·新药注册与审评技术·

转甲状腺素蛋白淀粉样变性疾病治疗药物非临床研究评价概述

李艾芳,光红梅,王庆利
(国家药品监督管理局药品审评中心,北京 100022)

[摘要] 转甲状腺素蛋白淀粉样变性(transthyretin amyloidosis,ATTR)疾病是由转甲状腺素蛋白(transthyretin,TTR)错误折叠导致其在组织中异常沉积引起的疾病,主要累及外周神经系统和心脏,表现为进行性加重至危及生命。目前,国外已有3个靶向TTR的治疗药物在美国和欧洲上市,其非临床药效学及毒理学研究信息对临床有效性及安全性具有重要的提示意义。本文将梳理靶向TTR治疗药物的非临床研究要点,从非临床有效性评价、非临床安全性评价两方面阐述ATTR疾病靶向TTR治疗药物的非临床研究评价关注点,为国内药物研发提供参考。

[关键词] 转甲状腺素蛋白淀粉样变性;转甲状腺素蛋白;治疗药物;非临床研究评价
[中图分类号] R95 [文献标志码] A [文章编号] 1003-3734(2021)10-0893-05

Overview of the nonclinical study and evaluation of therapeutic drugs for transthyretin amyloidosis disease

LI Ai-fang, GUANG Hong-mei, WANG Qing-li
(*Center for Drug Evaluation, National Medical Products Administration, Beijing* 100022, *China*)

[**Abstract**] Transthyretin amyloidosis (ATTR) disease is caused by abnormal folding of transthyretin (TTR) in tissues, which mainly involves the peripheral nervous system and heart, progressively aggravates to even be life-threatening. Currently, 3 TTR-targeted therapeutic drugs have been marketed in the United States and Europe. The information from these drugs' nonclinical pharmacology and toxicology studies has important implications for 3 clinical effectiveness and safety. This article summarized the key points of the nonclinical studies of these three TTR-targeted therapeutic drugs and elaborated the focus of nonclinical study and evaluation of TTR-targeted therapeutic drugs for ATTR disease from the aspects of nonclinical effectiveness and nonclinical safety to provide information for new drug development in China.

[**Key words**] transthyretin amyloidosis; transthyretin; therapeutic drugs; nonclinical study and evaluation

1 概述

转甲状腺素蛋白淀粉样变性(transthyretin amyloidosis,ATTR)疾病是由转甲状腺素蛋白(transthyretin,TTR)错误折叠导致其在组织中异常沉积引起的疾病[1-2]。TTR主要由肝细胞产生,正常生理条件下以同源四聚体形式存在于外周血中,转运甲状腺素和视黄醇(即维生素A)[3-4]。编码TTR的基因突变以及随年龄增长可导致TTR的蛋白四聚体结构不稳定,TTR单体在外周神经系统、心脏、眼、肾脏、脑膜等组织中病理聚集,形成不溶性淀粉样沉积[5-10]。

ATTR疾病具有发病率低、进行性加重、临床表现多样、临床诊断及鉴别诊断难度大等特点,确诊后生存期一般仅有2~12年,大部分患者会死于心脏受累[5,11-16]。常见临床表型为转甲状腺素蛋白淀粉样变性多发性神经病(transthyretin amyloidosis polyneuropathy,ATTR-PN)、转甲状腺素蛋白淀粉样变性心肌病(transthyretin amyloidosis cardiomyopathy,ATTR-CM)[5,11]。经基因型分析发现,*TTR*基因型与

[作者简介] 李艾芳,女,助理研究员,研究方向:药物非临床研究评价。E-mail: behealthy@163.com。
[通讯作者] 光红梅,女,主任药师,研究方向:药物非临床研究评价。联系电话:(010)85243107,E-mail: guanghm@cde.org.cn。

ATTR 疾病表型之间存在相关性;ATTR-PN 患者的 *TTR* 基因为突变型,以 *V30M* 突变为主,具有常染色体显性遗传特点;ATTR-CM 患者的 *TTR* 基因以野生型为主,其次为 *V122I* 突变型[9,12,17-19]。

