

生物标志物在药品生命周期中的应用与展望

谢媛媛^{1,3,4}, 王义明², 罗国安^{2*}

(1. 广东药科大学中药学院, 广东 广州 510006; 2. 清华大学化学系, 北京 100084; 3. 国家中医药管理局中药数字化质量评价技术重点实验室, 广东 广州 510006; 4. 广东省中药质量工程技术研究中心, 广东 广州 510006)

摘要: 生物标志物 (biomarker) 是一种能客观测量并评价正常生物过程、病理过程或对药物干预反应的指示物, 可有效提高新药研究开发决策, 指导候选药物早期临床试验, 降低新药研发失败的风险, 其在药品生命周期中的重要作用已引起业内普遍关注。欧美等国家和地区相继出台关于生物标志物研究开发和资格鉴定程序的指南, 鼓励医药企业将生物标志物作为创新药物发现的工具, 在药品上市后通过生物标志物监控其安全性和有效性。本文针对我国药品生命周期特点, 对生物标志物在药物基础研究、先导化合物/创新药物的设计与发现、临床前药物开发、临床研究、新药研究及上市后再评价等药品生命周期各个环节中作用情况进行综述, 并对其应用前景进行展望。

关键词: 生物标志物; 药品生命周期; 新药研发; 有效性; 安全性

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2021)02-0456-09

Identification and application of biomarkers in life cycle of drugs

XIE Yuan-yuan^{1,3,4}, WANG Yi-ming², LUO Guo-an^{2*}

(1. School of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China; 2. Department of Chemistry, Tsinghua University, Beijing 100084, China; 3. Key Laboratory of Digital Quality Evaluation of Chinese Material Medical of SATCM, Guangzhou 510006, China; 4. Engineering Technology Research Center for Chinese Materia Medica Quality of Guangdong Province, Guangzhou 510006, China)

Abstract: Biomarkers are defined as a characteristic that is objectively measured and evaluated as an indicator of normal biological processes, pathogenic processes, or pharmacological responses to a therapeutic intervention. Biomarkers can help the decision-making process for new drug research and development, provide guidance for the early clinical development of candidate drugs and reduce the risk of failure. Therefore, as a key factor in the development of new drugs, the discovery and research on biomarkers has increased the interest of the pharmaceutical industry and regulatory agencies. Guidelines on the development and use of biomarkers have been issued by drug regulatory agencies including the EMA, FDA and ICH. Biomarkers are encouraged to be used to facilitate drug development by these relevant regulatory agencies, and also to be used to monitor the safety and efficacy of drugs in post-marketing drug surveillance. The application of biomarkers is encouraged at different stages of a drug's life cycle, including at the stage of basic science research and target identification, prototype design or discovery, preclinical development, clinical development, FDA filling/approval and launch, as well as post-marketing was reviewed. The identification, development, and application of biomarkers in pharmaceutical research is discussed.

Key words: biomarker; life cycle of drug; drug discovery; efficacy; safety

收稿日期: 2020-08-19; 修回日期: 2020-10-21.

基金项目: 国家自然科学基金重点基金资助项目 (81130066); 国家自然科学基金面上项目 (81473174); 国家药典委员会药品标准制修订研究课题 (2019Y12).

*通讯作者 Tel: 86-10-62781688; E-mail: luoga@tsinghua.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2020-1374

药品生命周期是指从药物研发开始,到注册评价、上市使用,再评价,直至由于市场等原因退市的整个过程^[1]。于2019年12月开始实施的新《中华人民共和国药品管理法》和《中华人民共和国疫苗管理法》中均提出强化药品全生命周期管理的理念。生物标志物在药品生命周期的各个环节中发挥着重要作用:在基础研究阶段通过开展探索性生物标志物研究,深入理解疾病发生和发展以及干预治疗的作用机制;在发现治疗靶点或阐述治疗理念中使用生物标志物可在候选药物早期识别中预测潜在药物疗效和安全性,填补因疾病相关靶点不确定和药物疗效差异等带来的问题,有利于新的科学假说的形成;明确的作用靶点或作用机制将使先导化合物的设计和发现更加有的放矢,增加候选分子进入临床开发阶段的整体成功率;在临床试验中,生物标志物可用于预测药物代谢动力学参数,监测患者所处疾病状态,根据病程等对患者进行分层,实现精准治疗,帮助临床决策(包括药物剂量选择、治疗时间),并监测药物有效性和安全性;在药物开发早期应用生物标志物策略将有利于衔接临床前实验与临床研究结果。图1所示为生物标志物在药品生命周期中各个阶段的应用。

1 生物标志物在新药研究开发阶段的应用

近年来创新药物研究开发效率呈下降趋势,究其根本,错误的分子、错误的靶点、错误的结果和错误的患者可能是导致创新药物研究失败的重要原因。转化医学模式下,生物标志物在预测药物作用靶点、明确药物作用机制及药物代谢动力学参数,监测患者所处疾病状态,根据病程等对患者进行分层精准治疗,以及监测临床实验治疗效果等方面均可广泛应用,FDA已将生物标志物作为一种新的药物研究工具(Drug Development Tools, DDTs)用于改善当前新药短缺以及新药开发耗

