·重大新药创制专项巡礼·

间接 ELISA 法测定猴血清中埃博拉病毒单克隆抗体 MBS77E 及药动学研究

相亚楠,高　尤,罗龙龙,张文鹏,庄笑梅
(军事医学研究院,北京 100850)

[摘要]　**目的:**建立食蟹猴血清中抗埃博拉病毒单克隆抗体 MBS77E 的间接酶联免疫吸附(ELISA)定量测定法,并进行食蟹猴体内药动学研究。**方法:**建立优化一种定量检测食蟹猴血清中抗埃博拉病毒单克隆抗体 MBS77E 浓度的间接 ELISA 法,并进行全面验证。4 只食蟹猴分为 2 组,每组 2 只,分别静脉推注不同剂量的 MBS77E(5 和 100 mg·kg^{-1}),不同时间点采血,分离血清,采用 ELISA 法测定 MBS77E 浓度。使用 WinNonlin 软件计算药动学参数,分析药动学特征。**结果:**该方法的线性范围为 0.098 ~ 12.5 μg·mL^{-1},板内精密度为 3.5% ~9.9%,板间精密度为 7.4% ~11.8%。食蟹猴静注 5 和 100 mg·kg^{-1}的 MBS77E 后,半衰期分别为(8.88 ±5.24)和(6.38 ±2.57) d,清除率分别为(7.55 ±1.48)和(6.22 ±0.99) mL·h^{-1}·kg^{-1},表观分布容积分别为(91.18 ±38.16)和(55.44 ±14.01) mL·kg^{-1},药时曲线下面积(AUC)分别为(631.58 ±76.75)和(16 004.13 ±2 230.73) μg·d·mL^{-1},AUC 与剂量成正比,清除率不随剂量改变而改变。**结论:**建立的间接 ELISA 法测定猴血清中 MBS77E 浓度在特异性、线性范围、精密度和稳定性等方面,满足临床前药动学研究需求,初步获得了 MBS77E 在食蟹猴中的药动学特征。本研究为 MBS77E 的临床前及临床药动学研究提供了支持。

[关键词]　抗埃博拉病毒单克隆抗体;间接酶联免疫吸附法;食蟹猴;药动学
[中图分类号] R96　　[文献标志码] A　　[文章编号] 1003 - 3734(2021)12 - 1087 - 06

Determination of MBS77E, a monoclonal antibody against Ebola virus, in monkey serum by indirect enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and the pharmacokinetic study

XIANG Ya-nan, GAO You, LUO Long-long, ZHANG Wen-peng, ZHUANG Xiao-mei
(*Academy of Military Medical Sciences*, *Beijing* 100850, *China*)

[**Abstract**]　**Objective**: To establish an indirect enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for determination of MBS77E, a novel monoclonal antibody against Ebola virus, in the serum of cynomolgus monkeys and to study its pharmacokinetics in monkeys. **Methods**: An indirect ELISA method for quantitative detection of MBS77E in cynomolgus monkey serum was developed and fully validated. Four cynomolgus monkeys were divided into two groups. Each group of monkeys were administered with MBS77E via intravenous injection at dosage of 5 or 100 mg·kg^{-1}, respectively. Blood samples were collected at different time points after administration. Serum was obtained and the concentration of MBS77E was determined using the established ELISA method. The pharmacokinetic parameters of MBS77E were analyzed using WinNonlin software. **Results**: The linear range of the method was 0.098 ~ 12.5 μg·mL^{-1}. The precision RSDs of the intra- and inter-assay were within 3.5% ~9.9% and 7.4% ~

[基金项目]　国家"重大新药创制"科技重大专项资助项目(2018ZX09711003-006)
[作者简介]　相亚楠,女,硕士,研究方向:药物代谢动力学研究。E-mail:yananxiang@126.com。
[通讯作者]　庄笑梅,女,教授,研究方向:药物代谢动力学研究。E-mail:xiaomeizhuang@163.com。