目前肝移植为 ATTR 疾病的一线治疗方法,移植可以使变异的 *TTR* 减少,提高总体生存率。但是存在供体短缺、手术风险、急性排斥反应、需长期使用免疫抑制剂、受患者病情限制等影响。近 10 年,全球有 3 个治疗药物在欧洲、美国等国家或地区上市,作用机制为稳定 TTR 结构或减少 TTR 产生。

2 治疗药物非临床研究要点

2.1 tafamidis

2011 年欧洲 EMA 批准了全球首个靶向 TTR 的治疗药物氯苯唑酸(tafamidis)上市,商品名为氯苯唑酸葡胺软胶囊(Vyndaqel®),用于缓解具有Ⅰ期症状性多发神经病的 ATTR 患者(即 ATTR-PN)的外周功能损害[20]。该产品是由 FoldRx Pharmaceuticals, Inc. 与辉瑞公司联合开发的 TTR 稳定剂,通过与 TTR 的甲状腺素结合位点结合,稳定野生型及突变型 TTR 的四聚体结构,减缓其解离成单体。2019 年美国 FDA 批准了 tafamidis 新适应证,用于治疗野生型或遗传性 TTR 介导的 ATTR-CM[21]。截至 2020 年 2 月,tafamidis 已在欧洲、美国、日本、韩国、巴西、中国等国家或地区上市。

2.1.1 有效性[22-23] 在体外试验中考察了氯苯唑酸的作用机制,包括氯苯唑酸与 TTR 的甲状腺素结合位点的结合活性、氯苯唑酸在生理条件(生理盐水、血浆)及非生理条件(酸性、高浓度尿素)下对 TTR 蛋白野生型及突变型的四聚体结构稳定性的影响。由于缺乏评估 TTR 稳定剂的相关动物模型,未开展体内有效性研究。

2.1.2 安全性[22-23] ① 基于以下因素采用大鼠、犬、兔开展毒理学实验:人与大鼠、犬、兔的 *TTR* 序列一致性介于 82% ~84%,以上所有种属的 TTR 蛋白的关键部位(指中央通道及通道中参与甲状腺素结合部位)的氨基酸具有 100% 的同源性,人与大鼠间的 TTR 与甲状腺素的解离常数相似。② 开展了以下毒理学实验:安全药理学实验(评价了对 hERG 钾离子通道、犬心血管及呼吸系统功能、大鼠中枢神经系统功能的影响),犬单次给药毒性实验,大鼠、犬重复给药毒性实验(最长给药周期分别达 26 和 39 周),标准组合的遗传毒性实验,大鼠及兔生殖毒性实验,大鼠及转基因小鼠致癌性实验,小鼠 T 细胞依赖性抗体应答的免疫毒性实验,有色大鼠光毒性实验,2 种杂质的遗传毒性实验。③ 非临床研究中发现的 tafamidis 毒性靶器官包括肝脏(肝细胞肥大、坏死)、肾脏(肾小管蛋白沉着)、胃肠道(胃肠道充血、腺胃黏膜坏死)、免疫系统(胸腺、脾脏、淋巴结淋巴细胞耗竭);tafamidis 具有生殖毒性,表现为胚胎死亡、眼部畸形、骨骼变异、子代发育受损等。

2.1.3 药动学研究[22-23] 开展了氯苯唑酸的 Caco-2 单层细胞渗透性实验,大鼠及犬吸收实验(包括不同胶囊处方的犬吸收对比实验),人、大鼠、犬血浆蛋白结合实验,大鼠红细胞分布、组织分布、排泄实验,大鼠胎盘、乳汁转移实验,小鼠、大鼠、兔、犬体内代谢及体外肝微粒体代谢实验,参与氯苯唑酸葡萄糖醛酸化代谢的 UGT 同工酶亚型鉴定实验,以及对 CYP 酶、UGT 酶、转运体影响的体外药物相互作用实验。

2.2 inotersen

2018 年 FDA,EMA 批准了反义寡核苷酸(antisense oligonucleotide,ASO)药物 inotersen 上市,用于治疗 ATTR-PN,商品名为 Tegsedi[24]。inotersen 是 Ionis Pharmaceuticals, Inc 公司研发的一种针对 TTR 信使 RNA(mRNA)的皮下给药 ASO 药物,由 20 个碱基组成,按照碱基互补配对原则与人野生型及突变型 *TTR* 的 mRNA 的 3' 端非翻译区的保守序列结合,诱导 mRNA 降解,降低肝细胞合成 TTR。

