

生物标志物在临床试验中的应用

王燕妮, 陈大为, 李鹏燕, 刘蓉蓉, 孟凡强*

翰博瑞强 (上海) 医药科技有限公司 上海

【摘要】 生物标志物是指能被客观测量和评价, 反映生理或病理过程, 以及对暴露或治疗干预措施产生生物学效应的指标。生物标志物已经成为新药研发的重要工具, 是临床试验中替代终点的选择、剂量-暴露量-效应分析、富集设计、分层因素、不良反应监测的重要考虑要素。自 2004 年以来, 生物标志物在药物研发中作用日益得到重视, FDA、EMA、ICH、NMPA 先后出台了相关生物标志物用于药物研发的资格认定程序和指导原则用以规范和鼓励新生物标志物的开发。生物标志物助力新药上市的实例层出不穷。本文对生物标志物的定义、分类、资格认定规范以及不同种类生物标志物在新药临床试验中应用的经典实例进行综述, 为我国创新药研发企业提供参考。

【关键词】 生物标志物; 临床试验; 新药研发

【收稿日期】 2023 年 1 月 9 日 **【出刊日期】** 2023 年 2 月 28 日 **【DOI】** 10.12208/j.ijcr.20230064

Application of biomarkers in clinical trials

*Yanni Wang, Dawei Chen, Pengyan Li, Rongrong Liu, Fanqiang Meng**

H&J CRO International, Inc, Shanghai

【Abstract】 Biomarkers are indicators that can be objectively measured and evaluated, reflect physiological or pathological processes, and have biological effects on exposure or treatment interventions. Biomarkers have become an important tool for new drug research and development, and are important considerations for the selection of alternative endpoints, dose-exposure-effect analysis, enrichment design, stratification factors, and adverse reaction monitoring in clinical trials. Since 2004, the role of biomarkers in drug research and development has been increasingly valued. FDA, EMA, ICH and NMPA have successively issued the qualification procedures and guidelines for the use of biomarkers in drug research and development to standardize and encourage the development of new and biomarkers. There are many examples of biomarkers helping new drugs to market. This article reviews the definition, classification, qualification criteria of biomarkers and the classic examples of the application of different kinds of biomarkers in clinical trials of new drugs, so as to provide reference for innovative drug research and development enterprises in China.

【Keywords】 Biomarkers, Clinical Trial, Drug Discovery

生物标志物在生态系统研究、临床医学、职业医学等领域有广泛的应用。随着基因组学、蛋白质组学和代谢组学的发展, 越来越多潜在的生物标志物被发现, 也逐渐成为新药研发中不可或缺的工具。

生物标志物作为新靶点的研究是各个治疗领域新药研发的热点, 特别是在肿瘤治疗领域。1997 年, 利妥昔单抗在美国上市, 用于治疗 CD20 阳性的非霍奇金淋巴瘤, 揭开了分子靶向治疗的序幕。1998 年, FDA

批准了曲妥珠单抗用于治疗表皮生长因子受体-2 (HER-2) 过表达的乳腺癌患者。之后, 阿仑单抗、替伊莫单抗、吉非替尼、贝伐珠单抗、索拉非尼等多个靶向药物先后上市。^[1]这些产品的研发中, 生物标志物的应用贯穿于各个周期, 提高了新药研发的成功率。伴随新药研发, 新的生物标志物的研发也取得不断进展, 例如: 临床试验篮式设计为泛癌种生物标志物的研发提供条件。三个泛癌种生物标志物神经营养因子

*通讯作者: 孟凡强

酪氨酸受体激酶 (NTRK)、微卫星不稳定高/错配修复系统缺陷 (MSI-H/DMMR)、高肿瘤突变负荷 (TMB-H) 已获得 FDA 批准。

生物标志物的研发在各国得到广泛重视。FDA、EMA、ICH 纷纷出台相关新的生物标志物资格认定程序以规范生物标志物在新药研发中的应用。我国药监部门也相继出台了一系列指导原则, 指导生物标志物在临床试验中应用的规范。国家药品监督管理局于 2019 年发布 ICH E15 和 ICH E16 适用于我国临床试验, 并于 2021 年颁布《生物标志物在抗肿瘤药物临床研发中应用的技术指导原则》^[2]进一步明确了生物标志物的定义、分类及在抗肿瘤药物研发中的应用。

本文综述了生物标志物的定义及分类, 生物标志物应用于新药研发的资格认定程序以及不同种类生物标志物在新药临床试验的应用实例, 为我国创新药研发企业提供参考。

1 生物标志物的定义、分类及国内外法规和资格认定程序

1.1 生物标志物的定义、分类

生物标志物在生态系统研究、临床医学、职业医学等领域有广泛的应用。在不同领域中, 对于生物标志物的定义有所不同。生物标志物应用于新药研发领

域, 被定义为: 指能被客观测量和评价, 反映生理或病理过程, 以及对暴露或治疗干预措施产生生物学效应的指标。^[3]生物标志物具有物质性和剂量性。^[2]

生物标志物在不同领域中的分类已有所不同。在生态研究中, 常用的生物标志物种类为糖类、脂类、木质素酚类、氨基酸和氨基糖等^[4]; 在职业医学中, 美国国家科学院 (NAS) 将生物标志物分为三类: 接触标志物、效应标志物和易感性标志物^[5]; 在临床医学中, 有文章将生物标志物分为两大类: 大分子和小分子标志物, 又将大分子标志物分为核酸类、蛋白质类、糖类、脂类和生物种群标志物。^[6]

2016 年 1 月, FDA 与美国国立卫生研究院 (NIH) 联合成立的生物标志物工作小组对外发布《生物标志物、替代终点和其他研发药物工具资源列表 (biomarkers, endpoints, and other tools resource glossary)》, 根据生物标志物在药物研究中发挥的作用, 分为易感性/风险性、诊断性、监测性、预后性、预测性、药效学/反应性、安全性七种类型^[7]。

