ICS 点击此处添加 ICS 号
CCS 点击此处添加 CCS 号

中国医疗器械行业协会
China Association for Medical Devices Industry

团 体 标 准

T/CAMDI 016—2024

3D 生物打印肿瘤模型的通用要求

General requirements for 3D-bioprinted tumor model

（征求意见稿）

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

2024－XX－XX 发布 2024－XX－XX 实施

中国医疗器械行业协会 发 布

目　　次

前言 ..... Ⅱ
1 范围 1
2 规范性引用文件 1
3 术语和定义 1
4 3D 生物打印肿瘤模型的适用范围 1
5 3D 生物打印肿瘤模型建立的一般流程 2
6 3D 生物打印肿瘤模型的药物敏感性检测 4
7 3D 生物打印肿瘤模型的药物敏感性检测报告 4
8 数据管理 4
9 废弃物管理 5

前　言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则　第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中国医疗器械行业协会增材制造医疗器械专业委员会提出并归口。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：

本文件指导专家：

本文件首次发布于2024年

3D生物打印肿瘤模型的通用要求

1 范围

本文件规定了3D生物打印肿瘤模型的通用要求。

本文件适用于基于3D生物打印构建的肿瘤模型。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB 19489 实验室 生物安全通用要求

GB 39707 医疗废物处理处置污染控制标准

GB/T 38736 人类生物样本保藏伦理要求

药物临床试验质量管理规范(GCP)

中华人民共和国药典

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1 3D生物打印 3D bioprinting

使用3D打印（即通过打印物体的多个单独层，从数字模型中创建物体的一种方法）生产类似于身体自然部位并含有活细胞的组织或器官的过程。

3.2 肿瘤模型 tumor model

用于肿瘤研究的，可以模拟肿瘤特性，具有实用性及可操作性和可重复性的系统。

3.3 生物墨水 bio-ink

可集成到3D生物打印过程中的载细胞、细胞因子和/或药物的生物材料。

3.4 半数抑制浓度 IC_{50}

半数抑制浓度（或称半数抑制率）是物质抑制特定生物或生化功能的效力的量度，表明需要多少特定的抑制物质（例如药物）才能体外抑制50%给定生物过程或生物成分。

4 3D生物打印肿瘤模型的适用范围

4.1 适用瘤种

患者来源的3D生物打印肿瘤模型适用瘤种包括但不限于消化系统肿瘤（如肝细胞癌，肝内胆管癌，胆囊癌，结直肠癌，结直肠癌肝转移，胰腺癌），呼吸系统肿瘤（如肺癌），口腔肿瘤（如口腔鳞状细胞癌），女性生殖系统肿瘤（如卵巢癌，宫颈癌）。

4.2 适用场景

3D生物打印肿瘤模型的应用场景包括但不限于肿瘤学的基础研究、肿瘤分子亚型诊断、抗肿瘤药物的药敏检测。药物敏感性检测可以检测包括但不限于化疗药物、靶向药物、免疫药物及新药候选化合物；可以对单一药物进行检测，也可以对药物组合进行检测。

5 3D 生物打印肿瘤模型建立的一般流程

5.1 签署知情同意书

在采样前应根据采样的方式常规签署样本采集的知情同意书，样本采集后检测单位应和患者签署3D生物打印肿瘤模型进行药物敏感性检测的相关知情同意书。知情同意应按照GB/T 38736 人类生物样本保藏伦理要求 进行规范。

知情同意内容包括但不限于：

（1）3D生物打印肿瘤模型建立的过程及成功率；

（2）药物敏感性检测所检测的药物种类；

（3）肿瘤组织样本的利用以及剩余肿瘤样本的处理，充分保障患者的隐私信息及生物信息安全；

（4）3D生物打印肿瘤模型的药物敏感性检测结果仅对临床治疗提供参考建议，具体实际用药及治疗方案应根据临床实际情况决定；

（5）药物敏感性检测的收费标准及耗时；

（6）参与药物敏感性检测的人员等。

5.2 肿瘤组织采集与送检

（1）尽可能多的采集肿瘤细胞含量高的肿瘤组织，剔除冗余以及活性不佳的组织，保留活性良好的组织。

（2）做好采集信息的登记，并和组织细胞提供者的资料一起保存、归档管理，便于进行追溯。

（3）采集的肿瘤组织样本应尽快置于专用样本保存液中，减少暴露在空气中的时间，在低温（4 ℃左右）下快速运转至检测单位。样本运输过程应注意防震、防摔和防泄漏，保护样本不发生外源性污染的同时，避免样本运输过程中对环境造成生物污染。

5.3 3D 生物打印肿瘤模型构建、培养、鉴定

5.3.1 样本组织的清洗

切取的组织应在预冷的含抗生素的磷酸盐缓冲液（Phosphate buffer saline, PBS）中，使用灭菌的手术器械去除样本中的脂肪组织、结缔组织、坏死和钙化组织。随后将之放入离心管，加入含抗生素的PBS进行洗涤。洗涤次数应不少于3次，每次洗涤时间应不少于1 min。

