儿童药物群体药代动力学研究技术体系构建及应用

郝国祥，吴月娥，汤博皓，姚卜凡，赵　维*

（山东大学齐鲁医学院药学院临床药学系，临床药理研究所，国家药监局创新药物临床研究与评价重点实验室，山东济南 250012）

摘要：群体药代动力学已广泛应用于临床实践，成为优化个体化给药方案及新药临床评价的有效方法。该研究介绍了通过整合机会采血法、微量样本分析方法、儿童发育定量药理模型与机器学习，形成的适用于儿童的药物群体药代动力学研究技术体系，并简单介绍了这一体系应用于儿童药物研发和个体化治疗的研究实例，以期推动药物研发进程、促进儿童合理用药。

关键词：群体药代动力学；儿童人群；机会采血法；微量样本分析；机器学习

中图分类号：R985　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2022)11-1628-06

DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2022.11.017

Establishment and Application of Technical System for Population Pharmacokinetics of Pediatric Drugs

HAO Guoxiang, WU Yuee, TANG Bohao, YAO Bufan, ZHAO Wei*

(*National Medical Products Administration Key Lab. for Clinical Research and Evaluation of Innovative Drugs, Institute of Clinical Pharmacology, Dept. of Clinical Pharmacy, School of Pharmaceutical Sciences, Cheeloo College of Medicine, Shandong University, Jinan 250012*)

ABSTRACT: Population pharmacokinetics has been widely used in clinical practice, which is an effective method to optimize individualized drug delivery schemes and clinical evaluation of new drugs. This paper introduces the technical system of drug population pharmacokinetics in pediatric population based on the integration of opportunistic sampling approach, micro sample analysis, quantitative pharmacological model of child development and machine learning. The applications of this technical system to research and development of pediatric drugs and individualized treatment are briefly introduced, hoping to promote the process of drug research and development as well as the rational use of medicines in children.

Key Words: population pharmacokinetics; pediatric population; opportunistic sampling approach; micro sample analysis; machine learning

保障儿童健康成长对于全人类具有重要意义，但每年患病儿童数约占总患病人数的20%[1]。因此，儿童药物的合理使用对于维护儿童身心健康就起到了关键作用。目前儿童用药远不能满足治疗需求，常用药品说明书中儿童数据严重缺失，导致儿科超说明书用药现象普遍[2−3]，不仅药物在儿童人群中的治疗效果难以保证，不良反应风险也会增加。研究显示，儿童用药不良反应发生率是成人的2倍，新生儿更高达成人的4倍[4]。

为减少药物不良反应、提高治疗效果，获得药物在儿童人群中的药代动力学参数就十分重要。开展儿童药物临床研究是从根本上解决儿童用药短缺、推动儿童药物上市的重要举措，也是获得药物在儿童人群中数据、规范儿童用药的最有效途径[5]。

收稿日期：2022-07-28

基金项目：国家自然科学基金面上项目(82173897)、国家级一流本科专业建设点“临床药学”(2020ZG25)

作者简介：郝国祥(1984—)，女，男，博士，讲师，从事临床药学研究。

通信作者：赵　维(1982—)，男，博士，教授，从事临床药学与临床药理学研究。

E-mail：zhao4wei2@hotmail.com

然而，包括药代动力学在内的儿童药物临床研究面临其特有的伦理、操作和执行层面的困难，其复杂程序和风险远高于成人，导致儿童受试者参与度低、儿童药物研发和数据获取困难，这是全球共同面临的问题[6—7]。

传统药代动力学研究需要在一次服药后的不同时间点连续采血 8 ～ 13 次，测定血药浓度，进而计算出药代动力学参数。然而，严格按照设置的时间点频繁取血在儿童患者群体中是很难实现的，该法往往不能被患儿和家长接受。群体药代动力学（population pharmacokinetics，PPK）可以利用稀疏数据进行分析，减少了对患儿个体的采血次数和采血总量，在儿童人群的临床研究中具有重要意义，还可有效整合多个临床研究的数据，在表述药物药代动力学行为的同时获取群体典型值及其变异，并诠释和量化药物在个体间药代动力学差异的影响因素和随机效应等[8]。