根据我国国家药品监督管理局 2021 年颁布的《生物标志物在抗肿瘤药物临床研发中应用的技术指导原则》, 生物标志物分为六类。其定义、分类和在临床试验中的应用汇总如下表 1。

表 1 生物标志物的分类、定义和应用^[2]

分类	定义	应用
诊断性生物标志物	用于检测或确认疾病状态, 或识别不同疾病亚型的生物标志物为诊断性生物标志物	通常作为临床试验特定受试者的入选标准
预后性生物标志物	反映疾病预后特征、疾病复发或进展风险的生物标志物为预后性生物标志物。	临床试验的富集因子或分层因子
预测性生物标志物	用于预测患者对某种治疗或干预措施疗效应答情况的生物标志物为预测性生物标志物	可作为临床试验的富集因子或分层因子, 也可用于排除暴露于药物可能产生不利影响的个体。
药效学生物标志物	反映患者在接受治疗后产生生物学应答的生物标志物为药效学生物标志物	早期临床研发阶段, 药效学生物标志物常可作为有效性探索指标, 也可用于剂量-暴露量-效应分析, 有助于剂量的确认和概念验证阶段适应症的探索。
安全性生物标志物	通过用药前检测或用药过程中监测从而避免或减低患者发生严重安全性风险的生物标志物为安全性生物标志物。	可帮助识别可能发生严重不良反应的患者人群
监测性生物标志物	用于监测疾病状态变化的 (如复发等) 生物标志物为监测性生物标志物	监测疾病状态

1.2 生物标志物国内外法规和资格认定程序

2004 年美国食品药品监督管理局 (Food and Drug

Administration, FDA) 发布《创新/停滞: 新医疗产品的关键路径上的挑战与机遇》白皮书提出生物标志物

是提升新药研究开发能力的关键因素^[8], 并将发展生物标志物和生物信息学 (Biomarker and bioinformatics development) 作为 76 个可促进药物开发和审批的研究方向之一^[9]之后, 生物标志物在新药研发中的应用越来越广泛。的美国 FDA、欧盟 EMA、ICH 先后出台了一系列法规来规范和鼓励生物标志物的开发。

FDA 自 2005 年至 2016 年颁布的法规为: 《药物基因组学数据提交指导原则》(Pharmacogenomic data submissions)、临床药物基因组学: 《早期临床研究的上市前评估和标签的建议》(Clinical pharmacogenomics: premarket evaluation in early-phase clinical studies and recommendations for labeling)、《药物研发工具的鉴定方法指导原则》(Qualification process for drug development tools)、《使用组织病理学及其相关方法支持生物标志物鉴定应考虑的问题》(Considerations for use of histopathology and its associated methodologies to support biomarker qualification)。

2012 年美国建立生物标志物质量计划以支持药品评价和研究中心 (Center for Drug Evaluation and Research, CDER) 对生物标志物数据与信息提交者的监管与评估。在美国 CDER, 生物标志物可通过两种方式整合到新药开发中, 一种是将在特定药物开发项目的一定范围内使用的生物标志物整合到药物开发中, 作为新药申请审批的一部分; 另一种是通过生物标志物资格鉴定程序 (Biomarker Qualification Program, BQP)。其中前者更为常见。^[8]

2014-2016 年, EMA 颁布了《物基因组学方法进药物警戒评价的关键考虑因素指南》(Guideline on key aspects for the use of pharmacogenomic methodologies in the pharmacovigilance evaluation of medicinal products)、《药物基因组学相关的生物标志物的临床开发和患者的选择方法》(Reflection paper on methodological issues associated with pharmacogenomic biomarkers in relation to clinical development and patient selection)、《药物研发同时研发生物标志物及相应检测方法的指导意见》(Reflection paper on co-development of pharmacogenomic biomarkers and assays in the context of drug development) 以及《药物基因组学研究质量管理规范指导原则》(Guideline on good pharmacogenomic practice)。

2007-2015 年 ICH 制定的指导原则包括: 《E15: 基因组生物标志物、药物基因组学、遗传药理学、基因组数据以及样本编码分类的定义》(E15: Definitions for

genomic biomarkers, pharmacogenomics, pharmacogenetics, genomic data and sample coding categories)、《E16: 与药物或生物制品研发相关的生物标志物: 资质提交材料的背景、结构以及格式》(E16: Biomarkers related to drug or biotechnology product development: context, structure and format of qualification submissions)、《E18: 基因组采样和基因组数据管理指导原则》(E18: Genomic sampling and management of genomic data)。

在我国, 2019 年国家药品监督管理局发布《E15: 基因组生物标志物、药物基因组学、遗传药理学、基因组数据以及样本编码分类的定义》、《E16: 与药物或生物制品研发相关的生物标志物: 资质提交材料的背景、结构以及格式》适用于我国临床试验。E16 指出: “在药物或生物技术产品开发过程中的任何时候均可进行生物标志物资格认定, 包括从发现到批准后阶段。推荐的生物标志物资格认定申请应与 CTD 格式保持一致, 以便提交和审评。如果一个生物标志物已被一个监管机构认可, 那么在递交 NDA/BLA/MAA 时, 无需将认证范围内生成的生物标志物数据再次提交给监管机构进行重新审评。只需要在 NDA/BLA/MAA 或其他相关监管规程中, 为监管机构提供一份官方评估报告副本即可。^[9]”