2.2.1 动物种属选择[25] 根据 inotersen 与人及各动物种属 TTR mRNA 的结合活性判断,食蟹猴与人是药理活性相关动物,小鼠、大鼠、兔为不相关动物。研究者采用食蟹猴、转基因小鼠考察有效性,采用食蟹猴、小鼠、大鼠、兔考察安全性。

2.2.2 有效性[25] ① 考察了 inotersen 的作用机制,包括采用人肝细胞系、食蟹猴离体肝细胞、表达人 *TTR* 的转基因小鼠离体肝细胞考察 inotersen 对 TTR mRNA 的降低作用,采用食蟹猴、人 *TTR Ile84Ser* 转基因小鼠考察 inotersen 对体内肝脏 TTR mRNA、血浆 TTR 水平的降低作用。② 靶点特异性方面,inotersen 为单链核苷酸序列,具有与其他 mRNA 序列结合并干扰其活性的风险,因此在有效性研究中评估了 inotersen 对 mRNAs 的脱靶毒性。具体方法如下:通过检索人类转录基因组数据库、人体组织样本数据库,筛选出与 inotersen 具有≤3 个碱基对错配且≥10 个连续碱基对匹配的 mRNA 序列 16 个,进一步根据 mRNA 在人体正常组织、肝脏(inotersen 发挥

反义药理活性的靶器官)中的表达情况筛选出可能具有反义活性的 mRNA 序列 9 个,最后采用人肝细胞系(HepG2)及人类神经母细胞瘤细胞株(SH-SY5Y)考察 inotersen 对 TTR mRNA 及以上 9 个 mRNA 的影响,结果除 TTR mRNA 外,未见反义活性。

2.2.3 安全性[25] ① 开展了以下毒理学实验:安全药理学实验(评价了对 hERG 钾离子通道、食蟹猴心血管及呼吸系统功能、小鼠中枢神经系统功能的影响),小鼠、大鼠、食蟹猴重复给药毒性试验(最长给药周期分别达 26,26,39 周),标准组合的遗传毒性实验,小鼠及兔生殖毒性实验,转基因小鼠致癌性实验。FDA 要求企业上市后继续完成大鼠 2 年致癌性实验。食蟹猴、兔试验的受试物为 inotersen,小鼠、大鼠试验的受试物包括 inotersen 及具有药理活性的鼠源替代分子。毒性实验中除了常规检测指标外,还考察了药效学指标(肝脏 mRNA)、与 TTR 生理功能相关的指标(甲状腺素、促甲状腺素、视黄醇结合蛋白 4)、免疫原性(抗药抗体 ADA)、免疫毒性(免疫球蛋白、补体、补体分裂产物 Bb、免疫细胞亚型、细胞因子、趋化因子)、肝脏及肾脏药物分布等。② 非临床研究中发现的 inotersen 毒性靶器官包括肝脏(肝细胞坏死)、肾脏(肾小球细胞数及肾小球基质增加,肾脏近端小管变性/再生)、骨骼(骨小梁增加)、胸腺(髓质增生,皮质淋巴细胞耗竭)、雌性生殖系统(卵巢间质细胞肥大/增生,子宫内膜厚度增加),还可致血小板降低、多个组织器官炎症反应及血管周围炎症,可见与 ASO 有关的嗜碱性颗粒在多个组织脏器蓄积(如肝、肾、淋巴结、注射部位等),与作用机制相关的视黄醇结合蛋白 4 降低,与兔母体毒性相关的早产和胎仔重量降低。③ 追加毒性实验:针对食蟹猴血小板降低,追加检测了抗血小板抗体、抗血小板因子 4(PF4)抗体,未得到二者变化与血小板降低之间的明确相关性数据。此外在体外考察了 inotersen 对人血小板的直接激活作用,未见活化血小板作用。广泛的多器官炎症反应提示 inotersen 可能对免疫功能存在影响,除了在动物毒性实验中伴随考察了免疫原性及免疫毒性指标外,还单独开展了一项对小鼠流感宿主抵抗模型的影响研究,考察受试物是否具有免疫抑制或免疫毒性。

