

国家药监局药审中心关于发布《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》的通告（2021 年第 53 号）

发布日期：20211207

为合理应用生物标志物指导抗肿瘤药物的临床研发提供可参考的技术规范，在国家药品监督管理局的部署下，药审中心组织制定了《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》（见附件）。根据《国家药监局综合司关于印发药品技术指导原则发布程序的通知》（药监综药管〔2020〕9 号）要求，经国家药品监督管理局审查同意，现予发布，自发布之日起施行。

特此通告。

附件：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

国家药监局药审中心

2021 年 12 月 6 日

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

2021 年 12 月

目录

一、背景	1
二、生物标志物定义和分类	2
(一) 定义	2
(二) 分类	2
1. 诊断性生物标志物	2
2. 预后性生物标志物	3
3. 预测性生物标志物	3
4. 药效学生物标志物	4
5. 安全性生物标志物	4
6. 监测性生物标志物	5
三、生物标志物的开发	6
(一) 开发时机	6
1. 早期临床试验阶段	6
2. 关键临床试验阶段	7
(二) 开发步骤	7
1. 发现差异，提出假设	7
2. 验证分析方法	8
3. 验证生物学效应	8
4. 验证临床样本	8
5. 临床试验确证	8
四、生物标志物在临床试验中的应用	9

(一) 诊断性生物标志物	9
(二) 预后性生物标志物	9
1. 受试者分层	9
2. 富集人群	9
(三) 预测性生物标志物的应用	10
1. 经过验证的生物标志物	10
2. 尚未验证的生物标志物	11
(四) 药效学生物标志物	11
1. 指导剂量选择	11
2. 替代终点的开发	12
(五) 安全性生物标志物	12
(六) 监测性生物标志物	13
五、其他关注的问题	13
(一) 影响生物标志物检测的外在因素	13
(二) 界值确定	14
(三) 联合生物标志物	14
(四) 伴随诊断试剂的开发	15
六、结语	16
七、参考文献	16

一、背景

随着基础研究和临床医学的迅速发展，人们对疾病的病因和病理生理过程的认识不断深入，越来越多的参与肿瘤发生、发展和影响预后的生物标志物被相继发现，并在肿瘤早期诊断、疗效评估和预后预测等方面发挥重要作用。

生物标志物不仅在临床实践中广泛运用，在抗肿瘤药物研发中的价值也日益凸显，已逐步成为抗肿瘤药物研发过程中极为重要的，甚至是必不可少的一种研发工具。目前已有多个基于生物标志物筛选患者人群的抗肿瘤药物获批上市。研发经验表明，通过有效的生物标志物精准筛选潜在获益人群，有助于提高临床试验成功率，同时还能避免将获益可能性小的患者人群暴露于不必要的安全性风险之中。

为进一步提高我国抗肿瘤新药研发水平，合理应用生物标志物指导抗肿瘤药物的临床研究，特撰写本指导原则。本指导原则适用于抗肿瘤化学药和治疗用生物制品临床研发中生物标志物的应用，旨在系统阐述生物标志物定义、分类和开发，重点说明生物标志物在抗肿瘤药物有效性和安全性研究中的应用，明确基于生物标志物的临床研发中需重点关注的科学问题。

本指导原则仅代表药品监管部门当前的观点和认识。随着科学试验的进展，本指导原则中的相关内容将不断完善与更新。应用本指导原则设计和实施研究时，请同时参考现行

药物临床试验质量管理规范（GCP）、国际人用药品注册技术协调会（ICH）和其他国内已发布的相关指导原则。

二、生物标志物定义和分类

（一）定义

生物标志物通常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^[1]。生物标志物多来源于人体组织或体液，可涵盖生理、生化、免疫、细胞和分子等水平的改变。在肿瘤领域，生物标志物通常是由肿瘤细胞或非肿瘤细胞产生的、反映体内肿瘤细胞或非肿瘤细胞存在和变化的生物学物质，这是生物标志物的物质性。生物标志物还有它的计量性，即它是可以计量的。这种计量的变化紧密地与人体的生理条件，疾病发生和发展，健康状态等相关。可包括基因变异、蛋白受体异常表达或血液成分的变化等^[2]。因此，生物标志物的检测可广泛地应用于病人的筛查、诊断、临床研究、指导用药、预后等领域。

（二）分类

根据功能特点的不同，可将与药物研发相关的生物标志物分为以下六种类型^[3,4]：

1. 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。诊断性生物标志物是临床疾病

诊断的重要依据之一，通常作为临床试验特定受试者的入选标准。例如 *BCR-ABL1* 融合基因阳性是慢性髓性白血病 (CML) 的诊断指标之一^[5]，*BCR-ABL1* 融合基因即属于诊断性生物标志物。

