平滑肌肉瘤（平滑肌）	1/1	0/1
胚胎性横纹肌肉瘤（横纹肌）	0/1	0/1
浆液性腺癌（卵巢）	1/1	0/1
腺癌（卵巢）	1/1	0/1
神经内分泌肿瘤（胰腺）	0/1	0/1
胰腺癌（胰腺）	1/1	0/1
间变性大细胞淋巴瘤（盆腔） ^b	1/1	1/1
腺癌（前列腺）	0/2	0/2

腺癌（直肠）	1/1	1/1
中度恶性间质瘤（直肠）	0/1	0/1
黑色素瘤（直肠）	1/1	0/1
神经母细胞瘤（腹膜后腔）	1/1	0/1
梭形细胞横纹肌肉瘤（腹膜后）	0/1	0/1
基底细胞癌（皮肤）	1/1	0/1
鳞状细胞癌（皮肤）	1/1	0/1
弥漫性 B 细胞淋巴瘤（脾脏） ^a	1/1	1/1
印戒细胞癌（胃部）	1/1	0/1
精原细胞瘤（睾丸）	1/1	0/1
胚胎性癌（睾丸）	0/1	0/1
髓样癌（甲状腺）	0/1	0/1
乳头状癌（甲状腺）	0/1	1/1
鳞状细胞癌（宫颈）	2/2	0/2
平滑肌瘤（子宫）	0/1	0/1
腺癌（子宫）	1/1	0/1
子宫内膜透明细胞癌（子宫）	1/1	1/1

^a 任何强度的免疫细胞或肿瘤细胞染色

^b 肿瘤细胞和免疫细胞染色无法区分

性能特征

分析性能 - NSCLC

评分算法-NSCLC

必须根据表 6 中提供的 VENTANA PD-L1 (SP142) Assay 检测 NSCLC 评分算法，对 NSCLC 组织进行评估。PD-L1 高表达定义为 PD-L1 表达 $\geq 50\%$ TC 或 $\geq 10\%$ IC。更多说明和代表性图像请参见判读指南（P/N 1015703）。

表 6. VENTANA PD-L1 (SP142) Assay 检测用于 NSCLC 的评分方法

第 1 步 肿瘤细胞 (TC) 染色评估	PD-L1 表达
$\geq 50\%$ 的肿瘤细胞中呈现任何强度的可识别 PD-L1 膜染色	$\geq 50\%$ TC
没有任何可识别的 PD-L1 染色或 $< 50\%$ 的肿瘤细胞中呈现任何强度的可识别 PD-L1 膜染色	进入步骤 2
第 2 步 肿瘤浸润免疫细胞 (IC) 染色评估	PD-L1 表达
覆盖肿瘤细胞侵占区、相关瘤内及邻近瘤周间质 $\geq 10\%$ 的肿瘤浸润免疫细胞呈现任何强度的可识别 PD-L1 染色占肿瘤区域面积	$\geq 10\%$ IC

没有任何可识别的 PD-L1 染色或覆盖肿瘤细胞侵占区、相关瘤内及邻近瘤周间质 < 10%的肿瘤浸润免疫细胞中呈现任何强度的可识别 PD-L1 染色	< 50% TC 和 <10% IC
--	--------------------

组织厚度-NSCLC

使用 NSCLC 标本评估组织厚度。用 VENTANA PD-L1 (SP142) Assay 对 3、4、5、6 和 7 微米厚的重复切片进行染色,并评估 PD-L1 TC 和 IC 表达。样本集包括至少 8 例 NSCLC 标本,对于检测的每个 IC 和 TC 水平,均具有 PD-L1 表达范围。

所有组织厚度均呈现了适当的 PD-L1 特异性染色和可接受的 VENTANA PD-L1 (SP142) Assay 试剂染色背景水平。在检测的厚度范围内,所有切片均未显示 PD-L1 TC 或 IC 表达水平的变化。使用 VENTANA PD-L1 (SP142) Assay 染色时,NSCLC 标本应切为 4 微米厚。

重复性和中间精密度 - NSCLC

已完成 VENTANA PD-L1 (SP142) Assay 对 NSCLC 标本染色的研究,可表明:

- 日内重复性-每例 NSCLC 标本包含 5 份重复切片,一日内在单台 BenchMark ULTRA 仪器上使用 VENTANA PD-L1 (SP142) Assay 进行染色,并评估 PD-L1 TC 和 IC 表达。样本集包括 24 例 NSCLC 标本,对于检测的每个 IC 和 TC 水平,均具有 PD-L1 表达范围。
- 日内精密度-每例 NSCLC 标本包含 10 份切片,在 5 个非连续日内在单台 BenchMark ULTRA 仪器上使用 VENTANA PD-L1 (SP142) Assay 染色。样本集包括 24 例 NSCLC 标本,对于检测的每个 IC 和 TC 表达水平,均具有 PD-L1 表达范围。
- 仪器、抗体和检测试剂批次精密度-每例 NSCLC 标本至少包含 9 份切片,使用 VENTANA PD-L1 (SP142) Assay 进行染色,分别使用 3 个批次的 VENTANA PD-L1 (SP142) 抗体、3 对配对批次 DAB 染色液 (OptiView DAB IHC Detection Kit) 和 DAB 染色增强液 (OptiView Amplification Kit) 在 3 台 Benchmark ULTRA 仪器上进行。样本集包括至少 18 例 NSCLC 标本,对于检测的每个 TC 和 IC 水平,均具有 PD-L1 表达范围。
- 平台内精密度 - 使用三台 Benchmark ULTRA、三台 BenchMark XT 和三台 BenchMark GX 仪器,通过抗 PD-L1 (SP142) 兔单克隆抗体试剂 (免疫组织化学法) 对每个 NSCLC 标本的 2 个重复切片进行染色。样本集包括 10 例 NSCLC 标本,对于检测的每个 IC 和 TC 表达水平,均具有 PD-L1 表达范围。相对每个平台

的标本模式计算一致率。

对所有切片进行设盲和随机化研究,然后评估 PD-L1 TC 或 IC 表达水平。结果总结见表 7 和表 8。

表 7. VENTANA PD-L1 (SP142) Assay 对 NSCLC 标本 (PD-L1 表达 ≥ 50% TC) 染色的重复性和中间精密度。

重复性/中间精密度参数	一致率% (95% CI) ^a
日内重复性 (一日之内)	PPA: 100.0 (94.4-100.0) NPA: 100.0 (93.5-100.0) OPA: 100.0 (96.9-100.0)
日间精密度 (5 个非连续日)	PPA: 100.0 (97.1-100.0) NPA: 100.0 (96.5-100.0) OPA: 100.0 (98.4-100.0)
仪器间和批次间精密度 (与标本级模式、仪器间和批次间相比)	PPA: 99.7 (98.1-99.9) NPA: 95.2 (91.2-97.5) OPA: 97.9 (96.2-98.9)
平台内精密度 (3 台 BenchMark ULTRA 仪器)	PPA: 100.0 (88.6-100.0) NPA: 100.0 (88.6-100.0) OPA: 100.0 (94.0-100.0)
平台内精度 (3 台 BenchMark XT 仪器)	PPA: 96.7 (83.3-99.4) NPA: 100.0 (88.6-100.0) OPA: 98.3 (91.1-99.7)
平台内精度 (3 台 BenchMark GX 仪器)	PPA: 100.0 (88.6-100.0) NPA: 100.0 (88.6-100.0) OPA: 100.0 (94.0-100.0)

^a 双侧 Wilson 评分法置信区间 (CI)