2.2.4 药动学研究[25] 开展了 inotersen 的小鼠吸收、肝肾分布、尿液排泄实验,体外血浆蛋白结合实验,动物及人体代谢产物鉴定实验,对转运体及 CYP 酶的影响实验;在关键毒理学实验中伴随考察了 inotersen 在小鼠、大鼠、兔、食蟹猴体内的药动学特征。此外,还开展了 ^{3}H-inotersen 的大鼠吸收、分布、代谢、排泄及物质平衡实验。

2.3 patisiran

2018 年 FDA 和 EMA 批准了小干扰 RNA(small interfering RNA,siRNA)药物 patisiran 上市,用于治疗 ATTR-PN,商品名为 Onpattro®[26]。patisiran 是 Alnylam Pharmaceuticals, Inc. 公司研发的靶向 TTR mRNA 的静脉输注 siRNA 药物,所含的 siRNA 为双链 RNA 结构,可与人野生型及突变型 *TTR* 的 mRNA 的 3' 端非翻译区的保守序列结合,诱导 mRNA 降解,降低肝细胞合成 TTR。patisiran 制剂为脂质体形式,通过包裹 siRNA 的脂质纳米颗粒(lipid nanoparticle,LNP)与载脂蛋白 E、肝细胞 LDL 受体的相互作用达到向肝脏靶向递送药物的目的。

2.3.1 动物种属选择[27-28] 根据 siRNA 与人及各动物种属 TTR mRNA 的结合活性判断,食蟹猴与人是药理作用相关动物,大鼠、兔为不相关动物。研究者采用相关动物食蟹猴、转基因小鼠考察有效性,采用食蟹猴、大鼠、兔考察安全性。

2.3.2 有效性[27-28] ① 考察了 patisiran 的作用机制,包括采用人肝细胞系考察 siRNA 对 *TTR* mRNA 的沉默作用,采用食蟹猴、人 *TTR V30M* 转基因小鼠考察 patisiran 对肝脏 *TTR* mRNA、血清 TTR 的降低作用。② 靶点特异性方面,在体外人肝细胞系中评价了 siRNA 与 *TTR* mRNA 及其他转录序列的结合活性,结果显示,siRNA 对其他转录序列的结合活性低于其与 *TTR* mRNA 结合活性的万分之一。③ 放射性核素标记受试物[^{14}C]patisiran 在大鼠体内的分布研究显示约 90% 的放射性分布于肝脏,为 patisiran 脂质体靶向肝脏递药提供了支持性数据。

2.3.3 安全性[27-28] ① 开展了如下毒理学实验:安全药理学实验(评价 patisiran 对食蟹猴中枢神经系统、心血管系统、呼吸系统功能的影响,评价 LNP 对 hERG 钾离子通道电流的影响),食蟹猴单次给药毒性实验(受试物为 siRNA),大鼠、食蟹猴重复给药毒性实验(最长给药周期分别为 26 和 39 周),标准组合的遗传毒性实验,大鼠、兔生殖毒性实验,转基因小鼠致癌性实验,体外溶血性实验。此外,在单独的免疫原性实验中考察了 patisiran 对小鼠免疫刺激的诱导潜力、siRNA 对人外周血单核细胞(PBMC)分泌细胞因子及趋化因子的诱导潜力。食蟹猴、兔、小鼠实验受试物为 patisiran,大鼠实验受试物包括

patisiran 及具有药理活性的鼠源替代分子。由于大鼠体内可产生针对 patisiran 制剂中辅料成分的抗聚乙二醇(PEG)抗体,该抗体可导致药物暴露量降低,FDA 豁免了大鼠 2 年致癌性实验。毒性实验中除了常规检测指标外,还考察了药效学指标(血清 TTR)、与 TTR 生理功能相关的指标(甲状腺激素、维生素 A、视黄醇结合蛋白)、免疫毒性(补体、细胞因子)、精子参数等。此外,针对 patisiran 制剂中的 2 种新型辅料,毒理试验中伴随检测了辅料的系统暴露情况,考察了辅料的体外遗传毒性。② 非临床研究中发现的 patisiran 毒性靶器官包括肝脏(肝细胞坏死/空泡化、炎性细胞浸润、色素沉积、髓外造血)、脾脏(萎缩、细胞减少、髓外造血)、免疫系统(脾脏淋巴细胞耗竭、淋巴结坏死)、肾上腺(皮质肥大)、雄性生殖系统(睾丸生精上皮变性、萎缩,附睾精子减少或缺失)、给药部位(血管刺激性),还可致心率升高、血小板降低及凝血时间延长,诱导小鼠体内细胞因子分泌增加,作用机制相关的甲状腺激素、维生素 A、视黄醇结合蛋白降低等。

