

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2022.10.14

伴侣动物用非细胞毒类抗肿瘤药 临床试验设计及评价要点

邱基程^{1,2}, 杨宇欣^{1,2}, 李格宾^{1,3}, 吴聪明^{1,2}, 冯华兵⁴,
汪霞⁵, 梁先明⁵, 苏富琴^{5*}, 曹兴元^{1,2*}

(1. 中国农业大学动物医学院, 北京 100193; 2. 中国农业大学国家兽药安全评价中心, 北京 100193; 3. 北京中农大动物医院有限公司, 北京 100193; 4. 中华人民共和国农业农村部畜牧兽医局, 北京 100125; 5. 中国兽医药品监察所, 北京 100081)

[收稿日期] 2022-05-10 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2022) 10-0082-09 [中图分类号] S859.79

[摘要] 肿瘤已经成为影响伴侣动物生存和生活质量的主要疾病之一, 伴侣动物临床罹患多种复杂、高异质性肿瘤, 然而目前临床却面临无药可用的尴尬局面。相较于人肿瘤治疗目的, 伴侣动物肿瘤治疗更关注患肿瘤动物生活质量的改善。非细胞毒类抗肿瘤药的靶向作用在肿瘤治疗过程中可以极大减少药物对伴侣动物自身的伤害, 因而, 被越来越多的研发者所关注。结合伴侣动物用非细胞毒类抗肿瘤药临床试验文献及技术指南要求对伴侣动物用非细胞毒类抗肿瘤药研发中的临床试验设计、疗效评价及其要点进行分析, 旨在为伴侣动物非细胞毒类肿瘤药研发者提供参考。

[关键词] 伴侣动物; 非细胞毒类; 抗肿瘤药; 临床试验设计; 疗效评价

Analysis of Clinical Trial Design and Evaluation Points of Non-cytotoxic Antitumor Drugs for Companion Animals

QIU Ji-cheng^{1,2}, YANG Yu-xin^{1,2}, LI Ge-bin^{1,3}, WU Cong-ming^{1,2}, FENG Hua-bing⁴,
WANG Xia⁵, LIANG Xian-ming⁵, SU Fu-qin^{5*}, CAO Xing-yuan^{1,2*}

(1. College of Veterinary Medicine, China Agricultural University, Beijing, 100193, China; 2. National Center for Veterinary Drug Safety Evaluation, Beijing, 100193, China; 3. China Agricultural University Veterinary Teaching Hospital, Beijing, 100193, China; 4. Husbandry and Veterinary Bureau, Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People's Republic of China Animal, Beijing, 100125; China;

5. China Institute of Veterinary Drug Control, Beijing, 100081; China)

Corresponding authors: SU Fu-qin, E-mail: qinginsu123@163.com; CAO Xing-yuan, E-mail: cxy@cau.edu.cn

Abstracts: Tumors have become one of the main diseases affecting the survival and quality of life of companion animals. Suffered from a variety of complex and highly heterogeneous tumors, however, it is embarrassing that

作者简介: 邱基程, 博士研究生, 从事创新兽药开发及评价研究; 杨宇欣, 博士研究生, 从事创新兽药开发及评价研究。二人为共同第一作者。

通讯作者: 苏富琴; E-mail: qinginsu123@163.com; 曹兴元; E-mail: cxy@cau.edu.cn

there is no effective drug available. Compared with the purpose of therapy for human tumor, the therapy of companion animal is more concerned with improving the condition of tumor-bearing animals. Nowadays, a growing number of researchers are paying attention to non-cytotoxic anti-tumor drugs for its' targeting effects and greatly reducing the damage of drugs during the therapy. Based on literatures and guidelines, this article has briefly described the clinical trial design, efficacy evaluation and key points in the development of non-cytotoxic anti-tumor drugs for companion animals in order to provide reference for developers.

Key words: companion animal; non-cytotoxic; anti-tumor drugs; clinical trial design; efficacy evaluation

随着生活水平的不断提高,伴侣动物走入人们的生活,伴侣动物不再是单纯定义的宠物,更是现代家庭的重要成员和都市人群的重要精神支撑。在欧美发达国家,肿瘤已经超过传染病成为导致伴侣动物死亡的主要原因^[1]。自 21 世纪初,我国宠物经济以 30% 的发展速度稳定增长,随之而来,宠物主人对宠物医疗提出了更高的要求 and 标准。我国一项对 11204 例犬临床诊疗病例的流行病学研究发现,肿瘤患病率占 10.9%,并且正以倍速增长,2014 年临床确诊肿瘤病例为 2009 年的 5.2 倍^[2]。同时,与人罹患肿瘤疾病类似,伴侣动物肿瘤常表现出高度复杂性和异质性。乳腺肿瘤、肥大细胞瘤、软组织肉瘤、淋巴瘤、黑色素瘤等为常见肿瘤类型;皮肤、乳腺、肛周、口腔等为常见的肿瘤生长部位^[3]。