表 8. VENTANA PD-L1 (SP142) Assay 对 NSCLC 标本 (PD-L1 表达≥10% IC) 染色的重复性和中间精密度。

重复性/中间精密度参数	一致率% (95% CI) ^a
日内重复性 (一日之内)	PPA: 98.3 (91.1-99.7) ^a NPA: 100.0 (94.0-100.0) ^a OPA: 99.2 (95.4-99.9) ^a
日间精密度 (5 个非连续日)	PPA: 96.2 (91.3-98.3) ^a NPA: 98.2 (93.6-99.5) ^a OPA: 97.1 (94.1-98.6) ^a
抗体间和检测试剂间一致率 (配对比较)	APA: 95.1 (91.1-98.1) ANA: 90.2 (82.3-96.2) OPA: 93.4 (88.7-97.5)
仪器间和检测试剂间一致率 (成对比较)	APA: 96.3 (93.2-98.8) ANA: 92.7 (86.0-97.7) OPA: 95.1 (91.2-98.4)
仪器间和抗体间一致率 (配对比较)	APA: 96.3 (93.1-98.8) ANA: 92.6 (85.9-97.8) OPA: 95.1 (91.1-98.4)
平台内精密度 (3 台 BenchMark ULTRA 仪器)	PPA: 100.0 (94.0-100.0) ^a NPA: 100.0 (94.0-100.0) ^a OPA: 100.0 (96.9-100.0) ^a
平台内精度 (3 台 BenchMark XT 仪器)	PPA: 100.0 (94.0-100.0) ^a NPA: 100.0 (94.0-100.0) ^a OPA: 100.0 (96.9-100.0) ^a

平台内精度 (3 台 BenchMark GX 仪器)	PPA: 100.0 (94.0-100.0) ^a NPA: 100.0 (94.0-100.0) ^a OPA: 100.0 (96.9-100.0) ^a
-----------------------------	--

^a 双侧 Wilson 评分法置信区间 (CI)

平台间一致性 - NSCLC

PD-L1 表达≥50% TC 或≥10% IC (21 PD-L1≥50% TC 或≥10% IC, 以及 23 PD-L1<50% TC 和<10% IC) 的 44 个 NSCLC 标本的单张切片在一台 BenchMark ULTRA (参考)、一台 BenchMark XT 和一台 BenchMark GX 仪器上用抗 PD-L1 (SP142) 兔单克隆抗体试剂 (免疫组织化学法) 染色。

所有切片使用盲法和随机化进行研究, 然后使用针对 NSCLC 的 VENTANA PD-L1 (SP142) Assay 评分算法进行评估 (表 6)。结果总结于表 9。

表 9. NSCLC 标本 (PD-L1 表达≥50% TC 或≥10% IC) 抗 PD-L1 (SP142) 兔单克隆抗体试剂 (免疫组织化学法) 染色的平台间一致性。

平台间一致性	一致率 % (95% CI) ^[a]
BenchMark ULTRA: BenchMark XT	PPA: 95.2 (77.3-99.2) NPA: 100.0 (85.7-100.0) OPA: 97.7 (88.2-99.6)
BenchMark ULTRA: BenchMark GX	PPA: 95.2 (77.3-99.2) NPA: 100.0 (85.1-100.0) OPA: 97.7 (87.9-99.6)

^a 双侧 Wilson 评分法置信区间 (CI)

读片者精密程度研究-NSCLC

为了评估阅片员间和阅片员内精密程度, 3 名病理学家评估了 80 例经 VENTANA PD-L1 (SP142) Assay 染色的独立 NSCLC 标本。使用 NSCLC 的抗 PD-L1 (SP142) 兔单克隆抗体试剂 (免疫组织化学法) 评分算法评估 PD-L1 表达前, 标本均使用盲法和随机化进行研究 (表 6)。阅片员对所有标本进行两次评分, 两次阅片间隔至少两周。阅片员之间和每名病理学家阅片之间的一致率总结于表 10 中。

表 10. NSCLC 标本 (PD-L1 表达≥50% TC 或≥10% IC) 抗 PD-L1 (SP142) 兔单克隆抗体试剂 (免疫组织化学法) 染色的读片者精密程度。

读片者精密度	一致率%(95% CI)
阅片员间精密度 (第一次阅片中阅片员间配对比较的平均值)	APA: 88.8 (82.0-94.1) ANA: 89.0 (82.2-94.4) OPA: 88.9 (82.8-94.1)
阅片员内精密度 (所有3位阅片员的首次和第二次阅片结果的一致率的平均值)	APA: 93.7 (89.9-96.6) ANA: 93.6 (89.8-96.7) OPA: 93.6 (90.3-96.6)

