治疗性蛋白药物临床药代动力学研究

技术指导原则

（征求意见稿）

国家药品监督管理局药品审评中心

2020年7月

目 录

[一、概述 5](#_Toc46477009)

[二、研究内容 6](#_Toc46477010)

[（一）药代动力学特征 6](#_Toc46477011)

[1. 吸收 6](#_Toc46477012)

[2. 分布 7](#_Toc46477013)

[3. 消除 8](#_Toc46477014)

[4. 其他相关问题 9](#_Toc46477015)

[（1）剂量和时间依赖性 10](#_Toc46477016)

[（2）蛋白质的化学修饰 10](#_Toc46477017)

[（3）变异性 11](#_Toc46477018)

[（4）免疫原性 11](#_Toc46477019)

[（二）特殊人群 12](#_Toc46477020)

[（三）暴露-效应关系 14](#_Toc46477021)

[（四）相互作用研究 15](#_Toc46477022)

[三、生物分析 16](#_Toc46477023)

[（一）一般考虑 16](#_Toc46477024)

[（二）方法学相关问题 18](#_Toc46477025)

[1. 分析方法 18](#_Toc46477026)

[2. 标准品 19](#_Toc46477027)

[3. 内源性物质浓度 19](#_Toc46477028)

[四、参考资料 19](#_Toc46477029)

治疗性蛋白药物临床药代动力学研究技术指导原则

一、概述

治疗性蛋白药物是一类由分子量不同的多肽到大分子蛋白质为基本构成的生物制品。治疗性蛋白药物和小分子药物药代动力学（pharmacokinetics，PK）研究目的一致，其主要目的之一是为患者用药的有效性和安全性提供依据。因此，治疗性蛋白药物的药代动力学应与传统小分子药物以相同的科学依据进行评估。但是，由于治疗性蛋白药物的特性，与传统小分子相比，在药代动力学研究设计时应予特别考虑。本指导原则旨在关注治疗性蛋白药物与传统小分子药物之间药代动力学特征的差异，阐明治疗性蛋白药物临床药代动力学评估时需考虑的要点，对治疗性蛋白药物药代动力学的研究方案提出建议。

本指导原则主要适用于治疗性蛋白药物的临床研发。应用本指导原则时，还请同时参考药物临床试验质量管理规范（GCP）、国际人用药品注册技术协调会（ICH）和其他国内外已发布的相关指导原则。

本指导原则仅代表药品监管部门当前的观点和认识，随着科学研究的进展，本指导原则中的相关内容将不断完善与更新。

二、研究内容

（一）药代动力学特征

通常，治疗性蛋白药物在评价药代动力学方面的要求与传统小分子药物相同，但需要对其固有特性予以特殊考虑。建议在相关人群中，单剂量和稳态条件下表征治疗性蛋白药物的药代动力学（吸收、分布和消除）特征。但根据治疗性蛋白药物的类型及其适应症，药代动力学要求会有所不同。

治疗性蛋白药物的药代动力学研究应贯穿临床试验的各阶段，逐步收集数据以充分描述发挥药效和毒理效应（产生临床安全性事件相关）的物质基础。关于样本量，建议根据不同研究目的，结合产品特征，以目标剂量下可获得稳健药代动力学数据为基本原则，考虑纳入目标受试人群的例数。

在健康受试者中研究获得的药代动力学结果，外推到目标患者人群时需进行论证。由于某些治疗性蛋白药物的消除在很大程度上取决于靶受体的摄取，健康受试者和目标患者人群之间受体密度的差异（例如肿瘤或炎症组织中受体的过度表达）可能会导致重要的药代动力学特征（如半衰期等）产生差异，采用健康受试者数据预测患者人群数据时应充分考虑该问题。

1. 吸收

应在健康受试者或患者中开展适当的体内研究，描述药物的吸收特征，即吸收的程度和速度，静脉注射途径的药物除外。单剂量研究通常足以描述吸收特征，例如用以比较不同给药途径的吸收情况。

