

人链式激活免疫细胞制剂的质量研究

张益丽¹, 王壮¹, 周巧¹, 李美玲¹, 徐秋玲¹, 古松海^{2*} (1. 云南精准检验有限公司, 昆明 650000; 2. 赛德特生物制药有限公司, 昆明 650000)

摘要:目的 建立人链式激活免疫细胞制剂的质控方法。方法 采用共培养加流式细胞分析检测分泌细胞因子能力和体外杀伤活性;流式细胞仪分析测定纯度;吖啶橙/碘化丙锭(AO/PI)双荧光细胞计数仪测定活细胞浓度及细胞活率;以酶联免疫吸附法测定细胞因子残留;实时荧光定量聚合酶链式反应(qPCR)检测支原体核酸;其余检测项目按《中国药典》2020年版三部规定进行。结果 用建立的方法对人链式激活免疫细胞制剂进行了检测,生物学活性研究、理化特性研究、细胞因子残留等各项检测结果符合正态性分布,检测结果有效,且其变异系数(CV)均小于20%。其余各项指标均符合《中国药典》2020年版三部的要求。结论 初步建立了人链式激活免疫细胞制剂的质控方法,具有保证该细胞制剂质量可控、安全有效的特征,可用于该细胞制剂的质量控制。

关键词: 人链式激活免疫细胞制剂;生物学活性;质量研究;免疫细胞治疗

doi:10.11669/epj.2025.05.011 中图分类号:R945 文献标志码:A 文章编号:1001-2494(2025)05-0532-07

Quality Study of Human Chain Activated Immune Cell Preparations

ZHANG Yili¹, WANG Zhuang¹, ZHOU Qiao¹, LI Meiling¹, XU Qiuling¹, GU Songhai^{2*} (1. Yunnan Precision Inspection Co., Ltd., Kunming 650000, China; 2. Cytocraft Biopharmaceutical Co., Ltd., Kunming 650000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a quality control method of human chain-activated immune cell preparations. **METHODS** The ability to secrete cytokines and *in vitro* cytotoxicity were detected by co-culture and flow cytometry analysis. Purity was determined by flow cytometry. The concentration of live cells and cell viability were determined by AO/PI dual fluorescence cell counter. The residual cytokines were determined by enzyme-linked immunosorbent assay. Mycoplasma nucleic acid was detected by probe real-time PCR. Other detection items were carried out according to the provisions of the 3rd part of Chinese Pharmacopoeia 2020. **RESULTS** The detection of human chain-activated immune cell preparations was carried out using the established method, and the results of biological activity research, physical and chemical characteristics research, and cytokine residual detection were normally distributed. The detection results were valid, and the coefficient of variation (CV) was less than 20%. All other indicators met the requirements of the Chinese Pharmacopoeia 2020. **CONCLUSION** A preliminary quality control method of human chain-activated immune cell preparations are established, which has the characteristics of ensuring the quality control lability, safety, and effectiveness of the cell preparations. It can be used for the quality control of the human chain-activated immune preparations.

KEY WORDS: human chain activated immune cell preparation; biological activity; quality research; immune cell therapy

人链式激活免疫细胞制剂系由患者自体外周血中的单个核细胞在体外经 CD3 联合细胞因子(I、II、III)激活扩增培养而获得的混合 T 淋巴细胞^[1-2]。这种经激活和诱导的免疫细胞可在患者体内对肿瘤细胞进行杀伤,配合放化疗或单独使用抑制原发肿瘤生长,从而达到延缓复发和转移,提高患者的生存质量^[3-4]。随着生物医学技术的快速发展,免疫细胞治疗已经成为肿瘤治疗、自身免疫性疾病以及感染性疾病治疗的重要手段。然而,免疫细胞产品的制备过程复杂,涉及多种细胞类型的选择、激活、扩增和基因修饰等步骤,这些过程的微小变化都可能影

响最终产品的质量和疗效。因此,免疫细胞的质量控制成为了确保治疗效果和患者安全的关键环节^[5]。

目前国内外关于细胞治疗和基因治疗产品的技术指导原则中对此有一些基本的叙述^[6-7],例如对其关键质量参数的研究、产品的开发和质量控制的指导等^[8-9]。为了能有效控制人链式激活免疫细胞制剂的质量,本研究根据国家药品监督管理局药品审评中心发布的《免疫细胞治疗产品临床试验技术指导原则(试行)》^[10]结合国内外发布的一些参考文献,建立质量控制检测方法,对其开展质量研究,建立质量标准。