国家药品监督管理局颁布了一系列药物临床试验指导原则, 具体内容涉及到生物标志物的应用。为进一步提高我国抗肿瘤新药研发水平, 于 2021 年国家药品监督管理局颁布的《生物标志物在抗肿瘤药物临床研发中应用的技术指导原则》中系统地给出生物标志物的定义、分类及在抗肿瘤药物临床研究中应用的具体指导, 并明确指出“鼓励申请人在早期临床试验阶段开展生物标志物的探索性研究, 不断验证并确证其价值, 充分发挥生物标志物在指导药物剂量选择、获益人群选择、替代终点应用和安全性风险控制等方面的作用。”^[2]

2 不同类型生物标志物在临床试验中的应用实例

2.1 诊断性生物标志物

诊断性生物标志物广泛应用于肿瘤的诊断和靶向治疗。其中, 人表皮生长因子受体-2 (human epidermal growth factor receptor-2, HER-2) 在乳腺癌、胃癌、非小细胞肺癌等多种肿瘤中过表达, 通过基因检测, 可以筛选出 HER-2 阳性的患者。目前, 已有多种针对 HER-2 阳性的靶向药物上市。以 HER-2 为例, 说明诊断性生物标志物在药物研发中的作用。

在乳腺癌领域, HER-2 基因扩增是影响乳腺癌生

长与转移最重要的因素之一。在大约 30%的乳腺癌中可出现 HER-2 基因过度表达, 病情进展迅速, 成为一个独特的类型。我国乳腺癌诊疗指南认为, 评估 HER-2 状态的意义在于确认适合 HER-2 靶向治疗的患者群体以及预测预后。HER-2 阳性定义: 经免疫组织化学检测, 超过 10%的细胞出现完整胞膜强着色 (3+) 和/或原位杂交检测到 HER-2 基因扩增 (单拷贝 HER-2 基因 >6 或 HER-2/CEP17 比值 >2.0)。对于诊断 HER-2 阳性乳腺癌患者, 推荐包含曲妥珠单抗的辅助或新辅助化疗^[10]。

曲妥珠单抗 (Herceptin, 赫赛汀) 于 1998 年 9 月 25 日在美国批准上市。原研药是由 Roche Pharma (Schweiz) Ltd. 研发的一种重组 DNA 人源化单克隆抗体, 通过竞争性阻断人体表皮生长因子与 HER-2 的结合抑制肿瘤细胞的生长。其适应症包括: HER-2 阳性的转移性乳腺癌、HER-2 阳性的早期乳腺癌、转移性胃癌。

2021 年 Lancet 发表了早期乳腺癌试验者协作组 (EBCTCG) 研究报告, 对 7 项随机对照试验、13864 例早期乳腺癌女性的长期获益和风险进行了荟萃分析, 研究入组为确诊 HER-2 阳性患者, 试验组都接受了曲妥珠单抗辅助治疗。平均计划疗程 14.4 个月, 中位随访 10.7 年。该研究表明, 对于早期 HER-2 阳性乳腺癌, 曲妥珠单抗+化疗与单用化疗相比, 无论患者特征和肿瘤特征如何, 乳腺癌复发率和乳腺癌死亡率均可减少三分之一。^[11]

近期, 复旦大学附属肿瘤医院的研究报告, 对 600 例 HER-2 阳性早期乳腺癌术前新辅助化疗±曲妥珠单抗患者进行回顾分析, 结果显示, 这些患者的病理完全缓解率为 39.8%。病理完全缓解与未获病理完全缓解的患者相比, 无病生存率和总生存率显著较高。分析相关因素, 雌激素受体阴性和孕激素受体阴性、HER-2 免疫组织化学评分较高、Ki-67 增殖指数评分较高、应用曲妥珠单抗, 这几个因素, 与“病理完全缓解率较高”显著相关^[12]。进一步明确了曲妥珠单抗在 HER-2 阳性乳腺癌患者治疗中的作用。

帕妥珠单抗 (Pertuzumab) 也是由 Roche Pharma (Schweiz) Ltd. 公司原研的一种重组人源化单克隆抗体。帕妥珠单抗在作用机制上与曲妥珠单抗形成互补, 两者联合应用可增强 HER-2 下游信号传导的阻断作用。CLEOPATRA 研究公布了随访 8 年的研究结果, 入组 HER-2 阳性晚期乳腺癌患者, 结果证实, 多西他赛联合曲妥珠单抗及帕妥珠单抗双靶向治疗对比多西他赛

联合曲妥珠单抗, 能够进一步改善患者的疗效。双靶联合化疗, 可使得晚期 HER-2 阳性晚期乳腺癌中位生存期延长 15.7 个月^[13]。基于 CLEOPATRA 等结果, 目前帕妥珠单抗也被推荐应用 HER-2 阳性晚期乳腺癌的一线治疗。

以 HER-2 为靶点的多种靶向药物上市, 还包括小分子靶向药物酪氨酸激酶抑制剂 (tyrosine kinase inhibitors, TKIs) 类, 如拉帕替尼等, 以及抗体-药物偶联物 (antibody-drug conjugate, ADCs) 类, trastuzumab-deruxtecan (DS-8201) 等, 在针对 HER-2 阳性肿瘤的治疗上面, 显示了良好的临床应用前景。

ADCs 是由靶向作用的单克隆抗体和具有细胞毒性作用的化学药物偶联而形成的新型抗肿瘤靶向药物。DS-8201 是由阿斯利康 (AstraZeneca) 和第一三共 (DaiichiSankyo) 联合开发的 ADC 药物, 由曲妥珠单抗和 I 型拓扑异构酶抑制剂通过可酶解的肽接头连接组成, DS-8201 能更容易地穿过细胞膜, 对肿瘤细胞有更强大的细胞毒作用。