CI = 置信区间

实验室间再现性研究 - NSCLC

进行了 VENTANA PD-L1 (SP142) Assay 的实验室间再现性研究, 以证明该检测试剂盒测定 NSCLC 组织标本中 PD-L1 状态的再现性。28 例具有 PD-L1 表达范围的独立 NSCLC 标本在跨越至少 20 天的每个 5 个非连续日内, 在 3 个外部实验室进行染色。染色前, 对切片进行设盲和随机化研究。在每个研究中心, 由 2 名病理学家(阅片员)使用 VENTANA PD-L1 (SP142) 检测的 NSCLC 评分算法独立评估染色切片(表 6)。结果总结于表 11。

表 11. 抗 PD-L1 (SP142) 兔单克隆抗体试剂(免疫组织化学法)染色的 NSCLC 标本(PD-L1 表达 $\geq$ 50% TC 或 $\geq$ 10% IC) 实验室间再现性。

实验室间可重复性	一致率%(95% CI)
总体一致率 (与研究中心、研究日和阅片员的一致评分相比)	PPA: 86.6 (83.0-89.5) ^a NPA: 99.8 (98.7-100.0) ^a OPA: 93.2 (91.3-94.7) ^a
中心间一致率 (中心间配对比较的平均值)	APA: 89.5 (80.9-95.5) ANA: 92.1 (84.4-97.1) OPA: 91.0 (90.3-91.6) ^a
阅片员间一致率 (每个中心内阅片员间配对比较的平均值)	APA: 93.9 (89.3-97.4) ANA: 95.4 (90.6-98.2) OPA: 94.7 (92.2-96.5) ^a

^a 双侧 Wilson 评分法置信区间 (CI)

临床性能 - NSCLC

1. 国内病理医生读片一致性研究

在北京肿瘤医院、华中科技大学同济医学院附属同济医院和南京大学医学院附属鼓楼医院进行了国内病理医生读片一致性研究。选定 1 家参与本研究的临床试验机构入组本次试验所需的所有福尔马林固定、石蜡包埋的组织标本。切片后用考核试剂上机检测并判读, 随后筛选出至少 120 张涵盖 PD-L1 不同表达水平的合格染色片。由 3 家临床试验机构的 6 位经判读培训合格的病理医生(每家临床试验机构 2 位病理医生, 病理专业执业年限分别 $\leq$ 5 年和 $\geq$ 5 年)将所有至少 120 张染色片每人独立判读一次。对判读结果进行定性统计分析, 评价不同临床试验机构之间、及不同资历病理医生之间判读的精密度。

基于纳入判读精密度试验标本的结果, 将 3 家研究机构病理医生按资历水平进行分组(高资历病理医生组和低资历病理医生组), 分别比较不同研究机构之间的判读精密度, 两组的总体符合率均大于 85%, 95%CI 下限均大于 80%; 平均阴性符合率均大于 90%, 95%CI 下限均大于 85%; 关于平均阳性符合率, 高资历水平组为 81.5%, 低资历水平组为 78.3%, 其 95%CI 下限分别为 72.8%和 68.8%; Kappa 值分别为 0.736 [95%CI: 0.628, 0.833]、0.693 [95%CI: 0.578, 0.797]。

对 3 家临床试验机构不同资历病理医生之间的判读结果进行汇总分析, 不同资历病理医生之间判读的总体符合率、平均阴性符合率、平均阳性符合率均大于 90%, 95% CI 均大于 85%, Kappa 值为 0.880 [95%CI: 0.818, 0.930]。

2. IMpower110

在 IMpower110 (NCT02409342) 中研究了抗 PD-L1 (SP142) 兔单克隆抗体试剂(免疫组织化学法)的性能, 这是一项 III 期、多中心、国际、随机化、开放性试验, 纳入 572 例既往未接受过转移性疾病化疗的 IV 期 NSCLC 患者, 包括携带 EGFR 突变或 ALK 重排的患者。该研究旨在评估 TECENTRIQ 相对于由铂类药物(顺铂或卡铂, 由研究者酌情决定)联合培美曲塞(非鳞状疾病)或吉西他滨(鳞状疾病)组合化疗的安全性和疗效。