如何构建儿童药物 PPK 研究技术体系，满足儿童临床研究伦理、操作与科学层面的高要求，同时减少不必要的儿童药物临床试验，保护儿童受试者的安全和权益，是当今社会亟需解决的课题。对于儿童这一特殊群体，药代动力学研究能成功开展的前提是必须要先解决血液样本的收集、微量样本药物分析以及数据分析的难题。基于此，山东大学临床药学系致力于构建儿童药物 PPK 研究技术体系，鉴于国内尚无关于该体系建立及应用的相关报道，现将相关工作进行总结，以期为在儿童人群中开展 PPK 研究提供参考。

1 技术体系的构建

1.1 机会采血法（opportunistic sampling approach）

由于伦理学及实际操作的限制，无法对儿童患者按照设定好的采样方案采集血液样本，而一些极端状态下的患者，如极低体质量早产儿，因为采血量 <3%循环血量的限制，更是难以采集到足够的血液样本，所以临床试验取样的次数、样本体积、取样时间都不能得到充分保证[9]。

PPK 可利用稀疏数据较为准确地预测患者个体的药代动力学参数。针对儿童药代动力学研究采血困难的问题，课题组提出并验证了机会采血法在新生儿药代动力学研究中的科学性和适用性。机会采血法即利用临床实验室检查的剩余血液，进行药物浓度的测定，不专门采集研究用血。研究显示其与传统采血法对药代动力学参数计算方面的影响并没有显著差别，因而建立了从实验室到床旁的样本收集标准化操作规程，显著降低了受试儿童的痛苦[10]。

使用机会采血法进行儿童群体药代动力学研究需要考虑三方面因素[10]。首先，采样的数量和时间。如果没有足够的样本和（或）仅在一个固定时间点采集所有样本（例如，谷浓度下的治疗药物监测样本），将影响 PPK 模型的质量。以具有高变异性的万古霉素为例，采用机会采血法对每位患儿平均采集 3 个样本，当研究人群达到 25 名患儿时，就具有较高的效能预估药代动力学参数。若计划进行亚组分析，则推荐纳入 50 名患儿[11]。其次，采样的质量。进行 PPK 分析的采样质量要与经典药代动力学研究相同，须详细记录所有机会样本的精确采样时间以及用药情况（包括每次给药的剂量和输注时间）。最后，药物的稳定性。使用机会采血法进行 PPK 研究时，整个临床研究的持续时间较长，药物需要能够稳定地保存在可以获得的环境中，才能保证后期药物浓度监测结果的准确性。

1.2 微量样本分析方法

为克服儿童特别是新生儿采血量少的实际困难，课题组开发了 120 种儿童常用药物的微量样本分析方法，所需生物样本体积均小于 100 μl，满足了儿童临床药代动力学研究与治疗药物监测的需要[12]。为满足不同情况下儿童样本检测的需要，开发了多组分样本检测、游离药物检测、干血纸片（dried blood spot，DBS）法等技术。

1.2.1 多组分样本检测

酪氨酸激酶抑制剂（tyrosine kinase inhibitors，TKI）类药物是在临床血液肿瘤治疗中占有重要地位的靶向药物，该类药物治疗窗窄、有效性或毒性与暴露量具有相关性、药物代谢存在较大个体差异、治疗失败会带来严重后果。传统的治疗药物监测通常以单个药物浓度分析方法为基础，而多组分

样本分析能在没有增加整个样品处理过程复杂性和延长总体分析时间的前提下，大幅增加可同时测定的 TKI 药物数量，使得大批量、同时测定应用 TKI 类药物的血液肿瘤患者血样中的药物浓度测定具有可行性。例如，课题组基于 LC-MS/MS 技术建立了同时测定血浆中 40 种 TKI 类药物浓度的多组分分析方法，并考察了方法的选择性、线性与定量下限、准确度与精密度、稳定性、基质效应与提取回收率等[13]。结果显示，血浆基质中的 40 种 TKI 类药物在各自的标准曲线范围内均有良好的线性关系，该法能够在较短的时间内，快捷、方便地测定应用不同种类 TKI 患者的体内药物浓度。

