

血浆衍生产品及类似产品的非临床研究

幻灯片 1

本演示文稿介绍生物制品评价和研究中心（CBER）血液研究与审评办公室的血液学处（DH），以及该血液学处如何审评为支持 DH 所监管产品的申请而进行的非临床和临床前研究。

幻灯片 2

你可能知道，CBER 设有三个办公室：疫苗办公室、细胞组织和基因疗法办公室以及血液办公室。血液办公室分为三个处：血液应用处（DBA）、血液学处（DH）、新发疾病和输血传播疾病处（DETTD）。

幻灯片 3

本讲座将介绍血液学处的产品监管。血液学处设有四个实验室。血浆衍生物实验室监管免疫球蛋白、抗毒素、抗蛇毒血清和一些其他产品，例如用于治疗一种先天性缺陷疾病的 α 1-蛋白酶抑制剂。

止血实验室（LH）监管多种与凝血相关的产品，例如凝血因子，这些凝血因子可能是血浆衍生的，也可能是通过重组技术产生的类似蛋白质。此外，该实验室还负责监管伤口密封剂和医疗器械-生物制品组合产品。这些器械不同于题为“CBER 的医疗器械审评”的演示文稿中提到的器械。止血实验室审评的器械-生物制剂组合产品，仅对生物制剂部分进行审评，不审评器械部分。器械部分的审评由医疗器械和辐射健康中心（CDRH）负责。生化和血管生物学实验室监管血管蛋白、扩充器、人工氧载体，以及氯高铁血红蛋白等酶抑制剂。

而细胞血液学实验室（LCH）监管细胞产品（例如红细胞、白细胞）、血浆存储器械、抗凝血剂和收集器械。

因此，正如你看到的那样，血液学处负责监管多种产品，包括血液和血浆衍生产品（这些产品在临床上已经使用了很长时间，且有很好的安全性记录）和类似重组蛋白。此外，还有一些新产品，例如人工氧载体。

幻灯片 4

FDA 要求动物实验的法律依据是什么？首先，“动物实验”通常与“非临床实验室”或“临床前”研究互换使用。因此，在本演示文稿中，将同时使用这几个术语。

对于生物制品，有《公共卫生服务法》。该法为生物制品获得许可设立了要求，产品进入州际贸易需满足这一要求。《美国联邦法规》（CFR）规定，企业要获得生物制品许可，需要提交生物制品许可申请（BLA）。在生物制品许可申请中，企业必须提交来自非临床实验室和临床研究的数据，用于证明产品的安全性、纯度和效力，换句话说，这些产品用于人体时的安全性和有效性。

为了实际进行这些临床研究，申办者需要提交研究新药申请（IND）。在此申请中，非临床研究必须证明所考虑的生物制品具有足够的安全性。这意味着，动物实验显示在人体中开始拟定的研究是合理安全的。只有这样，才能开始临床研究。

幻灯片 5

进行非临床研究的目的是什么？在动物身上进行非临床研究，也称为“药理学和毒理学”或 PT 研究，是为了评估对临床实验对象可能的毒性。

幻灯片 6

谈到毒理学时，不能不谈一般毒性试验，该试验是毒理学检测的基本单位。一般毒性试验是动物实验，可以用大鼠和小鼠进行该试验，有时也用狗和猴子进行该试验。就其设计来看，你可以把一般毒性试验看作是一项临床研究。一般毒性试验中包含治疗组和对照组，采用的方法为偏差控制方法，例如随机化。该试验中使用的剂量范围是从低到高的，以便确立观察到的毒性剂量反应。例如，你可能会看到这种类型的反

应：低剂量是安全的；中剂量显示出一定毒性；高剂量可以证实毒性甚至加重毒性。

此外，一般毒性试验可被用于确立“未观察到的有害作用水平”或“未观察到的作用水平”。在毒理学中，可用这些水平确定化合物的可安全使用剂量，从而确保该化合物在药理剂量下的安全使用。

