

《人源肿瘤细胞系建立技术规范》编制说明

一、工作简况

1. 任务来源

2019 年 01 月 03, 深圳市市场和质量监督管理委员会下发《深圳市市场和质量监督管理委员会关于下达 2018 年第三批深圳市地方标准计划项目任务的通知》（深市质〔2018〕721 号），批准《人源肿瘤细胞系建立技术规范》的立项。本标准由圳华大生命科学研究院提出，由深圳市发展和改革委员会归口，由深圳华大生命科学研究院起草。

2. 编制背景、目的和意义

近年来，恶性肿瘤发病呈逐渐上升趋势，在我国一些地区已跃居致死病因的首位，严重威胁人类身体健康。肿瘤细胞系是进行肿瘤疾病研究重要的体外模型，随着生命科学的发展，利用肿瘤细胞系在体外进行肿瘤细胞生物学特性、肿瘤发生发展机制（如癌变、浸润、转移及复发机制）、抗体和药物的筛选等的研究已经成为热点。

自 1952 年 George Gey 从人的宫颈癌建立了全世界第一株癌症细胞系 HeLa 细胞系至今，国内外陆续有不同的人癌细胞系建立报道（1）。肿瘤细胞系在癌症研究中已经使用了许多年，特别是在验证相关疾病假说，以及肿瘤细胞特异性标志物等方面有着长足的研究基础，而随着新技术的不断出现，给肿瘤细胞系在分子遗传流行病学（研究在总人口或家庭中，基因和环境的相互作用与癌症发生的因果关系），分子病理学（旨在发展分子水平上的分类，以及癌症诊断的程序），药物基因组学/药物蛋白质组学（研究病人个体的基因型/表型，以及其对药物治疗的反应之间的关联性）等方面的研究，带来了前所未有的机遇，尤其是在癌症新机制的发现过程中起到越来越重要的作用，能够在疾病发生的不同阶段进行分子水平的研究和评估，推动精准医疗的研究应用进展（2）。

在国际上，欧美国家已经开展的一系列肿瘤细胞系的建设工作，用于癌症的转化医学研究、癌症发病分子机制的研究以及相关药物的研发。2016 年 7 月，

由美国国家癌症研究所、英国癌症研究中心、威康信托基金会桑格研究所以及荷兰 Hubrecht Organoid 技术中心组成的人类癌症模型组织 (The Human Cancer Models Initiative) 宣布将于 3 年之内基于标准肿瘤细胞系开发 1000 个癌症模型, 旨在开发出能更好地反映人类癌症特征的试验模型, 并用于药物筛选和治疗方法的研究, 加速人类癌症的研究步伐 (3)。同时, 欧洲六家研究机构联合建立的肿瘤组织异种移植联盟 (EurPDX) 拥有 1500 株的肿瘤细胞系, 美国杰克逊实验室也拥有了 450 株人源性肿瘤组织异种移植 (PDX) 细胞系。虽然各大标准细胞保藏机构 (如美国 ATCC, 德国 DSMZ、美国国立癌症研究所、新加坡国立大学癌症研究所的乳腺癌细胞库、德国柏林 Mologen Inc 的肾癌肿瘤细胞库、日本大阪府立成人病中心的肿瘤细胞库等) 开展的一系列肿瘤细胞系的建设工作, 但对于人类肿瘤细胞系建立的并没有专一的、准确的标准规范文件, 仅在少数规范文件中概述性的描述肿瘤细胞系的建立如 FDA 发布的《Points to Consider in the Characterization of Cell Lines Used to Produce Biologicals》、ATCC 发布的《Primary cell culture Guide》、Creative Bioarray 公司发布的《Tumor Cell Culture Guide》等。