1.2.2　游离药物检测

头孢哌酮是一种高蛋白结合率药物，抗菌活性取决于其游离浓度。然而，关于头孢哌酮在儿童血浆中的蛋白质结合率的研究数据有限，使在儿科临床实践中优化头孢哌酮的抗菌治疗具有挑战性。此外，由于儿童血液样本量较小，无法使用经验证的方法测定儿童血样中的游离药物。因此，课题组开发并验证了 LC-MS/MS 方法用于测定儿童血浆中的游离头孢哌酮浓度。研究结果显示，游离头孢哌酮具有相当大的个体变异性（8.1%～48.0%），年龄和白蛋白对头孢哌酮的蛋白结合率有显著影响[14]。

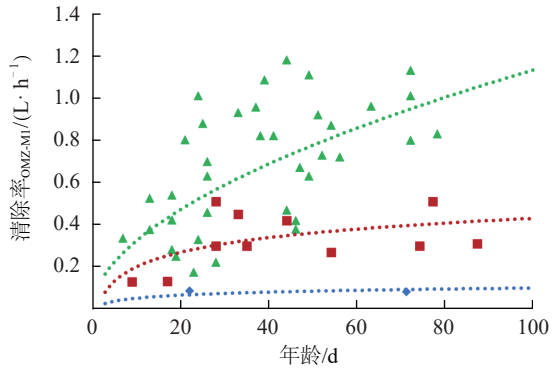
1.2.3　干血纸片法

该法具有无需静脉穿刺、所需样本量少、稳定性好、存储运输方便等优势。课题组使用 Whatman 903 样本收集纸制作硼替佐米 DBS 样本，基于 LC-MS/MS 技术，建立并验证了硼替佐米在 DBS 基质中的浓度测定方法。结果显示，在 DBS 基质中，硼替佐米在 0.2 ～ 20 ng/ml 范围内有良好的线性关系，相较于血浆样本，硼替佐米 DBS 样本在低温和室温条件下贮存时明显表现出更优的稳定性。不同的血细胞比容值对测定浓度的准确性没有显著影响。硼替佐米在临床血浆样本和 DBS 样本中的浓度测定结果并无显著差异[12]。

1.3　儿童发育定量药理模型

儿童患者的年龄、体质量、肝脏及肾脏的发育和功能等生长发育指标在儿童发育阶段往往高度相关。新生儿的年龄还需要将矫正胎龄（post menstrual age，PMA）、胎龄（gestational age，GA）等纳入考虑。要评价这些因素对药物体内过程的影响，就必须应用定量药理学模型。通过目标函数的变化评估生长发育因素对药代动力学参数的影响。建立全量回归方程，确定多重协变量之间的相关性以及协变量 - 药代动力学参数之间的定量关系。

为了建立儿童连续变化的生长发育指标与药物体内处置的影响的定量数据分析模型，课题组以奥美拉唑作为探针药物，纳入 51 名新生儿和婴儿，利用 PPK 模型定量描述了细胞色素氧化酶 P450 2C19（CYP2C19）的发育情况[15]。研究显示，药物代谢酶不同基因型具有特异的发育速率，如图 1 所示。



▲—CYP2C19 EM/UM（*1/*1,*1/*17,*17/*17）；■—CYP2C19 IM（*1/*2,*2/*17）；◆—CYP2C19 PM（*2/*2）。

OMZ-M1—奥美拉唑的代谢物 5- 羟基奥美拉唑（5-hydroxy-omeprazole）；UM—超强代谢型（ultra-rapid metabolizer）；EM—强代谢型（extensive metabolizer）；IM—中间代谢型（intermediate metabolizer）；PM—弱代谢型（poor metabolizer）；括号中的数字代表 *CYP2C19* 的基因多态性。

图 1　利用 PPK 模型定量评估 CYP2C19 发育速率[15]

Fig.1　Quantitative Evaluation of CYP2C19 Developmental Rate using PPK Model[15]

1.4　机器学习与 PPK 模型的结合

伴随着大数据时代和互联网时代的到来，机器学习的概念逐渐被人们知晓。机器学习拥有独特的优势：强大的数据处理运算能力、独特的运算机制、无需机械假设的约束等。近年来，机器学习已