HER-2 也是目前为止胃癌最重要的靶点, 我国 12-16%的胃癌患者是 HER-2 阳性突变型。针对 HER-2 阳性晚期胃癌患者, DESTINY-Gastric01 试验公布了 DS-8201 的研究结果。该实验入组了先前接受过至少 2 种方案 (包括曲妥珠单抗和化疗) 后病情进展的 HER-2 阳性、不可切除性或转移性胃或胃食管交界腺癌患者, 结果显示: 与化疗相比, DS-8201 组患者死亡风险降低了 41%, 在 ORR 和 OS 方面均显示出统计学上显著和临床上有意义的改善^[14]。基于 DESTINY-Gastric01 试验的数据, 美国 FDA 授予了 Enhertu (DS-8201) 治疗 HER-2 阳性胃癌的突破性药物资格 (BTD)。

2.2 预后性生物标志物

预后性生物标志物可将患者按照疾病的发生风险, 或疾病某个特定的风险级别 (如肿瘤复发或进展) 进行归类, 目前普遍应用的此类标志物, 典型代表是血清甲胎蛋白 (alpha-fetoprotein, AFP)。

AFP 是含有一条多肽链的糖蛋白, 最初在胎儿的肝脏以及卵黄囊中合成, 随后分泌到胎儿血清中, 出生后迅速下降。做为人类肿瘤相关蛋白, 其水平升高尤其易于原发性肝细胞癌 (HCC)^[15]。在 HCC 患者中, AFP 用于肿瘤的预后判断。约有 50%的晚期 HCC 患者是 AFP 高 ($\geq 400\text{ng/mL}$), 这些患者相对于一般 HCC 患者预后较差。

雷莫芦单抗 (ramucirumab) 是 Lilly 公司研发的抗血管生成药物, 该药物是一种全人源化 IgG1 单克隆抗

体, 可以靶向结合于 VEGF 受体 2 的胞外域, 通过结合血管内皮生长因子配体 (VEGF-A, -C, -D), 达到特异性阻断 VEGFR2 及下游血管生成相关通路的目的。在 REACH 研究中, 雷莫芦单抗二线治疗晚期 HCC 患者的中位 OS 为 9.2 个月, 而安慰剂组为 7.6 个月, 两组之间没有达到统计学差异。但是亚组分析中发现, 针对基线 AFP $>400\text{ng/mL}$ 患者, 雷莫芦单抗组中位 OS 为 7.8 个月, 而安慰剂组为 4.2 个月, 达到统计学显著差异, 发现 AFP 高的患者可以从雷莫芦单抗中获益^[16]。

基于这些发现, 开展了 REACH-2 研究, 比较了雷莫芦单抗和安慰剂在对索拉非尼 (sorafenib) 不耐受或使用后疾病进展的、且 AFP 高水平 ($\geq 400\text{ng/mL}$) 的肝癌患者中的疗效。结果显示, 雷莫芦单抗组的中位 OS 为 13.7 个月, 安慰剂组 8.2 个月 (HR 0.43, 95% CI 0.23-0.83), 中位 PFS 分别为 4.2 和 2.8 个月 (HR 0.33, 95% CI 0.17-0.64), 研究抵达了主要终点和次要终点。雷莫芦单抗的安全性及以前单药的毒性数据相似, 高血压和低钠血症是雷莫芦单抗常见的不良反应。REACH-2 研究是生物标志物选择群体中的第一个阳性 III 期肝细胞癌 (HCC) 试验, 晚期 HCC 患者具有高甲胎蛋白, 这是预后不良的标志^[16]。

AFP 既是预后性生物标志物也是诊断性生物标志物。AFP 可能刺激 HCC 细胞产生血管内皮生长因子 (VEGF), VEGF 可以促进肿瘤血管生成, 建立富含 VEGF 的肿瘤微环境, 有助于 HCC 的侵袭性表型^[17]。这一特点, 也可以用于试验中受试者的分层和富集患者人群。

淫羊藿素软胶囊 (曾用名阿可拉定, Icaritin), 是从中药材淫羊藿提取经酶解获得的含量在 98.0%~102.0% 的单体化合物。主要作用于肿瘤微环境, 调节多个炎症免疫相关的信号通路, 增强免疫 T 细胞功能并降低免疫抑制, 控制肿瘤细胞生长^[18]。

该药在第二十四届 CSCO 年会汇报了 HCC 的研究, 采用的是复合生物标志物及适应性富集设计。共纳入 280 例未经一线系统性治疗的晚期 HCC 患者, 随机分配至阿可拉定治疗组或华蟾素对照组。富集人群中, 90% 以上为 HBV 相关肝癌患者, 近 90% 人群高表达甲胎蛋白 (AFP $\geq 400\text{ ng/mL}$)。结果显示, 在富集人群中, 阿可拉定组中位 OS 显著优于对照组: 13.54 个月 vs. 6.87 个月 (HR=0.43, $p=0.0092$)。在疾病进展 (PD) 后继续用药且研究期间未接受 HCC 标准系统治疗的富集人群中, 阿可拉定组的中位 OS 对比对照组同样具有

显著延长: 18.97 个月 vs. 11.43 个月 (HR=0.14, $p=0.0094$)。安全性方面, 阿可拉定组也优于对照组。但该研究也存在疑问, 因为对照组华蟾素并非肝癌的一线治疗。2022 年 1 月国家药品监督管理局附条件批准淫羊藿素软胶囊上市。该药用于不适合或患者拒绝接受标准治疗, 且既往未接受过全身系统性治疗的、不可切除的肝细胞癌, 患者外周血复合标志物满足以下检测指标的至少两项: AFP $\geq 400\text{ng/mL}$; TNF- $\alpha < 2.5\text{ pg/mL}$; IFN- $\gamma \geq 7.0\text{pg/mL}$ ^[19]。后续研究仍需继续。

2.3 预测性生物标志物

预测生物标志物是用来识别那些更有可能对暴露于特定医疗产品或环境有害物质产生反应的个体。通过采用预测性生物标志物的富集研究设计, 可精准筛选出潜在获益的患者人群开展临床试验。