2.3.4 药动学[27-28] 开展了大鼠给予 patisiran 后 siRNA 的吸收、代谢、排泄、物质平衡实验,食蟹猴给予 patisiran 后 siRNA 的吸收实验,patisiran 的血浆蛋白结合实验、对 CYP 酶的影响实验,siRNA 的体外代谢、对 CYP 酶及转运体的影响实验,[^{14}C]patisiran 的大鼠分布实验。此外,还考察了制剂中 2 种新型辅料在动物体内的吸收、代谢、排泄特征,评估了新辅料对 CYP 酶及转运体的影响。

3 靶向 TTR 治疗药物非临床研究评价关注点

3.1 有效性评价

3.1.1 研究内容 非临床有效性研究是评价候选药物对拟定适应证有效性的重要工具,通常包括作用机制研究及体内疗效评价。对于 ATTR 疾病,目前缺乏可模拟人体病理的动物模型,临床疗效方面重点关注的外周神经病变及心功能的改善类指标具有强烈的患者主观感受特点,难以用非临床方法在动物上评价。基于以上原因,靶向 TTR 治疗药物的非临床药效学研究以考察作用机制为主,如靶点结合特性、对 TTR 蛋白四聚体结构的影响、对肝脏 TTR 合成的影响、对血清 TTR 水平的影响等,结合临床数据综合评估针对适应证的有效性。非临床方面还需关注受试物对靶点的特异性,比如,考察靶向 TTR 药物对其他蛋白、酶、受体、离子通道等的结合活性,考察靶向 mRNA 药物与其他转录序列的结合活性等。

3.1.2 动物种属 体内作用机制研究的动物种属选择一般参考靶点序列的一致性、与靶点的亲和力等数据。如,对于靶向 *TTR* mRNA 的核苷酸类药物(inotersen,patisiran),依据受试物与人及各动物种属的 TTR mRNA 的结合特性判断,食蟹猴为相关动物。为评估对突变型 *TTR* mRNA 的作用,可选择转染有人 *TTR* 突变型基因的转基因动物开展实验[25,27]。

3.2 安全性评价

3.2.1 受试物 毒理学实验应采用能代表临床实验样品或拟上市产品的受试物给药。使用与人不相关的动物开展实验时,建议同时给予受试物及在该动物种属体内具有药理活性的替代分子,有助于区分作用机制相关毒性与脱靶毒性。

3.2.2 动物种属 化学药物一般基于药理活性、药动学特征等因素选择与人相关的动物种属开展毒理学实验;核苷酸类药物在药理作用方式上与生物大分子接近,除了选择与人具有相似药理活性的食蟹猴外,还可适当参考 ICH S6 的要求选择转基因动物或采用替代分子开展第 2 种动物的毒理学实验[28]。此外,inotersen 和 patisiran 在非临床安全性评价中还采用非相关动物(如小鼠、大鼠)开展了毒理学研究,二者在啮齿类动物体内无药理学活性。从毒性表现来看,inotersen 与具有药理活性的鼠源替代分子在小鼠体内的毒性特征相似(主要毒性表现为广泛的多脏器嗜碱性颗粒蓄积及炎症反应、血小板降低、肝脏、肾脏、骨骼、卵巢、子宫毒性等),小鼠可见在食蟹猴体内未出现的毒性(如肝脏、骨骼、卵巢、子宫毒性等);patisiran 在大鼠体内可见食蟹猴体内未出现的毒性,如血小板降低、睾丸及附睾毒性等。以上信息提示,不相关动物在考察受试物的脱靶毒性方面具有一定价值。