诊断性生物标志物可帮助区分疾病亚型[例如人表皮生长因子受体-2 (HER2) 阳性乳腺癌]和不同组织来源(鳞状细胞癌、腺癌)。在单一生物标志物准确率不高的情况下，可采用多个生物标志物进行联合诊断。

2. 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。预后性生物标志物通常作为临床试验的富集因子或分层因子。例如，血甲胎蛋白 (AFP) 升高已在多项研究中被证实是晚期肝细胞癌的不良预后因素^[6]，属于预后性生物标志物，在肝细胞癌临床试验中常被用作分层因素。

3. 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。预测性生物标志物是目前抗肿瘤药物研发中应用最为广泛的生物标志物，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。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。

例如，基础研究发现间变性淋巴瘤激酶（*ALK*）融合基因是非小细胞肺癌（NSCLC）的关键驱动基因之一，在 *ALK* 抑制剂临床研发中采用富集设计，选择具有 *ALK* 融合基因的晚期 NSCLC 患者作为研究人群开展研究，可极大提高研发效率。预测肿瘤耐药/进展的生物标志物还可用于探索联合治疗或开发针对耐药靶点的迭代新药。

4.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。药效学生物标志物是一种动态评价指标，可以是因治疗而新产生的特异性生物标志物，也可以是因治疗导致水平发生变化的已有生物指标。例如，外周血 CD20+B 细胞的数量可作为试验药物靶向清除 CD20+B 细胞的药效学生物学指标。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。

5.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。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，例如，尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶（*UGT1A1*）基因型的检测^[7]可识别使用伊立替康后可能发生严重消化道不良反应的患者，这部分患者需采用低剂量给药。美国食品药

品监督管理局（FDA）和欧洲药物管理局（EMA）认定了 β 2-微球蛋白、血清半胱氨酸蛋白酶抑制剂 C 等 7 种安全性生物标志物评价新药肾毒性^[8]。

6. 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。例如，在急性淋巴细胞白血病中进行有计划的微小残留病（MRD）监测，可以监测疾病状态。

综上，根据功能的不同，可将生物标志物分为上述 6 类。然而，同一生物标志物可能具有不同功能属性，因此在不同的使用背景下，同一生物标志物的归类可能不同。例如，*BCR-ABL1* 融合基因是 CML 的诊断性生物标志物，*BCR-ABL1* 激酶区的突变情况同时也可预测患者对不同 *BCR-ABL1* 抑制剂的治疗反应，因此也是预测性生物标志物；HER2 是乳腺癌病理亚型和预后性生物标志物，也是抗 HER2 单克隆抗体的预测性生物标志物。

需要特别注意的是预后性生物标志物和预测性生物标志物的区分，生物标志物可能同时具备预后性和预测性，也可能只具有预后性。预后性生物标志物反映患者疾病预后特征，通常与治疗或干预措施无关；而预测性生物标志物则与治疗或干预措施相关，可预测特定的治疗疗效。在采用单臂研究设计的早期研究中，发现携带某种特定生物标志物的患者似乎从治疗中获益更明显，则易将该生物标志物视为预测

性生物标志物；然而有可能该生物标志物仅是预后性生物标志物，而不具有预测性。因此，当计划基于单臂试验结果发现的生物标志物来富集人群开展后续研究时，需充分分析和全面考虑。

三、生物标志物的开发

生物标志物是提高药物研发效率的重要工具，探索具有不同作用的生物标志物，应贯穿于早期研发、临床前研究和整个临床开发阶段。生物标志物的功能各有不同，应根据不同药物研发阶段的应用目的，合理选择和使用生物标志物。通常，生物标志物的开发应与药物临床研究并行，根据患者人群的疾病特征、药物作用机制和安全性特征，开发不同的单个或多个生物标志物，加速抗肿瘤新药研发。

（一）开发时机

1.早期临床试验阶段

早期临床试验的目标是探索药物的安全性、耐受性和初步有效性，并选择合适的目标人群和合理的剂量范围。在早期临床试验阶段，鼓励采用适当的生物标志物进行探索研究，获得药物对人体作用效应的更多信息，包括药效作用和毒性作用。通过前瞻性或回顾性研究生物标志物和临床结果的相关性，探索标志物的疗效预测或预后价值，为关键临床试验人群的选择、分层因素、安全性风险控制等方面提供初步依据。