乳腺癌易感基因 (breast cancer gene 1, BRCA1) 和乳腺癌易感基因 2 (breast cancer gene 2, BRCA2) 均属于肿瘤抑制基因, 携带 BRCA1/2 基因突变的女性不仅乳腺癌发病风险增加, 其他如卵巢癌、输卵管癌、胰腺癌、胃肠癌及黑色素瘤等发病风险也增加。BRCA1/2 突变频率与发病年龄、肿瘤家族史以及分子分型显著相关。中国人群数据显示, BRCA1 基因突变携带者乳腺癌发生风险在 79 岁前为 37.9%, BRCA2 基因突变携带者为 36.5%^[20]。在所有乳腺癌患者中, 胚系 BRCA1/2 突变率为 5.3%; 而在散发性三阴性乳腺癌中, 胚系 BRCA1/2 突变率为 15%-20%, 较其他亚型乳腺癌高。其中, 胚系 BRCA1 突变同三阴性乳腺癌关系更为密切, 60%-80% 胚系 BRCA1 突变携带者为三阴性乳腺癌, 且发病年龄早, 具有明显家族遗传倾向, 预后较 BRCA1 体系突变乳腺癌患者差^[21]。

BRCA1/2 基因在 DNA 双链断裂的同源重组修复通路中发挥重要作用, 铂类药物是 DNA 损伤药物的一种, 可引起 DNA 交联, 导致 DNA 双链断裂, 进而引起肿瘤细胞死亡。BRCA1/2 基因突变乳腺癌患者由于同源重组修复功能缺陷, 铂类药物所致的 DNA 双链损伤则无法修复, 对铂类或多聚 (ADP-核糖) 聚合酶 [poly (ADP-ribose) polymerase, PARP] 抑制剂等致 DNA 损伤药物反应性提高。

由阿斯利康研发的 PARP 抑制剂奥拉帕尼, 能够阻止多聚 ADP 转移酶与受损的 DNA 结合, 阻断该酶对受损 DNA 的修复, 对于 BRCA 突变型癌细胞来说, DNA 更容易受损更需要依赖于多聚 ADP 转移酶对 DNA 进行修复, 因此奥拉帕尼能够更多的针对于 BRCA 突变型癌细胞, 而较少作用于正常的细胞。目

前已经发表的临床研究证实奥拉帕尼在乳腺癌治疗中的价值。一项奥拉帕尼的III期临床试验中, 纳入的研究对象为胚系 BRCA 突变的人表皮生长因子受体-2 (HER2) 阴性的转移性乳腺癌患者, 患者按照 2:1 的比例被随机分配, 接受奥拉帕尼或标准单药化疗 (卡培他滨、艾瑞布林或长春瑞滨)。结果表明奥拉帕尼组的中位无进展生存期明显长于标准治疗组 (7.0 个月 vs 4.2 个月), 奥拉帕尼治疗组的总缓解率为 59.9%, 而标准治疗组仅为 28.8%^[22]。

同时已有多项研究结果表明, 携带 BRCA1/2 基因突变的卵巢癌患者在接受 PARP 抑制剂奥拉帕尼等致 DNA 损伤药物更为敏感。一项随机、双盲、安慰剂对照的 2 期研究中, 265 名患者接受随机分组, 136 名被分配到奥拉帕尼组, 129 名被分配给安慰剂组。奥拉帕利组的无进展生存期明显长于安慰剂组 (中位值为 8.4 个月 vs. 4.8 个月; $P < 0.001$), 无进展生存率的亚组分析表明, 无论亚组如何, 奥拉帕利组患者的进展风险较低。奥拉帕尼作为维持治疗显著改善了铂敏感、复发、高级别浆液性卵巢癌患者的无进展生存率^[23]。

2.4 药效学生物标志物

药效学生物标志物是治疗后生物学应答的表现, 研究中可将多个药效学生物标志物以及药代动力学特征相结合, 为剂量选择提供重要依据, 其中比较有代表性的是布鲁顿酪氨酸激酶 (BTK)。

BTK 抑制剂是当前治疗慢性淋巴细胞白血病 (CLL) 等 B 细胞肿瘤的重要方法, 主要作用机制是通过与 BTK 靶点结合, 抑制在 B 细胞淋巴瘤发生中具有重要作用的 B 细胞受体信号通路, 从而达到治疗目的。靶点占有率是测量抑制剂与 BTK 共价结合的一种方法, BTK 占有率的检测是采用 ELISA 法对外周血单个核细胞 (PMBC) 中的 BTK 进行相对定量测定, BTK 占有率可以反应药物的作用强度, 指导剂量的选择。

阿卡替尼是全球第二个上市的 BTK 抑制剂, 一项 2 期、随机临床研究纳入 48 例复发/难治或高危初治的 CLL 患者, 调查了选择性 BTK 抑制剂阿卡替尼 100 mg 每天 2 次或 200 mg 每天 1 次给药的安全性、有效性及药效动力学。结果显示, 在阿卡替尼给药的第 1 周内及 1 周期、6 周期、12 周期之后检测 BTK 占有率, 在任意时间点上, BID 组的 BTK 占有率均显著高于 QD 组, BID 组可更强烈地抑制癌基因信号, BID 组的 ORR 达 95.8% (95% CI 78.9%-99.9%), 24 个月 PFS 为 91.5% (95% CI 70.0%-97.8%); QD 组的 ORR 为 79.2% (95%

CI 57.9%-92.9%), 24 个月 PFS 为 87.2% (95% CI 57.2%-96.7%)。可见 BTK 靶点占有率越高, ORR 越高^[24]。