3.2.3 研究内容 安全性研究项目需参考 ICH M3[29]及 ICH S 系列指导原则的要求,若计划免除某项研究需要有充分的科学依据支持。毒理学实验中除常规检测指标外,还需关注是否具有同类药物已知毒性,比如已上市靶向 TTR 药物的肝脏、肾脏、免疫系统、血小板降低等系统毒性以及与作用机制相关的甲状腺素、维生素 A、视黄醇结合蛋白降低。针对与临床不良反应相关的动物毒性表现,可在非临床研究中追加开展毒性机制研究。在实验操作允许且不影响实验结果可靠性的前提下,可在相关动物种属的毒理实验中伴随考察药效学、药动学特征,

可减少动物使用并为毒性机制分析提供更多信息，比如，ASO 药物食蟹猴毒性实验中的组织分布数据提示多个器官的嗜碱性颗粒增多与药物蓄积有关[30]。

4 结语

已上市 ATTR 治疗药物的非临床/临床研究信息表明，通过稳定 TTR 或降低 TTR 水平可延缓 ATTR 疾病进展。尽管转甲状腺素淀粉样变性的病理诊断工具已在临床上广泛应用，如对活检组织的刚果红染色、免疫组化分析、质谱分析等[5,11]，但是由于缺乏 ATTR 疾病动物模型，目前非临床有效性研究无法从病理层面考察候选药物的疗效。可以预见，在非临床基础研究中开发能够模拟人体 ATTR 疾病病理的动物模型，比如具有转甲状腺素蛋白病理沉积的转基因灵长类动物，将会提高在药物研发早期预测候选药物有效性的把握，并促进靶向降解淀粉样蛋白沉积药物的研发。非临床安全性评价为保护临床试验受试者及药物上市后使用人群提供了重要的信息，比如可提供无法在临床试验中考察的遗传毒性、生殖毒性及致癌性信息。将动物毒性信息与有限的人体安全性信息对比发现，TTR 靶向治疗药物在非人灵长类动物体内表现出的毒性特征可部分在人体上重现，包括血小板降低、免疫毒性、肾毒性、肝毒性等，对人体安全性具有重要的提示作用。目前上市药物主要是稳定循环中 TTR 蛋白结构或降低新的 TTR 生成，可能影响 TTR 的生理功能，可在非临床研究中设计相应的检测指标，这些数据将对作用机制及临床安全性风险评估具有重要提示价值。

[参 考 文 献]

[1] SARAIVA MJ, BIRKEN S, COSTA PP, *et al*. Amyloid fibril protein in familial amyloidotic polyneuropathy, Portuguese type. Definition of molecular abnormality in transthyretin (prealbumin) [J]. *J Clin Invest*, 1984, 74(1): 104 - 119.

[2] SEKIJIMA Y, KELLY JW, IKEDA S. Pathogenesis and therapeutic strategies to ameliorate the transthyretin amyloidoses[J]. *Curr Pharmaceut Design*, 2008, 14: 3219 - 3230.

[3] MONACO HL, RIZZI M, CODA A. Structure of a complex of two plasma proteins: transthyretin and retinolbinding protein[J]. *Science*, 1995, 268: 1039 - 1041.

[4] NAYLOR HM, NEWCOMER ME. The structure of human retinol-binding protein (RBP) with its carrier protein transthyretin reveals an interaction with the carboxy terminus of RBP[J]. *Biochemistry*, 1999, 38: 2647 - 2653.

[5] ADAMS D, ANDO Y, BEIRAO JM, *et al*. Expert consensus recommendations to improve diagnosis of ATTR amyloidosis with polyneuropathy[J]. *J Neurol*, 2020, https://doi.org/10.1007/s00415-019-09688-0.

[6] CONNELLY S, CHOI S, JOHNSON SM, *et al*. Structure-based design of kinetic stabilizers that ameliorate the transthyretin amyloidoses[J]. *Curr Opinn Struct Biol*, 2010, 20: 54 - 62.

[7] KLABUNDE T, PETRASSI HM, OZA VB, *et al*. Rational design of potent human transthyretin amyloid disease inhibitors[J]. *Nat Struct Biol*, 2000, 7(4):312 - 321.

[8] JOHNSON SM, WISEMAN RL, SEKIJIMA Y, *et al*. Native state kinetic stabilization as a strategy to ameliorate protein misfolding diseases: a focus on the transthyretin amyloidoses[J]. *Acc Chem Res*, 2005, 38(12):911 - 921.