11.8%, respectively. After i. v. injection at dosage of 5 and 100 mg·kg^{-1}, the terminal $t_{1/2}$ of MBS77E was (8.88 ± 5.24) and (6.38 ± 2.57) d, CL was (7.55 ± 1.48) and (6.22 ± 0.99) mL·h^{-1}·kg^{-1}, V was (91.18 ± 38.16) and (55.44 ± 14.01) mL·kg^{-1}, AUC was (631.58 ± 76.75) and (16 004.13 ± 2 230.73) μg·d·mL^{-1}, respectively. The AUCs were proportional to the two dosages. The plasma clearances of MBS77E did not change with different dosages. **Conclusion**: An indirect ELISA method was successfully established for the determination of MBS77E in monkey serum which met the requirements of preclinical pharmacokinetic research in terms of specificity, linear range, precision and stability et al. The pharmacokinetic characteristics of MBS77E in cynomolgus monkeys were obtained. This study provided support for the preclinical and clinical pharmacokinetic studies of MBS77E.

[**Key words**] monoclonal antibody against Ebola virus; ELISA; cynomolgus monkey; pharmacokinetics

埃博拉病毒(Ebola virus, EBOV)属于丝状病毒科,是一种无节段、单股负链、线性 RNA 病毒,分子量为 4.17×10^6[1-3]。病毒粒子形态多样,可呈杆状、长丝状、分枝形、U 形和 L 形等,分枝形是其最常见的形态。埃博拉病毒可感染人类和非人灵长类动物,引起埃博拉病毒病(Ebola virus disease, EVD)。感染后表现为高热、畏寒、极度乏力、肌肉痛、头痛和咽痛,并可出现恶心、呕吐、腹痛、腹泻、黏液便或血便、皮疹等,该病致死率高达 90%,临床救治能力薄弱,潜伏期长(21 d),主要流行于中非、西非地区[4-6]。本病自 1976 年在非洲的苏丹和扎伊尔(现刚果民主共和国)首发后,主要暴发流行于中非和西非地区,危及到的国家(地区)包括乌干达、加蓬、苏丹、刚果民主共和国、科特迪瓦、利比里亚、南非、几内亚、塞内加尔、塞拉利昂和尼日利亚等。目前本病已传播至非洲大陆以外国家(地区),如美国、西班牙、英国和意大利等[7-9]。

埃博拉出血热生物安全等级为 4 级,是人类历史上最致命的病毒性疾病之一。目前,埃博拉出血热疫情已成为国际关注的突发公共卫生事件,被认为是世界上最凶猛的疾病之一[10]。因此,开发出对抗埃博拉病毒的药物至关重要。2019 年,在刚果历史上最致命的埃博拉疫情中,科学家们发现了 2 种能够显著降低病死率的药物为 mAb114 和 REGN-EB3,这一研究极大提升了人们对这一重大传染病的防控能力,因此被 *Science* 评选为 2019 年十大科学突破之一。mAb114 和 REGN-EB3 分别由 Ridgebsck 公司和 Regeneron 公司研发。mAb114 可以结合埃博拉病毒糖蛋白中受体结合区的高度保守区域,从而使得病毒逃逸突变的可能性较低。REGN-EB3 产自人源化免疫系统小鼠,由特异性针对埃博拉病毒糖蛋白 3 个不同区域的 3 种单克隆抗体药物(以下简称单抗)混合而成。该药物研发商为再生元制药公司。默克公司研发的埃博拉病毒疫苗 Ervebo 已于 2019 年 12 月 19 日由美国 FDA 批准上市,用于成人预防埃博拉病毒病,其用于治疗扎伊尔埃博拉病毒感染获美国 FDA 授予孤儿药地位,并被授予突破性疗法认证[11]。MBS77E 是由军事医学研究院研究的全人源单抗,前期小鼠染毒试实验结果显示能够全保护(数据未公开),正在进行系统的临床前药动学研究。