时长、投入大、风险大等问题,引起业内普遍关注^[2]。

1.1 靶点和分子调控作用相关的生物标志物 随着人类疾病谱发生变化,疾病变得越来越复杂,某一病症的发生过程可能涉及多个信号通路调控的多个病理环节。从具体潜在药物作用靶点出发的研究往往很难发现“原创药”(first-in-class drugs),而基于已知靶点在5 000~10 000种化合物中筛选“二类新药”(second-in-class drugs)获取具有良好成药性新分子实体(new molecular entity, NME)的概率不到5%。因此,通过生命科学和医学基础研究探究复杂疾病发生的生物学基础和分子机制,从生物学角度寻找潜在创新药物和治疗手段已为大势所趋^[3]。“免疫检查点(immune checkpoint, ICP)”概念的提出和相应分子机制研究推动了重组单克隆抗体和肿瘤疫苗等生物制剂研究开发爆发式增长,肿瘤免疫治疗方兴未艾,靶向于细胞毒T淋巴细胞相关蛋白4(cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4, CTLA-4)的伊匹木单抗,靶向于程序性细胞死亡蛋白-1(programmed cell death protein 1, PD-1)的纳武单抗及靶向于PD-L1的阿特株单抗,靶向性抑制乳腺癌细胞人类表皮生长因子受体(human epidermal growth factor receptor, HER2受体)的曲妥珠单抗,特异性阻断丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶(serine/threonine-protein kinase B-raf, BRAF)途径并抑制黑色素瘤持续增殖和凋亡抑制的威罗非尼,显著抑制ALK丝氨酸激酶受体(ALK tyrosine kinase receptor, ALK)融合基因和c-Met受体功能进而抑制ALK阳性肿瘤发展用于非小细胞肺癌(non-small-cell lung cancer, NSCLC)-ALK治疗的克唑替尼等均通过阻断相应免疫检查点,激活肿瘤特异性T细胞免疫应答,依靠自身免疫系统杀伤肿瘤细胞而用于肿瘤治疗^[4]。这类靶向药物研发均得益于基础研究中肿瘤发生发展相关生物标志物的发

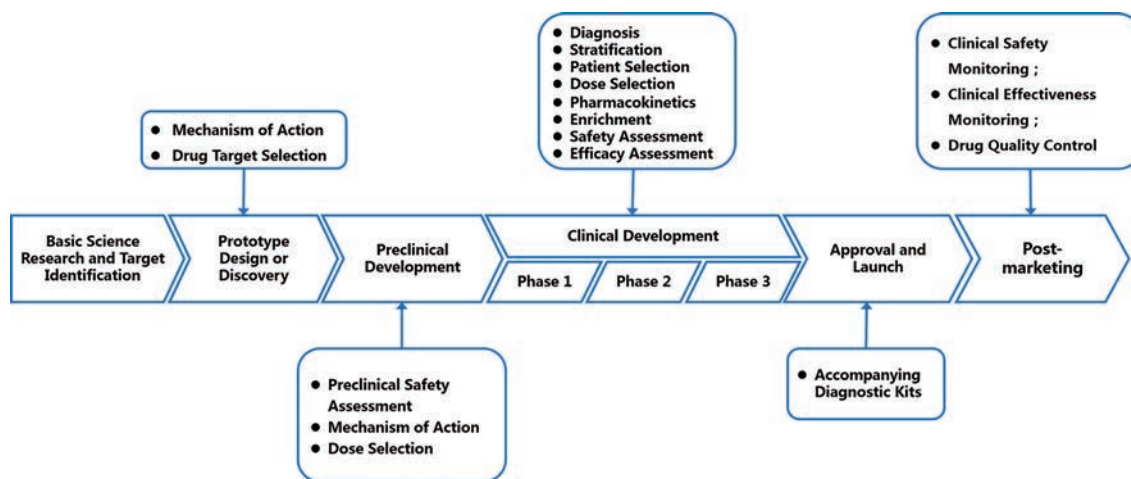


Figure 1 The application of biomarkers at different stages of drug life style

现^[5-7]。在治疗 2 型糖尿病的新型血浆二肽基肽酶 IV (dipeptidyl peptidase 4, DPP4) 抑制剂西格列汀的研发中, DPP4 是药物作用的靶点, 调控 DPP4 靶点的胰高血糖素样肽-1 (glucagon-like peptide, GLP-1) 和糖依赖性胰岛素释放肽 (glucose-dependent insulintropic peptide, GIP) 是与糖尿病进程密切相关的生物标志物, 而血糖水平是表征疗效的生物标志物^[8]。这种基于分子机制的生物标志物可有效推进后期药物研发进程, 降低项目研发失败的风险。此外, 与疾病进程直接相关的靶向生物标志物可提示药物是否真正与靶点发生了相互作用, 或提示在可能的毒性剂量下药物与靶点发生相互作用所需剂量, 或提示该剂量是否适合后续临床研究, 以确认候选药物的可行性^[9]。

1.2 生物标志物在先导化合物或创新药物发现中的应用 化药的创新药物研究开发一直遵循“靶点确定-模型建立-先导化合物发现-先导化合物优化”的研究模式, 发现活性先导化合物, 在构效关系研究基础上, 通过结构改造、修饰等方法获得活性更好、毒性更低的新化学实体。从靶点出发, 一个小分子化合物对应一个特定靶点的“点-点”模式虽适用于具有明确靶点的单因素性疾病; 但对于慢性、复杂、多因素疾病, 用一个靶点很难表征疾病的全面性, 则具有较大局限性, 给药物安全性和有效性带来较大不确定性。在先导化合物或创新药物研究和发现阶段, 主要进行细胞、模式生物或靶酶水平的活性筛选, 进而通过动物试验验证、药物代谢动力学和安全性研究初步评价其成药性^[10]。这种基于“还原论”视角的活性筛选, 一方面会因为模型或评价指标的盲目选择而使一些本来有效的成分被“漏筛”, 这种情况在天然产物先导化合物研究中较为常见; 另一方面也会有一些在实验室阶段安全有效的成分在临床研究中无效或存在安全性隐患, 从而带来巨大的失败率和高额的研发成本。系统生物学从整体上同时分析疾病发生的多个靶标, 全面阐明药物作用机制, 结合结构生物学、计算生物学等学科的发展, 在高通量药物筛选、生物数学建模等技术的推动下, 可加速药物发现的进程, 加速靶点的发现和确认, 并可用能表征药物整体疗效的生物标志物来检测药物的疗效和安全性, 建立个性化用药方案^[11]。近年来, 在系统生物学多组学研究基础上构建或预测“药物-靶标”相互作用网络, 并结合分子对接和定量构效关系等计算机辅助药物设计技术, 发现了多个潜在药物^[12-14]。中药中天然活性化合物具有骨架多样、结构新颖、半衰期强、选择性强、不良反应小等显著特点, 如抗癌药物青蒿素, 抗癌天然产物中的紫杉醇、喜树碱和长春碱等, 以及治疗阿尔茨海默病的石杉碱甲等。从中药中寻找针对人类