成为当前大数据时代解决复杂问题的常用方法，在医学领域得到了广泛的应用，但目前对儿童药物的相关研究较少。课题组选择了 6 种主要由肾脏清除的药物（万古霉素、拉氧头孢、头孢吡肟、阿洛西林、头孢他啶和阿莫西林）作为“概念验证”药物；该研究共有来自 9 个国家的 35 个医疗机构与高校以及 3 个药品监管机构参与，并最终纳入 2 272 名患者的 5 753 条药代动力学数据 [16]。结果显示，极端随机森林回归模型是最适合的机器学习算法，与 PPK 模型相结合，上述 6 种药物超过 95% 的预测相对误差 <50%，平均相对误差比另 2 种预测方法（成熟模型和基于年龄和体质量的异速增长模型）降低 44.3% 和 71.3%。PPK 模型和机器学习相结合可提升人们对新生儿肾脏清除药物的个体清除率的预测准确性，从而提高对个体化剂量的预估能力。

2 技术体系在儿童药物研发与个体化治疗中的应用

面对儿童临床研究的困境，现在较为先进的做法是将 PPK 建模与模拟应用于儿童临床研究，在药物临床使用前进行前瞻性研究，预测儿童的最佳剂量方案。要最大程度利用已有数据，尽可能减少儿童受试者数量，通过数据外推来完善和丰富儿童用药信息、推进药物研发、指导临床用药。

2017 年和 2020 年，我国药品监管机构分别发布了《成人用药数据外推至儿科人群的技术指导原则》《真实世界证据支持儿童药物研发与审评的技术指导原则》。真实世界数据结合科学的数据外推技术与理念，可以提供新药报批和应用的药物剂量、有效性和安全性数据。PPK/ 药效学研究以及基于此的量效关系研究已成为新药研发与监管的工具和重要组成部分 [17]。因此结合真实世界数据，通过数据外推和 PPK/ 药效学的研究，将有助于提升儿童临床研究的科学性和可行性，推动儿科药物的研发进程和合理使用。

2.1 模型引导的儿童药物研发

万古霉素是治疗革兰阳性菌严重感染使用最广泛的窄谱抗菌药之一，是治疗由耐甲氧西林金黄色葡萄球菌感染导致的新生儿败血症的首选药物，但其治疗窗窄、药代动力学个体差异大。在万古霉素的新生儿败血症扩展适应证临床试验中，利用非线性混合效应模型技术（nonlinear mixed effects modeling，NONMEM）对来自 8 个国家包含 1 631 名新生儿患者的临床真实世界数据和动物体内药代动力学 - 药效学数据进行分析，豁免了新生儿剂量爬坡研究与有效性双盲对照试验。在万古霉素的临床批件中，欧洲药品管理局（European Medicines Agency，EMA）同意在外推研究的基础上，仅需进行新生儿药代动力学验证性临床试验，即可批准万古霉素的新生儿适应证和规格，大大加快了总体临床试验进程。

水合氯醛是三氯乙醛水合物，为镇静、抗惊厥类药物，已有 100 多年的应用历史，在小儿高热惊厥、颅内疾患引起的抽搐，以及 B 超、计算机断层扫描（CT）等辅助检查中应用广泛。长期以来，水合氯醛以医疗机构制剂的形式使用。当前，水合氯醛灌肠剂、水合氯醛 / 糖浆组合包装剂型先后上市，适应证为“儿童检查、操作前的镇静、催眠。监护条件下抗惊厥。”按照国家药品监督管理局药品注册批件的要求，需要在该药品上市后完成儿童群体药代动力学和安全性研究。课题组结合药物的 2 种使用场景，设计了含有 PPK 研究的临床试验方案，发挥了 PPK 有效整合临床研究数据的优势，提供了水合氯醛在儿童人群中的药代动力学数据，为合理使用提供了证据支持。

2.2 儿童药物个体化治疗

针对早发型新生儿败血症用药面临超说明书用药、国际指南不适用等问题，课题组利用真实世界数据评估阿洛西林在新生儿中的 PPK，以推荐剂量方案并在早发型新生儿败血症患儿中进行验证 [18]。研究采用两步法设计。首先，基于经验给药方案和机会采血法，建立了阿洛西林药代动力学 / 药效学模型。然后，开展了基于模型的阿洛西林给药方案的Ⅱ期临床试验，通过评估 70% 给药间隔内游离药物浓度是否高于最低抑制浓度（minimum inhibitory concentration，MIC）来判定达标情况，同时评估了该剂量方案的耐受性和安全性。研究第一阶段利用 95 名新生儿患者的 167 个阿洛西林血样浓度数据，