在我国, 虽然也建设了一批肿瘤细胞系资源存储机构, 如中国医学科学院肿瘤细胞库、中国科学院昆明细胞库等, 但多数肿瘤细胞株购于国外并与其他正常细胞株共同存在于各大综合细胞库、癌症研究所、或医疗研究机构中。从 1984 年 11 月召开的第二届全国细胞和组织培养专题讨论会上通过的《人的恶性肿瘤连续性细胞系 (株) 的建系 (株) 标准的建议》到 2007 年 5 月中国人类遗传资源平台项目组提出的《中国人类遗传资源实体瘤永生细胞系建立技术规程》(讨论稿) 可以看出, 我国重视肿瘤细胞系的研究应用, 但针对标准肿瘤细胞建系的研究发展较缓, 基于肿瘤细胞系的建系技术、质量控制等研究相对缺乏和滞后, 直至最近 10 年内无相关标准或指导文件的发布。但由于缺少统一、标准的肿瘤细胞建系方法、质量控制等指导文件, 建系标准不统一, 导致肿瘤细胞系的质量参差不齐, 不免对鉴定工作带来混乱, 亦不利于国际交流, 对肿瘤的研究、诊断治疗造成困扰, 甚至得出错误的结论等后果。

标准化、规范化的肿瘤细胞系模型为各种肿瘤研究、干预性 or 无创伤性的肿瘤治疗提供了良好的材料。肿瘤细胞系具有其特殊的生物学特征, 其建立有自身的特点, 肿瘤细胞系的质量决定了其应用的广度和深度。因此, 建设完整而高质

量的肿瘤细胞建系体系，规范和高效使用肿瘤细胞系样本，建立相关技术规范，无疑是提高肿瘤疾病研究水平必不可少的途径和手段（4）。建设具有技术先进性、系统性以及实用性的标准肿瘤细胞系制备及鉴定技术规范则是医院、研究机构、医学院校以及相关国际交流中心等单位建立肿瘤细胞库的首要任务。

参考文献：

- [01] 潘琼婧. 人的恶性肿瘤连续性细胞系(株)的建系(株)标准的建议[J]. 中国细胞生物学学报, 1985(2):47-49.
- [02] COMMON MINIMUM TECHNICAL STANDARDS AND PROTOCOLS FOR BIOLOGICAL RESOURCE CENTRES DEDICATED TO CANCER RESEARCH (2007), WHO.
- [03] Ledford, Heidi. Global initiative seeks 1,000 new cancer models[J]. 2016.
- [04] 季加孚. 肿瘤组织标本库常用实验技术手册[M]. 科学出版社, 2006.

3. 简要编制过程

2014~2019 年，本标准起草工作组通过查阅国内外文献和多方调研学习，从以下几个方面做了前期准备工作：

1) 分析整理了与人标准肿瘤细胞系建设相关的标准规定、专家论著、期刊研究、技术规范、最佳实践、指南等，并结合实际操作，梳理归纳了人标准肿瘤细胞系建设的技術方法体系。

2) 参与了2016年5月和2017年5月的国际细胞治疗协会年度论坛(ISCT)，参与了2014年6月、2015年6月和2016年6月的国际干细胞研究学会(ISSCR)举办的年会，参与了2016年3月德国柏林举办的国际生物和环境样本保存协会(ISBER)年会，参与了2015年7月冷泉港亚洲会议等。从基本生物学到疾病治疗研究，与参会的国内外肿瘤研究方面的专家针对标准肿瘤细胞系作为重要的生物样本资源，对其在研究应用等方面的现状和重要性等进行了深入的交流探讨，及时学习和总结了国内外的先进技术知识和经验。

3) 2014年2月至2017年5月，由深圳市市场监督管理局组织制订、深圳华大生命科学研究院编写的深圳市标准化指导性技术文件《人类间充质干细胞库

建设与管理规范》（编号：SZDB/Z 126-2015）、《基于第二代测序技术的 HPV 基因分型检测标准》（编号：SZDB/Z 123-2015）、《基于第二代测序技术的 HLA 高分辨分型检测标准》（编号：SZDB/Z 124-2015）、《人类血液来源免疫细胞库建设与管理规范》（编号：SZDB/Z 185-2016）、《生物样本库中人类组织样本收集、处理、运输和储存规范》（编号：SZDB/Z 244-2017）、《微生物资源库建设与管理规范》（编号：SZDB/Z 243-2017）以及本小组成员起草的《短串联重复序列基因分型法鉴定人源细胞系技术规范》（编号：SZDB/Z 238-2017）完成了制订工作，并相继公布实施。为《人标准肿瘤细胞系建设技术规范》标准的制订工作提供了宝贵经验。