疾病特定靶点的有效成分, 解析和鉴定其结构, 发现新型药物先导化合物, 也是当前创新药物研发的一个重要方向。以表征药物分子 (群) 对生命体整体药效的生物标志物 (群) 为导向的中药活性成分发现, 可在一定程度上提高活性先导化合物发现效率。

1.3 生物标志物在中药创新药物发现中的应用 中药有效部位及其复方制剂, 古代经典名方, 临床有效验方以及名优中成药的“二次开发”等均是中药创新药物的重要来源^[15]。在中药新药研究中, 多采用针对某一疾病或特定病理环节制备的动物模型来代替临床患者, 用一个或几个反映某一疾病特征的特异性药理指标或局部功能改变来评价药物的疗效。这些动物模型和评价指标无法表征源于临床“辨证施治”的中药复方的整体功效, 更难以体现出中药复方相对于西药 (阳性对照药) 的优效性。虽然也有学者根据中药证候的核心病机制备了一些“病证结合”的动物模型, 如负重游泳所致“气虚”模型, 腹腔注射内毒素建立大鼠热毒血瘀证模型, 睡眠剥夺法复制大鼠心气虚模型等^[16], 但这些“证候”模型往往也只能复制复杂中医证候的一部分致病因素, 无法表征模拟患者的心理、情感、饮食及环境等的影响, 与临床存在很大差异^[17]。在葛根芩连汤治疗 2 型糖尿病的量效关系研究中, 采用葛根芩连汤灌胃干预高脂喂养结合链脲佐菌素注射诱导的 2 型糖尿病大鼠模型, 胰岛素敏感指数和甘油三酯等生化指标可用于表征方剂量效关系, 并与代谢组学发现的潜在生物标志物具有一定相关性, 说明代谢组学生物标志物可反映动物模型制备所致的脂代谢紊乱和胰岛素功能异常; 而在葛根芩连汤治疗肠道湿热证 2 型糖尿病患者的临床研究中, 可表征其量效关系的临床生化指标和代谢组学潜在生物标志物则反映了糖尿病患者肾损伤情况 (血肌酐) 及血糖水平 (糖化血红蛋白), 说明临床患者病因更为复杂, 动物模型只能部分模拟临床疾病^[18]。由于伦理、医药分工等原因, 用动物模型取代临床患者却是创新药物研究无法避免的“替代”。在转化医学研究模式下, 在临床系统生物学研究中发现与疾病发生发展过程及相关机制密切相关的生物标志物 (群), 在中医药理论指导下发现与中医证候密切相关的生物标志物 (群), 并将它们作为动物实验中评价药物疗效的指标, 则是对现有中药新药研究中药效评价方式的有益补充^[10]。

国家药品监督管理局于 2018 年 11 月 1 日颁布 2018 年第 109 号文:《证候类中药新药临床研究技术指导原则》, 证候类中药新药是指主治为证候的中药复方制剂新药。毫无疑问, 生物标志物是证候类中药的临床定位和证候诊断以及药物疗效的评价的有效手段之

一。本课题组在糖肾方的临床系统生物学研究中, 采用代谢组学和基因组学发现了与糖尿病肾病不同中医分型密切相关的中医证候诊断生物标志物体系, 由临床生化指标、临床系统生物学指标 (内源性小分子代谢物) 和中医症状评分代表的中医证候量化指标三方面组成, 可用于气虚血瘀证中药的药效评价^[19]。在此基础上提出了“从临床出发, 基于信号通路”的复方新药研发途径, 即在糖尿病肾病患者临床系统生物学研究基础上, 结合动物模型的整体系统生物学结果, 聚焦与疾病分型相关的整合生物标志物体系, 利用生物信息学方法, 确定和疾病相关的靶点, 信号通路和相应的网络; 并将中药化学物质组学研究与网络药理学研究相结合, 以通路为主要靶标, 靶点辅助, 聚焦得出候选复方药物; 采用这种策略, 既可发现针对疾病 (证) 多种治疗理念集合的复方新药, 也可发现对疾病的各病理阶段的针对性强的复方新药; 通过临床系统生物学研究发现的生物标志物可作为评价候选复方药物安全性和有效性的指标, 为传统中药的“二次开发”提供了新的思路^[10]。中国中医院科学院中药研究所边宝林教授课题组在经典名方黄连解毒汤的研究中, 通过主要活性成分的药物代谢动力学特征与“实热火毒”证 (炎症模型) 病理模型的 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 、MIP-2、IL-10、IL-13 等细胞因子 (生物标志物) 的相关性分析, 证实了在“实热火毒”证下动物代谢机能旺盛, 具有清热解毒功效的黄连解毒汤的成分可调节“实热火毒”证相关药效指标, 缓解大鼠机体组织炎症反应; 增强机体清除体内过量的自由基, 可提高机体抗氧化能力; 降低血浆中 MDA 水平, 抑制机体发生脂质过氧化反应; 缓解机体炎症状态, 降低机体能量代谢, 通过对相关基因生物标志物的测定明确黄连解毒汤的作用机制: 通过抑制 NF- κ B 和 AP-1 这两条信号通路来实现抗炎功能, 并抑制炎症引起的细胞增殖。选取临床具有典型实热上火症状的患者与正常组患者进行对比, 探讨“实热上火证”的生物标志物, 发现上火患者的超敏 C-反应蛋白数值及乳酸与丙酮酸比值均高于正常组人群, 为后续临床试验开展提供依据^[20]。