使用 VENTANA PD-L1 (SP142) Assay 对患者标本进行染色, 并评估染色可接受性和 PD-L1 表达。患者标本为来自活检(66.0%)、切除(15.7%)或其他类型(18.3%)的 FFPE NSCLC 组织; 72.4%来自原发性肿瘤, 27.6%来自转移性肿瘤。

表 12 描述了 VENTANA PD-L1 (SP142) Assay 在评估研究中的所有 NSCLC 受试者中的总体染色可接受率。还报告了 PD-L1 染色切片的形态学可接受

率和背景染色可接受率。在共计 2909 例受试者中，65 例受试者的样本未能通过初始染色尝试。重复染色时，65 例受试者中有 15 例的结果仍不可接受（14 例由于不可接受的阴性试剂质控品，1 例由于不可接受的形态学结果）。VENTANA PD-L1（SP142）Assay 显示出较高的初始（即，初始染色-通过）和最终总体染色可接受率：分别为 97.8% 和 99.5%。背景染色和形态的初始和最终可接受率均大于 99%。

表 12.在 IMpower110 中 VENTANA PD-L1（SP142）Assay 对 NSCLC 染色的性能特征。

属性	可接受率% (n/N) (95% CI) ^a	
	初始 ^b	最终 ^c
总体染色可接受率	97.8 (2844/2909) (97.2-98.2)	99.5 (2894/2909) (99.2-99.7)
形态学	99.4 (2844/2860) (99.1-99.7)	100.0 (2894/2895) (99.8-100.0)
背景	100.0 (2844/2844) (99.9-100.0)	100.0 (2894/2894) (99.9-100.0)

^a 双侧 Wilson 评分法置信区间 (CI)

^b 初始染色尝试 ^c 最终染色尝试

IMpower110 研究评价了阿替利珠单抗在未经化疗的转移性 NSCLC 患者中的疗效和安全性。基于抗 PD-L1（SP142）兔单克隆抗体试剂（免疫组织化学法），患者的 PD-L1 表达 $\geq 1\%$ TC（ $\geq 1\%$ 的肿瘤细胞 PD-L1 染色）或 $\geq 1\%$ IC（PD-L1 染色的肿瘤浸润免疫细胞覆盖 $\geq 1\%$ 的肿瘤区域）。

总共 572 例患者以 1:1 的比例随机分配接受阿替利珠单抗（A 组）或化疗（B 组）。每 3 周静脉输注阿替利珠单抗 1200 mg 固定剂量，直到研究者评估其已丧失临床获益或出现不可接受的毒性。根据性别、ECOG 体能状态、组织学以及 TC 和 IC 的 PD-L1 肿瘤表达对随机分组进行分层。

如果患者有自身免疫性疾病、在随机化前 28 天内接受过减毒活疫苗接种、在随机化前 4 周内接受过全身性免疫刺激剂给药或在随机化、活动性或未经治疗的 CNS 转移前 2 周内接受过全身性免疫抑制剂给药或未经治疗或皮质类固醇依赖性脑转移的病史，则将其排除。在第 1 周期第 1 天后的前 48 周内，每 6 周进行一次肿瘤评估，此后每 9 周进行一次。

治疗组之间 PD-L1 表达 $\geq 1\%$ TC 或 $\geq 1\%$ IC 且无 EGFR 突变或 ALK 重排的患者（n = 554）的人口统计信息和基线疾病特征良好平衡。中位年龄为 64.5 岁（范围：30 至 87），70% 的患者是男性。大部分患者是白人（84%）和亚裔（14%）。大多数患者为目前吸烟者或既往吸烟者（87%），患者基线 ECOG 体能状态为 0（36%）或 1（64%）。总体而言，69%

的患者患有非鳞状疾病，31% 的患者为鳞状疾病。高 PD-L1 表达（PD-L1 $\geq 50\%$ TC 或 $\geq 10\%$ IC）且无 EGFR 突变或 ALK 重排的患者（n=205）的人口统计信息和基线疾病特征基本代表了广泛的研究人群，并且治疗组之间良好平衡。