由于生物利用度低，故用于治疗系统性疾病的口服给药的治疗性蛋白药物较少。大多数治疗性蛋白药物是通过静脉注射、皮下注射或肌肉注射途径进行肠道外给药。给药途径的变化可能改变药物的药代动力学和免疫原性。皮下给药后，药物通过淋巴系统通常会产生体循环前消除，因此获得的生物利用度低于100％。通过淋巴回流而回收的蛋白质与分子量大小有关，小分子蛋白药物通过首过机制在组织中发生蛋白水解性降解，分子量较大的蛋白药物皮下给药的吸收过程中淋巴转运起重要作用。不同给药部位（如上臂、大腿、腹部）的生物利用度可能有所不同，如果需要其他部位给药，则应针对每个给药部位的相对生物利用度进行临床研究。对生物利用度影响的其他考虑因素还包括注射深度，注射浓度，注射体积和患者特异性因素等。

2. 分布

稳态分布容积（steady state volume of distribution, Vss）与分子量呈负相关，渗透性与分子量也呈负相关。对于分子量较大的蛋白药物，Vss与白蛋白的分布相近（约0.1 L/kg）。与传统小分子药物不同，蛋白药物分布到组织（即细胞摄取）通常是消除过程的一部分，而非分布过程的一部分。这种看似分布实为消除的过程是其分布容积较小的原因之一。因此，Vss低不一定代表低组织渗透性，可能由于受体介导的摄取，在单一靶器官中已达到足够浓度。应了解药物在体内的主要分布组织, 特别是效应靶器官和毒性靶器官的分布以及生物制品通过生物膜屏障的情况。

有些治疗性蛋白药物进入血液后会与血液成分结合。可溶性受体与治疗性蛋白药物结合，可能会通过改变清除率或分布容积从而改变其药代动力学特征。由于受试者体循环受体水平的个体差异，治疗性蛋白药物与可溶性受体结合后可能导致个体间PK参数的变异性增加。可溶性受体水平随时间的变化也可能导致药物的药代动力学特征呈现出时间依赖性变化。采用适当的方法，可在给药前和给药期间测定可溶性受体，同时需区分游离型受体和结合型受体，应评估其对药物药代动力学的影响及临床相关性。

当考虑认为治疗性蛋白药物结合血浆蛋白（白蛋白，α-酸性糖蛋白）能力与其药代动力学相关时，应予以研究。某些特异性结合蛋白可能影响一些治疗性蛋白药物的药代动力学，如生长激素（growth hormone, GH）与生长激素结合蛋白结合，胰岛素样生长因子（Insulin like growth factors-1, IGF-1）与血浆中的载体蛋白结合。

3. 消除

药物开发时应首先明确药物的主要消除途径，对于治疗性蛋白药物来说，在很大程度上可以通过分子量大小预测消除途径，因此可能不需要进行特定的研究。通常，蛋白质的分解代谢是经水解作用发生，分子量<50kDa的小蛋白通过肾脏滤过被清除（随着分子量的降低，肾滤过作用越来越重要），然后被肾小管重吸收和次级代谢分解；对于分子量较大的治疗性蛋白药物，主要通过在其他组织消除和/或受体介导的内吞后再分解代谢。

质量平衡研究对确定治疗性蛋白药物及其相关物质的排泄方式没有意义。治疗性蛋白药物大多以代谢物的形式排出体外，一般极少以原形排出体外。体内降解的终极产物为氨基酸，参与体内氨基酸循环。

对消除和代谢的特定研究（如微粒体、全细胞或组织匀浆研究）以及体外代谢物鉴定的必要性和可行性，应视具体情况而定。

具有药效活性的代谢物最好通过色谱分离、收集并进一步采用体内生物检定法进行测定。与母体药物相比，代谢物可能具有不同的药代动力学特征。但如果分离的活性代谢物或肽片段不可直接测定，可以描述包含活性部分的代谢物的药代动力学。此外，还应考虑测定血浆中蛋白质和其他成分之间的复合物。治疗性蛋白药物的活性不仅与血浆中的游离成分有关，还与结合部分以及结合动力学有关。因此，应明确生物分析中待测物的具体形态，尤其是结合部分。

