

附件

低分子量肝素类仿制药免疫原性研究 指导原则（试行）

目录

一、概述.....	3
二、活性成分对比研究	4
三、杂质和免疫原性的评估	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、药物警戒计划	7
五、参考文献.....	7

一、概述

低分子量肝素（low-molecular-weight heparins, LMWHs）是以符合药典标准的肝素（主要为猪肠黏膜来源）为原料，采用不同的解聚方法制得的，未被完全定性的一系列复杂的寡糖混合物。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。

本技术要求的起草是基于对该问题的当前认知，随着相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。

二、活性成分对比研究

仿制品与参比制剂中活性成分(API)应具有相似的理化性质、生物学活性和药效学特征。在此情况下，可以一定程度上预测，在与药理作用放大相关的不良反应（例如出血）的发生频率方面，仿制品和参比制剂具有相似性。因此，证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风险很重要，相应的对比研究应包括如下内容：

1.所用肝素钠原料应以新鲜或保藏好的猪小肠为原料，肝素钠原料药的质量标准应符合中国药典，肝素钠的解聚模式应与原研产品一致。

2.理化性质的对比研究。

3.双糖结构单元、寡糖片段分布和寡糖序列的对比研究。

4.体外生物学和生物化学活性的对比研究。

5.人体药效学等效性研究。

三、杂质和免疫原性的评估

（一）杂质对比研究

LMWHs 中的杂质可能作为免疫激动剂或通过影响 LMWHs 与 PF4 的相互作用等方式增强 LMWHs 的免疫原性。杂质包括肝素中存在的天然杂质（包括残留蛋白、核酸、脂质等）和工艺相关杂质。这些杂质有些是结构已知的，或部

分确定的，也有些是未知的。由于杂质的存在可能会改变免疫系统对 LMWHs 或 LMWHs-PF4 复合物的识别、摄取、加工或递呈，应通过研究证明仿制品中不含这些杂质，或与参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估，并经过合理的方法学验证。

为评估 LMWHs 中的相关杂质，推荐开展如下研究：（1）LMWHs、肝素及其他原料中潜在杂质的研究；（2）生产工艺去除杂质能力的评估和研究；（3）仿制品与参比制剂中杂质种类和含量的对比研究。

另外，需提供效期内产品的包材提取物和浸出物的对比研究。

（二）LMWHs-PF4 复合物的研究

机体针对 LMWHs-PF4 复合物会产生特异性抗体，该抗体介导了 HIT 的发生，因此，在 LMWHs 的免疫原性研究中，应充分评估 LMWHs 与 PF4 之间的结合活性，以及所形成的 LMWHs-PF4 复合物大小和电荷水平。推荐的研究方法包括：表面等离子共振，尺寸排阻色谱，多角度光散射分析，圆二色谱分析，光子相关谱、分析超速离心，场流分级分离，原子力显微镜等，并应与参比制剂进行比较。所采用的研究方法应进行适用性评估，并经过合理的方法学验证。

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

关研究应在 LMWHs 与 PF4 不同的比例和浓度条件下展开。

（三）评估免疫原性的其他体外模型/方法

作为上述分析方法的补充，建议探索一些评估免疫激活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。例如，树突状细胞激活试验（包括采用 LMWHs 与 PF4 的复合物）、采用 HIT 患者血清进行的 LMWHs 特异性抗体结合试验、评估血小板激活的五羟色胺释放试验等。所选择的试验方法应具备充分的敏感性，能够识别仿制品与参比制剂的分子结构或杂质谱的差异，方法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。

（四）试验样品的要求

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

（五）临床试验

如果经评估，仿制品的性质、所含杂质和赋形剂的性质与参比制剂相似，并且开展了适当的非临床免疫原性探索性研究，也未发现免疫原性风险，可在人体药效学研究中观察免疫原性相关风险，如无进一步风险提示，可不再开展单独的安全性/免疫原性临床研究。否则，应在上市前提供患者免

疫原性比较研究的数据。

四、药物警戒计划

应针对免疫原性相关风险制定风险控制计划 (RMP), 监测低分子肝素免疫原性相关的严重不良反应例如 HIT 和 HITT, 以及类过敏反应和过敏反应等的发生率、严重程度及转归情况, 并持续进行获益-风险评估。

五、参考文献

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

<https://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM392194.pdf>

2. European Medicines Agency Guideline on non-clinical and clinical development of similar biological medicinal products containing low molecular-weight-heparins [EB/OL] [2016-11-24]

https://www.ema.europa.eu/documents/scientific-guideline/guideline-non-clinical-clinical-development-similar-biological-medicinal-products-containing-low_en.pdf

3. European Medicines Agency Thorinane : EPAR - Public assessment report [EB/OL] [2013-10-26]

https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/thorinane-epar-public-assessment-report_en.pdf

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

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

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

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

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

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