幻灯片 7

一般毒性试验既全面又详细。这在实践中意味着什么？以下是该试验组成部分的列表：该试验包含每天多次对动物进行的笼侧临床观察。

根据预先设定的方案进行观察，实验室工作人员每天在预先确定的时间处理动物并进行详细的毒性症状观察，而预先确定的时间可以是给药前后、第五天、最终舍弃之前等。

一般毒性试验包括查看可测量的参数。这些参数包括诸如肝酶等临床化学参数、诸如凝血等血液化学参数、血细胞比容、诸如器官外观和重量等宏观病理学参数，以及主要生理器官的组织病理学参数。换句话说，就是为每个关注的器官或组织制作玻片，并用显微镜检查它们的毒性症状。

幻灯片 8

一般毒性检测既是探索性的，又是验证性的。例如，使用可以导致所有动物在实验过程中都死亡的高毒剂量并不能提供有价值的信息。通常，在称为探索性研究的初步研究中，会使用几种剂量，并确定在验证性研究中使用的可能有意义的剂量。然后，在主要研究中，可能使用三个组：一组使用对动物健康没有观察到作用的剂量，一组使用的剂量会让动物表现出一定的毒性症状但还没达到完全毒性，剩下一组使用的剂量可以证实毒性。这种设计将能够提供有用的信息，无论是在确定化合物的毒性特征上，还是在设计确保患者安全的临床研究中。

一般毒性试验可能是急性的，但通常是重复剂量试验，因为重复剂量研究提供的有用信息最多。此外，一般毒性试验可以是定制的。例如，你可以添加安全药理学终点，测量肺部气体。本演示文稿将在稍后介绍安全药理学。你还可以添加免疫原性终点并测量抗体反应。

如果需要，你可以添加更详细的组织病理学。例如，如果生物制品或药物的毒性作用包括对中枢神经系统的毒性，那么，你可以收集和分析更多的大脑载玻片，检查它们的毒性症状。

在列出了一般毒性试验的这些属性之后，有人会问这样的问题：有没有通用型设计？是否可以实际设计一种通用毒性试验，用来检验所有这些产品的毒性？而答案是没有，不可以。

而得出此答案的原因在于 CBER 监管的产品的广度和范围。有些很老的产品在临床上的毒性作用是众所周知的。因此，不需要对它们进行非常广泛的研究，而需要采用更有侧重和直接的方法对它们进行研究。但是，对于一些非常新颖的产品，由于你不知道这些产品可能引发的毒性，所以，你实际上需要更详细地探索这些产品。

幻灯片 9

还有另一个因素使生物制品的监管比小分子更为复杂。那就是生物制品的结构复杂性。示例如下：

这是小分子血液稀释剂华法林的结构式。结构式指的是化合物的化学结构图示。一旦你知道华法林的化学结构，并把它结构式写下来，你就知道它是什么药了。合成这种化学结构意味着合成华法林。

这是一幅抗凝血酶 III 结构的动画图，抗凝血酶 III 是已被许可用于某些也可能使用华法林的疾病中的一种蛋白质和一种生物制品。但是，它们只有这种相似性。

在谈到抗凝血酶 III 的化学结构时，你指的可能是其序列或“一级结构”。但是，请注意，其结构式与华法林的结构式显示不同。这张幻灯片中没有足够的空间来展示抗凝血酶 III 的完整结构式，因为抗凝血酶 III 的一级结构很大，比华法林的一级结构大得多。它含有 430 个氨基酸，还含有糖类和离子。此外，即使明确写出这 430 个氨基酸、糖类和离子，也不会得到抗凝血酶 III。而且，合成这 430 个氨基酸、糖类和离子不会产生抗凝血酶 III。

幻灯片 10

原因在于，除一级结构之外，抗凝血酶 III 还具有二级结构。这意味着其序列的不同部分具有螺旋结构、环和 β 折叠。而除此之外，抗凝血酶 III 还具有三级结构，也称为总体结构，这个结构是由它所包含的三个二硫键连接在一起的。由于同源二聚或异源二聚，许多蛋白质也可能具有四级结构。

因此，抗凝血酶 III 和其他生物制品的结构非常复杂。由于这种复杂性，在评估生物制品的效力和安全性时，必须考虑其结构。只有确保一级结构、二级结构和三级结构都正确，才能确保生物制品安全有效。