本研究拟优化建立一种特异的定量检测食蟹猴血清中抗埃博拉病毒单抗 MBS77E 浓度的间接 ELISA 法,经全面验证后,并进行食蟹猴体内药动学的初步研究。

材料与方法

1 药物与试剂

标准品:MBS77E 单抗(军事医学研究院,批号:190410);食蟹猴空白血清(北京协尔鑫生物资源研究所有限责任公司,批号:20190928);GP-1 蛋白抗原(军事医学研究院,批号:RN201902);二抗(羊抗人 IgG-HRP, Sera care 公司,批号:5220-0330);TMB 显色液(invitrogen 公司,批号:00-4201-56); PBS(Gibco 公司,批号:C10010500BT);脱脂奶粉封闭液(BD 公司,批号:232100)。

2 仪器

SPECTRO star^{Nano}型酶标仪(BMG LABTECH 公司);ZMX－988B 型洗板机(北京凯诺春天生物科技有限公司);0108751 型微量加样器(Eppendorf 公司);FRESCO21 型离心机(美国 Thermo 公司);821200059999 型微量振荡器(SCILOGEX 公司);BS110S 型电子天平(赛多利斯仪器系统有限公司);96 孔板(美国 Thermo 公司,规格:370241);促凝采血管(BD 公司)添加 SST Amber 高分子凝胶(批号:9136623)。

3 实验动物

食蟹猴 4 只,雌雄各半,普通级,北京协尔鑫生物资源研究所有限责任公司提供,许可证号:SCXK(京)2015-0011;年龄:3 ~ 4 岁,体重:2.5 ~ 3.5 kg,实验期间动物自由取食、饮水,食蟹猴接受的所有操作均符合本单位实验动物伦理委员会规定(IACUC-DWZX-2020-627)。

4 间接 ELISA 法建立

4.1 检测步骤 ① 包被:用包被缓冲液将 GP 抗原稀释到 1 μg·mL^{-1},于酶标板中每孔加入 100 μL 包被,4 ℃包被过夜。② 洗涤:用洗板机反复洗板 5 次,拍干。③ 封闭:每孔加入 200 μL 脱脂奶粉封闭液,37 ℃孵育 1 h。④ 洗涤:用洗板机反复洗板 5 次,拍干。⑤ 加样品:用空白食蟹猴血清稀释系列浓度(0.049,0.098,0.195,0.39,0.78,1.56,3.125,6.25,12.5,25 μg·mL^{-1})的 MBS77E 制备成标准曲线样品,同法配制 0.195,0.25 和 10 μg·mL^{-1}的 MBS77E 质控样品,每孔加入 100 μL,每个样品平行做 2 孔,37 ℃孵育 2 h。⑥ 洗涤:用洗板机洗板 5 次,拍干。⑦ 酶标抗体:用二抗稀释液按 1∶100 000 稀释 HRP 标记的羊抗人 IgG,每孔加入 100 μL,37 ℃避光孵育 1 h。⑧ 洗涤:用洗板机反复洗板 5 次,拍干。⑨ 显色:每孔加入 100 μL TMB 显色液,室温避光放置 10 min。⑩ 终止:每孔加入 100 μL 1 mol·L^{-1} H_2SO_4 终止液终止反应。⑪ 测定:酶标仪于 450 nm 波长处测定吸光度值。

4.2 数据处理 将标准曲线样品浓度值(X)与所测定的吸光值(Y)利用 SPECTRO star^{Nano} 软件的四参数法进行拟合,根据得到的四参数方程式计算待测样品的浓度。四参数拟合方程为:Y = Bottom + (Top-Bottom)/[1 + EC_{50}/X]^{Slope}。其中 Top 为拟合曲线的上端渐进线的估计值(OD 值),Bottom 为拟合曲线的下端渐进线的估计值(OD 值),Slope 为校正曲线的斜率,X 为实测浓度,EC_{50}为 50% 光吸收值所对应的样品浓度值,通过拟合最优的曲线作为校正曲线。