4） 2017 年 3 月开始，深圳华大生命科学研究院成立了标准编制小组。标准编制组对国内外人标准肿瘤细胞系建设技术的发展状况、发展趋势以及存在问题等进行了全面系统的调研。对调研资料加以整理分析，起草标准的初步框架。

5） 2017 年 5 月，召开第一次起草工作会议，初步确定标准编制的原则和标准的框架内容，并根据会议结论，起草了标准的草案。

6） 2017 年 6 月，召开第二次起草组会议，经过研究讨论，认为只有建设一套与国际先进技术标准保持基本一致，更加系统、完善且具可操作性的人标准肿瘤细胞系建设技术规范才能有效保证肿瘤细胞系的科学研究和应用，在全面调研的基础上，采用更具科学性和先进性的技术方法，优化和规范人标准肿瘤细胞系建设技术。此次研讨会后，经过修改形成工作组第二稿。

7） 2017 年 9 月-2017 年 11 月，起草工作组将标准草案发送给医院、研究院等各单位的专家，就草案进行讨论，征求意见和建议。同时，将草案投放在网络上，广泛征求生物、医疗等各领域人士的意见和建议。结合各单位各专家对草案的反馈建议，修改完善草案，形成标准送审稿。

8） 2018 年 07 月 05 日，参加了市市场监督管理局组织的标准评审会，就项目背景、进展和标准的主要内容向评审专家作了汇报。专家逐条审核了标准内容，并提出将标准题目修改为《源肿瘤细胞系建立技术规范》以及其他建议。经专家讨论，针对本次标准不足之处提出修改建议，对下一步工作做出指导。会后，根据专家意见对标准文稿进行修订和调整，完善后的评审稿发给专家组进行确认，以确保标准质量；后续再申请进入评审流程，重新评审此标准。

9) 2018 年 09 月-2018 年 10 月,起草工作组将标准草案发送给医院、研究院等单位的专家,就草案进行讨论,征求意见和建议。同时,将草案投放在网络上,广泛征求生物、医疗等各领域人士的意见和建议。结合各单位各专家对草案的反馈建议,修改完善草案,形成标准送审稿。

10) 为深入推进深圳标准建设,加快实施“标准+”战略,根据《中华人民共和国标准化法》和《广东省质监局关于公共服务地方标准有关事项的通知》(粤质监标函〔2018〕1 号)的规定,经研究,深圳市市场和质量监督管理委员会决定对本地方标准予以立项。

11) 2019 年 1 月按照新标准法要求对标准的语言与格式进行了规范。形成标准送审稿。

二、制标原则/依据和主要内容

1. 制标原则/依据

1.1 依法原则

即以现行法律法规的规定和相关标准为基础。本标准中的约束性条款首先应与这些法律法规、强制性标准的要求保持一致,并在必要情况下予以细化和延伸,但总体上不得有悖于法律法规和强制性标准的要求。

1.2 实用性原则

标准的编写结合了当前肿瘤细胞系建系技术的实际情况,力求符合进行人标准肿瘤细胞系建设的现实需求。标准的编制过程中,尽可能地考虑了细胞鉴定检测所需的人员、场地、硬件、软件等以及检测方法的可实用性和可操作性,便于推广应用。

1.3 科学性、前瞻性

本标准规范内容与国际先进技术标准保持基本一致,全面检索了国内外关于肿瘤细胞系建系相关技术、质量检测相关项目和要求。主要参考各大标准细胞保藏机构(如美国 ATCC,德国 DSMZ 等)中肿瘤细胞株的建系流程以及其相应的质控要求,系统归纳总结其共性与差异,对于肿瘤细胞的原代分离、传代、成纤维细胞的排除以及质量控制的标准等方面进行了统一规范,基本形成了一套较