幻灯片 11

FDA 已发布指南，以帮助设计一个考虑进生物制品复杂性并用于评估生物制品毒性的程序。在两个指南文件中列出了一系列用于评估药物安全性的非临床研究。最常用的是 ICH S6，名为“生物技术药物临床前安全性评价”。这一指南适用于血液学处监管的大多数产品，因为大多数此类产品实际上是通过生物技术生产项目衍生的。

涉及安全性临床前评价的另一个指南是 ICH M3，名为“药物人体临床试验的非临床安全性研究”。

幻灯片 12

这是 ICH-S6 和 ICH-M3 指南的并排比较（需要注意的是，在撰写此演示文稿时，国际人用药品注册技术协调会（ICH）正对这两项指南进行修订）。显然，这两者之间存在很多重叠。这两项指南均建议进行安全性药理学研究，通过以下研究对暴露进行评估：药代动力学和毒代动力学研究、单剂量毒性研究、重复剂量毒性研究、生产性能研究、一般毒性研究、和致癌性研究。

然而，S6 指南中有两个具体部分对生物制品尤其重要，即试验材料的规格和免疫毒性研究。为什么？

幻灯片 13

首先，为什么试验材料的规格很重要？如前面有关生物制品结构复杂性的内容所述，在试验材料的规格方面，需要考虑生物制品的结构完整性，亦即一级、二级、三级和四级结构，这些结构对于确定生物制品的活性效力都非常重要。

对试验材料的具体规定还意味着要考虑糖基化和其他转化后修饰，它们在生物制品的清除率方面起着非常重要的作用。当确定生物制品的剂量时，清除率是必不可少的参数。

与试验材料规格密切相关的是杂质问题。由于生物制品来自诸如血液或细胞培养物等复杂的起始原料，因此，混合剂中含有很多蛋白质。你需要从这种混合剂中纯化目标蛋白质，即生物制品。因此，最终产品中的杂质可能来自在纯化过程中与生物制品共同纯化的物质。

血液和细胞培养物起始原料引起的另一个问题是，可能存在病毒或细菌等外源性病原体。

因此，生产过程需要确保清除所有可能有害的病原体。结果，纯化过程通常非常复杂，并且纯化过程中产

生的杂质实际上可能存在于最终产品中。

S6 指南规定,重点应放在纯化上。设计旨在评估和评价杂质的临床前项目的效率不是很高。在生产过程中,应确保对任何和所有杂质进行有效纯化。但是,如果纯化过程不能解决所有问题,那就需要进行分析,即对人体暴露于这种杂质的风险进行风险评估。在这种分析中,需要考虑来自动物实验、文献和临床研究的所有数据。

幻灯片 14

赋形剂的安全性是生物技术产品中关注度比较高的另一个问题。由于生物制品的不稳定性,通常将赋形剂添加到生物制品的最终制剂中。生物制品需要具备稳定性,以确保效力,因此在生物制品的最终制剂中添加了赋形剂。

FDA 发布了“药用辅料安全性评价非临床研究行业指南”。这一指南实际上阐明并提出了为确保赋形剂安全性应遵循的程序。尽管如此,需要指出的是新型赋形剂并不常见。生产企业经常使用已经建立了安全性数据库的赋形剂。

因此,当收到新的生物制品申请时,FDA 将检查赋形剂的量和预期暴露量。然后,将该赋形剂的暴露量与其他已知临床安全性的许可产品的暴露量进行比较。

幻灯片 15

美国国家医学图书馆的 TOXNET 数据库是一个非常有用的资源,而该图书馆是美国国立卫生研究院的一部分。该数据库是一个完全可搜索的网页。而且,数据库是可以免费使用的。

在这张幻灯片的左侧,列出了可以在 TOXNET 数据库中搜索到的所有数据库,包括有害物质数据库、致癌性数据库,以及发育、生殖毒性、遗传毒性数据库。点击数据库,输入要查找的化学赋形剂的名称,就可以找到大量关于这种化学物质的已知研究的信息。

幻灯片 16

评估赋形剂安全性的另一个非常好的资源是美国国家毒理部(NTP)的数据库。NTP 是美国卫生与人类服务部的一部分。该部门负责进行有关化学物质致癌性和遗传毒性的研究。该数据库是完全可搜索的,带有详细的注释,公众也可以免费使用。FDA 可能还会使用其他免费和专有的数据库。这里提到的两个只是举例。