2.关键临床试验阶段

关键临床试验是支持药品上市注册的核心证据。建议根据早期临床试验阶段中生物标志物的研究分析结果，明确是否采用某种生物标志物进行人群的富集，并在关键性临床试验中进行确证。建议在明确了人群的富集方案后，尽早规划伴随诊断试剂的开发。同时建议探索更多其它生物标志物，有助于进一步理解药物作用特点及耐药机制等。如不采用生物标志物富集人群的临床试验，也鼓励开展生物标志物的探索性研究。

（二）开发步骤

药物研发过程中，对于一个新生物标志物的认定，从假设的提出到临床试验的应用，通常需经过以下五个步骤：

1.发现差异，提出假设

在临床治疗中，常常会出现不同患者接受相同剂量的同一药物而呈现疗效和安全性的差异，这些差异可能来源于个体的身高、体重、性别、年龄、器官功能等差异，也可能来源于特定基因表型或分子特征等差异。通过研究和分析产生差异的机制，如基因组学研究发现基因的多态性，分析各种变异与药物疗效及安全性的相关性等，从而提出潜在的与药物反应相关的生物标志物。此外，也可以基于疾病发生发展的分子机制、药物的作用靶点和作用机理等设计进行探索性研究，发现潜在的生物标志物。

生物标志物分析方法的验证重点在于其技术的可行性（易于操作）、灵敏度（分析方法从一份样品中能检测到的某物质的最低含量的能力）和特异度（分析方法测定某种特定物质而不是其他物质的能力）以及可重现性。

2.验证分析方法

关于实验方法学要求的相关内容，不在此指导原则中进行讨论。

3.验证生物学效应

生物学效应的验证是在动物或人类体外模型（包括健康或疾病模型，体内和体外实验）中验证所检测的潜在生物标志物存在与否或变化水平是否与药物的暴露水平或药效/毒性反应具有相关性。

4.验证临床样本

临床样本的验证即在临床样本中能可靠地检出生物标志物以识别预期的目标患者，主要验证生物标志物检测方法在患者样本检测中的敏感度、特异度、阳性预测值和阴性预测值等。

5.临床试验确证

基于不同功能的生物标志物应用目的不同，通常需要通过前瞻性随机对照研究数据来确证，应有事先设计的统计分析计划，并有足够数量患者的生物标志物检测数据支持分析和决策。

四、生物标志物在临床试验中的应用

（一）诊断性生物标志物

诊断性肿瘤生物标志物是临床疾病诊断的重要依据，利用诊断性生物标志物，可根据患者是否存在或缺失某种特定的生理、病理或分子水平的改变，对患者进行归类。因此，诊断性生物标志物可作为临床试验的入选或排除受试者的筛选标准。

（二）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，因此，预后性生物标志物通常用于受试者的分层和富集患者人群。

1.受试者分层

预后性生物标志物可以区分未接受治疗干预下、诊断相同但疾病自然进程不同的患者人群，在对照研究中利用预后性生物标志物，将受试者根据预后的差异进行分层，从而降低受试者的异质性和混杂因素对试验结果的干扰，减少组间偏倚，提高结果的可靠性。

2.富集人群

预后性生物标志物可帮助筛选出更有可能发生所关注临床事件的患者人群，因此，在开展以临床事件为终点的临床试验中，利用预后性生物标志物筛选富集的高风险患者人

群，例如选择复发率高、预后差的高风险患者人群进行研究，可减少临床试验的样本量，更加高效的获得足以支持评价的临床事件数。

选择在高风险富集人群中开展研究并不意味着在低风险的相同适应症患者人群无法从治疗中获益；在高风险人群开展临床试验获得成功后，也可进一步考虑扩展至适当的低风险患者中开展研究。

（三）预测性生物标志物的应用

在抗肿瘤药物研发过程中，通过应用预测性生物标志物筛选出最有可能从治疗中获益的优势人群开展研究，是提高研发成功率的重要方法。采用预测性生物标志物进行研究设计，通常可分为以下两种情况：

1.经过验证的生物标志物

采用方法学已经过验证的生物标志物，该生物标志物与临床结果的相关性初步建立，且已有证据表明生物标志物阴性（M-）的患者接受治疗缺乏疗效或可能产生严重的安全性问题，此情况下可仅选择生物标志物阳性（M+）患者开展研究（图 1）。