作者简介:张益丽,女,学士,助理研究员 研究方向:细胞药物研究
Tel:(0871)65420310

* 通讯作者:古松海,男,博士 研究方向:细胞药物研究

1 材料

1.1 供试品

人链式激活免疫细胞制剂由赛德特生物制药有限公司提供。

1.2 仪器与试剂

流式细胞分析仪(CytoFLEX型,贝克曼库尔特有限公司);冰点渗透压仪(Osmo210型,英国YASN公司);双荧光细胞分析仪(Cellometer K2型,美国Nexcelom公司);无菌隔离器(dz-1800w型,苏州东中机械设备有限公司);实时荧光定量聚合酶链式反应(qPCR)仪(CFX96型,BIO-RAD公司);多功能酶标仪(Synergy HTX型,美国伯腾仪器有限公司)。

FITC-CD3、APC-A750(APC-CY7)-CD8a、PerCP/Cyanine5.5-CD4、PE-Granzyme B Recombinant、PE-IFN- γ 、FITC-CD3、PerCP/Cyanine5.5-CD4、APC/Fire™ 750-CD8、Brilliant Violet 421™-CD19、PE-CD16、APC-CD56(NCAM)、Brilliant Violet 510™-CD45试剂盒(Biolegend公司);HCC827-LUC-GFP细胞来源于自建;CTS AIM Medium培养基(Gibco公司);吖啶橙/碘化丙啶(AO/PI)染液(Nexcelom公司);辉光型萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒、磁珠法残留DNA样本前处理试剂盒(核酸提取)、支原体qPCR检测试剂盒(探针法)[翌圣生物科技(上海)股份有限公司];细胞因子检测试剂盒(R&D公司)。

2 方法

2.1 细胞生物学活性的质量研究

2.1.1 细胞因子分泌检测 人链式激活免疫细胞制剂复苏后离心,用CTS AIM Medium培养基重悬,细胞过滤后清洗两次,弃上清,调整细胞悬液浓度用于检测。取细胞悬液,加入激活阻断剂刺激细胞,混匀后加入6孔板,置于38.5℃、体积分数6.5% CO₂浓度的培养箱培养数小时。收集细胞至离心管中,洗涤2次,加入磷酸盐缓冲液(PBS)重悬细胞。将细胞分装,每管100 μ L作为检测管,用CD3、CD4、CD8抗体染色,经固定后,用破膜剂渗透洗涤缓冲液破膜细胞,每管1 mL,离心后,弃上清,然后用颗粒酶B、 γ 干扰素(IFN- γ)进行染色,室温避光染色20 min。然后用破膜剂渗透洗涤缓冲液清洗细胞2次,弃上清。每支流式管中加入200~500 μ L细胞染色缓冲液,混匀,上机检测^[11]。

2.1.2 细胞体外杀伤活性检测 取对数生长期的HCC827-LUC-GFP细胞,将其调整细胞浓度为

每毫升(1~5) $\times 10^5$ 个,按每孔100 μ L加至96孔空白板中,放入体积分数5% CO₂,37℃培养过夜。加入人链式激活免疫细胞制剂每孔100 μ L;置体积分数5% CO₂,37℃共同培养72 h。将培养板中培养基吸出,加入100 μ L荧光素酶底物工作液,用酶标仪化学发光检测模块528/20 nm测定荧光值。按公式1计算杀伤率。

$$\text{杀伤率}(\%) = \left(1 - \frac{\text{试验组 RLU}}{\text{靶细胞对照 RLU}}\right) \times 100\% \quad \text{公式(1)}$$

式中,RLU为平均荧光值^[12]。

2.2 细胞理化特性的质量研究

2.2.1 外观检查 将人链式激活免疫细胞制剂从液氮罐中取出复苏,混匀后白色衬底下观察。

2.2.2 细胞浓度及活率检测 取人链式激活免疫细胞50 μ L与50 μ L AO/PI染液,混匀后在双荧光细胞分析仪上检测。

2.2.3 pH值、渗透压摩尔浓度测定 pH值、渗透压摩尔浓度测定项目均按《中国药典》2020年版三部规定进行。

2.2.4 纯度检测 将人链式激活免疫细胞清洗后过筛,将细胞浓度调整至每100 μ L(1~5) $\times 10^6$ 个,每管100 μ L进行染色,染色的抗体为CD3、CD4、CD8、CD19、CD16、CD56、CD45,避光2~8℃孵育30 min,清洗后,每支流式管中加入200~500 μ L细胞染色缓冲液,混匀,上机检测。