[9] CASTANO A, DRACHMAN BM, JUDGE D, *et al*. Natural history and therapy of TTR-cardiac amyloidosis: emerging disease-modifying therapies from organ transplantation to stabilizer and silencer drugs[J]. *Heart Fail Rev*, 2015, 20(2):163 - 178.

[10] ROWCZENIO DM, NOOR I, GILLMORE JD, *et al*. Online registry for mutations in hereditary amyloidosis including nomenclature recommendations[J]. *Hum Mutat*, 2014, 35: E2403 - E2412.

[11] MAURER MS, BOKHARI S, DAMY T, *et al*. Expert Consensus Recommendations for the Suspicion and Diagnosis of Transthyretin Cardiac Amyloidosis[J]. *Circ: Heart Fail*, 2019, 12(9):.

[12] WINBURN I, ISHII T, SUMIKAWA T, *et al*. Estimating the prevalence of transthyretin amyloid cardiomyopathy in a large in-hospital database in Japan[J]. *Cardiol Ther*, 2019, 8(2): 297 - 316.

[13] INES M, COELHO T, CONCEICAO I, *et al*. Epidemiology of transthyretin familial amyloid polyneuropathy in portugal: a nationwide study[J]. *Neuroepidemiology*, 2018, 51:177 - 182.

[14] KOIKE H, TANAKA F, HASHIMOTO R, *et al*. Natural history of transthyretin Val30Met familial amyloid polyneuropathy: analysis of late-onset cases from non-endemic areas[J]. *J Neurol, Neuro Psychiat*, 2012, 83(2):152 - 158.

[15] KYLE RA, SPITTELL PC, GERTZ MA, *et al*. The premortem recognition of systemic senile amyloidosis with cardiac involvement[J]. *Am J Med*, 1996, 101:395 - 400.

[16] SMITH TJ, KYLE RA, LIE JT. Clinical significance of histopathologic patterns of cardiac amyloidosis[J]. *Mayo Clinic Proceedings*, 1984, 59:547 - 555.

[17] RUBERG FL, MAURER MS, JUDGE DP, *et al*. Prospective evaluation of the morbidity and mortality of wild-type and V122I mutant transthyretin amyloid cardiomyopathy: The Transthyretin Amyloidosis Cardiac Study (TRACS) [J]. *Am Heart J*, 2012, 164(2):222 - 228.

[18] 苏宇，栾兴华，周海燕等. 转甲状腺素蛋白 V30A 突变体致家族性淀粉样变性多周围神经病(FAP)一例[C]//中华医学会第十八次全国神经病学学术会议会议，2015.

[19] 张宝全，刘铁城. 家族性淀粉样多发神经病家系 TTRGly83Arg 突变研究[D]. 中国人民解放军医学院硕士论文，2013.

[20] EMA. Vyndaqel EPAR Public Assessment Report[R]. 2011.

[21] FDA. Vyndaqel & Vyndamax US lable[S]. 2019.

[22] EMA. Vyndaqel-H-C-2294-X-0049-G EPAR-Assessment ReporAssessment Report[R]. 2019.

[23] FDA. Vyndaqel & Vyndamax (NDA 211996 & NDA 212161) non-Clinical Review[R]. 2019.

[24] FDA. Tegsedi Us lable[S]. 2018.

[25] FDA. Tegsedi (NDA 211172) non-Clinical Review[R]. 2018.

[26] FDA. Onpattro Us lable[S]. 2019.

[27] FDA Onpattro (NDA 210922) Pharmacology/Toxicology NDA Review and Evalution[R]. 2018.

[28] 毕雪，张永凯，李楠，等. 治疗家族性淀粉样多发性神经病变新药 patisiran[J]. 中国新药杂志，2020,29(4): 372 - 375.

[29] ICH S6(R1) Preclinical safety evalution of biotechnology-derived pharmaceuticals[S]. 2011.

[30] ICH M3(R2) Guidance on nonclinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorization for pharmaceuticals[S]. 2009.

[31] 余珊珊，胡晓敏，王海学，等. 治疗用单链寡核苷酸药物的非临床研究评价概述[J]. 中国新药杂志，2018,27(10):1122 - 1129.

编辑：王宇梅/接受日期：2020 - 10 - 29