

我国抗破伤风毒素单克隆抗体的临床开发和评价

Clinical development and evaluation of anti - tetanus toxin monoclonal antibody in China

任 怡, 赵建中

(国家药品监督管理局 药品审评中心, 北京
100061)

REN Yi, ZHAO Jian - zhong

(Center for Drug Evaluation, National
Medical Products Administration, Beijing
100061, China)

摘要: 破伤风是一种极为严重的潜在致命性疾病, 该病可用疫苗预防, 在发达国家发病率较低, 但在许多低收入国家和不发达地区仍普遍存在。我国已于 2012 年消除了新生儿破伤风, 但非新生儿破伤风仍是一个严重的公共卫生问题。我国尚缺乏针对成人的主动免疫, 被动免疫对免疫力低下或免疫状态不明患者中破伤风易感伤口具有预防性治疗意义。目前的被动免疫制剂仍存在诸多缺点, 如: 可能传播传染病、价格偏高、供应量有限等。抗破伤风毒素单克隆抗体具有批间差异小、安全性提高、可大量制备等优势, 有替代现有抗破伤风被动免疫制剂的潜力, 但其尚处于新药研发阶段。国内外尚无抗破伤风毒素单克隆抗体临床试验的指导原则, 本文将讨论如何在我国进行抗破伤风毒素单克隆抗体新药的研发和评价, 为各方提供参考。

关键词: 破伤风; 被动免疫; 临床试验; 抗破伤风毒素单克隆抗体

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2022.14.028

中图分类号: R95 **文献标志码:** C

文章编号: 1001-6821(2022)14-1701-05

Abstract: Tetanus was a serious and potentially fatal disease that was preventable by vaccines and had a low incidence in developed countries, but was prevalent in many low - income and underdeveloped regions. China had eliminated neonatal tetanus in 2012, but non - neonatal tetanus was still a serious public health problem. Active immunization for adults was lacking in China, passive immunization could prevent tetanus for tetanus - susceptible wounds in patients with low immunity or unknown immune status. The current passive immunization preparations had many shortcomings, such as the possibility of spreading infectious diseases, high prices, and limited supply. Anti - tetanus toxin monoclonal antibody had the advantages of small batch - to - batch variation, improved safety, and large - scale preparation and had the potential to replace the original anti - tetanus passive immunization preparations, but was in the stage of new drug development. There were no guidelines for clinical trials of anti - tetanus toxin monoclonal antibody in China and overseas. Here we would discuss how to develop and evaluate anti - tetanus toxin monoclonal antibody in China, and provide references for all parties.

Key words: tetanus; passive immunization; clinical trials; anti - tetanus toxin monoclonal antibody

收稿日期: 2022 - 02 - 10

定稿日期: 2022 - 05 - 09

作者简介: 任怡(1989 -), 女, 博士, 助理研究员, 主要从事临床研究与监管科学方面工作

通信作者: 赵建中, 主任药师

Tel: (010) 85242757

E - mail: zhaojzh@cde.org.cn

破伤风是由破伤风梭状芽孢杆菌通过伤口侵入人体引起的急性

特异性感染,表现为全身骨骼肌持续性强直和阵发性痉挛,重症患者可发生喉痉挛、窒息、肺部感染和器官功能衰竭,是一种极为严重的潜在致命性疾病^[1]。我国尚缺乏针对成人的主动免疫,被动免疫制剂存在诸多缺点,抗破伤风毒素单克隆抗体有替代现有抗破伤风被动免疫制剂的潜力。本文将对抗破伤风毒素单克隆抗体新药临床试验设计和评价重点关注问题进行讨论和分析。

1 研究背景

破伤风是一种可用疫苗预防的疾病,在发达国家发病率较低,但在许多低收入国家和不发达地区仍普遍存在^[2]。破伤风可发生于任何年龄段,分为新生儿破伤风和非新生儿破伤风,我国已于2012年消灭新生儿破伤风^[3],但非新生儿破伤风仍是一个严重的公共卫生问题^[4]。