伴随着宠物医疗的不断发展和临床的实际需要,伴侣动物用抗肿瘤药被越来越多研发者所关注。抗肿瘤药物可分为细胞毒类和非细胞毒类抗肿瘤药,细胞毒类药物对肿瘤组织和生长迅速组织的选择性低,在抑制和杀灭肿瘤细胞的同时,可能会引起骨髓抑制等严重不良反应,人可以将延长寿命作为动力而忍受严重不适,宠物主人或兽医可以因为不良事件决定停止治疗或对动物实施安乐死,除非证明不良反应发生是暂时的。因此,伴侣动物用抗肿瘤药目的是减轻或推迟肿瘤进展和临床症状进展,而不损害伴侣动物的生活质量。而非细胞毒类抗肿瘤药通常具有靶向性,可降低临床不良反应发生。截至 2022 年,欧洲药品管理局(EMA)和美国食品药品监督管理局(FDA)共批准 6 个犬猫

用抗肿瘤药物,均为非细胞毒类抗肿瘤药。目前,我国还没有伴侣动物用抗肿瘤药物上市^[4]。

EMA 将非细胞毒类抗肿瘤药定义为有别于传统细胞毒类抗肿瘤药作用机制,通过短时间暴露来干扰细胞 DNA 复制、有丝分裂等繁殖活动,可引起肿瘤不可逆的致死性损伤,从而抑制肿瘤^[5]。非细胞毒类抗肿瘤药通常具有靶向性,主要是通过膜受体、细胞质信号通路成分、细胞周期调节蛋白以及血管生成中重要的蛋白质或因子等靶标结合进而抑制肿瘤生长或防止肿瘤细胞转移。根据其生化性质,非细胞毒性抗肿瘤药主要分为核苷酸药物、抗体及其类似物、靶向小分子抑制剂和其他(如病毒);目前主要的作用通路和靶点包括:作用受体酪氨酸激酶(RPTKs)信号通路(mTOR^[6]、MEK^[7])、结合细胞表面受体^[8]、抑制血管生成^[9]、作用于细胞基质成分^[10]和 DNA 甲基化^[11]。

本文参考 EMA^[12-13]和 FDA^[14]伴侣动物用抗肿瘤药物指导原则,结合国家药品监督管理局药品审评中心(CDE)抗肿瘤药物指南^[15-16]和国家兽药安全评价中心 GCP 实验室对伴侣动物用非细胞毒类抗肿瘤药的临床评价经验,对伴侣动物用非细胞毒类抗肿瘤药研发过程中的临床试验设计关键技术要点进行分析,为伴侣动物用非细胞毒类抗肿瘤药研发者提供参考。

1 I 期临床试验设计及评价要点

I 期临床试验旨在对非细胞毒类药在靶动物体内的安全性和耐受性进行评价,以此来确定该药物在伴侣动物上的剂量限制性毒性(DLT)和最大耐受剂量(MTD),次要目标可能包括确定给药间

隔、临床获益率、生物标志物开发、PK 和 PD 研究以及免疫原性研究,以便为后续临床研究最终给药方案确定提供依据。

1.1 受试动物 根据 EMA^[13] 规定,在 I 期临床研究阶段,健康动物或患病动物均可被用作研究对象,但应该充分说明理由,而对于入组动物选择标准未进行规定。CDE^[15] 在抗肿瘤药物临床试验技术指导原则中指出:对于非细胞毒类抗肿瘤药可以选用健康志愿者进行部分研究,同时对入组和排除标准进行了规定。

结合目前报道的伴侣动物用非细胞毒类抗肿瘤药临床研究的入组标准^[17-19] 和排除标准^[20-22], 建议 I 期临床选择患病动物进行研究。入选动物应符合以下基本要求:(1) 宠物主人首先需理解并签署知情同意书,确保主人了解并认可试验中潜在风险以及益处;(2) 经病理组织学和/或细胞学确诊肿瘤发生类型以及相关靶点表达。应根据世界卫生组织的标准明确患病动物的临床分期;(3) 受试动物应至少年满一周岁,预期寿命应能达到试验预期设想;(4) 文献报道采用改良版美国东部肿瘤协作组 (ECOG) 体力评分标准对患病动物进行体力评价,受试患病动物的体力评分应在 0 至 1 级;(5) 入组前一定时间内未接受其他方式对肿瘤治疗,若在规定时间之前接受其他治疗,应对治疗方式和周期详细记录;(6) 试验前应通过影像学等手段对肿瘤进行实际测量并记录,明确入组肿瘤体积大小和肿瘤直径;(7) 主要器官功能经临床评估应满足试验开展基本要求,且无消化道出血或凝血功能障碍(胃肠道肿瘤或肝脏肿瘤除外)。对于器官功能要求应做出细致规定和描述,如:绝对中性粒细胞计数 >2000 个细胞/ μL , 血细胞比容 $>25\%$, 血小板计数 $>75000/\mu\text{L}$, 血清肌酐 <2.5 mg/dL, 胆红素 \leq 正常上限,转氨酶 ≤ 3 倍于正常上限^[23]。对于不符合要求的患病动物,在入组过程中应该予以排除,排除标准主要包括但不限于如下条件:(1) 患病动物存在严重系统性疾病;(2) 以生育繁殖为目的的宠物,包括已经受孕、哺乳期或短期内有繁殖计