4.3 方法学验证 按照生物样品临床前药动学指导原则要求,进行了特异性、精密度、准确度、选择性、稀释线性、钩状效应、平行性和稳定性等全面验证。

5 药动学实验

5.1 给药方案 4 只食蟹猴用 Excel 随机数字法随机分为 2 组,每组 2 只,给药剂量为 5,100 mg·kg^{-1}。给药量按食蟹猴体重计算,静脉注射(iv),推注前用磷酸盐缓冲液(PBS)将 MBS77E 稀释至所需浓度,控制推注速度确保在 30 min 内推注完毕。

5.2 血清样品的制备 食蟹猴单次 iv,推注前以 PBS 将 MBS77E 稀释至所需浓度,适当控制推注速度。给药前采集食蟹猴空白血,并分别于给药开始后 5 min、给药结束即刻,给药开始后 1 h,2 h,4 h,8 h,24 h,3 d,5 d,7 d,10 d,14 d,21 d,28 d,35 d,42 d,49 d,56 d 和 63 d 于四肢静脉采血,采血量约 1 mL·次$^{-1}$,置于促凝离心管中。全部血样均于室温凝固 30 min 后,4 ℃,离心力为 5 100 r·min^{-1}离心 10 min 获得血清,分装后于 −40 ℃冻存,待测。

5.3 数据处理 用 WinNonlin 软件,按非房室统计矩模型计算 iv 给药后食蟹猴的主要药动学参数曲线下面积(area under curve,AUC)、清除率(clearance,CL)、表观分布容积(apparent volume of distribution,V)、消除半衰期($t_{1/2}$)和平均驻留时间(mean residence time,MRT)。采用 Microsoft EXCEL(2010)计算均值,使用 GraphPad Prism 6 作图。

结 果

1 MBS77E 在食蟹猴血清中 ELISA 法的建立与验证

1.1 标准曲线 测定浓度为 0.049,0.098,0.195,0.39,0.78,1.56,3.125,6.25,12.5 和 25 μg·mL^{-1}的 10 个标准曲线样品,0.049 和 25 μg·mL^{-1}作为锚定点,每个浓度设置复孔,结果表明 MBS77E 在 0.098 ~ 12.5 μg·mL^{-1}范围内,浓度的对数值与吸光度值(OD 值)呈 S 形曲线,详见图 1。

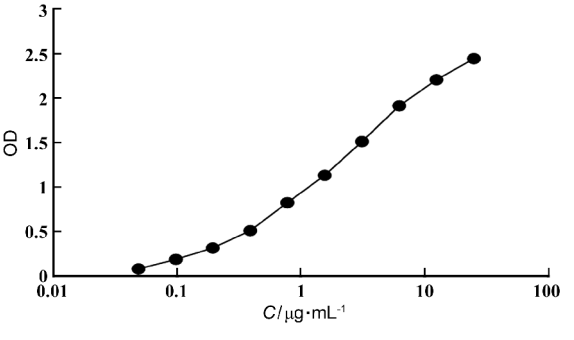


图 1 MBS77E 在食蟹猴血清中四参数拟合标准曲线

1.2 特异性 采用该 ELISA 法考察了 Human IgG 与 GP 抗原包被板的反应性,结果显示 Human IgG 与 MBS77E 不存在交叉反应,食蟹猴血清基本无本底,结果详见表 1。

表 1 MBS77E 加入不同剂量人免疫球蛋白干扰后的实测浓度 $\bar{x} \pm s, n = 5$

组别	理论浓度/μg·mL^{-1}	实测浓度/μg·mL^{-1}	偏差/%
Human IgG-10 μg·mL^{-1}(No MBS77E)	NA	NA	—
Human IgG-100 μg·mL^{-1}(No MBS77E)	NA	NA	—
Human IgG-10 μg·mL^{-1}(MBS77E-0.195 μg·mL^{-1})	0.195	0.186 ± 0.025	13.33
Human IgG-100 μg·mL^{-1}(MBS77E-0.195 μg·mL^{-1})	0.195	0.208 ± 0.027	12.98
Human IgG-10 μg·mL^{-1}(MBS77E-10 μg·mL^{-1})	10	11.92 ± 2.10	17.59
Human IgG-100 μg·mL^{-1}(MBS77E-10 μg·mL^{-1})	10	0.93	8.59