4. 其他相关问题

（1）剂量和时间依赖性

治疗性蛋白药物的剂量-浓度关系可能是不成比例的，这取决于容量限制屏障对药物分布和消除的相对影响。例如在一些抗体药物中呈现饱和消除途径在较低的剂量范围内即可占主导地位。应在单剂量或多剂量研究中评估剂量比例关系，并对临床PK结果进行讨论。

在多剂量给药研究期间PK参数可能会随时间发生改变，例如，由于负责治疗性蛋白药物消除的受体下调或上调，或形成了抗药性抗体等情况。具有免疫活性、但由于半衰期长而缓慢积累的代谢物可能存在明显的时间依赖性。疾病的自然进程中，也可能出现药代动力学对时间的依赖性。所以在长期研究中，建议在各个剂量水平和各种情况下进行药代动力学探索，可考虑对长期试验的药代动力学数据进行群体药代动力学（Population Pharmacokinetics, PopPK）分析。

（2）蛋白质的化学修饰

蛋白质结构的化学修饰可用以改变治疗性蛋白药物的药代动力学特征，通常是为了延长半衰期（例如聚乙二醇化修饰），有时会使几种不同的蛋白质亚型表现出不同的药代动力学和药效学特征。同样，生产工艺中改变糖基化模式和/或唾液酸含量有可能改变药物的药代动力学和/或药效学特征。由于呈不同的药代动力学行为（例如，某些异构体比其他异构体消除得更快），个体内异构体的相对浓度可能会随时间发生变化，应在体外探索所有可鉴定的异构体的活性；如果发现或怀疑活性存在较大差异，应尽可能描述每种异构体在人体内的药代动力学特征，还可进一步开展药代动力学/药效学（pharmacokinetics/ pharmacodynamics, PK/PD）研究。建议免疫分析法和生物检定法相结合使用。

（3）变异性

应评估受试者个体间的变异性，尽量明确变异性的重要来源，如体重、性别和年龄等人口学因素。如有必要，应根据研究结果从安全性和有效性角度考虑个体化给药。治疗性蛋白药物特有的受试者个体间变异性的潜在来源包括抗体的形成、吸收的变异性（如注射部位的差异）、血液中结合成分的不同水平、靶部位负荷的变异性（如肿瘤负荷）、降解速率（如去聚乙二醇化）或降解方式的差异。

应对个体内的变异程度予以量化。对于多剂量给药的药物，建议研究不同情况下的变异性，尤其是安全性风险较高、推荐滴定给药的药物。个体内变异性应排除因分析方法精确度低导致的个体内变异估值偏高的情况。

（4）免疫原性

对很多蛋白质和肽类药物，部分患者会产生临床相关的抗药抗体。针对治疗性蛋白药物的免疫反应因药物不同而不同，潜在的免疫原性（新抗原性）受多种因素影响，主要包括患者相关因素和药物相关因素。

通常无法通过动物研究准确预测人体内抗体反应。免疫反应还可能取决于给药剂量和给药途径，如皮下注射比静脉给药更容易产生免疫原性。由于一个个体可能会产生具有不同亲和力、抗原表位和结合能力的多种抗体，因此可能会观察到抗体反应的异质性，所以应该从足够数量的患者中收集数据，以表征抗体反应的变异性。

抗药抗体可能改变治疗性蛋白药物的药代动力学和药效学。当存在药物相关的抗体反应时，应研究抗药抗体对治疗性蛋白药物药代动力学的影响，这对于需要多剂量给药或长期治疗的新药尤为重要。

一般只有中和抗体可以直接改变药效学作用，但无论中和能力如何，抗药抗体都可能会影响治疗性蛋白药物药代动力学，抗体的形成可以引起治疗性蛋白药物的清除率增高或降低（通常为前者）。因此，抗药抗体引起的临床效应改变可能是药代动力学和药效学综合改变的结果。