破伤风确诊患者应寻找感染部位进行彻底清创,镇静镇痛、肌松治疗纠正自主神经功能障碍,同时需进行被动免疫和主动免疫[如:含破伤风类毒素疫苗(Tetanus toxoid-containing vaccine, TTCV)]^[5],破伤风的暴露后预防也包括伤口处理、被动免疫和主动免疫。被动免疫对免疫力低下或免疫状态不明患者中破伤风易感伤口具有预防性治疗意义,破伤风被动免疫制剂包含破伤风抗毒素(Tetanus Antitoxin, TAT)、马破伤风免疫球蛋白 $F(ab')_2$ [以下简称 $F(ab')_2$]和人破伤风免疫球蛋白(Human Tetanus Immunoglobulin, HTIG)。HTIG难以获得时,优先选择 $F(ab')_2$,其次选择TAT^[6]。单克隆抗体疗法已被批准用于数十种靶点和疾病,与小分子相比,单克隆抗体具有更高的靶点特异性和更小的毒性^[7],且生产工艺日益成熟,适合大规模商业化生产。

2 临床试验的设计和评价

抗破伤风毒素单克隆抗体尚处于新药研发阶段^[8],国内外尚无临床试验指导原则,本文将讨论如何在我国进行抗破伤风毒素单克隆抗体新药的研发和评价,为各方提供参考。

2.1 新药进入临床试验的基本条件

在首次进行人体临床试验前,应对非临床药代动力学(pharmacokinetics, PK)、药理学及毒理学数据进行综合评价,为人体临床试验设计提供参考和支持,如成药性、主要风险及风险控制、给药方案制定等。

2.2 早期临床研究

早期临床研究的目的是探索药物的安全性和耐受性,获得药效学(pharmacodynamics, PD)和PK数据,为剂量探索提供依据,通常在健康受试者中进行,

采用单(多)次给药的剂量递增研究。

考虑到破伤风的被动免疫用于破伤风的短期应急预防, $F(ab')_2$ /TAT保护时间一般只有10 d,而HTIG也只有28 d。通常情况下,HTIG仅需注射1次, $F(ab')_2$ /TAT用于伤口污染严重患者时应考虑首次注射1周后再次注射^[6]。研究药物需根据其临床前数据判断,若显示无需多次给药,可只进行单次给药耐受性试验,建议在未接种过破伤风疫苗的健康受试者中进行,以免干扰活性抗体的检测,可以是开放、基线对照的,也可以采用随机、盲法和安慰剂对照方法以提高观察结果的有效性。首次人体研究的起始剂量根据相关指导原则估算。PK评估指标可以选择血清中破伤风抗体水平;作为短期应急预防用药,给药后12 h内破伤风抗体水平较基线的变化可以作为PD指标。在早期临床开发阶段,选择合适的PK模型,进行PK/PD评估,可更全面了解药物的暴露/效应作用特点,PD指标应满足多点采样要求。结合后期临床研究,开展必要的群体药代动力学研究,以寻找PK的影响因素,如性别、体质量、给药方式、暴露时间、伤口大小、深度、位置等。

被动免疫是在疫苗诱导产生有效抗体前,迅速短暂的提供病毒中和抗体,而主动免疫诱导产生的抗体可持续存在数年,被动免疫制剂不能取代主动免疫,应联合应用,需考虑联合用药的耐受性、PK和PD。现有的被动免疫及主动免疫制剂均为肌肉注射,如果注射部位分开,HTIG不会影响破伤风类毒素的免疫应答,目前推荐的预防性HTIG的剂量为250 U,肌肉注射,该剂量可使HTIG水平在接种后2~3 d达到 $0.01 U \cdot mL^{-1}$,并将至少持续4周,400~500 U的HTIG剂量能比250 U更早诱导保护水平的免疫应答^[9]。新药的用量需经过探索,一方面剂量不能过低,应保证被动免疫的有效性;另一方面应考虑到,使用剂量过高可能会干扰疫苗的主动免疫保护作用。建议早期开展药物相互作用研究,根据相关指导原则,在拟定治疗剂量下采用交叉试验设计,除疫苗外,还应根据前期非临床研究考虑新药是否可能与其他药物存在相互作用,并进行相应研究。