NA:低于检测下限;—:不存在

1.3 精密度和准确度 按照制备标准曲线的方法制成 0.098,0.195,0.25,10 和 12.5 μg·mL^{-1} 5 个浓度 MBS77E 的质控样品,分别为定量下限(low limit of quatitation, LLOQ)、低浓度质控(low quality control,QCL)、中浓度质控(middle quality control, QCM)、高浓度质控(high quality control, QCH)和定量上限(upper limit of quatitation, ULOQ)。按上面描述的方法同样进行测定,计算板间与板内的精密度,由同一板上的标准曲线回归方程计算出 MBS77E 的检出量。准确度范围分别为 -2.1% ~ -7.69% 和 -0.13% ~ -9.28%,板内精密度波动在 3.5% ~9.9%,板间精密度波动在 7.4% ~ 11.8%之间,均符合生物样品分析方法验证 M10 中要求,结果见表 2。

表 2 ELISA 法检测食蟹猴血清 MBS77E 的精密度及准确度

项目	板内精密度(n =5)				
	LLOQ	QCL	QCM	QCH	ULOQ
理论浓度/μg·mL^{-1}	0.098	0.195	0.25	10	12.5
实测浓度/μg·mL^{-1}	0.09 ± 0.01	0.18 ± 0.02	0.26 ± 0.02	9.79 ± 0.87	13.31 ± 1.57
准确度/%	-5.26	-7.69	4	-2.1	6.48
精密度/%	9.1	9.9	5	4.1	3.5
项目	板间精密度(n =6)				
	LLOQ	QCL	QCM	QCH	ULOQ
理论浓度/μg·mL^{-1}	0.098	0.195	0.25	10	12.5
实测浓度/μg·mL^{-1}	0.09 ± 0.01	0.18 ± 0.02	0.26 ± 0.03	9.99 ± 1.36	13.30 ± 2.43
准确度/%	-4.83	-9.28	3.2	-0.13	6.43
精密度/%	11.8	8.9	7.4	9.9	8.9

1.4 稀释线性与钩状效应(HOOK 效应) 由于 MBS77E 在食蟹猴体内药动学试验中给药剂量较大,实际血清样品浓度较高,超出了标准曲线定量范围,需要进行稀释,因此对血清样品的稀释准确度进行考察。而抗体浓度过高时可能出现抗原抗体比例不合适而导致假阴性现象,因此需要考察钩状效应[12]。用食蟹猴混合空白血清将 MBS77E 溶液分别稀释 3 个高浓度水平的样本(1 000,2 000,4 000 μg·mL^{-1})作为钩状效应样本,然后分别稀释 1 000,2 000 和 4 000 倍至 1 μg·mL^{-1}作为稀释线性样本进行验证,钩状效应样本最高浓度选择 4 000 μg·mL^{-1}是因为 4 000 μg·mL^{-1}与 MBS77E 食蟹猴高剂量给药时体内血药浓度一致。实验结果表明,稀释线性满足要求,钩状效应样本的 OD 值与标准曲线高点响应一致,该剂量下无明显的钩状效应,结果见表 3。

表 3 MBS77E 食蟹猴血清 ELISA 法的稀释线性 n =5

项目	稀释因子		
	稀释 1 000 倍	稀释 2 000 倍	稀释 4 000 倍
理论浓度/μg·mL^{-1}	1 000	2 000	4 000
实测浓度/μg·mL^{-1}	1 066 ± 133	1 802 ± 339	4 098 ± 403
准确度/%	6.62	-9.88	2.46
精密度/%	12.44	18.83	9.84