为系统、全面，且与国际先进性同步的标准肿瘤细胞系建系标准，保证了本标准的科学性。

随着肿瘤细胞系在癌症研究中的应用越来越广泛，对于人标准肿瘤细胞系的需求也日益增强，而各大综合细胞库、癌症研究所、或医疗研究机构却并没有专门针对肿瘤细胞系构建的统一的规范化的操作体系，导致各大细胞资源库中的同种细胞系由于建系标准不统一，导致细胞质量参差不齐，无法保证研究中对肿瘤细胞系的选择及使用的正确性，影响研究结果的准确性，尤其在多中心实验室的验证研究中，难以有效评估肿瘤细胞对相应肿瘤药物的敏感性及预后，甚至得出错误的结论等后果。本标准的制定从标准肿瘤细胞系建系的技术标准和安全标准方面提出了原则性要求，有助于推动肿瘤相关研究，主要涉及基础研究、医疗诊治和公共卫生预防等方面的应用，具有很好的前瞻性。

本标准可以建议性的指导更多的机构进行标准肿瘤细胞系的建立，对于实现肿瘤细胞资源存储的规范化、信息化、可持续化，以及促进肿瘤细胞资源充分共享有重要意义。

2. 主要内容

从标准对实际工作的指导意义出发，本标准规定了人源肿瘤细胞系建立，包括样本获取、细胞建系及质量检测等方面的操作程序和一般原则。

三、国内外相关研究依据、技术标准

在国内，从1984年11月召开的第二届全国细胞和组织培养专题讨论会上通过的《人的恶性肿瘤连续性细胞系（株）的建系（株）标准的建议》到2007年5月中国人类遗传资源平台项目组提出的《中国人类遗传资源实体瘤永生细胞系建立技术规程》（讨论稿）可以看出，我国重视肿瘤细胞系的研究应用，但针对标准肿瘤细胞建系的研究发展较缓，基于肿瘤细胞系的建设技术、质量控制等研究相对缺乏和滞后，直至最近10年内无相关标准或指导文件的发布。

在国际上，世界范围内除了各大标准细胞保藏机构（如美国ATCC，德国DSMZ等）开展的一系列肿瘤细胞系的建设工作，用于癌症的转化医学研究，如癌症发病分子机制的研究以及相关药物的研发，例如欧洲六家研究机构联合建立的肿瘤组织异种移植联盟（EurPDX）拥有1500株的肿瘤细胞系，美国杰克逊实验室也

拥有了450株人源性肿瘤组织异种移植（PDX）细胞系。同时目前在国际上也兴起了专门进行肿瘤细胞系构建工作的肿瘤细胞库的建设，如新加坡国立大学癌症研究所的乳腺癌细胞库、德国柏林Mologen Inc 的肾癌肿瘤细胞库、日本大阪府立成人病中心的肿瘤细胞库等，进行肿瘤细胞系中相关分子表达和基因突变等信息研究，用于更直观的探究肿瘤的发病机理、药物敏感性以及治疗策略等。

由此看出，目前国内外的各大肿瘤研究机构并未涉及到规模化的肿瘤细胞系采集制备和稳定的存储模式研究，加上多数肿瘤细胞系购于国外并与其他正常细胞株共同存在于各大综合细胞库、癌症研究所、或医疗研究机构中，到目前为止仍然缺乏专门针对标准肿瘤细胞系建设的规范化操作体系的标准文件，导致各大细胞资源库中所构建的肿瘤细胞系虽然数目众多，但细胞质量参差不齐，无法保证研究中对肿瘤细胞系的选择及使用的正确性，影响研究结果的准确性，难以有效评估肿瘤细胞对相应肿瘤药物的敏感性及预后，甚至得出错误的结论等后果，难以进行有效的应用研究和交流合作。

此次标准制订过程中充分参考了现有国内外相关指导文件的要求和新技术的发展情况，结合深圳华大生命科学研究院对于肿瘤细胞系建设的研究现状，对建立人标准肿瘤细胞系建系所涉及的制备和检测技术规范，确定肿瘤细胞连续性细胞系的原代培养方法、成纤维细胞的排除和质量检测等方面的标准操作和一般原则。