2.3 细胞安全性的质量研究

2.3.1 支原体核酸检测 根据磁珠法残留DNA样本前处理试剂盒说明书,提取人链式激活免疫细胞制剂的DNA,然后参照支原体qPCR检测试剂盒(探针法)试剂盒说明书进行支原体核酸检测。

2.3.2 其他安全性相关指标检测 细菌内毒素检查、无菌检查、支原体检查等项目均按《中国药典》2020年版三部^[13]规定进行。

2.4 杂质研究

2.4.1 CD3抗体残留检测 取重组人CD3 ϵ 和CD3 δ 异二聚体蛋白以5~10 μ g \cdot mL⁻¹包被酶标板,每孔100 μ L,置于2~8℃条件下包被大于16 h;用含Tween 20的磷酸盐缓冲液(PBST)清洗3次,加入含质量分数2%牛血清白蛋白(BSA)的PBST,每孔300 μ L,36℃孵育1 h;加入待检样品及标定的重组人源化CD3抗体标准品,每孔100 μ L,36℃孵育2 h;PBST清洗3次,加入辣根过氧化物酶(HRP)标记的山羊抗人IgG Fc(HRP)预吸附二抗(1:2 000~

1:5 000稀释),每孔 100 μL ,36 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 1 h;PBST 清洗 3 次,加入 3,3',5,5'-四甲基苯胺(TMB)显色液,每孔 100 μL ,显色 13~15 min,2 mol $\cdot\text{L}^{-1}$ 硫酸终止反应,用酶标仪检测 A450&A630,采用五参数拟合标准曲线,得到回归方程及 r^2 值。根据回归方程计算供试品中 CD3 抗体浓度。

2.4.2 细胞因子残留检测 人链式激活免疫细胞制剂中细胞因子 I、II、III 残留的检测,均参照相应试剂盒要求进行。

2.5 稳定性研究

根据《中国药典》2020 年版四部 9402 生物制品稳定性试验指导原则^[14] 对人链式激活免疫细胞制剂进行稳定性研究,从长期稳定性研究、影响因素研究、加速试验研究、使用稳定性研究这 4 个方面进行^[15-17]。

2.6 统计学分析

采用 SPSS 软件进行统计学分析,实验数据用均值 \pm 标准差表示。质量研究结果使用 Shapiro-Wilk 检验进行统计分析,检验观测值是否与预期的正态分布相符,以检测结果是否异常,当 P 值 >0.05 ,则观测值与预期正态分布相符,检测正常,当 P 值 ≤ 0.05 ,则检测结果异常^[18-19]。

3 结果

3.1 细胞检验研究结果

3.1.1 细胞生物学活性的质量研究 对 12 批次人链式激活免疫细胞制剂进行细胞因子分泌及体外杀伤活性检测,检测结果发现,细胞因子分泌检测结果平均值为 77.81%,最低值为 63.36%,变异系数(coefficient of variation,CV)为 14.71%;体外杀伤活性检测结果的平均值为 94.08%,最低值为 90.55%,CV 为 2.77%。

细胞生物学活性质量研究数据经 Shapiro-Wilk 检验进行统计分析,细胞因子分泌检测的统计量 $W=0.947$, $P=0.590 > 0.05$,体外杀伤活性检测的 $W=0.942$, $P=0.525 > 0.05$,样本所来自的总体分布服从正态分布,认为检测结果数据服从正态分布,检测结果正常。

3.1.2 细胞理化特性的研究结果 人链式激活免疫细胞制剂理化特性研究检测结果见表 1,pH 值、渗透压摩尔浓度、活细胞浓度、细胞活率的 CV 值分别为 2.31%、2.27%、8.60%、2.94%,细胞纯度分析的各细胞亚群的 CV 值为 2.05%~9.76%之间,CV 值均小于 10%。

表 1 人链式激活免疫细胞制剂理化特性研究结果。 $n=12, \bar{x} \pm s$

Tab. 1 Research results on the physicochemical properties of human chain-activated immune cell preparations. $n=12, \bar{x} \pm s$

Test item	Results	CV /%
Appearance	Qualified	/
pH	6.73 \pm 0.16	2.31
Osmolality/mOsmol $\cdot\text{kg}^{-1}$	1 742.92 \pm 39.51	2.27
Viable cell concentration	(9.70 \pm 0.83) $\times 10^6$	8.60
Cell viability	(92.43 \pm 2.72)%	2.94
Purity CD3 ⁺ /CD45 ⁺	(94.74 \pm 1.94)%	2.05
CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD4 ⁻ /CD3 ⁺	(61.83 \pm 5.94)%	9.60
CD3 ⁻ (CD16 ⁺ or CD56 ⁺)/CD45 ⁺	(1.17 \pm 0.11)%	9.76
CD3 ⁻ CD19 ⁺ /CD45 ⁺	(1.70 \pm 0.16)%	9.43