（二）特殊人群

临床开发计划应包括可支持在特殊人群（如肝肾功能损伤的患者）中使用的相应研究，以便指导此类患者的剂量调整。应基于药物的消除特性决定是否必要开展某项研究，如果未进行任何特殊人群的相关研究，申请人应提出合理依据。同时，应提供诸如年龄、体重、性别、种族等内在因素的影响信息，上述信息可以来自特殊人群的常规研究，也可以来自对II/III期临床试验数据的PopPK分析。

**肾损伤**：对于分子量低于69kDa的蛋白质，肾脏排泄对其消除过程和半衰期至关重要，分子量越小影响越显著。因此，对于这些治疗性蛋白药物，建议提供在肾损伤患者中进行的药代动力学研究数据。对于完整的单克隆抗体药物（分子量约150 kDa）主要不经肾脏消除，经评估肾脏损害可能不会显著改变其PK，可不开展在肾损伤患者中的药代动力学研究。但在特定情况下，肾功能减退或潜在的肾功能减退可能会影响治疗靶点的表达或浓度，进而影响试验药物的PK/PD特征，因此在临床药理学研究计划中也应对此予以考虑。

根据对试验药物的前期研究和预期评估，可先采用简化药代动力学研究初步评价肾功能损害对药物药代动力学行为的影响，基于研究结果决定是否需进一步开展全面的肾损伤研究。在评价肾损害对PK影响时，有两种常用的指标可用于评估肾功能，一种是估计肌酐清除率(Clcr)，另一种是估算肾小球滤过（eGFR），均可用于确定受试者肾功能损害的分组或分期。同时，还需根据试验药物的目标适应人群及药物特性，考虑是否需评价透析对药物药代动力学行为的影响。

另外，如果治疗性蛋白药物的活性由多种物质（例如代谢产物，亚型）产生，且每种物质的活性不同，由于肾脏清除率的差异，其相对含量可能随着肾功能的不同而变化。如果这些物质在免疫分析法中呈现相似的亲和力，则采用生物检定法测定总活性数据会更有意义。

**肝损伤：**治疗性蛋白药物在全身各组织均可发生非特异水解，如果肝脏降解是蛋白药物的重要消除途径，肝功能降低（主要是肝脏疾病引起的肝损伤）可能会影响治疗性蛋白药物的药代动力学行为。可对肝损伤患者开展单一的药代动力学研究，或在其他研究中合并肝损伤的评价，也可利用PopPK分析来评价肝损伤对治疗性蛋白药物的PK影响。需注意的是，目前单一的肝功能标志物可能无法可靠地描述肝功能，应综合评估患者的脑病、腹水、胆红素、白蛋白和凝血酶原时间（Child-Pugh评分的组成部分）或一组相似的肝功能指标。

（三）暴露-效应关系

建议对药物暴露-效应（exposure-response, E-R）关系进行评价，尽量在同一项研究中同时进行有效性和安全性指标的测定。由于PD反应和PK特征均可能会因分子修饰或其生产表达系统的变化、与血液成分的结合或抗药性抗体的形成等情况而发生改变，因此暴露-效应关系评价是药物研发中的一个重要工具。

可采用合适的模型评估早期的临床前和临床数据，以理解疾病机制和PK/PD关系。PK/PD模型可以解释血药浓度和有效性之间的时滞性，该模型可能还需要考虑治疗靶点的药代动力学；PK/PD模型可根据已建立的适当假设（例如病理因素）从健康受试者外推到目标患者人群。这些模型可以为剂量选择提供一定指导，并有助于解释各亚组人群的药代动力学的差异。鼓励探索相关的生物标志物及其与安全性和有效性终点的联系（替代指标）。

另外，制剂或生产工艺中的变化可能改变其药代动力学和免疫原性。在某些情况下，初始和修饰后产品的物理化学和体外生物学分析不足以排除上述变化对安全性和有效性的影响，因此充分了解药代动力学以及药物浓度与有效性和安全性之间关系（E-R关系）可能会减少临床研究的需要。