1.5 平行性 平行性考察不同的稀释倍数是否对测量结果的准确性产生影响。选取 3 个真实样本,

用空白食蟹猴混合血清将 3 个样本分别稀释不同倍数(1 000,2 000 和 5 000 倍)至标准曲线范围内。结果表明,3 个样本的 RSD 介于 12.41% ~23.72%,在最高稀释倍数 5 000 倍下,不会对样品的准确度造成影响。

1.6 选择性 准备 10 个单只食蟹猴空白血清样本,每个血清样本制备 1 个空白样本、1 个 LLOQ 样本和 1 个 QCH 样本。结果表明 10 个空白食蟹猴血清样本回算浓度均低于 LLOQ,MBS77E 抗体的 LLOQ 与 QCH 的血清样本检测的准确度分别介于 11.51% 和 13.89% 之间,满足生物样品验证指导原则 M10[14] 的要求。

1.7 稳定性 QCL 和 QCH 的样本配制即刻浓度为 C_0,常温放置 4 h,-40 ℃放置 7,14 和 28 d 及反复冻融 3 和 5 次后测定(各浓度水平 3 个样本),结果见表 4 和表 5。

表 4 MBS77E 食蟹猴血清样品短期稳定性 $n=3$

项目	配制即刻		室温放置 4 h		反复冻融 3 次		反复冻融 5 次	
	QCL	QCH	QCL	QCH	QCL	QCH	QCL	QCH
理论浓度/μg·mL^{-1}	0.195	10	0.195	10	0.195	10	0.195	10
实测浓度/μg·mL^{-1}	0.218 ±0.012	10.15 ±0.15	0.189 ±0.011	9.80 ±1.03	0.170 ±0.005	8.31 ±0.19	0.163 ±0.002	8.96 ±0.68
准确度/%	5.44	1.49	6.08	10.54	3.06	2.34	1.16	7.57

表 5 MBS77E 食蟹猴血清样品长期稳定性 $n=3$

项目	-40 ℃冻存 7 d		-40 ℃冻存 14 d		-40 ℃冻存 28 d	
	QCL	QCH	QCL	QCH	QCL	QCH
理论浓度/μg·mL^{-1}	0.195	10	0.195	10	0.195	10
实测浓度/μg·mL^{-1}	0.163 ±0.001	10.29 ±0.90	0.156 ±0.007	9.54 ±0.93	0.182 ±0.031	9.15 ±0.60
准确度/%	0.50	8.76	4.24	9.73	17.03	6.56

2 单次静注不同剂量 MBS77E 后食蟹猴体内的药动学研究

2.1 血药浓度-时间曲线 血药浓度-时间曲线见图 2。

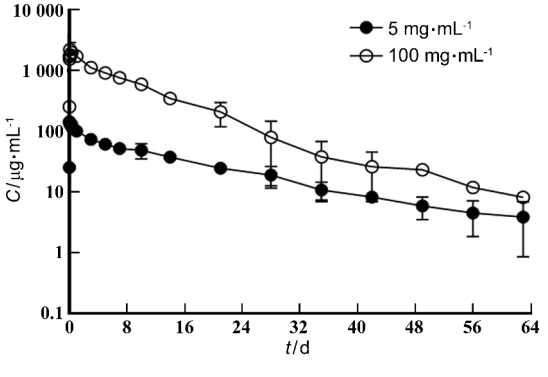


图 2 食蟹猴 *iv* 推注 MBS77E 的 2 个剂量后平均血清药物浓度-时间曲线($\bar{x} \pm s, n=2$)