Shapiro-Wilk 检验结果显示,理化特性研究结果的 P 值均大于 0.05(表 2),说明与正态性没有统计学差异,认为检测结果数据服从正态分布,检测结果正常。

表 2 人链式激活免疫细胞制剂理化特性研究正态性检验结果

Tab. 2 Normality test results of the physicochemical properties study on human chain-activated immune cell preparations

Test item	Shapiro-Wilk		
	Statistic	Degrees of freedom	P
Appearance	0.936	12	0.449
pH	0.903	12	0.176
Osmolality	0.944	12	0.546
Viable cell concentration	0.933	12	0.412
Purity CD3 ⁺ /CD45 ⁺	0.925	12	0.328
CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD4 ⁻ /CD3 ⁺	0.874	12	0.653
CD3 ⁻ (CD16 ⁺ or CD56 ⁺)/CD45 ⁺	0.901	12	0.451
CD3 ⁻ CD19 ⁺ /CD45 ⁺	0.95	12	0.708

3.1.3 细胞安全性的研究结果 根据《中国药典》2020 年版三部的要求,对 12 批次人链式激活免疫细胞制剂进行细菌内毒素检查、无菌检查、支原体检查等项目的检测,细菌内毒素检查结果均小于 1 EU $\cdot\text{mL}^{-1}$,其他检查项目结果均符合规定;支原体核酸检测结果均为阴性与《中国药典》支原体检查结果一致。

3.1.4 杂质研究结果 人链式激活免疫细胞制剂杂质研究结果显示,细胞因子 I、II 和 CD3 抗体残留检测结果均低于定量下限,细胞因子 III 残留结果低于 100 $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$,见表 3。

3.2 稳定性研究

3.2.1 长期稳定性研究 人链式激活免疫细胞制剂保存至 $-196 \sim -150$ $^{\circ}\text{C}$ 条件下,放置 9 个月,进行长期试验研究。外观、pH、渗透压变化不大,内毒

表 3 人链式激活免疫细胞制剂杂质研究定量下限结果

Tab. 3 Lower quantitative limit results of impurity research in human chain-activated immune cell preparations

Test Item	Number of batches (<i>n</i>)	Lower limit of quantitation/ $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$
Cytokine I	12	<0.5
Cytokine II	12	<9.38
CD3 antibody	12	<50

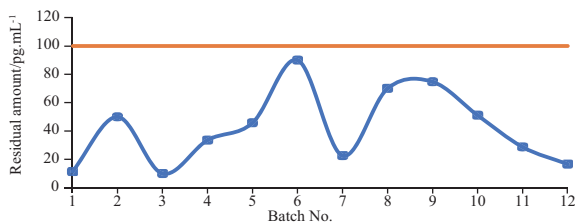


图 1 人链式激活免疫细胞制剂细胞因子Ⅲ残留结果趋势图

Fig. 1 Trend chart of cytokine III residual results in human chain-activated immune cell preparations

