

低分子量肝素类仿制药免疫原性研究基本技术要求

(征求意见稿)

目录

一、 概述	3
二、 活性成分对比研究	4
三、 免疫原性的评估	4
(一) 杂质对比研究	4
(二) LMWHs-PF4 复合物的研究	5
(三) 评估免疫原性的其他体外模型/方法	6
(四) 试验样品的要求	6
(五) 临床试验	6
四、 药物临床警戒	7
五、 参考文献	7

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22

一、 概述

低分子量肝素 (low-molecular-weight heparins, LMWHs) 是以猪肠黏膜来源的肝素为原料, 采用不同的解聚方法制得的, 由未被完全定性的一系列复杂寡糖组成的混合物。LMWHs 是临床上重要的抗凝药物, 它主要通过抑制凝血因子 FXa 发挥预防和治疗血栓的作用。

临床使用中, 肝素和 LMWHs 均存在发生肝素诱导的血小板减少症 (heparin-induced thrombocytopenia, HIT) 的风险。当机体针对肝素-血小板因子 4 (platelet factor 4, PF4) 复合物或 LMWHs-PF4 复合物产生抗体时, 可能引发不可逆的血小板聚集、减少, 甚至是血栓形成 (heparin-induced thrombocytopenia and thrombosis, HITT), 这将严重威胁患者生命安全。数据显示, 经依诺肝素和肝素钠治疗的患者发生 HIT 的风险分别为 0.2% 和 2%~3%。尽管 LMWHs 的 HIT 发生率相对较低, 但潜在后果严重, 同时由于 LMWHs 可以在门诊患者中使用, 因此对 LMWHs 产品免疫原性风险的评估和管理非常重要。

本技术要求在国内外指导原则和技术文献的基础上, 重点讨论 LMWHs 免疫原性评估需要考虑的主要内容, 并推荐一些研究方法; 旨在为 LMWHs 仿制产品的开发研究, 以及可能影响该类产品免疫原性的上市后变更研究提供技术参考, 促进现阶段仿制产品研究和评价工作的开展。

23 本技术要求的起草是基于对该问题的当前认知，随着相
24 关法规的不断完善以及药物研究的深入，将不断修订并完善。

25 二、 活性成分对比研究

26 仿制品与参比制剂中活性成分(API)应具有相似的理化
27 性质、生物学活性和药效学特征。在此情况下，可以一定程
28 度上预测，在与药理作用放大相关的不良反应（例如出血）
29 的发生频率方面，仿制品和参比制剂具有相似性。因此，证
30 明仿制品与参比制剂活性成分的相似性对于评估免疫原性
31 风险至关重要，相应的对比研究应包括如下内容：

32 1. 所用肝素钠原料应以新鲜猪小肠为起始物料，肝
33 素钠原料药的质量标准应符合中国药典，肝素钠的解聚模
34 式应与原研产品一致。

35 2. 理化性质的对比研究。

36 3. 双糖结构单元、寡糖片段分布和寡糖序列的对比
37 研究。

38 4. 体外生物学和生物化学活性的对比研究。

39 5. 人体药效学等效性研究。

40 三、 免疫原性的评估

41 (一) 杂质对比研究

42 LMWHs 中的杂质可能作为免疫激动剂或通过影响
43 LMWHs 与 PF4 的相互作用等方式增强 LMWHs 的免疫原性。
44 杂质包括肝素中存在的天然杂质（包括残留蛋白、核酸、脂

45 质等)和工艺相关杂质。这些杂质有些是结构已知的,或部分
46 分确定的,也有些是未知的。由于杂质的存在可能会改变免
47 疫系统对 LMWHs 或 LMWHs-PF4 复合物的识别、摄取、加
48 工或递呈,应通过研究证明仿制品中不含这些杂质,或与参
49 比制剂的杂质水平相近。所采用的研究方法应进行适用性评
50 估,并需要进行方法验证。

51 为评估 LMWHs 中的相关杂质,推荐开展如下研究:(1)
52 LMWHs、肝素及其他原料中潜在杂质的研究;(2)生产工
53 艺去除杂质能力的评估和研究;(3)仿制品与参比制剂中杂
54 质种类和含量的对比研究;(4)效期内产品的包材提取物和
55 浸出物的研究。

56 (二) LMWHs-PF4 复合物的研究

57 机体针对 LMWHs-PF4 复合物会产生特异性抗体,该抗
58 体介导了 HIT 的发生,因此,在 LMWHs 的免疫原性研究中,
59 应充分评估 LMWHs 与 PF4 之间的结合活性,以及所形成的
60 LMWHs-PF4 复合物大小和电荷水平。推荐的研究方法包括:
61 表面等离子共振,尺寸排阻色谱,多角度光散射分析,圆二
62 色谱分析,光子相关谱、分析超速离心,场流分级分离,原
63 子力显微镜等,并应与参比制剂进行比较。所采用的研究方
64 法应进行适用性评估,并经过合理的方法学验证。