2.2 药动学参数 用 WinNonlin 软件,按非房室统计矩模型计算 *iv* 给药后食蟹猴的主要药动学参数,结果见表 6。

表 6 食蟹猴 *iv* 推注 MBS77E 的 2 个剂量后主要药动学参数 $\bar{x} \pm s, n=2$

参数	5 mg·kg^{-1}	100 mg·kg^{-1}
$t_{1/2}$/d	8.88 ±5.24	6.38 ±2.57
AUC_{0-t}/μg·d·mL^{-1}	631.58 ±76.75	16 004.13 ±2 230.73
$AUC_{0-\infty}$/μg·d·mL^{-1}	674.77 ±131.50	16 296.71 ±2 579.37
V/mL·kg^{-1}	91.18 ±38.16	55.44 ±14.01
CL/mL·h^{-1}·kg^{-1}	7.55 ±1.48	6.22 ±0.99
MRT	13.94 ±5.86	9.24 ±3.56

结果提示,MBS77E 食蟹猴 *iv* 给药后,两剂量组间半衰期、清除率较为接近,两剂量间给药量比为 1∶20,体内暴露量 AUC 比为 1∶25.34,体内暴露量与给药剂量基本成线性。表观分布容积与食蟹猴血清容量一致,说明 MBS77E 主要分布在循环血液中。综合分析,在 5 ~100 mg·kg^{-1}剂量范围内,MBS77E 在食蟹猴体内的药物基本呈线性动力学消除。

讨 论

本研究建立的间接 ELISA 法的定量下限为 0.098 μg·mL^{-1},线性范围达到 125 倍以上。方法开

发时有 3 个关键点:① 洗涤缓冲液筛选了 PBS、含不同比例 Tween 20 的 PBS,结果表明洗涤缓冲液(PBST)中添加 0.05% 表面活性剂 Tween20 时洗脱能力最好。② 单一成分的封闭液无法达到完全封闭的效果,我们尝试了牛血清蛋白(BSA)、酪蛋白、脱脂奶粉等蛋白进行优化,最终选择 10% 脱脂奶粉作为封闭液,稀释液为 PBS: PBST: 酪蛋白 = 2∶1∶1。③ 方法建立后先考察特异性,确证本方法能够排除相关基质干扰,再进行精密度、准确度等考察。通过对以上关键点的优化,结果表明建立的食蟹猴血清中 MBS77E 的间接 ELISA 检测方法在特异性、准确度、精密度、稀释线性、稳定性等方面均符合生物样品分析指导原则 M10[14] 的要求,可用于食蟹猴血清 MBS77E 的定量检测。

单抗药物在体内的分布和清除过程与新生儿 Fc 受体(FcRn)密切相关[13-17],而 FcRn 与单抗的结合具有种属特异性。由于 MBS77E 是全人源化单抗,与人体的 hFcRn 特异结合而介导其组织分布和转运。在临床前研究阶段,由于物种差异,动物体内的药动学特征很难外推到临床。从动物种属来说,非人灵长类实验动物与人类的遗传物质有 75% ~ 98.5% 的同源性[18-19],是最接近人的物种,因此采用食蟹猴进行临床前药动学研究是非常有意义的。

食蟹猴静注 5 和 100 mg·kg^{-1} 的人源化单抗 MBS77E 后,体内的药动学特征显示:在 5 ~ 100 mg·kg^{-1} 给药剂量范围内,其体内药物暴露量可用 AUC 表示,与给药剂量基本成比例;清除率很低,并且不随给药剂量改变;末端消除半衰期长。以上药动学结果提示 MBS77E 作为大分子类单抗药物,在循环血液中分布较多,推测 MBS77E 在组织中分布较少,MBS77E 具体分布特征正在用放射性同位素标记法在大鼠体内进行研究(结果未公布)。

综上所述,本文建立的间接 ELISA 法测定猴血清中 MBS77E 浓度的方法满足临床前药动学研究需求,并初步获得了 MBS77E 在食蟹猴中的药动学特征。本研究为 MBS77E 的临床前及临床药动学系统研究提供了支持。

[参 考 文 献]