此外, 在泽布替尼治疗 B 细胞恶性肿瘤的 1 期研究中, 取 30 例复发/难治性淋巴瘤患者的淋巴结活检标本, 检测泽布替尼 160mg BID 和 320mg QD 两种给药方式对 BTK 靶点的抑制, 结果显示产生完全 BTK 靶点抑制 (>95%) 的患者比例分别为 89% vs 50%, $P = 0.0342$, 所以泽布替尼推荐选用 160mg BID 给药方式^[25]。

在 BTK 抑制剂 CC-292 的临床研究中, 共有 113 名患者在 28 天周期内接受了 CC-292 的连续给药, 剂量范围为 125 mg 至 1000 mg, 每日一次, 以及 375 mg 和 500 mg, 每日两次。在第 1 周期中, 每日接受单次 CC-292 的患者大多数在给药后 4 小时观察到超过 90% 的占有率, 但是 BTK 受体占有率在 24 小时时间点降低; 每日接受两次 CC-292 在 4 小时和 24 小时两个时间点均显示超过 90% 的 BTK 受体占有率。然而, CC-292 的药物临床活性偏低, 可能原因是虽然每日两次 CC-292 整体占有率较高, 但仍有部分患者其 BTK 占有率非常低, 个体间差异大, 限制了 CC-292 在体内持续占有靶标的能力^[26]。

2.5 安全性生物标志物

安全性生物标志物是通过用药前检测或用药过程中监测从而避免或减低患者发生严重安全性风险的生物标志物, 可帮助识别可能发生严重不良反应的患者人群。药物开发过程具有较高的损耗率, 毒性是化合物开发延迟或停止的主要原因之一。安全性生物标志物可以改善药物研发过程, 以便更好地理解毒性机制和减少后期失败的可能。安全性生物标志物典型代表有使用伊立替康后尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶 (UGT1A1) 基因型的检测^[27]。

伊立替康 (CTP-11) 最早上市于日本, 于 1998 年获得美国 FDA 批准, 用于标准化疗方案失败后的转移性结直肠癌的一线治疗, 目前还广泛应用于胃癌、胰腺癌、肺癌、宫颈癌、乳腺癌等的治疗领域。肝脏是人体重要的代谢解毒器官之一, 内含有大部分 I 相和 II 相反应的代谢酶, 尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶 (UGT) 是化学物质在生物体内进行第 II 相生物转化时最重要的一种酶, 它能催化葡萄糖醛酸与大量的内源性和外源性化学物质进行葡萄糖醛酸结合反应。伊立替康主要在肝脏代谢并形成活性代谢产物 7-乙基-10-羟基喜树碱 (SN-38), 一部分 SN-38 经血液循环达到肿瘤细

胞发挥抗肿瘤作用;而剩余的 SN-38 会在肝内经 UGT1A1 醛酸化形成无活性的 SN-38G 排入肠道,肠道内的 β -葡萄糖醛酸酶将 SN-38G 转换为有活性的 SN-38, SN-38 经肝肠循环被肠道再次吸收,从而造成 SN-38 蓄积在肠道内。而 UGT1A1 基因的多态性会导致肝脏和肠道内 UGT 活性下降,进而使伊立替康的活性代谢产物 SN-38 不能被及时灭活,从而引起消化道不良反应。^[28]

Bai Y 等人招募了 2015 年 4 月至 2016 年 9 月在北京肿瘤医院实施基于 cpt-11 方案的所有 81 例患者,入组的患者需要进行至少 2 个周期的基于 cpt-11 的化疗。所有 81 例患者均进行了完全基因分型,其中男性 67 例(82.72%),女性 14 例(17.28%)。本研究记录了 CPT-11 引起的不同不良反应,如白细胞减少、中性粒细胞减少、迟发性腹泻、恶心呕吐。共有 32 例(39.51%)为白细胞减少,28 例(34.57%)为中性粒细胞减少,39 例(48.15%)为恶心和呕吐,26 例(32.10%)为迟发性腹泻。结果表明,突变型 UGT1A1*6 和 UGT1A1*28 基因型以及突变型 UGT1A1*6/*28 基因型比野生型个体增加严重腹泻的风险。^[29]

Xu Q 等人对北京军区总医院的 89 例复发性卵巢癌患者进行了伊立替康顺铂化疗治疗,研究 UGT1A1 基因多态性与伊立替康联合顺铂治疗复发性卵巢癌结果的相关性。结果显示,UGT1A1*28 WW 基因型携带者 II~IV 级迟发性腹泻发生率为 52.2%,WM+MM 携带者发生率为 72.7%,两组间差异有统计学意义($P < 0.05$),表明 UGT1A1*28 是伊立替康诱导的迟发性腹泻的靶基因。相比之下,UGT1A1*6 基因多态性与伊立替康相关的迟发性腹泻无相关性^[30]。

2.6 监测性生物标志物

监测性生物标志物是用于监测疾病状态变化的(如复发等)生物标志物,可用于评估疾病进展或疾病或病症对治疗的反应,典型代表是在急性淋巴细胞白血病(ALL)中进行有计划的微小残留病(MRD)监测。

化疗、及支持治疗是 ALL 的主要治疗方法,多数患者诱导化疗后可达到形态学缓解(光学显微镜下骨髓原始细胞 $< 5\%$,造血功能恢复)甚至治愈。但即使达到形态学缓解,ALL 患者体内仍有 106~108 个白血病细胞,即微小残留病(MRD)。^[31]

ALL 治疗早期白血病细胞清除越多,残留越少,预后明显改善。Giuseppe Basso 的等人在早期时间点测量 MRD 具有临床相关意义,并认为诱导化疗第 15 天

的 MRD 水平是一个独立的预后因素,并可用来监测疾病进展及预测复发。其根据第 15 天骨髓的 MRD 水平分成 3 组:标危组($< 0.01\%$)、中危组(0.1%-10%)、高危组($> 10\%$),5 年累计复发率分别为 7.5%、17.5%、47.2%,差异有统计学意义($P < 0.001$),凸显了以 MRD 水平进行危险分层的重要性^[32]。