由此可见, 生物标志物 (群) 是用“语言”表述的中医证候的体内物质基础, 生物标志物 (群) 含量或表达水平的测定可实现中医证候的客观量化, 既可作为临床试验病例纳入和排除标准设定的指标, 也可用于指导创新药物临床定位和适应证的选择。中医和西医从不同理念和体系, 用不同的表征方法体现对人类疾病的认识和治疗, 但对于同一个患者中西医不同的表征 (中医的“证”和西医的“病”) 而言, 在物质基础上 (基因、蛋白质、代谢物三个基本层面) 具有同一的生物学

意义^[10]。生物标志物是沟通中西医治疗体系的桥梁, 是中药复方创新药物疗效评价和安全性研究的理想指标, 亦可用于中药复方药物作用机制的阐明。同样, 可探索表征藏医的“三因学说” (隆、赤巴、培根), 维吾尔医学的“体液学说” (胆液质、血液质、黏液质、黑胆质), 蒙医的“三根理论” (“赫依”、“希拉”、“巴达干”) 等生物标志物 (群), 在民族医药理论指导下进行创新药物发现, 诠释传统医药的科学内涵。

2 生物标志物在药物有效性和安全性评价中的应用

2.1 监测疗效

用于监测疾病状态或疾病病程发展阶段的生物标志物同样可用来监控治疗的效果。生物标志物在肿瘤免疫治疗疗效评价中应用较为广泛。针对细胞毒性 T 淋巴细胞相关蛋白 4 (CTLA-4)、程序性细胞死亡蛋白-1 (PD-1) 和程序性细胞死亡蛋白配体 (PD-L1) 等的肿瘤免疫检查点抑制剂 (ICP) 通过阻断相关免疫检查点, 激活肿瘤特异性 T 细胞免疫应答, 依靠自身免疫系统杀伤肿瘤细胞而用于肿瘤治疗^[21]。PD-1/PD-L1 单克隆抗体, 如纳武单抗、派姆单抗等, 可阻断 T 细胞表面 PD-1 与肿瘤表面的 PD-L1 结合, 在一定程度上恢复 T 细胞识别和杀伤肿瘤细胞的功能。因此, 肿瘤 PD-L1 表达情况与肿瘤治疗缓解率显著相关, PD-L1 的表达情况也被作为预测 PD-1/PD-L1 抑制剂临床疗效的生物标志物^[22]。肿瘤微环境中存在的肿瘤浸润淋巴细胞 (TIL) 也与 PD-L1 表达密切相关, PD-L1 表达水平联合 TIL 可筛选出潜在的治疗获益人群^[23]。T 细胞炎性基因表达谱包括与抗原提呈、趋化因子表达、细胞毒性及 IFN- γ 应答等相关的基因, 是 T 细胞炎性肿瘤微环境的生物标志物; 肿瘤突变负荷 (TMB) 是体细胞突变产生的肿瘤抗原性的间接评估指标, TMB 和 T 细胞炎性基因表达谱联合标志物可用于派姆单抗临床疗效的预测; 高肿瘤突变负荷 (TMB-H) 可作为黑色素瘤患者免疫治疗客观缓解率和临床生存期预测和评价的指标, 并可用于筛选能够接受纳武单抗与伊匹单抗双药联合和纳武单抗单药治疗的肺癌患者; 而 TMB-H 肿瘤细胞会产生可作为 T 细胞肿瘤特异性靶点的肿瘤新抗原, 使用免疫检查点抑制剂可增强 T 细胞的反应性和抗肿瘤活性, 在此基础上可合成防治肿瘤复发, 增强 PD-1 抗体治疗效果的肿瘤疫苗^[21, 24, 25]。高度微卫星不稳定性 (MSI-H) 或 DNA 错配修复功能缺陷可作为生物标志物表征转移性结直肠癌实体瘤患者采用 PD-1 单抗派姆单抗治疗缓解率的评价指标; 肿瘤 DNA 修复通路相关基因的突变或表达的变化, 与临床靶向治疗、免疫治疗疗效相关。如 MGMT 启动子甲基化可用于评价替莫唑胺治疗多形性成胶质细胞瘤疗效^[21]。

在糖肾方治疗气阴两虚夹瘀证的2型糖尿病肾病患者的临床系统生物学研究中,通过定量代谢组学发现肌苷、腺苷、胞嘧啶、S-腺苷同型半胱氨酸和磷脂等可作为药物疗效评价的生物标志物^[26]。

替代终点指可根据流行病学、治疗学、病理生理学或其他科学证据预测患者的临床获益(危害或无法获益),是对传统临床疗效终点的补充。在药物开发中常用的替代终点包括总胆固醇、心血管风险的高/低密度脂蛋白和血压、艾滋病毒的CD4计数和病毒载量、骨质疏松症的骨密度和糖尿病的糖化血红蛋白A1c等。“临床终点”反映的是一种患者感觉如何,机体怎样运转或怎样生存的特征或变量,被视为治疗干预所带来的临床收益最严格可信的测量标准。然而,这些临床终点通常需要大量的研究样本和时间,并且受到很多因素的影响。而替代终点比其替代的临床终点对治疗干预做出反应需要的时间窗更窄,和(或)需要更少量的样本,可加快药物开发和监管注册的进程^[27]。

2.2 不良反应或毒性反应的监测 药物的安全性问题是导致原研药物失败的一个关键因素,也是造成上市药品撤市的主要原因。安全性生物标志物(safety biomarker, SBM)有助于在筛选原研药物早期发现安全性问题,提高药物研发效率并减少投资风险(表1)。因此,安全性生物标志物业已成为学者们比较感兴趣的生物标志物研究领域之一^[28]。

理想中的安全性生物标志物应该具有以下特点:①可早期发现损伤;②可反映毒性程度;③存在于包括人在内的多个种属;④在临床前研究和临床研究中具有相似的可靠性;⑤可确定损伤位点;⑥可追踪损伤的进展及恢复其情况;⑦有明确的局限性;⑧易于在体液/组织中获取;⑨候选药物毒性剂量改变与这些生物标志物的升高和靶器官组织病理学改变同步。由此,对安全性生物标志物的监测可为候选药物的临床试验提供依据。临床安全性生物标志物通常被认为是可表征出现轻度毒性的最低药物剂量的生物标志物。监测研发药物在临床试验或非临床试验中的安全性是生物标志物的重要用途之一。敏感性和特异性是发现和发展安全性生物标志物必须重视的问题,须