划的宠物。试验过程中应详细记录年龄、品种、性别、绝育状态和体重等信息。

1.2 试验设计原则 对于非细胞毒类抗肿瘤药 I 期临床研究,首次给药剂量选择十分关键。CDE^[15] 建议非细胞毒类抗肿瘤药非临床阶段起始给药浓度为该药物无可见有害作用水平 (NOVAEL) 的 1/5 或者更高浓度进行给药。对于伴侣动物用非细胞毒类抗肿瘤药, I 期临床起始剂量可参考临床前靶位点药效学相关试验结果设置。

与人抗肿瘤药物临床研究不同,宠物种属间差异较大, FDA 对伴侣动物抗肿瘤药计量单位做出规定:大型犬(体重 >10 kg) 应采用 mg/m^2 体表面积为剂量单位给药,而小型犬(体重 ≤ 10 kg) 采用 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ BW}$ 为剂量单位进行给药^[14]。

与人抗肿瘤药物临床研究一致,伴侣动物用非细胞毒类抗肿瘤药 I 期临床试验给药方案也主要采用剂量爬坡的方式进行,临床常采用 (3+3) 递增设计进行剂量爬坡试验^[18]。对每级动物数和递增幅度均应详细描述,如:每组 3 只动物,当未出现 DLT,则进行更高一级剂量水平研究;当出现 1 例 DLT,则在该剂量水平上增加 3 例受试患病宠物;当未再出现新的 DLT,则继续下一剂量水平试验;当出现 ≥ 2 例 DLT,该剂量水平的前一个剂量水平定义为 MTD (MTD 定义为当前剂量水平下,6 例受试宠物出现 <2 例 DLT)^[24]。非细胞毒类药可能在较高剂量下仍观察不到 DLT,建议将靶点占位或抑制以及临床实际使用相结合,尽可能研究更高水平的剂量。给药间隔应结合前期靶点占位或抑制相关研究来确定。值得注意的是,由于非细胞毒类抗肿瘤药毒性较小,有研究报道使用“加速滴定”剂量递增策略来进行剂量递增^[25]。

1.3 不良反应观察和评价 与人用抗肿瘤药临床研究中的不良反应评估一样,伴侣动物用非细胞毒类抗肿瘤药的不良反应也需从多个角度进行综合评价。人医通常采用美国国立癌症研究所给出的常见毒性反应标准 (NCI-CTC) 进行治疗过程中不良反应的评估^[15],而这一标准并不适用于伴侣动

物临床研究。兽医肿瘤合作组 - 不良事件通用术语表 (VCOG - CTCAE) 更适用于伴侣动物非细胞毒类抗肿瘤药的不良反应分级评估^[4]。仅少数伴侣动物非细胞毒类抗肿瘤药临床研究时采用改良 NCI - CTC 标准进行不良反应评估^[22]。伴侣动物在非细胞毒类抗肿瘤药治疗过程中的不良反应主要包括皮肤症状、食欲不振、腹泻、呕吐、中性粒细胞减少和后肢无力等,大多数不良反应都是短期存在的,停止治疗后短期内即可消失^[17-18,21]。

基于上述描述和分析,伴侣动物用非细胞毒类抗肿瘤药 I 期临床研究不良反应评价应从多个方面综合分析,包括但不限于:(1)实验室检测指标:生理、生化、尿液等;(2)患病宠物评分:改良 ECOG 体力评分等;(3)不良事件统计:患病宠物不良事件统计应根据 VCOG - CTCAE 进行分级记录评估,并判断不良反应与研究药物的相关性、可逆性和可预防措施,所有不良事件应详细记录。对于剂量限制性毒性 (DLT) 应进行明确定义,如任何 3 级或 4 级非血液学毒性,任何无并发症 (如无发热,出血等) 4 级血液学毒性,或任何复杂的 3 级或 4 级血液学毒性。此外,若不良反应低于 3 级,但临床试验过程中发现出现严重的皮肤病变也应被视为 DLT^[26]。(4)生物标志物水平和靶位点抑制情况可同时作为疗效评价指标进行检测。