通过整合当前体质量和肾脏成熟情况，建立了一级消除的一室模型。在第二阶段，对 45 例新生儿患者进行了基于模型的给药方案（100 mg/kg，q8h）的药效学达标情况、耐受性和安全性分析，其中 43 例（95.6%）新生儿患者达到了药效学目标，仅有 2 例患儿发生了可能与阿洛西林相关的不良事件。

肾病综合征是儿童最常见的肾小球疾病，使用口服皮质激素治疗后可实现缓解，但极易复发。他克莫司是一种钙调神经磷酸酶抑制剂，被批准用于预防或治疗器官移植患者的排斥反应，目前也常以超说明书用药的方式治疗儿童肾病综合征。他克莫司治疗指数窄、体内药代动力学过程个体差异大，暴露不足和过量都可能产生严重后果，增加治疗失败或发生不良反应的风险[19]。课题组在肾病综合征患儿中进行了他克莫司的 PPK 研究，体质量和细胞色素氧化酶 P450-3A（*CYP3A5*）基因多态性被确定为与个体间变异性相关的显著协变量。研究显示，每次 0.10 mg/kg、1 日 2 次的标准他克莫司剂量可能导致携带 *CYP3A5*1* 等位基因的肾病综合征儿童患者他克莫司暴露不足，建议使用较高的起始剂量（每次 0.25 mg/kg，1 日 2 次）[20]。

应用该技术体系，课题组完成了阿奇霉素等 17 种抗感染药物对儿童社区获得性肺炎等 4 个适应证的个体化治疗研究[21—24]。此外，也完成了他克莫司等 2 种免疫抑制剂、达沙替尼等 3 种抗血液肿瘤药物和咖啡因等 2 种呼吸系统用药的儿童个体化治疗研究[20,25—26]。本校联合企业成立了“山东大学 - 诺道儿童中科精准用药研究中心”，合作开发了新生儿败血症和儿童急性淋巴细胞白血病个体化用药决策系统，为解决精准用药难题提出了中国方案。

3　总结

儿童药物临床研究相对成人研究存在很强的滞后性，改善这一现状面临很多挑战。通过整合机会采血法、药物微量样本分析方法、发育定量药理模型形成的儿童药物 PPK 研究技术体系，系统解决了儿童药代动力学研究开展中的伦理、采血、样本测定和数据分析等难题。将成人用药数据外推至儿科人群以及真实世界证据等理念与 PPK 模型相结合，能最大程度减少儿童药物临床试验的风险、加速新药研发进程、提升儿童合理用药水平，为儿童药物临床试验设计优化提供了新的思路。

参考文献：

[1] 周文清, 赵丹惠, 吕霁航, 等. 健康中国与中国儿童安全用药情况分析[J]. 中华骨与关节外科杂志, 2017, **10**(6): 502-504.

[2] 李丰杉, 余　勤. 儿童用药研发及儿科临床试验的国际发展和国内现状[J]. 中国新药杂志, 2020, **29**(17): 1933-1938.

[3] 李苏平. 310种常用药品的说明书中儿童用药项标注情况调查与分析[J]. 中国医院用药评价与分析, 2016, **16**(10): 1416-1419.

[4] HAO GX, YUAN XX, GUO W, *et al*. Paediatric drugs trials in China [J]. *BMJ Paediatr Open*, 2020, **4**(1): e000618.

[5] 倪韶青, 寿心怡, 俞惠民, 等. 儿科临床研究风险的特殊考量[J]. 临床儿科杂志, 2017, **35**(8): 636-640.

[6] 梁宇光, 王　谦, 丁　倩, 等. 关于加强临床试验研究者团队建设的对策探讨[J]. 中国食品药品监管, 2021, (10): 34-39.

[7] 王　威, 陈中亚, 柴旭煜, 等. 儿童药物制剂现状及开发策略分析[J]. 中国医药工业杂志, 2015, **46**(4): 412-417.