（四）相互作用研究

对治疗性蛋白药物体内药物-药物相互作用研究的要求（例如细胞色素（CYP）P450酶）通常低于传统化学药物。然而，某些治疗性蛋白药物（例如细胞因子等免疫调节剂）可以不同程度地影响特定CYP酶和/或药物转运体的表达和稳定性，因此，具有改变作为这些CYP酶或转运体底物的联合给药药物的系统暴露和/或临床反应的潜力，是否需要开展体外或体内药物相互作用研究应视情况而定。由于酶的上调或下调，药物相互作用可能呈时间依赖性（例如α-干扰素和CYP1A2），有时需要多剂量给药的体内试验对药物相互作用进行定量。

治疗性蛋白药物通常不通过代谢或转运作为它们的清除途径，因此，小分子药物通过代谢或转运途径影响治疗性蛋白药物的潜力是有限的。然而，小分子药物可能通过对机体免疫系统的作用影响治疗性蛋白药物的清除，例如免疫抑制剂甲氨蝶呤，它可以显著降低合用单抗药物的清除。此外，还应考虑联合用药对靶点表达或靶点结合的影响，这也可能引起治疗性蛋白药物药代动力学的改变。

治疗性蛋白药物的消除通常包含容量限制步骤，例如药物-受体结合（如转运蛋白），抑制或诱导这些蛋白可能会导致药代动力学的改变。目前尚缺乏探索此类相互作用的合适方法，鼓励开展此领域研究。

三、生物分析

生物分析方法是药代动力学研究的关键要素之一。分析方法除需具备在复杂生物基质中检出和监测（追踪）被分析物（母体药物和/或代谢物）的能力外、同时还应满足特异性、灵敏度、准确度和精密度以及适当的定量范围等要求。选择分析方法的一个重要指标是能够区分外源性给予蛋白及其内源性产生的对应物，但事实上很多时候建立如此方法在技术上并不可行。

本文“代谢物”一词包括体内降解产物和其他截短形式的蛋白质。

（一）一般考虑

生物样品中治疗性蛋白药物最常用的分析方法有：1)免疫分析法，测定与目标分子结合的受试物量。2)生物检定法，测定药物在特定生物学过程中的活性。免疫分析能够检测结构相关的受试物，包括活性物质和非活性物质；生物检定法仅能检测活性物质，可以是原形药物或其代谢物，以及任何其他形式的结构相关物质，包括内源性蛋白。推荐在临床研究中将免疫分析法和生物检定法结合起来，如果不能将两种测定方法相结合，应提供仅使用或主要使用其中一种方法的科学依据。也可使用其它方法，如液相色谱-质谱法（liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS）等。LC-MS具有特异性、敏感性、可快速建立方法以及提供与定量信息相关的结构信息的能力，正成为蛋白质和多肽定量分析中的重要技术。一般情况下，建议在研发早期开发特定的分析方法，并在整个研发过程中尽量使用同一分析方法。拟定的分析方法应根据相关技术指南，不断完善并进行充分验证。

应根据所选用分析方法的特点，对方法学验证项进行考察。以免疫分析法为例，主要考察：1）特异性，2）选择性，3）标准曲线范围，4）准确度和精密度，5）稀释线性，6）分析物在相应基质中的稳定性，7）平行性。在研究过程中，需将分析方法应用于生物样品检测，使用对照样品（QC和校准标样）来确认方法运行的性能。

关于分析方法验证的具体要求可参考相应的指导原则。

（二）方法学相关问题

关于该类药物的分析方法，以免疫分析法、生物检定法为例，建议申请人应考虑包括但不限于以下问题：

1. 分析方法

**免疫分析法：**

（1）除药物本身外，其他免疫反应产物也具有不同程度的生物活性，例如异构体、降解产物（生产或储存过程中形成）、体内代谢物、药物和互补性分子形成的复合物（例如结合蛋白）。这些免疫反应产物的干扰，可能会导致捕获抗体无法区分活性待测物与干扰物质。