2 II 期临床设计及评价要点

II 期临床研究是为了确定在 I 期建议给药方案下的抗肿瘤效果,评价药物的安全性和有效性,进一步研究药物不良反应特征、最佳给药途径以及识别与效应相关的生物标记物,进而为 III 期临床研究提供依据^[4]。值得注意的是,EMA 发布的指南中注明若 I 期临床研究中已对患病动物进行单药对拟定适应症肿瘤类型的抗肿瘤活性评价,同时考虑剂量选择及临床终点明确,即剂量特征信息已经足够,则可考虑豁免 II 期研究,直接进行 III 期临床研究^[13]。

2.1 试验动物 若开展 II 期临床研究,动物入组标准和排除标准与 I 期入组标准和排除标准基本

一致。试验前,需准确记录患病宠物基本信息,肿瘤适应症的准确定义,肿瘤分级和临床分期,既往治疗和靶点表达量 (如适用)。每只入选病例至少有一种客观可测量指标或可评价的指标,动物入组应建立跟踪档案详细记录入组信息。

2.2 试验设计原则 II 期临床研究在 I 期临床研究的基础上进一步优化给药方案,研究可根据实际需要选择性设立对照组,对照组应给予安慰剂或支持治疗。现有伴侣动物用非细胞毒类抗肿瘤药 II 期临床研究过程大多采用单臂、开放性研究^[21],可选择性采用多个剂量组给药,入组病例的数量可根据具体试验要求调整,取决于最小有效反应率和自发消退率 (通常 < 5%)^[27]。试验设计时,可针对 I 期临床实验结果对给药方案 (剂量、间隔、滴注速度、疗程) 进行细化和调整。若为获得预期效果或避免毒性反应需要采用的辅助治疗 (如利尿、止吐) 应在给药方案中给予规定和说明。使用任何化疗药物增效剂、化疗药物保护剂、耐药性调节剂作为伴随治疗时应进行详细的说明和记录,同时,在研究过程中应尽量避免使用类固醇药、非甾体类抗炎药、靶向免疫系统药。

人临床上,一些新型的 II 期研究设计已经开始应用于非细胞毒类抗肿瘤药,如随机停药设计 (RDT)。在随机停药设计方案中,所有入组患者首先接受 2~4 个月的药物治疗。在期间有进行性疾病、毒性或不依从性的动物则从研究中剔除。其余受试动物被随机分为两组,分别继续接受药物治疗和使用安慰剂治疗。临床终点是动物在试验期间接受药物治疗维持疾病稳定的比例^[28]。

2.3 疗效评价及临床终点 II 期试验的主要目标是评估药物活性/疗效,因此用于评估反应的终点对设计至关重要。在人用抗肿瘤药临床,CDE^[15]认为客观缓解率 (ORR) 为 II 期临床的疗效观察指标,同时应该观察受试者其他临床获益指标。在兽医临床,EMA^[12]指南中认为对于非细胞毒类抗肿瘤药,其作用机制并非是通过肿瘤细胞杀伤来直接发挥作用,而是通过对相关靶点和通路进行调节从

而抑制肿瘤生长,其药效终点应选择至疾病进展时间(TTP)作为主要药效学评价指标。在不能以TTP作为终点时,也可以选择ORR作为药效终点,但应该注意药物治疗引起的肿瘤肿胀对于结果判定的准确性。值得关注的是,EMA指南中明确指出对于伴侣动物而言,维持伴侣动物生活质量比治疗使肿瘤缩小更加重要^[13]。

目前对于伴侣动物用非细胞毒类抗肿瘤药的临床研究,主要采用犬实体瘤的反应评估标准(cRECIST)进行药效评价^[4,17-18],同时,在一些研究中也采用主人对犬的健康相关生活质量的评价(HRQoL)作为次要药效指标进行分析^[17]。同时在某些病毒类宠物抗肿瘤用药研究中,也使用细胞因子浓度水平作为药效评价指标^[29]。

因此,鉴于非细胞毒性药物的特殊作用机制,若由于试验设计本身而无法使用TTP作为主要评价指标,可以选择ORR进行评价,应对治疗反应进行明确定义,如肿瘤的完全缓解(CR)、部分缓解(PR)、疾病稳定(SD)或疾病进展(PD)^[18]。同时,应将健康相关的生活质量评价(HRQoL)和体力评分作为药效指标进行综合分析,任何为了增加临床疗效而使不良反应增加的给药方案是不可接受的。鼓励在药效评估的过程中进行生物标志物探索性研究,对于某些特殊的非细胞毒类抗肿瘤药,可以使用生物标志物水平进行药效评价。

3 III期临床设计及评价要点

III期临床即在I期临床和/或II期临床的基础上进一步确证研究,通过对临床大样本、随机、对照研究明确药物在特定患病动物上的有效性和安全性,对给药方案进行进一步确证^[4]。

3.1 试验动物 试验入组病例应遵从与II期入选病例相应的基本要求标准和排除标准,选择在前期临床研究中有疗效的肿瘤类型进行研究,入组规则可以根据前期临床研究结果进行适当调整。