Borowitz 等人发现,外周血第 8 天及骨髓第 29 天的 MRD 阳性预示着更短的 EFS;在其所有的分析中,MRD 都是一个强有力的结果预测因子,一般来说,较高水平的 MRD 与越来越差的预后相关。诱导治疗后第 29 天骨髓 MRD 阴性($< 0.01\%$)与 MRD 可测到(0.01%-0.1%)相比,5 年 EFS 分别为 $88\% \pm 1\%$ 、 $59\% \pm 5\%$,即使是那些 MRD 只有 0.01%至 0.1%的患者,EFS 也更差,这表明 0.01%是识别高危患者进行潜在干预的最合适的界限。同时在 Cox 逐步线性回归分析中,发现第 29 天的 MRD 是最重要的预后因素^[33]。

博纳吐单抗是由美国安进公司研发的药物,于 2014 年 12 月被美国食品药品监督管理局(FDA)批准用于复发难治性急性 B 淋巴细胞白血病(B-ALL)的治疗。Rambaldi 等人在一项单臂 II 期研究中评估了博纳吐单抗治疗 Ph 阳性的复发难治性 ALL 的有效性,研究对象为 45 例既往接受过酪氨酸激酶抑制剂治疗失败患者,其中 88%患者 MRD 阴性,该结果一定程度推动了美国 FDA 在 2017 年 7 月批准博纳吐单抗用于复发难治性 Ph 阳性 ALL 的治疗。^[34]

3 结语

虽然生物标志物已经广泛应用于临床试验,但是能够成功应用生物标志物助力新药临床试验的经验还需不断积累。在临床试验的具体设计和执行上还需要全面考量:生物标志物与疾病诊断、预后、药物作用机制的相关性;检测技术是否成熟及不同检测中心结果是否一致;标本采集的难度和伦理问题及标本的运输、保存等。

与此同时,临床试验中还存在大量尚未满足的新生物标志物研发需求,在不同的治疗领域中都在不断探索。比如:头颈部鳞癌中,潜在的生物标志物包括:DNA-PK 和 PI3K 的抑制剂 KU0060648 在 ATM 缺失的头颈鳞癌细胞中,显示出良好的杀伤效果,提示 ATM 基因具有成为指导 KU0060648 药物临床应用的生物标志物;^[35]新型潜在肝损伤生物标志物的探索也有一些成果,包括:GLDH、MDH 与 ALT 升高的水平具有高度相关性,并且不受年龄和性别因素的影响,对于肝损伤具有较高的预测效力,同时也具有良好的诊断价

值;循环血中含有的部分 RNA 来源于某些组织中细胞的裂解或坏死,具有一定的组织特异性;血浆或血清中的总胆汁酸水平可以表征肝脏排泄功能,现已作为检测肝损伤的指标之一应用于临床。^[36]目前,在以肝纤维化程度为终点指标的临床试验中,还没有能够替代病理检测的理想生物标志物,因此在临床试验的实施过程中肝脏穿刺这种有创检查给部分临床试验受试者招募带来难度。

参考文献

- [1] 《肿瘤靶向治疗及免疫治疗进展》
- [2] 20211207-生物标志物在抗肿瘤药物临床研发中应用的技术指导原则
- [3] Biomarkers Definitions Working Group. Bethesda, Md. Biomarkers and surrogate endpoints: Preferred definitions and conceptual framework. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 2001,69: 89-95
- [4] 冯晓娟, 王依云, 刘婷等. 生物标志物及其在生态系统研究中的应用. *植物生态学报*. 2020. 44(04): 384-394.
- [5] 庄志雄. 分子生物标志物在职业医学中的应用. *中国工业医学杂志*. 1999. (01): 61-64.
- [6] 李爱玲, 宋健. 生物标志物分类及其在临床医学中的应用. *中国药理学与毒理学杂志*. 2015. 29(01): 7-13+20.
- [7] 蒋蓉, 郑易如, 邵蓉. 美国食品和药物管理局生物标志物资格认定程序及其实施情况. *中国新药与临床杂志*. 2018. 37(12): 682-686.
- [8] 谢媛媛, 张涛, 贺浪冲, 宋宗华, 罗国安. 生物标志物在药品生命周期中的应用与相关法规. *中国药品标准*. 2020. 21(02): 89-97.
- [9] E16: 药物或生物技术产品开发相关的生物标志物: 资格认定申请的背景资料、结构和格式 .
- [10] 乳腺癌诊疗指南 (2022 年版) [J]. *中国合理用药探索*, 2022, 19(10): 1-26.
- [11] Early Breast Cancer Trialists' Collaborative group (EBCTCG). Trastuzumab for early-stage, HER-2-positive breast cancer: a meta-analysis of 13 864 women in seven randomised trials. *Lancet Oncol*. 2021 Aug;22(8): 1139-1150.
- [12] Li L, Chen M, Zheng S, et al. Clinical and Genetic Predictive Models for the Prediction of Pathological Complete Response to Optimize the Effectiveness for Trastuzumab Based Chemotherapy. *Front Oncol*. 2021 Jul 15;11:592393.
- [13] Gampenrieder S P, Castagnaviz V, Rinnerthaler G, et al. Treatment Landscape for Patients with HER-2-Positive Metastatic Breast Cancer: A Review on Emerging Treatment Options[J]. *Cancer Management and Research*, 2020, Volume 12:10615-10629.
- [14] Kotani D, Shitara K. Trastuzumab deruxtecan for the treatment of patients with HER2-positive gastric cancer. *Ther Adv Med Oncol*. 2021 Jan 7;13:1758835920986518.
- [15] 原发性肝癌诊疗指南 (2022 年版) [J]. 国家卫生健康委办公厅. *中华外科杂志*. 2022(04).
- [16] Kudo M, Finn RS, Morimoto M, et al. Ramucirumab for Patients with Intermediate-Stage Hepatocellular Carcinoma and Elevated Alpha-Fetoprotein: Pooled Results from Two Phase 3 Studies (REACH and REACH-2). *Liver Cancer*. 2021 Jul 12;10(5):451-460.
- [17] Chon HJ, Kim C. REACH-2: first biomarker-based anti-angiogenic therapy in patients with advanced hepatocellular carcinoma. *Chin Clin Oncol*. 2020 Aug;9(4):58. doi: 10.21037/cco.2020.01.04. Epub 2020 Feb 25. PMID: 32156118.
- [18] Qin SK, Li Q, Ming Xu J, et al. Icaritin-induced immunomodulatory efficacy in advanced hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma: Immunodynamic biomarkers and overall survival. *Cancer Sci*. 2020 Nov;111(11):4218-4231.
- [19] https://www.nmpa.gov.cn/directory/web/nmpa/zhuanli/ypq_xgg/gggzjzh/20220110191736178.html
- [20] YAO L, SUN J, ZHANG J, et al. Breast cancer risk in Chinese women with BRCA1 or BRCA2 mutations [J] . *Breast Cancer Res Treat*, 2016, 156(3): 441-445.
- [21] Zang F, Ding X, Chen J, et al. Prevalence of BRCA1 and BRCA2 pathogenic variants in 8627 unselected patients with breast cancer: stratification of age at diagnosis, family history and molecular subtype. *Breast Cancer Res Treat*. 2022;195(3):431-439. doi:10.1007/s10549-022-06702-4
- [22] Robson M, Im SA, Senkus E, et al. Olaparib for Metastatic Breast Cancer in Patients with a Germline BRCA Mutation [published correction appears in *N Engl J Med*. 2017 Oct 26;377(17):1700]. *N Engl J Med*. 2017;377(6):523-533. doi:10.1056/NEJMoa1706450