（2）不同的免疫反应组分，由于其结合能力或亲和力的差异，可能会导致其对测定的响应不同。例如针对重组人粒细胞集落刺激因子（rhG-CSF）开发的酶联免疫吸附分析法（enzyme linked immunosorbent assay, ELISA）对聚乙二醇化（PEG）rhG-CSF的敏感性较低，并且其与PEG-rhG-CSF位置异构体的亲和力也有所不同。

（3）内源性物质的干扰。

（4）血浆/血清成分或抗药抗体的产生，可能会抑制待测物与捕获抗体的结合。

（5）抗药抗体测定：进行抗药抗体检测时，尽量保证活性药物从体内消除完全。

**生物检定法：**

（1）生物检定法对于被分析物可能不是特异的。
 （2）与免疫分析法相比，生物检定法的灵敏度和精密度可能较低。

（3）血浆/血清成分（如结合蛋白、抑制物或药物抗体）的存在可能改变被分析物的活性。

（4）针对天然蛋白建立的生物检定法用于检测其对应的重组蛋白时结果可能会产生偏差。

2. 标准品

对于治疗性蛋白药物，制备高纯度的标准品存在一定难度。但需要注意在不同的分析过程使用的标准品应能够代表临床试验（包括临床药代动力学）中的产品。

3. 内源性物质浓度

某些治疗性蛋白药物会受到其内源性浓度的影响，该影响可能呈现周期变化，或者根据特定信号产生。由于PD效应与蛋白质的总浓度有关，因此需要厘清外源性治疗性蛋白药物的浓度与内源性浓度的关系。试验过程中应尽可能明确内源性物质浓度-时间曲线，或者选择能够处理内源性浓度的方法。此外，还应关注健康受试者和患者之间、亚组人群之间内源性浓度的时间曲线差异。

四、参考资料

1. 国家食品药品监督管理总局. 药物临床试验的一般考虑指导原则. 2017.

2. European Medicines Agency. Guideline on the clinical investigation of the pharmacokinetics of therapeutic proteins. 2007-01.

3. U.S. Food and Drug Administration. Guidance for Industry. Pharmacokinetics in Patients with Impaired Hepatic Function: Study Design, Data Analysis, and Impact on Dosing and Labeling. 2003-05.

4. European Medicines Agency. Guideline on the evaluation of the pharmacokinetics of medicinal products in patients with impaired hepatic function. 2005-02.

5. 国家食品药品监督管理总局. 肝功能损害患者的药代动力学研究技术指导原则. 2012.

6. Yang J, Shord S, Zhao H, et al. Are Hepatic Impairment Studies Necessary for Therapeutic Proteins?[J] Clinical Therapeutics. 2013, 35(9): 1444-1451.

7. 国家食品药品监督管理总局. 肾功能损害患者的药代动力学研究技术指导原则. 2012.

8. European Medicines Agency. Guideline on the evaluation of the pharmacokinetics of medicinal products in patients with decreased renal function. 2015-10.

9. 国家食品药品监督管理总局. 生物类似药研发与评价技术指导原则（试行）. 2015-02.

10. European Medicines Agency. Guideline on Immunogenicity assessment of therapeutic proteins. 2017-05.

11. U.S. Food and Drug Administration. Guidance for Industry. Immunogenicity Assessment for Therapeutic Protein Products. 2014-08.

12. U.S. Food and Drug Administration. Immunogenicity Testing of Therapeutic Protein Products—Developing and Validating Assays for Anti-Drug Antibody Detection. 2019-01.

13. Ryman JT, Meibohm B. Pharmacokinetics of Monoclonal Antibodies[J]. CPT Pharmacometrics Syst. Pharmacol. 2017, 6: 576–588.

14. U.S. Food and Drug Administration. Drug Interaction Studies—Study Design, Data Analysis, Implications for Dosing, and Labeling Recommendations. 2012-02.

15. Kraynov E and Martin SW. Therapeutic Protein Drug–Drug Interactions[J]. Encyclopedia of Drug Metabolism and Interactions, 2017. DOI: 10.1002/9780470921920.edm146.

16. Mould DR, Meibohm B. Drug Development of Therapeutic Monoclonal Antibodies[J]. BioDrugs, 2016, 30:275-293.