3.2 试验设计原则 经典的细胞毒类抗肿瘤药物III期临床研究通常采用随机、盲法、对照试验设计,以死亡时间为主要终点,旨在比较新开发药物和标

准治疗或安慰剂之间的疗效。对于非细胞毒类抗肿瘤药,III期临床思路与经典的细胞毒类抗肿瘤药III期设计思路一致,应采用随机、盲法、对照试验进行研究,EMA强调伴侣动物用抗肿瘤药物III期临床研究不接受单臂研究^[13]。入组的患病动物以一定比例随机分配(如1:1或2:1)接受药物治疗或给予安慰剂/支持治疗^[22]。如果药物作用的机制是针对某一靶点发挥作用,那么最好应针对靶点进行试验设计,即首先对患病宠物进行靶点检测,并且只有在阳性的情况下,才可参加试验并随机分配到两个治疗组。根据II期临床研究结果确定的预期临床给药方案给药,对于伴随治疗或其他辅助手段应明确记录,试验过程中可进行剂量调整,但是应提前在方案中制定具体的剂量调整原则。

3.3 疗效评价及临床终点 与II期研究不同,III期侧重于对药物是否能达到临床获益进行评价,因此在临床研究的过程中应该侧重选择能显示临床获益的药效指标,主要包括:(1)与肿瘤发展相关的指标:TTP、ORR和不同生物标志物;(2)与生存相关的疗效指标:总生存期(OS)、无病生存期(DFS)、无进展生存期(PFS);(3)HRQoL评估^[13]。临床终点的选择应该将疾病进展推迟到有临床意义的程度,选择与生存相关的疗效指标和与肿瘤发展相关的指标作为主要的药效指标,HRQoL评估作为重要次要药效指标来进行综合分析。

4 靶动物安全性试验

该试验旨在分析不同给药剂量下对靶动物的安全性和毒性进行全面系统性的评价,是伴侣动物用抗肿瘤药开发过程中的重要环节。通过对靶动物临床观测、生理、生化和尿液等分析指标和组织病理学观察,进而明确受试药物对机体可能造成的危害以及临床使用过程中可采用的预防措施。EMA规定,对于非细胞毒类宠物抗肿瘤药,靶动物安全性试验应按照兽药注册技术要求国际协调委员会(VICH)GL43中相关要求进行^[13]。

4.1 试验动物 根据VICH^[30]、我国农业农村部^[31]对于伴侣动物用药物靶动物安全性相关要求

和已上市的伴侣动物用抗肿瘤药物靶动物安全性研究内容^[32-34], 试验应选择健康动物进行研究, 动物的年龄应根据临床使用对象保持一致。在试验开始前, 应由专业的宠物医师对入组动物进行检查, 同时对计划入组动物应进行生理、生化等健康指标检查, 确保入组动物为健康动物。

4.2 试验设计原则 根据 VICH^[30] 和我国农业农村部^[31] 关于靶动物安全相关要求, 宠物安全试验设计通常采用随机试验设计进行, 每个处理组应不少于 6 只动物, 雌雄各半, 如受试药物存在性别差异, 则每组应不少于 8 只动物, 雌雄各半。给药剂量设置应依照临床推荐剂量和给药时间的倍数递增进行研究, 通常递增倍数为推荐使用的最高剂量、以及在一段时间内超出推荐使用最高剂量的三倍(中剂量)和五倍(高剂量)使用剂量进行研究。同时, 应设立空白对照组。治疗疗程设置应至少进行 3 次推荐的给药方案处理, 若需要短期内间歇性进行治疗, 则应该至少按照推荐给药方案间隔进行 3 次给药治疗。若治疗周期超过 3 个月, 适当情况下, 可根据药动学和毒理学进行 6 个月或更长时间的安全性研究(例如: 药物在使用过程中会出现明显的蓄积作用, 药物在单次使用后两个月后仍具有药效或需长期使用)。

由于伴侣动物用非细胞毒类抗肿瘤药毒性作用较低, 因此在靶动物安全性试验过程中可进行更高剂量递增倍数、更短给药间隔或更长治疗时间的安全性研究, 如 Masitinib^[32] 在靶动物安全性研究阶段分别进行 1 倍、3 倍和 10 倍剂量和以 4 周、13 周、39 周为治疗疗程的靶动物安全性研究; Palladia^[34] 在安全性研究阶段进行一项为期 13 周的长期安全性研究, 按照推荐给药方式每两天给药一次, 给药剂量为推荐给药剂量的 3 倍; 同时将每天多次给药作为支撑性研究同时纳入分析; Stelfonta^[33] 在靶动物安全评价阶段在以 4 周单次的推荐给药方案下进行 4 周内重复静脉注射给药的安全性评价, 同时将安全给药剂量下单次长时间给药作为支撑性研究同时纳入分析。所有已上市的