避免假阳性(损失了潜在的良好药物)和假阴性(浪费后续开发的费用和时间)的发生^[27,28]。

迄今为止,FDA已接受并完成资格认证的临床前药物安全性评价领域的生物标志物主要涉及药物诱导的肾脏毒性和心脏毒性。由药物安全性预测联盟(Predictive Safety Testing Consortium, PSTC)和国际生命科学学会健康和环境科学研究所(International Life Sciences Institute/Health and Environmental Sciences Institute, ILSI/HESI)申请的丛生蛋白(clusterin)、肾损伤分子-1(Kim-1)、三叶因子-3(TEF-3)、白蛋白(albumin)和肾乳头抗原-1(RPA-1)被FDA认定为药物肾小管损伤生物标志物,尿总蛋白(uTP)、 β_2 微球蛋白(β_2 -MG)、血清半胱氨酸蛋白酶抑制剂C(CysC)则可作为药物肾小球损伤生物标志物,它们可与传统肾脏生物标志物共同使用,用于药物安全性评价^[29]。丛生蛋白和肾乳头抗原-1(RPA-1)亦可用作药物诱导的肾毒性生物标志物^[30-32]。血清/血浆中心肌钙蛋白T(cTnT)和肌钙蛋白TI(cTnI)作为药物诱导的心脏毒性生物标志物于2012年通过FDA认定^[33]。

3 生物标志物与精准医学

精准医学起始于2004年,通过基因测序找到非小细胞肺癌基因突变的靶点,采用“靶向性”的化疗药物进行“精确打击”,以代替肿瘤治疗中的放疗、化疗、手术等地毯式轰炸手段,显著提高了治疗效率^[34]。支撑精准医学发展的关键技术有:①分子诊断,特别是单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)基因分型;②生物标志物;③整合治疗效果的诊断,特别是对治疗效果的监测;④用于评价和利用不同组学研究获取数据的生物信息学;⑤药物基因组学;⑥遗传药理学;⑦药物蛋白质组学;⑧药物代谢组学等。而用作诊断、药物发现和监测疾病的基础生物标志物与精准医学的发展密不可分。药物基因组学、遗传药理学、药物蛋白质组学和药物代谢组学是获取用于个性化诊疗生物标志物的主要途径。

3.1 遗传药理学 遗传药理学(pharmacogenetics)是研究临床药物治疗中个体反应差异的遗传学因素的学科,遗传多态性可引起不同个体在服用药物时疗效不

Table 1 The application of safety biomarker (SBM) in the research and development of new drug

No.	Application category of SBM	Application
1	Projects with identified safety issues at the early stage	Reduce uncertainty in key decisions
2	Discovery of compounds with poor safety at the early stage, as well as the compound families (homologues) in which adverse reaction would be occurred in the future	Reduce organ damage due to drug safety in the late stage
3	Improve the protection for the safety of subject	Improve safety of the subject
4	Clinical trials were monitored using the generic toxicity SBM, organotoxicity was detected in the event of reversible injury	Pilot projects with potential safety risks should be stopped at the early stage
5	Achieve personalized healthcare	Improve the targeting ability of drugs
6	Patients were classified on the basis of possible adverse reactions (ADR) of drugs	Improve safety of the subject

同,其关注的是单个候选基因对药物代谢和药物反应产生的影响。现代医学研究证明,某些亚人群发生药物严重不良反应或治疗失败都具有显著遗传背景,遗传基因不同引起的药物反应差异可能导致医疗费用上涨、患者痛苦增加甚至死亡。遗传药理学研究可预测可能的用药结果,为患者提供更为安全、有效、经济的药物治疗方案^[35]。如广泛用于预防血栓栓塞的抗凝药物华法林药理作用复杂,治疗窗窄,很小的“剂量-反应”变化也可导致血栓或出血,不同个体及种族用药剂量可相差20倍。而维生素K环氧化物还原酶复合物1基因(vitamin K epoxide reductase complex subunit 1, VKORC1)和细胞色素P450酶(cytochrome P450 enzyme, CYP450)2C9多态性是造成患者之间用药剂量个体差异的主要原因。目前美国FDA已经批准华法林处方信息更改为推荐根据人类基因信息检测结果选择合理的给药剂量^[36-38]。N-乙酰转移酶(N-acetyltransferase, NAT),亚甲基四氢叶酸还原酶(methylenetetrahydrofolate reductase, MTHFR),二氢嘧啶脱氢酶(dihydropyrimidine dehydrogenase, DPD),P-糖蛋白与多耐药基因1(P-glyco-protein, multidrug resistance gene 1, MDR1),其他药物转运相关蛋白有多药耐药相关蛋白(multidrug resistance-associated protein, MRP)、乳腺癌相关蛋白(broad substrate specificity ATP-binding cassette transporter ABCG2, BCRP)等基因多态性均会引起相应药物疗效和安全性的差异^[39]。