幻灯片 17

这张幻灯片展示了 FDA 多次面临的一个问题的例子。FDA 收到了一个新的申请,这个申请完成了所有动物研究,但是由于生产工艺的变化,所使用的材料与寻求许可的最终产品的材料不同。

例如,在产品开发过程中,为了使产品更安全,生产企业可能在生产工艺中添加了最后的热处理或纳滤步骤。但是,生产过程中的这一额外步骤可能改变了最终产品。因为生物制品非常复杂,添加步骤可能会改变生物制品的化学结构或改变生物制品的杂质组成。因此,FDA 需要找出最终产品与进行动物研究所用产品的不同。最终产品是否如后者一样安全有效?这种比较称为比较研究。

比较研究可以在体外和体内进行。

FDA 通常会收到比较两种产品的一级、二级、三级和四级结构的体外研究。检查最终药物的糖基化模式,以比较其与前身药物的异同。FDA 会要求申办者测定药物效力,例如酶活性,以比较其与前身药物的不同。

如果 FDA 对生化可比性不满意,也就是说,如果在体外研究中这两种产品没有显示出可比性,则可在动物体内进行比较研究。通常,这些是药代动力学和生物分布研究,意味着在动物实验中,通过观察药物分布方式、总暴露量等来比较前身和最终药物在体内的配置状态。这些参数与生物制品的效力关系更大。但比较研究也可以是对安全特性的比较。在这样的研究中,可以比较前身和最终药物在动物体内的安全性和可能的毒性。FDA 可能在其认为必要的情况下要求进行此类研究。

幻灯片 18

现在我们来了解一下关于免疫原性的一些特定考虑因素。为什么免疫原性对生物制品很重要?人类生物制品在动物体内被认为是异物。因此,它们会在动物体内引发免疫反应。简而言之,动物会对人类生物制品产生抗体,而抗体的存在会混淆实验的结果和解释,尤其是重复剂量毒性研究。

进行重复剂量研究是因为免疫原性不会立即出现,大部分免疫原性会延迟出现。由于抗体的产生实际上可能中和生物制品的作用,你从研究中得到的数据可能是混杂的。你可能认为产品没有毒性,而实际上,由于被抗体中和,该产品在动物体内甚至没有活性。这就是对于生物制品经常会进行仅持续一到两周的重复剂量毒性研究的原因,而由于抗体反应的开始,在重复研究后再观察两周。

幻灯片 19

尽管你知道会在一到两周时发生免疫反应,这种免疫反应可以提供重要的信息,尤其是在比较同一生物制品的两种不同配方时。因此,免疫原性反应通常应进行特性描述。抗体反应的类型、反应动物的数量以及中和作用都是解释研究数据的重要信息。

幻灯片 20

分析生物制品的免疫原性时,另一个重要方面是动物体内的比较性免疫原性研究。例如,如果市场上已经存在一种在患者体内免疫原性记录较好的血浆衍生蛋白质或生物制品,则必须将新产品(如重组产品)在动物体内的免疫原性与具有良好安全性记录产品的免疫原性进行并排比较。这种比较可以为新重组产品的免疫原性提供重要信息。

幻灯片 21

对于血液学处所监管的产品,另一个具体关注领域与现有生物制品的新给药途径有关。

比如说,市场上已经有被批准用于静脉注射的制剂,而一家公司想用相同的产品,但现在要将其用于皮下注射。

FDA 网站上发布了一个非常好的指南,目前仍是草案,名称为“药品和产品制剂替代途径给药的非临床安全性评价行业和审评人员指南”。该指南阐述了评价新给药途径安全性的方法。

推荐的一组研究是比较新旧给药途径的动物药代动力学衔接性试验。你从这样的一个研究中会了解到什么?你将了解到有关剂量和新剂量效力的信息,以及可能对安全性分析很重要的信息。例如,如果你在使用新的给药途径时看到更大的暴露量(比如说对于相同的剂量,新给药途径曲线下的面积更大),那么你可能需要要求申办者检查新给药途径的毒性,因为现在体内该生物制品的量更大。