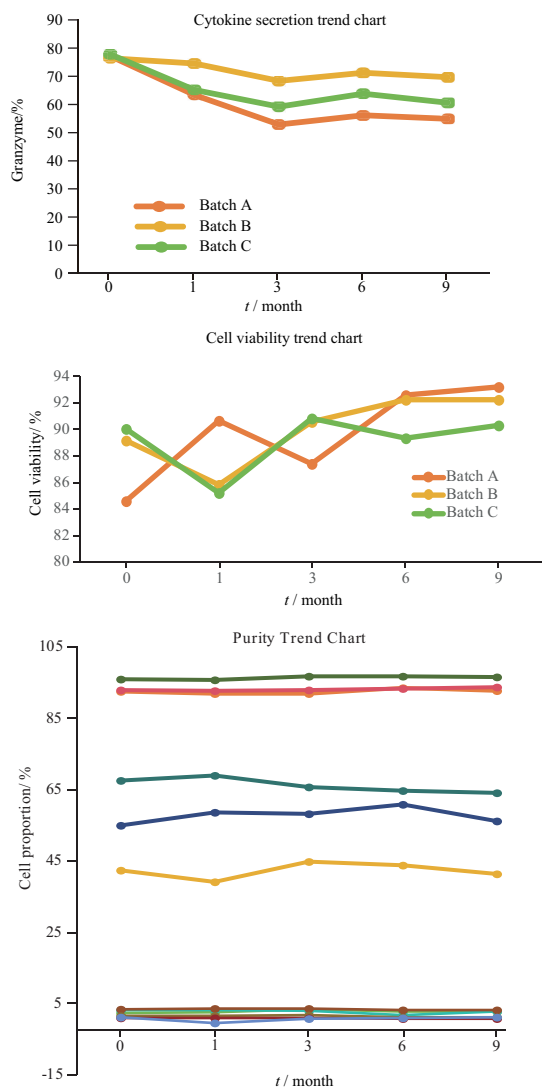


图 2 人链式激活免疫细胞制剂长期稳定性研究结果趋势图

Fig. 2 Trend chart of long-term stability research results in human chain-activated immune cell preparations

素、无菌符合规定,活细胞浓度、细胞活率、细胞纯度;细胞因子分泌稍有下降趋势,但均符合质量标准要求;杀伤效率稍有下降,但均符合质量标准要求,研究结果表明在 $-196 \sim -150 \text{ } ^\circ\text{C}$ 条件下至少可保存 9 个月(图 2)。

3.2.2 加速稳定性研究 人链式激活免疫细胞制剂冻存至 $-85 \sim -60 \text{ } ^\circ\text{C}$ 条件放置 28 d,进行加速稳定性研究。细胞因子分泌和体外杀伤活性在第 7 天后呈明显下降趋势,理化特性及安全相关指标均符合规定,表明在 $-85 \sim -60 \text{ } ^\circ\text{C}$ 条件可放置 7 d(图 3)。

3.2.3 影响因素稳定性研究 人链式激活免疫细胞制剂保存至 $-20 \text{ } ^\circ\text{C}$,放置 30 h,进行影响因素稳定性研究。结果显示,在保存 24 h,细胞活率和 0 点相比呈明显下降趋势,结果不符合质量标准要求。表明 $-20 \text{ } ^\circ\text{C}$ 对该制剂的保存影响较剧烈(图 4)。