3.2 药物基因组学 药物代谢酶、转运体、药物靶点的单核苷酸多态性(SNPs)在一定程度上可阐释药物在不同人体及群体间药物代谢动力学和药效动力学的差异,Ebert等^[40]在研究结直肠癌治疗时,发现肿瘤组织转录因子AP-2 ϵ (transcription factor AP-2-epsilon, AP2-epsilon, TFAP2E)高甲基化后,Dickkopf相关蛋白4(Dickkopf-related protein 4, DKK4)表达水平升高,结直肠癌对氟尿嘧啶出现严重耐药,患者预后分极明显。药物可通过多环节、多途径发挥作用,同样疾病也可以通过多途径影响药物的作用。例如CYP2C9和VKORC1基因的变异只能解释40%患者间华法林用药剂量的差异,而CYP4F2及其他疾病因素对华法林用药剂量也有较大的影响^[41]。药物的单基因变异效应向多基因遗传变异的综合效应发展是近年来药物基因组学研究的一个发展趋势。Iorio等^[42]通过对11 829个肿瘤患者,29种肿瘤的多组学数据(体细胞突变、拷贝数改变、甲基化和基因表达)整合分析,获取与临床相关的复发性肿瘤基因、局部扩增或缺失、甲基化的启动子等信息。结果发现1 001个肿瘤细胞株致癌基因的变化,可用于265个抗肿瘤药物敏感性的预测。研究结果可以回答:① 哪些细胞株可以表征原发性肿瘤的特征;

② 哪些致癌基因的改变与药物敏感性相关;③ 结合多个生物标志物分析是否可以更好的解释药物敏感性?④ 对于预测药物反应的相应贡献度:是采用单个标志物分析还是多个标志物整合分析等多个问题。

对于新化合物而言,在药物基因组学指导下,明确药物体内代谢过程和药效过程中涉及的通路,推测潜在的作用靶点、信号通路和药物代谢动力学过程相关基因蛋白遗传变异对药物效应的影响,可为基于动物或细胞模型的药物有效性和安全性研究试验设计提供依据;药物基因组学的研究结果结合定点诱变技术构建细胞模型或使用基因敲除动物模型了针对性的开展药物有效性、安全性或作用机制研究。在I期临床试验中,根据药物基因组学研究选择具有药物相关的代谢酶和转运体多态性的受试者,验证临床前研究中发现的药物代谢转运相关基因靶点,可精确预测药物个性化使用剂量。在III期临床研究中,采用前瞻性研究策略,通过药物基因组学研究选取潜在可获益(疗效好、发生不良反应可能性低)的特定基因型人群,排除潜在不可获益(无效、发生不良反应可能性高)人群,降低III期临床研究所需病例数,使药效更加明确;或通过开展一些基因突变的回顾性研究精准定位靶向药物的获益人群;并可开发相关基因分析方法及试剂盒,以确保基因分型专属性和准确性。在IV期临床中,针对药物不良反应进行药物基因组学的再评价,发现药物不良反应的遗传标志物,完善药物标签,避免药物因严重安全性事件而退市。在药品全生命周期内开展药物基因组学研究可从源头最大限度遏制严重安全性事件,降低治疗失效的比例,并可研发具有高科技附加值的全新药物。药物基因组学可在识别对药物有反应或没有反应的患者,避免不良反应的发生,优化药物剂量方面发挥重要作用。

药物标签可包含基因组生物标志物的相关信息,包括如下内容:① 药物暴露与临床反应的变异性;② 发生不良反应的风险;③ 针对基因型特异性的药物剂量;④ 药物作用机制;⑤ 药物作用靶点或消除基因多态性;⑥ 临床试验设计的特征。截至2018年6月,美国FDA网站上公布了用于肿瘤、心血管疾病等19种疾病治疗的214个药物标签上的75个生物标志物。

3.3 药物蛋白质组学 Goldstein等^[43]基于LC-MS/MS的teHPS90(肿瘤富集热休克蛋白)蛋白质组学研究,发现了B细胞受体通路上,经药物PU-H71治疗后与teHPS90相互作用的蛋白质;结果表明,PU-H71和依鲁替尼(B细胞受体抑制剂)联合应用对BCR信号通路的抑制作用优于单一使用;PU-H71与依鲁替尼协同作用,在淋巴瘤细胞株、原代人类淋巴瘤组织体外治疗

和淋巴瘤的异体移植显示了良好的杀伤作用。

3.4 药物代谢组学 药物代谢组学是以个体给药前的生物样本代谢物所包含的信息,预测个体对药物的代谢和毒性反应差异的一门代谢组学与药学交叉结合产生的新科学分支,它通过对给药前个体的代谢表型 (metabotype) 和药物反应表型 (drug response phenotype) 进行比较分析来进行药物疗效或毒性评价、预测。采用药物代谢组学的方法发现曲妥单抗-紫杉醇新辅助疗法对 HER-2 阳性的乳腺癌患者治疗效果不同 (组织学检查) 患者的生物标志物,分为 2 组: 反映良好组 (good responders, GR) 和反映较差组 (poor responders, PR)。GR vs PR: 亚精胺含量偏高,色氨酸含量偏低;得到的两个生物标志物可在临床上用于患者疗法的选择^[44]。

4 生物标志物与药物质量

全面药物质量表征既包括对药物化学物质的表征,也包括对药物生物效应 (药效) 的评价,特别是临床疗效的评价。生物标志物可体现药物作用于生命系统的整体效应,与药物的安全性和有效性密切相关。基于生物标志物 (群) 表达水平 (含量) 变化与药物中指标成分含量变化的相关性分析,建立化学分析与生物标志物检测相融合的药物质量标准,可真实反映药物的“质”与“量”。对于作用机制清晰,作用靶点明确的药物,可采用酶促反应、免疫反应等方式构建生物标志物快速检测方法;而对于靶点不明确或作用机制较复杂的复方药物 (如中药材、中成药等),可采用基因芯片或蛋白质芯片等“组学”获取生物标志物群,用于药物质量评价。中药质量研究和质量标准的建立是一个复杂的工程。中药质量受到产品生命周期中原料药材/饮片基原品种、栽培种植及产地生态条件、采收加工、炮制加工、运输贮藏、生产过程提取纯化制剂工艺、运输途径以及复方中各成分之间相互作用等多个因素的影响。药物生命周期中与质量有关的生物标志物是中药作用的对象——生物体内的基因、蛋白质和/或代谢物等能表征药物对机体整体调节作用的生命基本物质。而刘昌孝院士团队于 2016 年提出了中药质量标志物则是存在于中药材和中药产品 (如中药饮片、中药煎剂、中药提取物、中成药制剂) 中固有的或加工制备过程中形成的,与中药功能属性密切相关的化学物质,作为反映中药安全性和有效性的标示性物质进行质量控制^[45]。从概念上来看,二者具有本质的差别。与中药功效相关的中药质量标志物 (中药质量控制指标成分) 应该是与质量有关的生物标志物发生变化的物质基础,对与质量有关的生物标志物的发现和表征也是发现与中药功效相关的中药质量标志物的有效途