四、标准中涉及的专利

无

五、产业化情况、推广应用论证和预期达到的经济效果等情况

癌症是一个全球性的疾病，要想对其进行全面的研究，就需要比较全球不同地区的癌症患者的疾病性状。另外，对许多稀有类型癌症的研究，也因为每个研究机构缺少足够多的病例而无法进行全面有效的研究。因此，在使用肿瘤细胞系对其进行深入研究时，会出现因不同地区具有不同的细胞系建系信息、技术和生物材料的使用习惯问题而出现交流障碍。因此，建立一套通用的、规范管理的人标准肿瘤细胞系建设技术，使各大临床医院、研究单位、医学院校和国际交流中都尽可能的采用同一套标准建设和使用肿瘤细胞系，用于研究肿瘤细胞的生物学

特性、肿瘤发生发展机制和抗肿瘤药物敏感性，对肿瘤疾病的深入研究具有广阔的应用前景和非常重要的现实意义，能有效促进深圳市乃至全国在肿瘤细胞的研究及应用方面的标准化和规范化进程。

六、采用国际标准和国外先进标准情况，与国际、国外同类标准水平的对比情况，国内外关键指标对比分析与测试的国外样品、样机的相关数据对比情况。

我国目前还没有专门针对人标准肿瘤细胞系建设的技术规范，只有极少数的文件对于肿瘤细胞系的建系标准提出了要求：1) 1984 年召开的第二届全国细胞和组织培养专题讨论会上通过的《人的恶性肿瘤连续性细胞系（株）的建系（株）标准的建议》提出，我国自建的连续性细胞系已有的 100 多个人恶性肿瘤细胞系由于建系标准不统一，对鉴定工作带来混乱，不利于肿瘤疾病的研究、合作与交流，因此建议相关研究人员对于肿瘤细胞系的建系技术以及质量检测的标准进行统一规范，特别提出了肿瘤细胞来源的病理分型诊断和支原体污染的鉴定要求；2) 2007 年 5 月中国人类遗传资源平台项目组提出的《中国人类遗传资源实体瘤永生细胞系建立技术规程》（讨论稿）中对于实体瘤肿瘤细胞系在样本采集的要求和原代分离制备的技术细节等方面做了较为详细的阐述，对于细胞系的质量检测和质量控制等方面也提出了原则性的要求。

国际上，世界范围内的各大标准细胞保藏机构（如美国 ATCC，德国 DSMZ 以及英国 UKNCC 等）一直致力于开展的一系列肿瘤细胞系的建系工作，且各大研发机构用于癌症的转化医学研究，如癌症发病分子机制的研究以及相关药物的研发等所使用的肿瘤细胞系大多数来自这些标准的细胞库。虽然目前仍缺乏较为成熟的细胞系建系流程，但各大标准细胞保藏中心所提供的细胞建系技术和检测指标为我们建设标准肿瘤细胞系建设技术规范提供了重要的参考，同时本标准也结合了国内相关的标准如 GB19489（实验室生物安全通用要求）、GB/T 27025（检测和校准实验室能力的通用要求）《人类细胞遗传学国际命名体制》（ISCN2005）等要求，并在多次征集生物医学领域专家意见的基础上不断完善形成了初稿。

七、与现行相关法律、法规、规章及相关标准，特别是强制性标准的协调性

本标准从我国人标准肿瘤细胞系建设技术规范的实际情况出发，参考了国内外相关资料，体现了科学性、先进性和可操作性原则，在制定过程中充分考虑国

内相关的法规要求，与相关标准法规包括强制性标准协调一致。

八、重大分歧意见的处理经过和依据

本标准在编写过程中无重大分歧意见。

九、标准的属性

本标准属于推荐性标准。

十、贯彻标准的要求和措施建议

在本标准通过审核、批准发布之后，由相关部门组织力量对本标准进行宣贯，在行业内进行推广。建议本标准自发布 6 个月之后开始实施。

十一、废止现行相关标准的建议

无。

十二、其它应予说明的事项

该标准从我国生物行业的实际情况出发，参考了国内外相关资料，体现了科学性、先进性和可操作性原则，综合评定达到了国际水平。