药物均将临床过程中的不良反应观测作为支撑性研究纳入靶动物安全性分析^[32-34]。

4.3 安全性评价指标 根据 VICH^[30] 和我国农业农村部^[31] 关于靶动物安全的相关要求, 伴侣动物用非细胞毒类抗肿瘤药靶动物安全性评价应主要从如下四个方面进行: (1) 临床观测。在适应期和整个实验过程应进行多次体况检查, 主要包括但不限于体重、体温、呼吸、行为、精神状态、体重、采食量、饮水量等。(2) 血液学检查。如血液学、血生化、尿分析。(3) 大体剖检及组织病理学检查。VICH^[30] 规定对创新兽药, 所有剂量组的动物均需进行大体剖检和组织病理学检查。对于仿制药, 应至少对阴性对照和最高剂量组的所有动物进行大体剖检和组织病理学检查; 若高剂量组发现药物造成的组织病变, 则继续对中剂量(3 ×) 进行大体剖检和组织病理学检查, 直至病理学检查无任何病变。

同样地, 伴侣动物用非细胞毒类抗肿瘤药在靶动物安全研究过程中, 也主要从临床观测、血液学检查和大体剖检及组织病理学检查三个层次开展安全性评价^[32-34]。此外, 对于某些局部使用的非细胞毒类抗肿瘤药(如瘤内注射给药), 应对注射部位的安全性进行评价^[33]。伴侣动物用非细胞毒类抗肿瘤药的不良反应主要表现^[32-34] 为临床观测上: 饲料消耗量下降、跛行、呕吐、体重减轻、心动过速、躁动和口腔黏膜发白; 血液学检查上: 中性粒细胞、白细胞减少、贫血、碱性磷酸酶、谷草转氨酶和肌酸激酶升高; 组织病理学上: 十二指肠和空肠肠道紊乱, 胆管上皮空泡化, 以及骨髓、胰腺、肝脏和肾脏也存在病变。对于非细胞毒类的大分子抗肿瘤药物, 关于其免疫原性的研究在人医上已经进行了广泛的开展, 但兽药临床刚刚开始关注, 尚未有相关指南发布, 后续研究中应密切关注该类制剂的免疫原性问题。

5 讨论

5.1 疗效终点的选择 由于 II 期临床试验的主要目标是评估药物活性/疗效, 因此用于评估的反应

终点对设计至关重要。总生存期(OS)是确定药物是否获益最直观的终点^[4],然而,该终点可能需要耗费较长时间,并且可能受到宠物安乐死或寻求替代疗法的影响。因此,大多数 II 期试验使用临时或次要终点,通常称为替代终点,终点包括 ORR,基于成像技术的终点、生物标志物或靶标抑制水平^[35],这些终点可以合理地预测临床疗效。对于非细胞毒类抗肿瘤药,其主要作用是防止肿瘤的进一步生长,而可能不具有明显缩小肿瘤的作用,因此,ORR 可能不是评估药物效果适合的终点,无进展生存期(PFS)、疾病进展时间(TTP)、预定的时间点无进展率(PFR)可能是更合适的终点。与人肿瘤治疗不同,EMA 强调伴侣动物肿瘤治疗的目的是减少宠物的病痛和不适,延缓肿瘤进展,提高生活质量^[13]。在研究过程中,任何为了增加疗效而严重影响宠物生活质量的给药方案都是不可接受的,同时,伴侣动物的治疗往往受宠物主人的主观意识决定,因此 II 期试验的次要终点可能包括生活质量评估、治疗比较成本、住院天数等。在涉及时间相关的疗效终点判定时,应考虑安乐死对试验结果的影响。

5.2 给药方案确定的选择 在细胞毒类抗肿瘤药的 I 期临床试验中,DLT 是主要的毒性终点。通过剂量递增的方式,依次在每个顺序剂量水平下接受治疗,通过不良反应发生率确定在随后的 II 期和 III 期临床试验中采用剂量 MTD。对于非细胞毒类抗肿瘤药,由于其作用机制通常为抑制肿瘤生长,可能缺乏临床上显著的器官毒性,因此,毒性和疗效可能不是剂量依赖性的,通常在无毒性剂量下就具有最大抑制活性作用^[19-20],这使得以 MTD 为终点的研究可能不适于非细胞毒类抗肿瘤药剂量确定。基于这一特点,最佳生物剂量(OBD)^[36]可作为 MTD 的替代终点。理想情况下,OBD 是基于增加剂量以达到最佳药效学的抗肿瘤活性参数,即靶位被药物饱和或靶标介导的最佳信号转导途径的给药剂量。不过,使用 OBD 作为替代指标,应明确药物作用靶点,同时应结合群体药动学(PPK)进行