2.3 剂量探索性研究

探索性临床试验阶段的主要目的是初步收集新药有效性和安全性数据,为疗效确证临床试验中给药剂量和方案提供依据。

破伤风是较为严重的疾病且发病率较低,同时,对于抗破伤风毒素单克隆抗体的剂量探索性研究可以血清抗体水平为疗效指标。因此,出于伦理和临床

试验的可操作性考虑,可在健康受试者中进行研究。建议剂量探索性研究在未接种过破伤风疫苗的健康受试者中进行,以免干扰活性抗体的检测,主要终点可以选择给药后 12 h 内破伤风抗体水平较基线的变化,并同时进行安全性观察至少 14 d。该阶段多采用随机、对照试验设计,试验药物设置多个剂量组,对照药应选择现有的标准破伤风被动免疫药物,基于综合因素考虑,优先推荐 HTIG 作为阳性对照。探索性试验应合并使用疫苗探索,即不同剂量新药+疫苗与对照药+疫苗的对照研究。通过早期的浓度-病毒动力学及浓度-安全性研究,可以初步获得药物的有效性和安全性剂量范围,从而确定剂量探索阶段的给药剂量。

早期和探索性研究可灵活设计。如设置的受试者、研究主要终点等一致,在保证研究质量和样本量的前提下,可以选择性与部分 I 期临床试验合并,合理利用临床试验资源,提高研发效率。

2.4 疗效确证性研究

疗效确证性试验目的是在探索性试验基础上,在目标人群中进一步确证临床获益情况,为新药上市提供充分数据。暴露后预防失败的后果较严重,因此前期需有足够有效性数据支持。

2.4.1 受试者选择

破伤风发病率较低,实际用药主要为暴露后预防,确证性试验阶段受试者应代表临床实际用药人群。根据《外伤后破伤风疫苗和被动免疫制剂使用指南》^[6]:对于免疫力正常或免疫功能轻度受损的外伤人群,非全程免疫或免疫史不明者,如出现不洁伤口或污染伤口,应在全程主动免疫的同时进行被动免疫;对于免疫功能严重受损的外伤人群,主动免疫的效果不可靠,无论伤口性质,均应根据破伤风抗体水平判断是否进行被动免疫,若无检测条件,则均应给予被动免疫。

建议确证性试验受试者主要选择免疫力正常、破伤风非全程免疫或免疫史不明、出现不洁或污染伤口的外伤患者;可适当入组免疫功能轻度/严重受损的外伤患者,分层随机。被动免疫制剂应尽早使用,临床试验中,为获得理想状态和结果,应对暴露后被动免疫时机进行规定,建议一般为 12 h 之内。

2.4.2 试验设计

确证性研究通常采用随机、对照、双盲的试验设计,可以选择 HTIG 作为阳性对照,进行新药+疫苗与对照药+疫苗的对比研究。优效性设计为首选。HTIG 类药物缺乏系统规范的临床试验,以其作为阳

性对照药进行非劣效设计,合理确定非劣效界值存在困难,应慎重选择。

2.4.3 疗效评价

临床结局 抗破伤风毒素单克隆抗体确证性研究的受试人群为需要暴露后预防患者,破伤风发病率是临床试验的理想终点。应争取在上市前完成临床结局作为主要疗效指标的观察和评价。可以评价破伤风发病率和疾病严重程度,破伤风的潜伏期是 3~21 d,潜伏期越短,预后越差^[10],建议暴露后 21 d 可作为评价时间点。