- [23] Ledermann J, Harter P, Gourley C, Friedlander M, Vergote I, Rustin G, Scott C, Meier W, Shapira-Frommer R, Safra T, Matei D, Macpherson E, Watkins C, Carmichael J, Matulonis U. Olaparib maintenance therapy in platinum-sensitive relapsed ovarian cancer. *N Engl J Med*. 2012 Apr 12;366(15):1382 - 92. doi: 10.1056/NEJMoa1105535. PubMed PMID: 22452356
- [24] Sun C, Nierman P, Kendall EK, et al. Clinical and biological implications of target occupancy in CLL treated with the BTK inhibitor acalabrutinib. *Blood*. 2020;136(1): 93-105. doi:10.1182/blood.2019003715
- [25] Tam CS, Trotman J, Opat S, et al. Phase I study of the selective BTK inhibitor zanubrutinib in B-cell malignancies and safety and efficacy evaluation in CLL. *Blood*. 2019;134(11):851-859. doi:10.1182/blood.2019001160
- [26] Brown JR, Harb WA, Hill BT, et al. Phase I study of single-agent CC-292, a highly selective Bruton's tyrosine kinase inhibitor, in relapsed/refractory chronic lymphocytic leukemia. *Haematologica*. 2016;101(7): e295-e298. doi:10.3324/haematol.2015.140806
- [27] Schuppe-Koistinen I . Safety biomarkers: Opportunities and challenges in drug discovery and development[J]. *TOXICOLOGY LETTERS*, 2012, 211(supp-S).
- [28] Marcuello E, Páez D, Paré L, et al. A genotype-directed phase I - IV dose-finding study of irinotecan in combination with fluorouracil/leucovorin as first-line treatment in advanced colorectal cancer[J]. *British journal of cancer*, 2011, 105(1): 53-57.
- [29] Bai Y, Wu H, Ma X, et al. Relationship between UGT1A1* 6/* 28 gene polymorphisms and the efficacy and toxicity of irinotecan-based chemotherapy[J]. *OncoTargets and therapy*, 2017, 10: 3071.
- [30] Xu Q, Ding Y Y, Song L X, et al. Correlation of UGT1A1 and ERCC1 gene polymorphisms with the outcome of combined irinotecan plus cisplatin treatment in recurrent ovarian cancer[J]. *Genet Mol Res*, 2015, 14(2): 7241-7247.
- [31] Theunissen P, Mejstrikova E, Sedek L, et al. Standardized flow cytometry for highly sensitive MRD measurements in B-cell acute lymphoblastic leukemia[J]. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 2017, 129(3): 347-357.
- [32] Basso G, Veltroni M, Valsecchi M G, et al. Risk of relapse of childhood acute lymphoblastic leukemia is predicted by flow cytometric measurement of residual disease on day 15 bone marrow[J]. *Journal of Clinical Oncology*, 2009, 27(31): 5168-5174.
- [33] Borowitz M J, Devidas M, Hunger S P, et al. Clinical significance of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia and its relationship to other prognostic factors: a Children's Oncology Group study[J]. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 2008, 111(12): 5477-5485.
- [34] Basso G, Veltroni M, Valsecchi M G, et al. Risk of relapse of childhood acute lymphoblastic leukemia is predicted by flow cytometric measurement of residual disease on day 15 bone marrow[J]. *Journal of Clinical Oncology*, 2009, 27(31): 5168-5174.
- [35] 钟来平, 琚梧桐. 生物标志物在口腔鳞癌治疗中的转化研究进展. *口腔疾病防治*. 2018. 26(10): 621-626.
- [36] 严婉妮, 程虹. 生物标志物在药物性肝损伤中应用的研究进展. *药物流行病学杂志*. 2019. 28(06): 413-418.

版权声明: ©2023 作者与开放获取期刊研究中心 (OAJRC) 所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



OPEN ACCESS