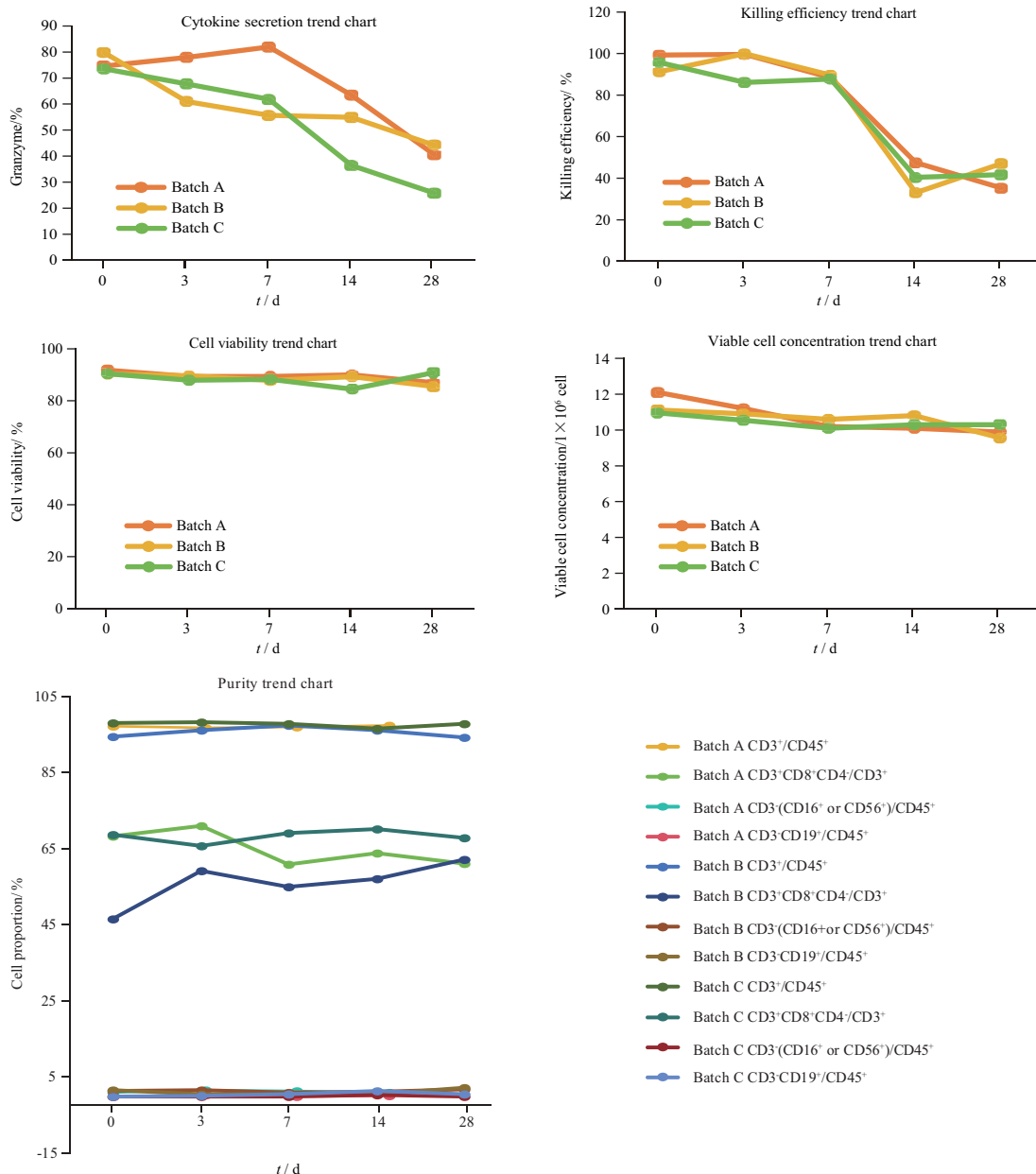


图3 人链式激活免疫细胞制剂加速稳定性研究结果趋势图

Fig. 3 Trend chart of accelerated stability research results in human chain-activated immune cell preparations

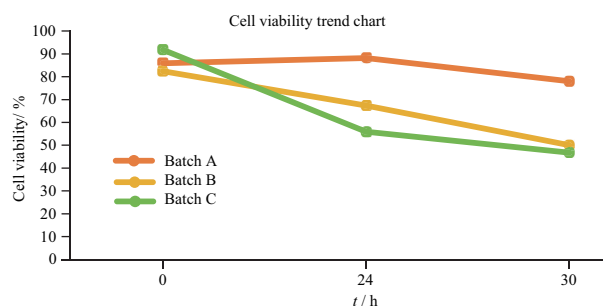


图4 人链式激活免疫细胞制剂影响因素稳定性研究结果趋势图

Fig. 4 Trend chart of stability research results influenced by factors in human chain-activated immune cell preparations

3.2.4 使用稳定性研究 人链式激活免疫细胞制剂复苏后在室温放置0、4、8、24 h 进行细胞浓度及活率检测。结果显示,在复苏后4 h 内,活细胞浓度及活率和0 点相比有轻微下降,但均在合格范围内;在8 和24 h,呈明显下降趋势,不符合质量标准要求。表明该制剂复苏后4 h 内稳定(图5)。

4 讨论

近年来,在国家政策、技术和市场的驱动下,细胞治疗产业蓬勃发展,展现巨大的发展前景,成为生物医药行业的新赛道。目前细胞治疗领域中,进展

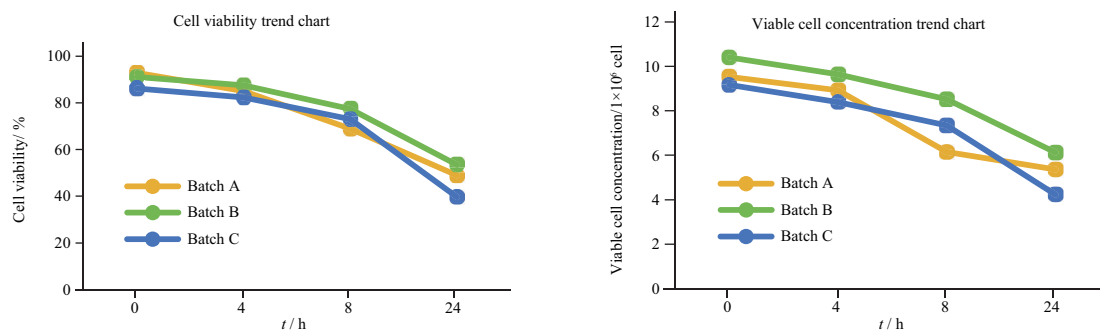


图5 人链式激活免疫细胞制剂使用稳定性研究结果趋势图

Fig. 5 Trend chart of usage stability research results in human chain-activated immune cell preparations