血清学指标 血清中具有生物学活性的抗体水平被认为是评价保护性的替代指标,抗毒素(类毒素)特异性 IgG 被认为与保护性最为相关。体内中和试验是检测的金标准,人们通常认为保护所需的最低抗体水平为 $0.01 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$,但由于缺乏国际通用标准,尚难以直接比较不同实验室的检测结果^[11]。体内中和试验费时且昂贵,酶联免疫吸附试验(ELISA)法是目前最常用的体外破伤风抗体检测技术,但 ELISA 法可能对活性抗体存在高估,高于 $0.16 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$ 可提示较为可靠的临床保护性^[12]。世界卫生组织(WHO)建议使用体内中和试验抗体浓度超过 $0.01 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$ 或标准 ELISA 法检测抗体浓度至少 $0.1 \sim 0.2 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时被定义为具有保护性^[13]。确证性研究的主要疗效终点可以选择给药后 12 h 内使用体内中和试验抗体浓度超过 $0.01 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$ 或标准 ELISA 法检测抗体浓度超过 $0.16 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的受试者比率。

研究药物在临床实践中应与主动免疫联用,破伤风主动免疫起效慢,首剂保护作用很低,通常认为第 2 剂后 2~4 周抗体水平能超过最低保护水平 $0.01 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$,最初的 3 剂可诱导产生保护性免疫,通常可持续至少 5 年,加强免疫可进一步延长免疫时间,第 4 剂后可持续大约 10 年,第 5 剂后至少持续 20 年^[11]。每次注射破伤风类毒素后,抗体水平在 2 周内达到高峰,在 2 个月内迅速下降^[9],被动免疫在暴露早期将起到关键的保护作用。临床试验期间需多次检测血清抗体水平,给药后 3,7,14 d 使用体内中和试验抗体浓度超过 $0.01 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$ 或标准 ELISA 法检测抗体浓度超过 $0.16 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的受试者比率可以作为次要疗效终点。

2.4.4 安全性评价

研究药物主要用于暴露后预防,临床实践中,部分非破伤风暴露人群也可能使用被动免疫制剂,因此安全性评价尤其需要关注。需要观察的内容主要包括体格检查、生命体征、常规的实验室检查、心电图、

全身反应、局部反应等。因品种特点有特殊考虑的,也需要注意到相应的安全性风险,并在临床试验中观察。单克隆抗体应关注局部注射反应、过敏反应、流感样症状、胃肠道症状、低血压等,结合品种临床前研究和同类品种的研发经验,对潜在风险设计风险控制措施。同时,大分子药物需要在临床试验中设计观察免疫原性,是否有抗药抗体产生,并分析是否对药效和安全性造成影响。确证性临床研究安全性观察至少1个月。因破伤风临床结局较严重,新药的有效性也是安全性评价的重要内容。

2.4.5 上市后要求

临床终点仍然是抗破伤风毒素单克隆抗体确证性研究的首选指标,血清中抗毒素(类毒素)特异性IgG水平被认为是评价保护性的替代指标,为加快抗破伤风新药的研发,临床结局的观察在上市前不可行时,扩大样本量的临床结局数据可作为上市后要求。暴露后预防失败的后果较严重,新药上市后应对全部接受药物者进行破伤风暴露情况和临床结局登记,总结分析后定期报告监管机构。

3 试验的质量控制

在破伤风临床试验中需注意临床试验的质量控制,包括但不限于以下几点。

3.1 机构选择

我国破伤风多发于农村地区,暴露者受外伤后,一般就近选择医院急诊或区域卫生防疫站处理。因此临床试验机构的选择,既要便于募集受试者,又要特别关注研究机构应符合资质、有足够研究能力。