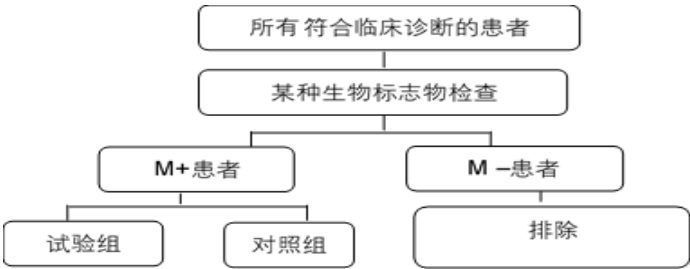


图 1：经验证的生物标志物临床试验设计

2.尚未验证的生物标志物

对于前期已有充分的基础研究数据支持，但尚未经临床验证的生物标志物，由于不能确定该生物标志物与临床结果的相关性，通常不建议仅在 M+患者人群中开展研究，即使获得了 M+患者人群的有效性数据，也应进一步证实在 M-患者人群的疗效。

开展研究时，可同时选择 M+和 M-患者人群分别进行，也可合并研究。合并研究时，如若未事先进行设计、未采用生物标志物进行分层，不能排除组间偏倚，当整体人群未获益而 M+患者明显获益，可选择 M+患者人群进一步开展前瞻性对照研究。

如若基于事先良好的设计(M+的亚组分析应作为主要终点之一或关键次要终点，并且应有足够的样本量)，研究有足够把握度证实 M+的亚组人群能够从新药治疗中获益显著，该研究结果可基于生物标志物支持批准研究药物在 M+人群中的适应症。

(四) 药效学生物标志物

1.指导剂量选择

药效学生物标志物是治疗后生物学应答的表现。通常一个治疗反应可能通过多个药效学生物标志物反映；在早期研究中尚无法确定与临床结果最相关的药效学生物标志物时，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。例如，在布鲁顿氏酪氨酸激酶（BTK）抑制剂的开发过程中，BTK 靶点占有率，可作为选择临床推荐剂量的重要依据。在模型引导的药物研发（MIDD）中，药效学生物标志物是建模和分析的核心因素。

2. 替代终点的开发

生存期延长是肿瘤药物研发中反映临床获益的金标准，因此在抗肿瘤药物临床试验中，通常采用反映生存获益的指标总生存时间（OS）或被证实与 OS 相关的替代终点（如无进展生存时间）作为主要终点支持监管决策。然而采用上述终点时，往往研究周期较长。如果能使用与临床结局建立明确相关性的药效学生物标志物作为替代终点，则可能缩短研发周期，使有效的药物及早惠及患者。例如，在 CML 中，细胞遗传学反应率和分子学反应率与临床获益相关，可作为费城染色体阳性（Ph+）CML 适应症的临床试验的主要终点。需关注的是，使用生物标志物作为替代终点要求证实其准确性（与临床结局的相关性）和精确性（测量结果的可重现性）。当计划采用生物标志物用作替代终点支持审批时，需提供充分可靠的科学证据。

（五）安全性生物标志物

安全性生物标志物可于用药前识别可发生严重不良反应的高风险患者，或者用药过程中在出现明显或严重临床症状甚至不可逆的损伤之前识别风险，使患者的不良反应最小

化，或避免发生。发生缺乏量效关系的严重不良反应时，及时开展安全性生物标志物的回顾分析也是必要的。

安全性生物标志物也将有助于发现人群间或种族间安全性差异，识别不同人群中安全治疗窗的差距，指导合理选择药物剂量。

（六）监测性生物标志物

监测性生物标志物可通过动态检测，反映治疗过程中肿瘤患者对药物的敏感程度或肿瘤负荷状态，可以成为复发风险的预测因子，是决定患者的危险分层、预后判断、后续治疗选择的关键因素之一，因此可成为临床治疗中进行疾病监测的良好指标。

对于已经明确的监测生物标志物可在药物治疗过程中动态检测；也鼓励在临床试验过程中进行生物样本的动态检测，寻找潜在的监测性生物标志物。

五、其他关注的问题

（一）影响生物标志物检测的外在因素

生物标志物检测的样本类型、收集方法、处理和保存方式及保存时间、分析过程的规范化同样是影响生物标志物检测及检测的可比性的关键因素。应建立一个样本采集、储存和评估的统一标准操作流程（SOP），以保证生物标志物检测结果的稳定性。

即使建立了生物标志物检测的 SOP，但是在临床试验中

也会出现不同实验室间检测结果的差异。生物标志物检测用于确定临床试验适用人群时，尚未广泛应用、正在临床开发过程中的生物标志物，推荐采用中心实验室检测，保证试验结果的可靠性。应用广泛、效能已被证实的生物标志物，如 EGFR 敏感突变的检测，可在本地实验室进行。对于国际多中心临床试验，如国内和国外无法采用同一中心实验室检测，需提供不同实验室之间检测一致性比对结果。