径。与质量有关的生物标志物的表达水平应与药物疗效密切相关,根据该生物标志物的表达水平与中药质量控制指标成分 (中药质量标志物) 含量的相关性,可指导药物质量标准中指标成分含量限度的确定^[46]。

5 总结与展望

生物标志物并非新生事物,在卫生保健与医疗诊断或预后中提到或监测“标志物”的历史可追溯到三千年前,大约在公元前 1500 年,在《艾德温·史密斯纸草文稿》一书中,就有关于埃及人为了评估创伤程度而监测脉搏的医疗实践的描述,希波克拉底也将尿检视为一门“学科”。近年来,随着基因组学、蛋白质组学和代谢组学等系统生物学技术的飞速发展,关于生物标志物的基础与临床研究及成果转化已极大丰富和拓展了新药研发与生物创新技术领域,特别是组学技术与分子影像学技术的应用,使疾病 (不同分类、不同阶段、不同群体之间的差异性) 的诊疗靶点更加明确。目前关于生物标志物发现、检测及应用的论文逐年增长,医药行业越来越多的应用生物标志物作为新药研究开发的工具之一,也必将在药品全生命周期质量管理中发挥重要作用。因此,亟需规范药物生命周期内生物标志物研究和开发,为该类研究的实验设计、分析方法建立、方法验证和转移,应用背景以及数据质量管理等提供指导性的原则要求,并支持其用于优化全生命周期内药物安全性和有效性等评价方法,保障生命周期内药物或生物制品安全有效。

作者贡献: 谢媛媛为本文主要撰写者;王义明为本文提出许多修改意见;罗国安提出本文的思路并参与文章撰写及修改。

利益冲突: 所有作者均不存在利益冲突。

References

- [1] ICH. Quality Management File Compilation (ICH 质量管理文件汇编) [M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2010.
- [2] Xie YY, Zhang T, He LC, et al. Application of biomarkers in life cycle of drugs and related regulations [J]. Drug Stand Chin (中国药品标准), 2020, 21: 5-13.
- [3] Wu JR. Three critical factors on drug research and development [J]. Science (科学), 2019, 71: 27-29.
- [4] Liu DD, Han L, Yu JP, et al. Research progress on biomarkers related to the efficacy and prognosis of tumor immunotherapy [J]. Chin J Cancer Biother (中国肿瘤生物治疗杂志), 2019, 26: 1148-1155.
- [5] Sandip SK, Vaishali RS, Manjusha N, et al. Review on biomarkers: tools for diagnosis of a disease and drug development [J]. Indo Am J Pharm Res, 2019, 9: 3010-3019.