在这种衔接性试验中比较的另一点是清除率。例如,如果在新的给药途径中使用的生物制品的清除速度快于旧的给药途径,那么你可能需要调整临床使用剂量,因为现在体内这种药物的量减少了。另一个经常查看的方面是形成新抗原的可能性,这意味着通过不同的给药途径施用生物制品,可以让其更具免疫原性,从而产生更多的抗体。这是一个可能性,FDA 也确实会使用包括局部组织病理学在内的不同的方法寻找这种反应。因此,除了考虑全身免疫原性之外,你还要使用组织病理学检查局部免疫原性。

幻灯片 22

现在，我们来讨论有关安全性药理学研究的内容，这个研究领域提供了很多有关生物制品安全性的信息。这些研究侧重于器官特异性毒性，如心血管安全性、高血压和低血压。新生物制品致血栓形成的可能性是另一个会详细审查的领域。

这些研究的标准组合包含在 ICH 指导原则“7A”中，与所有 ICH 指导原则一样，FDA 已经实施了该指导原则。另一件申办者需要做并且经常做的事情是将这些安全性药理学终点纳入一般毒性研究中。这样，你可以通过实际将这些研究结合起来而减少使用的动物数量，从而精化研究以。

幻灯片 23

以下是 FDA 在审评申请的日常工作中遇到的几个真实例子。让我们从在动物身上的一些发现开始，这些发现在临床上是没有看到的。例如，一种人免疫球蛋白制剂引起了具有剂量依赖性的红细胞溶血，接着，家兔出现严重贫血，如溶血性贫血。

申办者使用了一种已获批的免疫球蛋白制剂作为家兔实验的对照组用药，这种制剂在临床中是完全安全的，且有被证明的安全性记录。然而，在这项实验中，一些家兔遭受了溶血性贫血，它们的红细胞受损。经调查，发现这种毒性具有剂量依赖性，剂量较高时，这种毒性会导致所有家兔死亡。

家兔红细胞的细胞壁中含有 1-3 半乳糖。但是，人类细胞中不包含这种修饰，我们的血液中循环的 1% 的免疫球蛋白是抗半乳糖基抗体免疫球蛋白。因此，可以确定人源性产品中含有可结合到家兔红细胞中的抗体，从而造成家兔溶血。这一结论解释了我们观察到的剂量-反应作用—剂量更高，抗体量会更高，溶血性贫血也会更严重。

从这项实验中可以了解到什么？需要在家兔实验中限制剂量。在此模型中使用较小的剂量，会更真实地显示出毒性，而不是被依赖模型的溶血性贫血这样的人为现象所掩盖。另外，这些家兔实验非常重要，因为它们某种具体疾病的模型。因此，不能使用不同动物模型。

幻灯片 24

第三个例子是一个成功获得批准的例子。这是一个生物制品申请，该生物制品的一个活性成分是重组人蛋白质。该生物制品是为预防遗传性欠缺该蛋白的患者的血栓性疾病。纯化过程包括用于去除和灭活病毒的纳滤和终端干热处理。

幻灯片 25

为了支持这一申请，进行了几项安全性毒理学研究。用大鼠和狗进行了单剂量实验。也进行了重复剂量研究。用大鼠进行了两项为期 28 天的实验；其中一项包含毒代动力学研究测量暴露量。用猴子进行了一项为期 14 天的实验。此外，用大鼠进行了生殖研究以及体外和体内遗传毒性研究。

幻灯片 26

这张幻灯片介绍了安全性研究的设计和结论。这些研究是根据《良好实验室规范》进行的，实验中设有剂量范围和控制。在急性研究和重复研究中使用的最高剂量约为最高日剂量的 9 倍，且约为人体最高日剂量的 5 倍，包括生殖研究。更重要的是，在最高剂量下观察到的毒性是由于在多人用剂量水平下药理作用增强了。这些都是短暂的，并且没有因抗体产生而导致的中和作用，这意味着重复研究的结果可以得到很好的解释。

幻灯片 27

这是一份药代动力学和生物分布研究的列表，这些研究是在该生物制品开发的临床前阶段进行的。这些研究包括狗和大鼠的毒代动力学研究、不同研发过程批次的比较，以及在猴子和大鼠中进行的几项比较重组和人血浆生物制品的研究。