主要终点为总生存期（OS）。中期 OS 分析时，在 PD-L1 高表达患者（不包括 EGFR 突变或 ALK 重排的患者）（n=205）中，随机分配接受阿替利珠单抗的患者（A 组）与化疗（B 组）相比，OS 具有统计学显著改善（HR 为 0.59，95% CI：0.40，0.89；中位 OS 为 20.2 个月 vs 13.1 个月）。PD-L1 高表达患者的中位生存随访时间为 15.7 个月。在对这些患者进行更长时间随访（中位数：31.3 个月）的探索性 OS 分析中，相对于主要 OS 中期分析（20.2 个月），阿替利珠单抗组的中位 OS 保持不变，而化疗组为 14.7 个月（HR 0.76，95% CI：0.54，1.09）。中期分析的关键结果总结在表 13 中。PD-L1 高表达患者的 OS 和 PFS 的 Kaplan-Meier 曲线见图 2 和 3。

表 13.PD-L1 高表达 $\geq 50\%$ TC 或 $\geq 10\%$ IC 的患者疗效总结（IMpower110）

疗效终点	A 组 (阿替利珠单抗)	B 组 (化疗)
主要终点		
OS 分析	n = 107	n = 98
死亡数量 (%)	44 (41.1%)	57 (58.2%)
至事件发生的中位时间 (月)	20.2	13.1
95% CI	(16.5, NE)	(7.4, 16.5)
分层风险比 ^a (95% CI)	0.59 (0.40, 0.89)	
p 值 ^a	0.0106	
12 个月 OS (%)	64.9	50.6
次要终点		
研究人员评估 PFS (RECIST v1.1)	n = 107	n = 98
事件数 (%)	67 (62.6%)	79 (80.6%)
PFS 的中位持续时间 (月)	8.1	5.0
95% CI	(6.8, 11.0)	(4.2, 5.7)
分层风险比 ^a (95% CI)	0.63 (0.45, 0.88)	
12 个月 PFS (%)	36.9	21.6
研究者评估的 ORR (RECIST 1.1)	n = 107	n = 98
缓解者人数 (%)	41 (38.3%)	28 (28.6%)

95% CI	(29.1, 48.2)	(19.9, 38.6)
完全缓解数量 (%)	1 (0.9%)	1 (1.0%)
部分缓解数量 (%)	40 (37.4%)	27 (27.6%)
研究者评估的 DOR (RECIST 1.1)	n = 41	n = 28
中位, 月	NE	6.7
95% CI	(11.8, NE)	(5.5, 17.3)

^a 按性别和 ECOG 体能状态进行分层 (0 vs. 1)

PFS = 无进展生存期; RECIST = 实体瘤疗效评价标准 v1.1; CI = 置信区间; ORR = 客观缓解率; DOR = 缓解持续时间; OS = 总生存期; NE = 不可估计。