（二）界值确定

当采用基于充分科学基础而确定的预测性生物标志物开展富集研究时，必须有一个可以正确区分生物标志物状态的界值（cut-off 值），确保不发生分类错误。合理的界值选择应综合疾病特征、样本来源、分析方法以及临床效应。同一药物在不同瘤种中开展试验时，相同的生物标志物可能选择不同界值；同时，不同药物在相同瘤种中开展试验时，相同的生物标志物也可能选择不同界值。因此，在进行研究设计时，应充分评估生物标志物界值的合理性。

（三）联合生物标志物

肿瘤的发生发展是一个复杂的过程，单一生物标志物很可能不能充分反应疾病状态，随着生物标志物研发进展和检测技术的提高，越来越多的研究采用联合生物标志物。以免疫治疗为例，有研究显示程序性死亡受体-配体 1（PD-L1）表达水平、微卫星高度不稳定性（MSI-H）、肿瘤突变负荷

(TMB) 等与 PD-1/PD-L1 单抗药物的疗效相关。

因此需要通过更多的临床前和临床试验来证实联合生物标志物的预后或预测作用，以期开发联合生物标志物，为抗肿瘤药物的个体化治疗提供更好的支持。

(四) 伴随诊断试剂的开发

在药物研发的早期阶段，鼓励广泛收集生物标志物信息，同时逐步建立成熟可靠的生物标志物检测方法，为后续在确证性临床试验中应用生物标志物打下基础。若某一生物标志物可能产生疗效应答，并需要据此对患者进行选择或分层，伴随诊断检测开发就此可以展开。建议尽早进行预测性生物标志物及其伴随诊断的评估和讨论。

如果在关键临床试验中采用某一特定的诊断试剂盒或方法，该试剂盒专属于目标生物标志物的量化和鉴定，则有必要把专属性试验方法和生物标志物相关联，并反映在药品说明书中。

如果生物标志物的鉴定方法是通用的（即针对该生物标志物，临床上已有广泛应用且批准的检测试剂盒），且不专属于某个药物或治疗方案（如 CYP2D6 多态性的鉴定）时，可不要求提供特定的诊断试剂盒信息，也不要求反映在药品说明书中^[9]。

关于伴随诊断试剂更多具体要求的相关内容，不在此指导原则中进行讨论。

六、结语

生物标志物在抗肿瘤新药研发中发挥了十分重要的作用，已经有多个抗肿瘤药物因生物标志物的合理应用提高了临床研究效率，更增加了在抗肿瘤药物研发中应用生物标志物的信心。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。不仅在药物临床研发阶段探索和研究生物标志物，还应在药品上市后继续开展探索和研究，发挥其在药物全生命周期中的作用，精准治疗人群，控制患者安全性风险。

对于本指导原则尚未涵盖的生物标志物应用的考虑，鼓励申请人与监管部门沟通交流，共同提高临床试验研发的效率和成功率。

七、参考文献

- [1] Biomarkers Definitions Working Group. Bethesda, Md. Biomarkers and surrogate endpoints: Preferred definitions and conceptual framework. Clinical Pharmacology and Therapeutics, 2001,69: 89-95
- [2]<https://www.cancer.gov/about-cancer/diagnosis-staging/diagnosis/tumor-markers-fact-sheet>
- [3]FDA-NIH Biomarker working group: BEST(biomarkers, Endpoints, and other tools) 2018
- [4]FDA. Qualification Process for Drug Development Tools. 2014
- [5] Hughes T, Deininger M, Hochhaus A, et al. Monitoring CML patients responding to treatment with tyrosine kinase inhibitors: review and recommendations for harmonizing current methodology for detecting BCR-ABL transcripts and kinase

- domain mutations and for expressing results. *Blood*. 2006. 108(1): 28-37.
- [6] Galle PR, Foerster F, Kudo M, et al. Biology and significance of alpha-fetoprotein in hepatocellular carcinoma. *Liver Int*. 2019;39(12):2214-2229
- [7] Takano M, Sugiyama T. UGT1A1 polymorphisms in cancer: impact on irinotecan treatment. *Pharmgenomics Pers Med*. 2017,10:61-68.
- [8] FDA. Review of qualification data for biomarkers of nephrotoxicity submitted by the predictive safety testing consortium <https://www.fda.gov/media/87781/download>
- [9] FDA. Principles for Co-development of an In Vitro Companion Diagnostic Device with a Therapeutic Product. 2016