分析,通过群体 PK/PD 模型建立暴露与靶点药效之间的关系进而确定最佳给药剂量和给药间隔^[37],也可采用群体 PK/TD 对 OBD 剂量下的不良反应进行评估。在人临床,CDE 最新颁布的《临床价值为导向的抗肿瘤药物临床研发指导原则》中指出:给药剂量的确定可以根据剂量-暴露量-效应进行确定,鼓励在早期采用模型引导的药物开发(MIDD)进行研究^[16]。

不同的非细胞毒类抗肿瘤药作用机制往往存在较大差异,因此在临床研究评价过程中,应结合药物作用机制综合分析后选择合适的药效学指标来进行评价。对于药效指标的适用性,应积极向新兽药审评机构进行咨询沟通,同时和行业内相关的专家开展论证和交流,进而制定最终的试验方案。鼓励研发企业积极开展研究,选择与疗效相关的生物标志物用于药效评价。

参考文献:

- [1] Pinho S S, Carvalho S, Cabral J, *et al.* Canine tumors: a spontaneous animal model of human carcinogenesis [J]. *Translational Research*, 2012, 159(3): 165-172.
- [2] 绿铠瑞. 沈阳地区宠物犬肿瘤流行病学调查[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2020.
Xian K R. Epidemiological investigation of tumor in pet dogs in Shenyang area [D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2020.
- [3] 施 颢. 北京地区犬常见肿瘤的流行病学调查及临床分析 [D]. 吉林: 吉林农业大学, 2018.
Shi S. Epidemiological investigation and clinical analysis of common canine tumors in Beijing [D]. Jilin: Jilin Agriculture University, 2018.
- [4] 王学伟, 冯华兵, 徐 倩, 等. 犬猫用抗肿瘤药指导原则要点分析 [J]. *中国兽药杂志*, 2022, 56(7): 34-39.
Wang X W, Feng H B, Xu Q, *et al.* Overview of FDA/EMA guideline on dossier requirements for anticancer medicinal products for dogs and cats [J]. *Chinese Journal of Veterinary Drug*, 2022, 56(7): 34-39.
- [5] EMA. Guideline on the clinical evaluation of anticancer medicinal products [EB/OL]. 2019.
- [6] F Foruzesh B, Buckner J, Adjei A, *et al.* Phase I, bioavail-