65 此外,LMWHs 与 PF4 所形成复合物的特性可能会受到
66 PF4 本身特性,以及两种组分比例和浓度的影响。因此,相

67 关研究应在 LMWHs 与 PF4 不同的比例和浓度条件下展开。

68 (三) 评估免疫原性的其他体外模型/方法

69 作为上述分析方法的补充，建议探索一些评估免疫激活
70 的体外试验来评估仿制品与参比制剂的免疫原性的可比性。
71 例如，树突状细胞激活试验、采用 HIT 患者血清进行的
72 LMWHs 特异性抗体结合试验、评估血小板激活的五羟色胺
73 释放试验等。所选择的试验方法应具备充分的敏感性，能够
74 识别仿制产品与参比制剂的分子结构或杂质谱的差异，方法
75 的适用性应经过充分验证，并在试验中设置合适的阳性对照。

76 (四) 试验样品的要求

77 鉴于 LMWHs 的结构复杂性，上述试验选择的仿制品和
78 参比制剂均需要有足够的批次，并要求包括新生产、效期中
79 和效期末等不同情况的样品，同时包括人体药效学等效性试
80 验样品。仿制品还应包括由不同批次肝素生产的样品，以保
81 证所获数据结果的代表性和统计学意义。

82 (五) 临床试验

83 如果经评估，仿制品的性质、所含杂质和赋形剂的性质
84 不会带来免疫原性的风险或不确定性，并且开展了适当的非
85 临床免疫原性探索性研究，也未发现免疫原性风险，可不进
86 行专门的免疫原性临床研究。否则，应在上市前提供患者的
87 免疫原性比较研究的数据。

88 四、 药物临床警戒

89 产品上市后，应针对已知和潜在的安全性风险制定风险
90 控制计划，监测低分子肝素相关的严重不良反应例如 HIT 和
91 HITT，以及类过敏反应和过敏反应，并在再注册时提供安全
92 性报告。

93 五、 参考文献

94 1、 Food and Drug Administration Immunogenicity Related
95 Considerations for Low Molecular Weight Heparin [EB/OL]
96 [2016-2-18]

97 [https://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRe](https://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM392194.pdf)
98 [gulatoryInformation/Guidances/UCM392194.pdf](https://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM392194.pdf)

99 2、 European Medicines Agency Guideline on non-
100 clinical and clinical development of similar biological medicinal
101 products containing low molecular-weight-heparins [EB/OL]
102 [2016-11-24] [https://www.ema.europa.eu/documents/scientific-](https://www.ema.europa.eu/documents/scientific-guideline/guideline-non-clinical-clinical-development-similar-biological-medicinal-products-containing-low_en.pdf)
103 [guideline/guideline-non-clinical-clinical-development-similar-](https://www.ema.europa.eu/documents/scientific-guideline/guideline-non-clinical-clinical-development-similar-biological-medicinal-products-containing-low_en.pdf)
104 [biological-medicinal-products-containing-low_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/documents/scientific-guideline/guideline-non-clinical-clinical-development-similar-biological-medicinal-products-containing-low_en.pdf)

105 3、 European Medicines Agency Thorinane : EPAR -
106 Public assessment report [EB/OL] [2013-10-26]
107 [https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-](https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/thorinane-epar-public-assessment-report_en.pdf)
108 [report/thorinane-epar-public-assessment-report_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/thorinane-epar-public-assessment-report_en.pdf)

109 4、 Luna E , Agrawal P , Mehta R , et al. Evaluation of
110 Immunostimulatory Potential of Branded and US-Generic

111 Enoxaparins in an In Vitro Human Immune System Model[J].
112 Clinical & Applied Thrombosis/hemostasis Official Journal of
113 the International Academy of Clinical & Applied
114 Thrombosis/hemostasis, 2015, 21(3):211-222.

115 5、Rauova L , Poncz M , Mckenzie S E, et al. Ultralarge
116 complexes of PF4 and heparin are central to the pathogenesis of
117 heparin-induced thrombocytopenia[J]. Blood, 2005, 105(1):131-
118 8.

119 6、Suvarna S, Espinasse B, Qi R, et al. Determinants of
120 PF4/heparin immunogenicity[J]. Blood, 2005, 110 (6) : 4253

121 7、Greinacher A , Alban S , Omer-Adam M A , et al. Heparin-
122 induced thrombocytopenia: A stoichiometry-based model to
123 explain the differing immunogenicities of unfractionated heparin,
124 low-molecular-weight heparin, and fondaparinux in different
125 clinical settings[J]. Thrombosis Research, 2008, 122(2):211-220.

126 8、Suvarna S , Qi R , Arepally G M . Optimization of a
127 murine immunization model for study of PF4/heparin
128 antibodies[J]. Journal of Thrombosis & Haemostasis Jth, 2010,
129 7(5):857-864.