3.2 治疗标准化及培训

暴露后预防处置首先要尽早进行伤口局部处理,包括对伤口进行彻底的冲洗、消毒及后续的外科处置,临床试验方案中应规定一套标准操作流程(SOP)。

4 讨论

我国尚缺乏系统的非新生儿破伤风流行病学监测和报告体系,外伤后破伤风是非新生儿破伤风的主要类型,多散发于乡镇和农村地区,误诊率和漏诊率较高,报告发病率可能存在低估^[6]。破伤风确诊患者的治疗以及破伤风易感伤口的暴露后预防仍然需要被动免疫制剂。HTIG是从经破伤风免疫的健康人类供体产生的抗毒素血浆制备而成的多抗,致敏性较低,但由于血液制品中可能含人类病原体,有传播血液传染病的风险,且价格偏高、供应量有限,难以满足国内患者的需求,迫切需要用更安全、高效的抗破伤风毒素单克隆抗体替代马和人血清来源的抗破伤风

免疫球蛋白来满足预防和治疗需求^[8]。

尽管确证性研究的主要疗效终点可以选择达到“保护性抗体浓度”(体内中和试验抗体浓度超过 $0.01 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$ 或标准ELISA法检测抗体浓度超过 $0.16 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$)的受试者比率。但是,临床实践中有抗毒素浓度高于保护阈值而仍然发生破伤风的病例记录,“保护性抗体浓度”不能视为在所有情况下都能确保足够的免疫力,应立足于终生保持较高的抗体浓度^[13]。破伤风发病率较低,但病死率高,暴露后预防失败的后果较为严重,在目标人群中开展临床试验前需有足够有效性数据支持,保障受试者的安全。

参考文献:

- [1] 王传林,王艳华,张晓萌. 中国破伤风免疫预防专家共识[J]. 中华外科杂志, 2018, 56(3): 161-167.
- [2] YEN L M, THWAITES C L. Tetanus[J]. *Lancet*, 2019, 393(10181): 1657-1668.
- [3] THWAITES C L, BEECHING N J, NEWTON C R. Maternal and neonatal tetanus[J]. *Lancet*, 2015, 385(9965): 362-370.
- [4] 国家卫生健康委办公厅. 国家卫生健康委办公厅关于印发非新生儿破伤风诊疗规范(2019年版)的通知(国卫办医函(2019)806号)[EB/OL]. 北京: 国家卫生健康委办公厅, 2019-10-28 [2022-04-21]. <http://www.nhc.gov.cn/zyygj/s7653p/201911/8a3d3034bb674b18a049cdbea4ad3fe8/files/adcb-e0fd2a1848858976bccc5d812ab0.pdf>.
- [5] 张炜. 成人破伤风急诊预防及诊疗专家共识[J]. 临床急诊杂志, 2018, 19(12): 801-811.
- [6] 王传林,刘斯,邵祝军,等. 外伤后破伤风疫苗和被动免疫制剂使用指南[J]. 中华流行病学杂志, 2020, 41(2): 167-172.
- [7] SHEPARD H M, PHILLIPS G L, D THANOS C, et al. Developments in therapy with monoclonal antibodies and related proteins[J]. *Clin Med (Lond)*, 2017, 17(3): 220-232.
- [8] WANG Y, WU C, YU J, et al. Structural basis of tetanus toxin neutralization by native human monoclonal antibodies[J]. *Cell Rep*, 2021, 35(5): 109070.
- [9] PLOTKIN S A, ORENSTEIN W A, OFFIT P A. *Vaccines*[M]. 5th Edition. Amsterdam: Elsevier, 2008: 805-839.
- [10] AFSHAR M, RAJU M, ANSELL D, et al. Narrative review: Tetanus - a health threat after natural disasters in developing countries[J]. *Ann Intern Med*, 2011, 154(5): 329-335.
- [11] WHO. WHO Immunological Basis for Immunization Series: Module 3: Tetanus[EB/OL]. Genève: WHO, 2018-07-11 [2022-04-21]. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/275340>.
- [12] SIMONSEN O, BENTZON M W, HERON I. ELISA for the routine determination of antitoxic immunity to tetanus[J]. *J Biol Stand*, 1986, 14(3): 231-239.
- [13] WHO. Tetanus vaccines: WHO position paper - February 2017[J]. *Wkly Epidemiol Rec*, 2017, 92(6): 53-76.

(本文编辑 孟海峰)