幻灯片 28

其中一些药代动力学和生物分布研究是在生产工艺发生变更后，以及动物毒性研究完成后进行的。生产工艺的变化包括增加了纳滤步骤和终端干热处理。这一变化引起了该生物制品的聚集和脱酰胺作用的变化。正因为如此，该公司用动物进行了药代动力学和生物分布研究。分别使用热处理和非热处理产品的两项不同研究的药代动力学参数显示，大鼠体内的清除率、全身暴露和半衰期具有相似的值。因此，发现变更后发生后，该生物制品的暴露和分布没有差异。

幻灯片 29

如前所述，比较研究包括将旧产品与新产品即重组产品进行比较。这通常意味着将一个具有较完善安全信息数据库的产品与一个更新颖的新产品进行比较。在这个申请中，也是这种情况。

有一个血浆衍生产品类似于这个申请中的产品。这种产品已经上市多年，FDA 清楚这种产品已被安全有效地使用多年。因此，对现有血浆衍生产品和该新的预期生物制品的药代动力学进行了比较。

通过比较，发现该血浆衍生产品和该重组产品的清除机制是不同的。该重组产品的清除速度更快，因为它可以被肝脏中不会识别血浆衍生产品的受体所识别。因此，其清除速度比血浆衍生产品的清除速度快六倍。此清除信息对于确定临床研究中的人用起始剂量非常有用，因为我们现在知道由于重组产品的清除速度更快，我们必须以不同的剂量给药，并且需要增加给药频次。

幻灯片 30

这张幻灯片上是 FDA 从这些药理毒理学研究中了解到的信息概括。在非临床动物实验中，FDA 了解到有关该产品可能具有的毒性的信息。换句话说，FDA 会看该生物制品使用过程中可能伴随出现的具体毒性反应。

FDA 了解到这些毒性明确显现的剂量。更重要的是，FDA 了解到了毒性/剂量反应曲线的形状。这很重要，因为如果看到的是一条陡峭的曲线，就意味着初始毒性较低，但毒性的增长速度很快，那么，在临床中就应该非常谨慎地逐步增加剂量。这是进行临床研究之前需要了解的重要信息。

FDA 还了解到出现全面毒性反应之前可能的体征和症状。例如，你知道如果发现患者血小板减少，必须对其进行仔细检查，因为该症状可能是弥散性凝血的前兆，而弥散性凝血是一种更为严重的毒性反应。此外，还可以了解到器官特异性毒性，例如肺毒性或肝毒性。

你还会了解到毒性作用的可逆性，例如，肝酶的增加是与清除引起的酶活性增加有关，所以是可逆的，还是因为器官特异性毒性导致的永久性肝损伤。

这些都是非常重要的数据点，可用于在临床使用、剂量、临床研究设计等方面做出决定。

幻灯片 31

现在，如何使用所有这些信息？当然，FDA 使用这些信息来做出有关生物制品的决定。贯穿整个演示文稿的关键词是安全性。因此，可以使用这些信息做出关于生物制品安全性的决定。FDA 通过使用安全的起始剂量、增加特定的检测来监测毒性的具体表征，以及最终禁止开展不安全的临床研究，来保障患者或临床

试验参与者的安全。在某些情况下，如果毒性过高且 FDA 认为在人体中进行临床试验不安全，就会做出这样的决定。所用的术语是该研究型新药将被“暂停”。在这种情况下，除非能证明该生物制品及其临床研究设计是安全的，否则不会将其用于临床试验。通过动物实验获得的信息有助于 FDA 让该研究设计变得安全。例如，如前所述，纳入排除标准以排除高风险人群可以改进临床研究设计，可以安全地结束暂停，继续开展临床试验。

总之，这些信息将有助于患者和医学研究人员做出合理的决定。这就是将这些信息包含在药品包装说明书中的原因，以便研究人员和患者都能在医疗方面做出知情决定。

幻灯片 32

所以，用我们开始的内容结束：“毒理学指出了通往安全性的道路。”

幻灯片 33

这是一些非常有用的网站。

幻灯片 34:

关于“血浆衍生产品及类似产品的非临床研究”的演示文稿到此结束。
在此感谢为其制作做出贡献的人员。谢谢！