[1] 乔春霞, 沈倍奋, 吕明. 抗埃博拉病毒治疗性抗体研究进展[J]. 国际药学研究杂志, 2015,42(1):62 - 68.
[2] 张云辉, 王姝, 陈玉琪, 等. 埃博拉出血热研究现状及 2014 年疫情进展[J]. 传染病信息, 2014,27(4):3 - 8.
[3] 曾谷城. 埃博拉病毒研究进展[J]. 中山大学学报(医学科学版), 2015, 36(2):161 - 166.
[4] BHOWMICK S, GETHMANN J, CONRATHS FJ, *et al*. Locally temperature-driven mathematical model of West Nile virus spread in Germany[J]. *J Theore Biol*, 2020, 488: 110117.
[5] DRZEWNIOKOVÁ P, BARZON L, FRANCHIN E, *et al*. The complete genome sequence analysis of West Nile virus strains isolated in Slovakia (central Europe)[J]. *Arch Virol*, 2019, 164(1): 273 - 277.
[6] DATTA-MANNAN A. Mechanisms influencing the pharmacokinetics and disposition of monoclonal antibodies and peptides[J]. *Drug Metab Dispos*, 2019, 47(10): 1100 - 1110.
[7] 卢星, 肖鹤. 抗西尼罗病毒中和性抗体的研究进展[J]. 国际药学研究杂志, 2019, 46(8): 571 - 575.
[8] 高华晔, 李娴静, 钟书霖, 等. 单克隆抗体药物及抗体偶联药物的药代动力学研究进展[J]. 药学与临床研究, 2019, 27(3):212 - 215.
[9] 阿丽塔, 穆鑫, 唐小利, 等. 1984—2014 年治疗性生物药物发展历程及展望[J]. 中国药理学通报, 2015,31(10): 1356 - 1362.
[10] LONG MT, GIBBS EP, MELLENCAMP MW, *et al*. Safety of an attenuated West Nile virus vaccine, live Flavivirus chimera in horses[J]. *Equine Vet J*, 2007, 39(6): 486 - 490.
[11] 曹增国, 王化磊, 李岭, 等. 西尼罗病毒抗体间接 ELISA 检测方法的建立、验证及其应用[J]. 中国生物制品学杂志, 2016,29(1):70 - 74.
[12] 贾璋林, 何盛, 唐新春, 等. 因钩状效应导致 HIV 抗体检测假阴性 1 例[J]. 中国艾滋病性病, 2006(1): 60 - 62.
[13] BEIGEL JH, NORDSTROM JL, PILLEMER SR, *et al*. Safety and pharmacokinetics of single intravenous dose of MGAWN1, a novel monoclonal antibody to West Nile virus[J]. *Anti Age Chem*, 2010, 54(6): 2431 - 2436.
[14] 钟大放, 李高, 刘昌孝. 生物样品定量分析方法指导原则(草案)[J]. 药物评价研究, 2011, 34(6): 409 - 415.
[15] PICHE-NICHOLAS NM, AVERY LB, KING AC, *et al*. Changes in complementarity-determining regions significantly alter IgG binding to the neonatal Fc receptor (FcRn) and pharmacokinetics[J]. *MAbs*, 2018, 10(1): 81 - 94.
[16] NEUBER T, FRESE K, JAEHRLING J, *et al*. Characterization and screening of IgG binding to the neonatal Fc receptor[J]. *MAbs*, 2014, 6(4): 928 - 942.
[17] AVERY LB, WADE J, WANG MM, *et al*. Establishing *in vitro in vivo* correlations to screen monoclonal antibodies for physicochemical properties related to favorable human pharmacokinetics[J]. *MAbs*, 2018, 10(2): 244 - 255.
[18] 季维智, 邹如金, 商恩缘, 等. 非人灵长类在生物医学研究中的应用及其保护[J]. 动物学研究, 1996(4): 509 - 520.
[19] ZHANG XL, PANG W, HU XT, *et al*. Experimental primates and non-human primate(NHP) models of human diseases in China: current status and progress[J]. *Zoo Res*, 2014, 35(6): 447 - 464.

编辑:刘卓越/接受日期:2021 - 03 - 28