- [6] Planchard D, Giroux LE. Biomarkers and targeted therapies in non-small cell lung cancer: present and future treatments [J]. *Rev Pneumol Clin*, 2011, 67: S36-S40.
- [7] Khanal N, Ganti AK. Emerging targeted therapies in non-small cell lung cancer [J]. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2016, 16: 177-187.
- [8] Krishna R, Herman G, Wagner JA. Accelerating drug development using biomarkers: a case study with sitagliptin, a novel DPP4 inhibitor for type 2 diabetes [J]. *AAPS J*, 2008, 10: 401-409.
- [9] Sheila ET, Gary MC, Janet ED, et al. A perspective on challenges and issues in biomarkers development and drug and biomarker codevelopment [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2019, 101: 1453-1463.
- [10] Luo GA, Wang YM, Fang XM, et al. Research strategy and practice from clinical reality, targeting at signaling pathways for the innovative compound drug—the sixth discussion on the proposal of holistic systems medicine [J]. *World Sci Technol Mod Tradit Chin Med Mater Med (世界科学技术—中医药现代化)*, 2018, 20: 1047-1068.
- [11] Luo GA, Lian QL, Liu QF, et al. Prospect on the composite drugs innovation system [J]. *World Sci Technol Mod Tradit Chin Med Mater Med (世界科学技术—中医药现代化)*, 2009, 11: 3-10.
- [12] Ellen LB. Systems biology in drug discovery and development [J]. *Drug Discov Today*, 2014, 19: 113-125.
- [13] Brijesh SY, Vijay T. Recent advances in the system biology-based target identification and drug discovery [J]. *Curr Top Med Chem*, 2018, 18: 1737-1744.
- [14] Tan XQ, Xiong JC, Zhu TF, et al. Development of drug design in China: 40 years of achievements [J]. *Sci Sin Vitae (中国科学: 生命科学)*, 2019, 49: 1375-1394.
- [15] Jiang Y, Li J, Tu PF. Research approaches on discovery R&D of innovative drug of chinese materia medica under new situations [J]. *World Sci Technol Mod Tradit Chin Med Mater Med (世界科学技术—中医药现代化)*, 2017, 19: 892-899.
- [16] Li YG, Li Y, Cui LL, et al. Modern application and thinking of traditional Chinese medicine disease and syndrome combined with animal model [J]. *Chin Tradit Herb Drugs (中草药)*, 2019, 50: 3971-3978.
- [17] Li SH, Li SN, Zhou F, et al. Thought on study of animal models of traditional Chinese medicine syndromes [J]. *Chin J Tradit Chin Med Pharm (中华中医药杂志)*, 2019, 34: 3357-3361.
- [18] Huang ZQ, Fan XM, Wang YM, et al. A new method to evaluate the dose-effect relationship of a TCM formula Gegen Qinlian decoction: "focus" mode of integrated biomarkers [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2017, 38: 1141-1149.
- [19] Luo GA, Xie YY, Wang YM, et al. Precision medicine and modernization research on traditional Chinese medicine — the fifth discussion on the proposal of holistic systems medicine [J]. *World Sci Technol Mod Tradit Chin Med Mater Med (世界科学技术—中医药现代化)*, 2017, 19: 19-29.
- [20] Zhou YY, Zhao HY, Wang HJ, et al. The correlation between of "Shanghuo" (upper fever) and biomarkers [J]. *J Zhejiang Chin Med Univ (浙江中医药大学学报)*, 2019, 43: 97-102, 110.
- [21] Emens LA. Breast cancer immunotherapy: facts and hopes [J]. *Clin Cancer Res*, 2018, 24: 511-520.
- [22] Patel SP, Kurzrock R. PD-L1 expression as a predictive biomarker in cancer immunotherapy [J]. *Mol Cancer Ther*, 2015, 14: 847-856.
- [23] Jiang YB, Lo AWI, Wong A, et al. Prognostic significance of tumor-infiltrating immune cells and PD-L1 expression in esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Oncotarget*, 2017, 8: 30175-30189.
- [24] Chen HJ, Wang SQ. Breast cancer immunotherapy: biomarkers, drugs and vaccines [J]. *Chin J Biochem Mol Biol (中国生物化学与分子生物学报)*, 2019, 35: 1080-1085.
- [25] Goodsaid F. The Path from Biomarker Discovery to Regulatory Qualification (生物标志物: 从研发到审评鉴定之路径) [M]. Beijing: Science Press, 2016.
- [26] Luo GA, Wang YM. Exploration on Holistic Systemic Medicine (整体系统医药学探索) [M]. Beijing: Science Press, 2020.
- [27] Kewal KJ. The Handbook of Biomarkers (生物标志物手册) [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2015.
- [28] Lin Z, Zhou XB, Lv JJ, et al. Research progress on biomarker validation in drug safety evaluation [J]. *Drug Eval Res (药物评价研究)*, 2016, 39: 1070-1074.
- [29] Dieterle F, Sistare F, Goodsaid F, et al. Renal biomarkers qualification submission: a dialog between the FDA-EMA and predictive safety testing consortium [J]. *Nat Biotechnol*, 2010, 28: 455-462.
- [30] Dieterle F, Perentes E, Cordier A, et al. Urinary clusterin, cystatin C, β 2-microglobulin and total protein as markers to detect drug-induced kidney injury [J]. *Nat Biotechnol*, 2010, 28: 463-469.
- [31] Ennulat D, Adler S. Recent successes in the identification, development, and qualification of translational biomarkers: the next generation of kidney injury biomarkers [J]. *Toxicol Pathol*, 2015, 43: 62-69.
- [32] Fuchs TC, Hewitt P. Biomarkers for drug-induced renal damage and nephrotoxicity: an overview for applied toxicology [J]. *AAPS J*, 2011, 13: 615-631.
- [33] Newby LK, Rodriguez I, Finkle J, et al. Troponin measurements during drug development—considerations for monitoring and management of potential cardiotoxicity: an educational collaboration among the Cardiac Safety Research Consortium, the Duke Clinical Research Institute, and the US Food and Drug Administration [J]. *Am Heart J*, 2011, 162: 64-73.
- [34] Thomas LJ, Bell D, Sordella R, et al. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib [J]. *N Engl J Med*, 2004, 350: 2129-2139.
- [35] Lavertu A, McInnes G, Daneshjou R, et al. Pharmacogenomics and big genomic data: from lab to clinic and back again [J]. *Hum*

- Mol Genet, 2018, 27: R72-R78.
- [36] Henderson LM, Robinson RF, RAY L, et al. VKORC1 and Novel CYP2C9 variation predict warfarin response in Alaska native and American Indian people [J]. Clin Transl Sci, 2019, 12: 312-320.
- [37] Vazquez SR. Drug-drug interactions in an era of multiple anticoagulants: a focus on clinically relevant drug interactions [J]. Blood, 2018, 132: 2230-2239.
- [38] Benincasa G, Costa D, Infante T, et al. Interplay between genetics and epigenetics in modulating the risk of venous thromboembolism: a new challenge for personalized therapy [J]. Thromb Res, 2019, 177: 145-153.
- [39] Xiong ZP, Zhu P, Huang SQ, et al. Research progress on pharmacogenetics in multidrug and toxin extrusion proteins [J]. Chin Pharmacol Bull (中国药理学通报), 2016, 32: 1639-1643.
- [40] Ebert MP, Tanzer M, Balluff B, et al. TFAP2E-DKK4 and chemoresistance in colorectal cancer [J]. N Engl J Med, 2012, 366: 44-53.
- [41] Cooper GM, Johnson JA, Langae TY, et al. A genome-wide scan for common genetic variants with a large influence on warfarin maintenance dose [J]. Blood, 2008, 112: 1022-1027.
- [42] Iorio F, Knijnenburg TA, Vis DJ, et al. A landscape of pharmacogenomic interactions in cancer [J]. Cell, 2016, 166: 740-754.
- [43] Goldstein RL, Yang SN, Taldone T, et al. Pharmacoproteomics identifies combinatorial therapy targets for diffuse large B cell lymphoma [J]. J Clin Invest, 2015, 125: 4559-4571.
- [44] Miolo G, Muraro E, Crivellari D, et al. Pharmacometabolomics study identifies circulating spermidine and tryptophan as potential biomarkers associated with the complete pathological response to trastuzumab-paclitaxel neoadjuvant therapy in HER-2 positive breast cancer [J]. Oncotarget, 2016, 7: 39809-39822.
- [45] Zhang TJ, Bai G, Liu CX. The concept, core theory and research methods of Chinese medicine quality markers [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2019, 54: 187-196.
- [46] Li XJ, Huang YY, Yang Z, et al. Research strategy for quality-biomarkers of traditional Chinese medicine based on effect benchmarks [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2019, 54: 204-210.