最快、临床获批最多的细胞药物是免疫细胞^[20],截至2024年12月,我国已经批准5个细胞药物用于治疗B细胞淋巴瘤或者多发性骨髓瘤。细胞来源于人体,所以这些细胞样本具有高度个性化的特性^[21],生产过程也会涉及多环节的质量和风险控制,这些特性对生产工艺的稳定性、一致性以及质量的可控性形成挑战^[22-23]。

本研究旨在评估人链式激活免疫细胞制剂的质量控制流程,以确保其安全性、有效性和一致性,这对于临床应用至关重要。为保证人链式激活免疫细胞制剂的质量,严格按照《免疫细胞治疗产品药学研究与评价技术指导原则(试行)》和《中国药典》2020年版三部、四部的有关要求,本研究设计了功能性研究实验、理化特性研究实验及安全性研究实验,对细胞制剂的多个质量属性进行了全面的评估。

通过细胞因子分泌、体外杀伤活性检测,结合细胞纯度分析,来综合研究细胞制剂的功能性,结果表明该试验设计能够体现人链式激活免疫细胞制剂的功能性情况。理化特性研究结果稳定,安全性研究结果均符合《中国药典》2020年版三部的要求。通过稳定性研究数据表明,人链式激活免疫细胞制剂在 ≤ -150 °C条件下至少可保存9个月;在 $-85 \sim -60$ °C条件可放置7 d; -20 °C对该制剂的保存影响较剧烈。为了确定免疫细胞制剂在解冻后的最佳使用时间窗口,以确保在临床应用中的有效性和安全性,为临床应用提供指导,进行了使用稳定性研究。该免疫细胞制剂在复苏室温放置4 h内,其生物学活性、理化特性及安全性等特性均符合要求。

尽管本研究提供了有关人链式激活免疫细胞制剂质量控制的重要思路,但也存在一些局限性。例如,样本量相对较小,且实验条件可能未能完全模拟临床应用的实际环境。未来的研究应包括更大规模的样本和更多样化的临床前模型,以进一步验证本

研究的结果和结论。此外,随着细胞治疗技术的不断进步,未来的研究还应探索新的质量控制技术和生物标志物,以提高细胞制剂的安全性和有效性^[24-25]。

综上所述,根据国家药品监督管理局药品审评中心发布的《免疫细胞治疗产品药学研究与评价技术指导原则(试行)》和《中国药典》2020年版三部、四部的有关要求,本研究初步建立了人链式激活免疫细胞制剂的质控方法和质量标准,并用于申报临床试验研究,为保证该产品安全有效、质量可控奠定了一定基础。

5 展望

随着免疫细胞治疗产品的多样化和复杂性增加,质量控制和非临床研究的重要性日益凸显。这包括对细胞制剂的采集、处理、培养、收获以及最终产品的储存和运输等各个环节的严格控制。未来的免疫细胞治疗可能会更加个性化和精准化,通过深入理解细胞的生物学特性和疾病机制,开发出更加个性化的细胞治疗方案。同时,随着技术的进步,免疫细胞治疗的适应证可能会进一步拓宽,包括实体瘤和自身免疫性疾病的治疗。

尽管免疫细胞治疗在某些类型的癌症治疗中显示出巨大的潜力,但仍面临诸如治疗抵抗、不良反应管理以及如何提高疗效等挑战。未来的研究需要进一步探索这些挑战,并开发新的策略和技术来克服。免疫细胞治疗正成为癌症治疗的一个重要方向,其质量控制对于确保治疗的安全性和有效性至关重要。

REFERENCES

- [1] LAUMBACHER B, GU S, WANK R. Activated monocytes prime nave t cells against autologous cancer; vigorous cancer destruction in vitro and in vivo[J]. *Scand J Immunol*, 2012, 75(3):314-328.