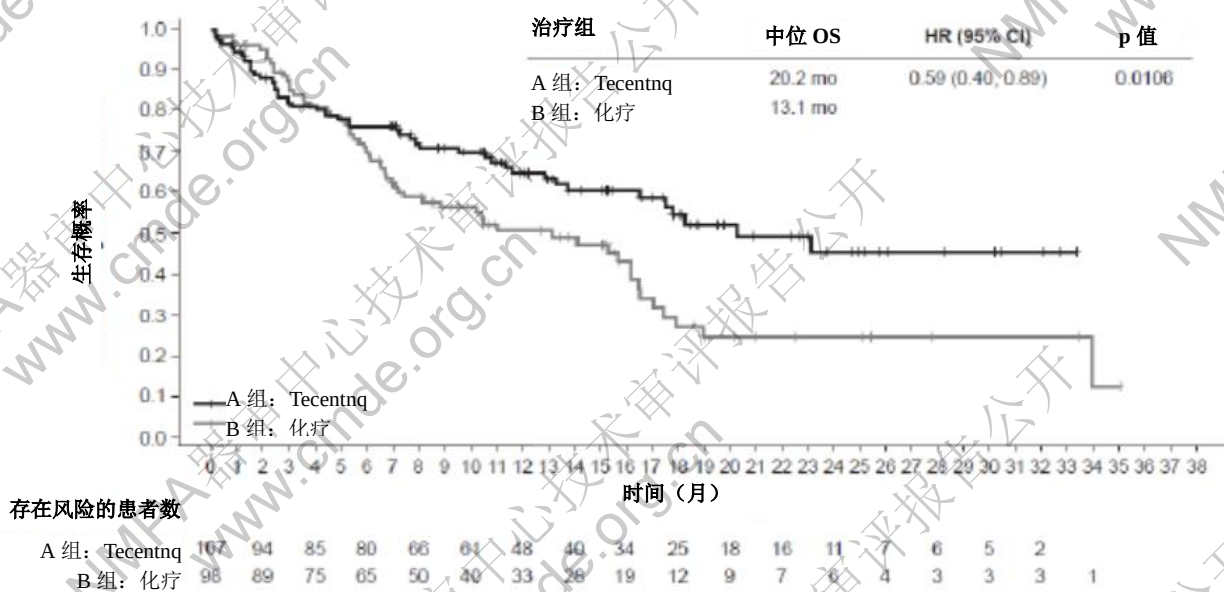


图 2: PD-L1 高表达≥50% TC 或≥10% IC 的患者的总生存期 Kaplan-Meier 曲线 (IMpower110)。

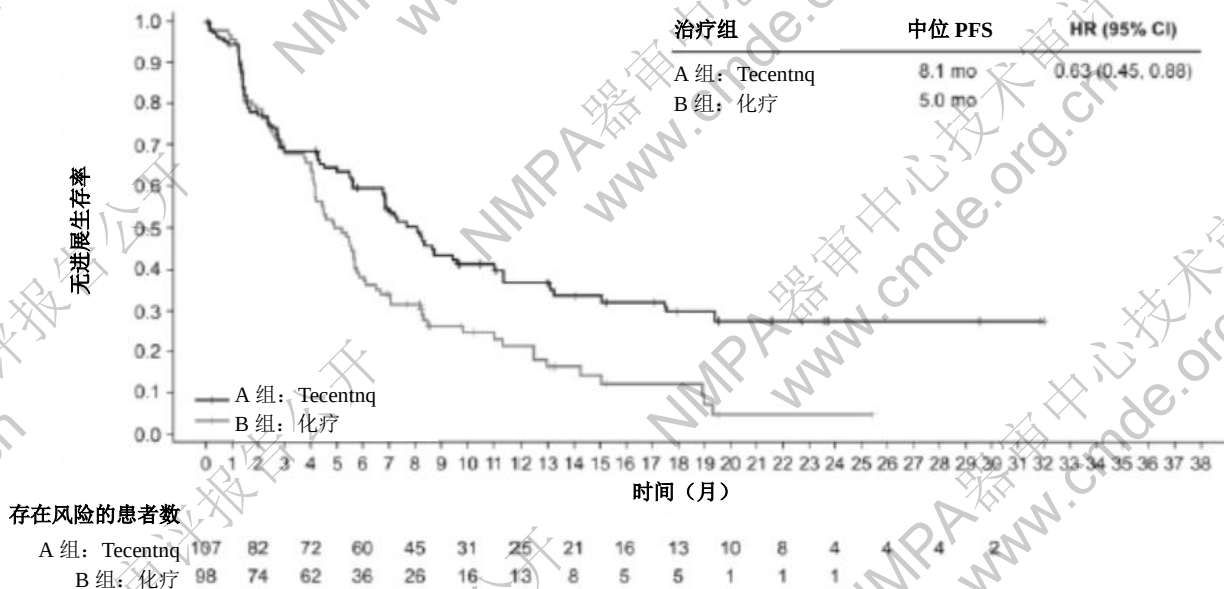


图 3: PD-L1 高表达≥50% TC 或≥10% IC 的患者无进展生存期 Kaplan-Meier 曲线 (IMpower110)。

【注意事项】

1. 供体外诊断（IVD）使用。
2. 仅供专业人士使用。
3. 请勿使用超出规定数量的检测试剂。
4. 带正电荷的载玻片可能容易受到环境应力的影响，导致染色不当。关于如何使用这类切片的更多信息，请咨询罗氏公司代表。
5. 人或动物源性的材料应视作生物危害物质进行处理，处置时采取适当的预防措施。如果出现暴露，应当按照责任卫生监管机构的指令进行处理。^{9,10}
6. 避免试剂与眼睛和粘膜接触。如果试剂与敏感区域接触，则用大量水清洗。
7. 避免微生物污染试剂，因为可能导致不正确的结果。
8. 关于本设备使用的更多信息，请参阅 BenchMark IHC/ISH 仪器使用指南以及 t.dialog.roche.com 中所有必要组件的使用说明。
9. 有关推荐的处置方法，请咨询当地和/或国家机构。
10. 产品安全标签主要遵循欧盟 GHS 指南。专业人员可要求获得安全数据报告。
11. 如需报告与该设备相关的疑似严重事件，请联系当地罗氏代表和用户所在成员国或国家的主管部门。
12. 产品的生产日期是由每批产品最终包装日期决定，产品的有效期是由各原料的最短保存时间来决定；而产品的失效期则是由每批产品生产时的原料已存在时间来动态决定的，所以生产日期+有效期不一定等于失效期。

【参考文献】

1. Blank C, Mackensen A. Contribution of the PD-L1/PD-1 pathway to T-cell exhaustion: an update on implications for chronic infections and tumor evasion. *Cancer Immunol Immunother.* 2007;56(5):739-745.
2. Butte MJ, Keir ME, Phamduy TB, et al. Programmed death-1 ligand 1 interacts specifically with the B7-1 costimulatory molecule to inhibit T cell responses. *Immunity.* 2007;27(1):111-122.
3. Herbst RS, Soria JC, Kowanetz M, et al. Predictive correlates of response to the

anti-PD-L1 antibody MPDL3280A in cancer patients. *Nature.*

4. Brahmer JR, Drake CG, Wollner I, et al. Phase I study of single-agent anti-programmed death-1 (MDX-1106) in refractory solid tumors: safety, clinical activity, pharmacodynamics, and immunologic correlates. *J Clin Oncol.* 2010;28(19):3167-3175.
5. Fehrenbacher L, Spira A, Ballinger M et al. Atezolizumab versus docetaxel for patients with previously treated non-small-cell lung cancer (POPLAR): a multicentre, open-label, phase 2 randomised controlled trial. *Lancet.* 2016;387(10030):1837-1846.