5.3.2 样本组织的消化以及单细胞悬液的制备

将肿瘤组织分离为细胞悬液，可取上清液置于镜下观察，建议形成3-10个细胞的细胞团时停止。计算细胞数，建议得到的细胞浓度为5×10^6/ml以上。建议细胞活力检测在90%以上。

5.3.3 3D生物打印肿瘤模型的构建

根据不同癌种、同一癌种不同类型或不同转移部位等选择合适的3D生物打印方式及生物墨水，配制适宜浓度和体积的生物墨水，构建3D生物打印肿瘤模型。

5.3.4 3D生物打印肿瘤模型的培养

3D生物打印肿瘤模型构建后在培养板上标记样本编号、打印体编号、代数、操作日期、操作人等信息，置于培养箱内于37℃、5%的CO_2浓度条件下培养。培养过程中应密切观察模型的生长状态，根据癌种不同，选择对应肿瘤的培养基，每隔2-3天更换培养基。通过计数活细胞和死细胞数量来计算细胞活力。对肿瘤模型状态进行密切观察，把控扩增时机。

5.3.5 3D生物打印肿瘤模型的鉴定

3D生物打印肿瘤模型的鉴定包括但不限于以下方面：

(1) 染色体核型

按照《中华人民共和国药典》检验，应为46，XX或46，XY。

(2) 肿瘤标志物的鉴定（蛋白水平）

将3D生物打印肿瘤模型分离成单细胞悬液，并采用荧光抗体标记细胞。建议采用流式细胞分析被荧光抗体标记的细胞比例。宜采用人成纤维细胞或间充质干细胞作为阴性参考品。

(3) 基因表达变化及基因突变分析（基因水平）

建议使用全外显子测序分析或RNA测序分析等技术手段分析3D生物打印肿瘤模型的基因表达变化及基因突变分析。

(4) 组织细胞的形态结构观察

在三维培养条件下，用细胞显微镜进行观察。或将3D生物打印肿瘤模型铺于载玻片上，用细胞显微镜进行观察。

(5) 细胞存活率

采用Calcein AM和PI染色法或使用CCK8法检测细胞的存活率。

(6) 肿瘤组织模型的H&E和免疫组化染色（组织水平）

将3D生物打印肿瘤组织模型与原始肿瘤组织的H&E和免疫组化染色对比。

6 3D 生物打印肿瘤模型的药物敏感性检测

(1) 在肿瘤模型的快速生长期内进行药物敏感性实验。

(2) 加药前用显微镜观察每孔样本状态，剔除异常孔，并在显微镜下拍照。

(3) 实验设置阴性对照组，空白组，药物测试组。根据不同的3D生物打印肿瘤模型合理的设计药物浓度梯度、测试的复孔数等。建议在培养第6-10天时进行药敏试验，在新鲜的培养基中按设置的梯度加入测试的药物，在加药后第1天和第2天分别更换新鲜的包含测试药物的培养基，在加药后第3天进行细胞活力测试。

(4) 加药后第3天取出培养板，在显微镜下拍照。

(5) 建议通过使用CellTiter-Glo® 3D细胞活力分析试剂盒检测细胞存活率。使用具有检测化学发光功能的多功能酶标仪进行化学发光检测。

(6) 待检测完成后，导出数据，做好标记。剔除孔需做好标记并标注原因。

(7) 样本孔ATP浓度计算：将药物测试孔与对照孔发光均值代入标准曲线，得到 ATP 浓度值。

(8) 相对肿瘤抑制率计算：

$$\text{相对抑制率} = \frac{\text{药物测试孔 ATP 浓度}}{\text{对照孔 ATP 浓度}} \times 100\%$$

(9) 药物 半数抑制浓度（IC_{50}）计算：根据药物不同浓度下的相对抑制率，拟合量效曲线计算该药物的 IC_{50}值。

(10) 药敏结果的判定：根据IC_{50}值判定药物的敏感性结果。

7 3D 生物打印肿瘤模型的药物敏感性检测报告

药物敏感性检测结束后，检测机构以纸质版或电子版报告形式将检测报告发送给患者或其医师。检测报告中应当明确展示出3D生物打印模型建立及使用的全过程，包括但不限于肿瘤模型显微镜图片、肿瘤模型特征分析、药物敏感性曲线、用药前后对比图。

8 数据管理

宜结合3D生物打印肿瘤模型的使用目的制订数据管理规范，包括但不限于数据内容及保存时间、数据管理与使用的权限及责任。详细的临床样本数据管理可参照《药物临床试验质量管理规范》(GCP)中的数据管理部分内容。

9 废弃物管理

在组织样本获取、3D生物打印肿瘤模型培养、药物敏感性测试等操作过程中产生的生物医学废弃物，应按照 GB 19489中 7.19 和 GB/T 38736中 3.1 的要求，遵循《医疗废物管理条例》丢弃到指定地点妥善处置。对于使用过的3D生物打印肿瘤模型或不合格的3D生物打印肿瘤模型须严格按照生物样本处置与管理规范操作。