- [2] WANK R, SONG X, GU S, *et al.* Benefits of a continuous therapy for cancer patients with a novel adoptive cell therapy by cascade priming(CAPRI) [J]. *Immunotherapy*, 2014,6(3):269-282.
- [3] LI H, ZHANG Z, DUAN X, *et al.* Efficacy of cascade-primed cell infusion as an adjuvant immunotherapy with concurrent chemotherapy for patients with non-small-cell lung cancer; a retrospective observational study with a 5-year follow-up[J]. *Cytotherapy*, 2020, 22(1):35-43.
- [4] LI G, ZHAO S, ZHANG X, *et al.* Comparison of the proliferation, cytotoxic activity and cytokine secretion function of cascade primed immune cells and cytokine-induced killer cells *in vitro* [J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(2):2629-2635.
- [5] MA J, LIU C X, TAN Q, *et al.* Cell product quality control and quality management[J]. *Drug Eval Res*, 2021, 44(2):273-292.
- [6] European Medicines Agency. Guideline on quality, non-clinical and clinical aspects of medicinal products containing genetically modified cells[S]. 2010.
- [7] FDA. Guidance for industry, preclinical assessment of investigational cellular and gene therapy products[EB/OL]. (2013-11-19) [2024-11-06]. <https://www.govinfo.gov/content/pkg/FR-2013-11-25/pdf/2013-28173.pdf>.
- [8] REDDY O L, STRONCEK D F, PANCH S R. Improving CAR T cell therapy by optimizing critical quality attributes [J]. *Semin Hematol*, 2020, 57(2):33-38.
- [9] European Medicines Agency. Guideline on virus safety evaluation of biotechnological investigational medicinal products[EB/OL]. (2017-12-18) [2024-11-06]. London: 2008 (2008-07-24) [2024-11-06]. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-virus-safety-evaluation-biotechnological-investigational-medicinal-products_en.pdf.
- [10] State Food and Drug Administration. Technical guidelines for pharmaceutical research and evaluation of immune cell therapy products(trial)[EB/OL]. (2017-12-18) [2024-11-06]. <http://www.cnpharm.com/c/2017-12-26/644319.shtml>.
- [11] YIN Y, MITSON-SALAZAR A, PRUSSIN C. Detection of intracellular cytokines by flow cytometry[J]. *Curr Protoc Immunol*, 2015, 110:6.24.1-6.24.18.
- [12] TASHIRO H, SAUER T, SHUM T, *et al.* Treatment of acute myeloid leukemia with T cells expressing chimeric antigen receptors directed to C-type lectin-like molecule 1 [J]. *Mol Ther*, 2017,25(9):2202-2213.
- [13] *Ch. P(2020) Vol III* (中国药典 2020 年版. 三部) [S]. 2020: 520-524, 538-544.
- [14] *Ch. P(2020) Vol IV* (中国药典 2020 年版. 四部) [S]. 2020: 535-536.
- [15] STERNER R C, STERNER R M. CAR-T cell therapy: current limitations and potential strategies [J]. *Blood Cancer J*, 2021, 11(4):69. DOI: 10.1038/s41408-021-00459-7.
- [16] RAFIQ S, HACKETT C S, BRENTJENS R J. Engineering strategies to overcome the current roadblocks in CAR-T cell therapy [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2020, 17(3):147-167.
- [17] CAPELLI C, FRIGERIO S, LISINI D, *et al.* A comprehensive report of long-term stability data for a range ATMPs: a need to develop guidelines for safe and harmonized stability studies [J]. *Cytotherapy*, 2022, 24(5):544-556.
- [18] GONZÁLEZ-ESTRADA E, VILLASE. OR J A, ACOSTA-PECH R. Shapiro-Wilk test for multivariate skew-normality [J]. *Computational Statistics*, 2022, 37(3):1-17.
- [19] GONZÁLEZ-ESTRADA E, COSMES W. Shapiro-Wilk test for skew normal distributions based on data transformations [J]. *J Statistic Comput Simulat*, 2019, 89(17):3258-3272.
- [20] YE L, RAFET B, GUOHUI W, *et al.* Author correction: KIR-based inhibitory CARs overcome CAR-NK cell trogocytosis-mediated fratricide and tumor escape [J]. *Nat Med*, 2022, 28:2133-2144
- [21] FINCK A V, BLANCHARD T, ROSELLE C P, *et al.* Engineered cellular immunotherapies in cancer and beyond [J]. *Nat Med*, 2022, 28(4):678-689.
- [22] LU J, WEI W. Considerations on chemistry, manufacturing, and control of stem cell products for Investigational New Drug application in China [J]. *Biologicals*, 2020, 68:3-8.
- [23] KIROUAC D C, ZANDSTRA P W. The systematic production of cells for cell therapies [J]. *Cell Stem Cell*, 2008, 3(4):369-381.
- [24] ZIA S, PIZZUTI V, PARIS F, *et al.* Emerging technologies for quality control of cell-based, advanced therapy medicinal products [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2024, 246:116182. DOI: 10.1016/j.jpba.2024.116182.
- [25] CAPELLI C, CUOFANO C, PAVONI C, *et al.* Potency assays and biomarkers for cell-based advanced therapy medicinal products [J]. *Front Immunol*, 2023, 14:1186224. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1186224.

(收稿日期:2024-11-06)