6. Topalian SL, Hodi FS, Brahmer JR, et al. Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer. *N Engl J Med.* 2012;366(26):2443-2454.
7. Carson F, Hladik C. *Histotechnology: A Self Instructional Text*, 3rd edition. Hong Kong: American Society for Clinical Pathology Press; 2009.
8. Roche PC, Hsi ED. *Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology*, 6th edition. In: NR Rose, ed. ASM Press; 2002.
9. *Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories.* (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
10. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
11. *Anatomic Pathology Checklist.* College of American Pathologists. Jul 28, 2015.
12. CLSI. *Quality assurance for design control and implementation of immunohistochemistry assay: approved guidelines.* 2nd edition Wayne, PA, USA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2011.
13. Herman GE, Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. *Biotech Histochem.* 1991;66(4):194-199.
14. Hautzer NW, Wittkuhn JF, McCaughey WT. Trypsin digestion in immunoperoxidase staining. *J Histochem Cytochem.* 1980;28(1):52-53.
15. Omata M, Liew CT, Ashcavi 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;73(5):626-632.

16. Nadji M, Morales AR.Immunoperoxidase: part
1.The technique and its pitfalls.Lab
Med.1983;14:767.

【基本信息】

注册人/生产企业名称：罗氏诊断公司 Roche
Diagnostics GmbH

住所： Sandhofer Strasse 116 68305 Mannheim
Germany

生产地址： 1910E. Innovation Park Drive Tucson
AZ 85755 USA

联系方式：

售后服务单位名称：

联系方式：

代理人的名称：罗氏诊断产品（上海）有限公司

住所：中国（上海）自由贸易试验区希雅路 330 号
7 号厂房第二层 I 部位

联系方式：

【医疗器械注册证编号/产品技术要求编号】

【说明书核准及修改日期】