[8] 国家药品监督管理局药品审评中心. 群体药代动力学研究技术指导原则[EB/OL]. (2020-12-31)[2022-07-10]. https://www. cde. org. cn/zdyz/domesticinfopage?zdyzIdCODE=a8ad0773aa5f4055fa9a51dfcdb86a4d.

[9] BRUSSEE J M, CALVIER E A, KREKELS E H, *et al*. Children in clinical trials: towards evidence-based pediatric pharmacotherapy using pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling [J]. *Expert Rev Clin Pharmacol*, 2016, **9**(9): 1235-1244.

[10] LEROUX S, TURNER M A, GUELLEC C B, *et al*. Pharmacokinetic studies in neonates: the utility of an opportunistic sampling design [J]. *Clin Pharmacokinet*, 2015, **54**(12): 1273-1285.

[11] TANG B H, YAO B F, VAN DEN ANKER J, *et al*. Optimal sample size for use in neonatal pharmacokinetic studies [J]. *Ther Innov Regul Sci*, 2022, **56**(3): 517-522.

[12] GUO Z X, YANG F, VAN DEN ANKER J N, *et al*. A simplified method for bortezomib determination using dried blood spots in combination with liquid chromatography/

tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2021, **1181**: 122905.

[13] 郭紫璇. 基于干血纸片法与多组分分析法建立血液肿瘤药物LC-MS/MS浓度监测方法[D]. 济南: 山东大学硕士学位论文, 2022.

[14] KAN M, WU Y E, LI X, *et al*. An adapted LC-MS/MS method for the determination of free plasma concentration of cefoperazone in children: age-dependent protein binding [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2020, **1144**: 122081.

[15] ZHAO W, LEROUX S, BIRAN V, *et al*. Developmental pharmacogenetics of CYP2C19 in neonates and young infants: omeprazole as a probe drug [J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2018, **84**(5): 997-1005.

[16] TANG B H, GUAN Z, ALLEGAERT K, *et al*. Drug clearance in neonates: a combination of population pharmacokinetic modelling and machine learning approaches to improve individual prediction [J]. *Clin Pharmacokinet*, 2021, **60**(11): 1435-1448.

[17] 陈 锐, 马广立, 等. 新药研发中群体药动学/药效学研究的一般考虑[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2019, **24**(11): 1201-1220.

[18] WU Y E, WANG T, YANG H L, *et al*. Population pharmacokinetics and dosing optimization of azlocillin in neonates with early-onset sepsis: a real-world study [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2021, **76**(3): 699-709.

[19] HAO G X, SONG L L, ZHANG D F, *et al*. Off-label use of tacrolimus in children with glomerular disease: effectiveness, safety and pharmacokinetics [J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2020, **86**(2): 274-284.

[20] HAO G X, HUANG X, ZHANG D F, *et al*. Population pharmacokinetics of tacrolimus in children with nephrotic syndrome [J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2018, **84**(8): 1748-1756.

[21] LIU S, ZHENG Y, WU X, *et al*. Early target attainment of azithromycin therapy in children with lower respiratory tract infections [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2018, **73**(10): 2846-2850.

[22] HE C Y, YE P P, LIU B, *et al*. Population pharmacokinetics and dosing optimization of vancomycin in infants, children, and adolescents with augmented renal clearance [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2021, **65**(10): e0089721.

[23] WU Y E, WANG T, YANG H L, *et al*. Population pharmacokinetics and dosing optimization of azlocillin in neonates with early-onset sepsis: a real-world study [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2021, **76**(3): 699-709.

[24] DONG Q, LEROUX S, SHI H Y, *et al*. Pilot study of model-based dosage individualization of ganciclovir in neonates and young infants with congenital cytomegalovirus infection [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2018, **62**(5): e00075-e00018.

[25] YANG F, ZHANG L, ZHAO B B, e*t al*. Pharmacokinetics and safety of dasatinib in Chinese children with core-binding factor acute myeloid leukemia [J]. *Clin Pharmacokinet*, 2022, **61**(1): 71-81.

[26] GAO X B, ZHENG Y, YANG F, *et al*. Developmental population pharmacokinetics of caffeine in Chinese premature infants with apnoea of prematurity: a post-marketing study to support paediatric labelling in China [J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2021, **87**(3): 1155-1164.