- ability, and pharmacokinetic study of oral dosage of CCI - 779 administered to patients with advanced solid malignancies [J]. *Eur J Cancer*, 2002, 38(suppl 7): S54.
- [7] LoRusso P M, Adjei A A, Varterasian M, *et al.* Phase I and pharmacodynamic study of the oral MEK inhibitor CI - 1040 in patients with advanced malignancies [J]. *Journal of Clinical Oncology*, 2005, 23(23): 5281 - 5293.
- [8] Ranson M, Hammond L A, Ferry D, *et al.* ZD1839, a selective oral epidermal growth factor receptor - tyrosine kinase inhibitor, is well tolerated and active in patients with solid, malignant tumors: results of a phase I trial [J]. *Journal of Clinical Oncology*, 2002, 20(9): 2240 - 2250.
- [9] Anne L Thomas, Bruno Morgan, Joachim Drevs, *et al.* Vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors: PTK787/ZK 222584 [J]. *Seminars in Oncology*, 2003, 30(3): 32 - 38.
- [10] Rudek M A, Figg W D, Dyer V, *et al.* Phase I clinical trial of oral COL - 3, a matrix metalloproteinase inhibitor, in patients with refractory metastatic cancer [J]. *Journal of Clinical Oncology*, 2001, 19(2): 584 - 592.
- [11] tewart D, Donehower R, Eisenhauer E, *et al.* A phase I pharmacokinetic and pharmacodynamic study of the DNA methyltransferase 1 inhibitor MG98 administered twice weekly [J]. *Annals of Oncology*, 2003, 14(5): 766 - 774.
- [12] EMA. Revised policy for classification and incentives for veterinary medicinal products indicated for minor use, minor species (MUMS)/limited market (EMA/429080/2009 - Rev. 1). [EB/OL]. 2018.
- [13] EMA/CVMP. Guideline on dossier requirements for anticancer-medicinal products for dogs and cats [EB/OL]. 2022.
- [14] FDA. Oncology drugs for companion animals guidance for industry [EB/OL]. 2017.
- [15] 国家药品监督管理局药品审评中心 (CDE). 抗肿瘤药物临床试验技术指导原则 [EB/OL]. 2012.
Center for Drug Evaluation (CDE). Technical Guidelines for Clinical Trials of Antitumor Drugs [EB/OL]. 2012.
- [16] 国家药品监督管理局药品审评中心 (CDE). 以临床价值为导向的抗肿瘤药物临床研发指导原则 [EB/OL]. 2021.
Center for Drug Evaluation (CDE). Guiding for clinical research and development of antitumor drugs based on clinical value [EB/OL]. 2021.
- [17] De Ridder T R, Campbell J E, Burke - Schwarz C, *et al.* Randomized controlled clinical study evaluating the efficacy and safety of intratumoral treatment of canine mast cell tumors with tigilanol tiglate (EBC - 46) [J]. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 2021, 35(1): 415 - 429.
- [18] Mitchell L, Thamm D, Biller B. Clinical and immunomodulatory effects of toceranib combined with low - dose cyclophosphamide in dogs with cancer [J]. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 2012, 26(2): 55 - 362.
- [19] London C A, Hannah A L, Zadovskaya R, *et al.* Phase I dose - escalating study of SU11654, a small molecule receptor tyrosine kinase inhibitor, in dogs with spontaneous malignancies [J]. *Clinical Cancer Research*, 2003, 9(7): 2755 - 2768.
- [20] Bernabe LF, Portela R, Nguyen S, *et al.* Evaluation of the adverse event profile and pharmacodynamics of toceranib phosphate administered to dogs with solid tumors at doses below the maximum tolerated dose [J]. *BMC Veterinary Research*, 2013, 9(1): 1 - 10.
- [21] Sadowski A R, Gardner H L, Borgatti A, *et al.* Phase II study of the oral selective inhibitor of nuclear export (SINE) KPT - 335 (verdinexor) in dogs with lymphoma [J]. *BMC Veterinary Research*, 2018, 14(1): 1 - 7.
- [22] London C A, Malpas P B, Wood - Follis S L, *et al.* Multi - center, placebo - controlled, double - blind, randomized study of oral toceranib phosphate (SU11654), a receptor tyrosine kinase inhibitor, for the treatment of dogs with recurrent (either local or distant) mast cell tumor following surgical excision [J]. *Clinical Cancer Research*, 2009, 15(11): 3856 - 3865.
- [23] Weishaar K M, Wright Z M, Rosenberg M P, *et al.* Multicenter, randomized, double - blinded, placebo - controlled study of rabacfosadine in dogs with lymphoma [J]. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 2022, 36(1): 215 - 226.
- [24] Gan H K, Millward M, Hua Y, *et al.* First - in - human phase I study of the selective MET inhibitor, savolitinib, in patients with advanced solid tumors: safety, pharmacokinetics, and antitumor activity [J]. *Clinical Cancer Research*, 2019, 25(16): 4924 - 4932.
- [25] Kummar S, Gutierrez M, Doroshov J H, *et al.* Drug development in oncology: classical cytotoxics and molecularly targeted agents [J]. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 2006, 62(1): 15 - 26.
- [26] Saba C F, Vickery K R, Clifford C A, *et al.* Rabacfosadine for relapsed canine B - cell lymphoma: Efficacy and adverse event profiles of 2 different doses [J]. *Veterinary and Comparative Oncology*, 2018, 16(1): E76 - E82.

- [27] Simon R. Optimal two – stage designs for phase II clinical trials [J]. *Controlled Clinical Trials*, 1989, 10(1): 1 – 10.
- [28] Rosner G L, Stadler W, Ratain M J, Randomized discontinuation design: application to cytostatic antineoplastic agents[J]. *Journal of Clinical Oncology*, 2002, 20(22): 4478 – 4484.
- [29] Triozzi P L, Allen K O, Carlisle R R, *et al.* Phase I study of the intratumoral administration of recombinant canarypox viruses expressing B7. 1 and interleukin 12 in patients with metastatic melanoma [J]. *Clinical Cancer Research*, 2005, 11 (11): 4168 – 4175.
- [30] VICH. Guideline on target animal safety for veterinary pharmaceutical products[EB/OL].
- [31] 中华人民共和国农业农村部. 宠物用药物靶动物安全性试验技术指导原则[EB/OL]. 2010.
Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People’s Republic of China. Guidelines for target animal safety of companion animal.
- [32] EMA. Masivet EPAR – Summary for the public[EB/OL]. 2009.
- [33] EMA. Stelfonta; EPAR – Medicine overview[EB/OL]. 2019.
- [34] EMA. Palladia; EPAR – Summary for the public[EB/OL]. 2009.
- [35] Eisenhauer E. Phase I and II trials of novel anti – cancer agents: endpoints, efficacy and existentialism. The Michel Clavel Lecture, held at the 10th NCI – EORTC Conference on New Drugs in Cancer Therapy, Amsterdam, 16 – 19 June 1998 [J]. *Annals of Oncology*, 1998, 9(10): 1047 – 1052.
- [36] Korn E L. Nontoxicity endpoints in phase I trial designs for targeted, non – cytotoxic agents [J]. *Journal of the National Cancer Institute*, 2004, 96(13): 977 – 978.
- [37] Parulekar W R, Eisenhauer E A. Phase I trial design for solid tumor studies of targeted, non – cytotoxic agents: theory and practice[J]. *Journal of the National Cancer Institute*, 2004, 96 (13): 990 – 997.

(编辑:李文平)