

单克隆抗体非临床免疫毒性研究的考虑要点

闫莉萍, 胡晓敏, 郑洪丽, 杨 兰, 曹 萍, 吴 爽, 王海学*

国家食品药品监督管理总局 药品审评中心, 北京 100038

摘 要: 大多数单克隆抗体可诱导免疫反应, 免疫毒性是免疫调节类单克隆抗体主要担心的毒性反应。本文总结了单克隆抗体的免疫毒性特征、免疫毒性的相关因素, 非临床免疫毒性研究与评价的考虑要点。建议在临床前研究阶段应根据单克隆抗体的作用特征, 对药物的免疫毒性进行逐步分层研究, 当需要追加试验时, 应追加研究; 还应体内外研究相结合, 动物种属和人体离体细胞相结合, 多途径进行研究。

关键词: 单克隆抗体; 免疫毒性; 免疫原性; 非临床研究

中图分类号: R994.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376 (2017) 09-1248-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2017.09.010

Considerations on nonclinical studies for immunotoxicity of monoclonal antibodies

YAN Li-ping, HU Xiao-min, ZHENG Hong-li, YANG Lan, CAO Ping, WU Shuang, WANG Hai-xue

Center for drug evaluation, China food and drug administration, Beijing 100038, China

Abstract: Most monoclonal antibodies (mAbs) can induce immune responses. For immunomodulatory mAbs, immunotoxicity is the major toxicity. This article summarizes the characteristics of immunotoxicity, the factors associated with immunotoxicity, and the general considerations of nonclinical studies and evaluations. Before the clinical trials, comprehensive nonclinical studies on immunotoxicity should be step by step conducted based on mAbs' characteristics. If needed, some additional studies should be conducted. Attention should be paid to combination of *in vivo* and *in vitro* studies, combination of animal species and human *ex vivo* cells, and multiple approaches for studies.

Key words: mAbs; immunotoxicity; immunogenicity; nonclinical study

大多数单克隆抗体(简称单抗)可诱导不必要的免疫反应, 这种免疫反应较为复杂, 除了抗药抗体形成的体液免疫应答之外, 免疫细胞活化或抑制都可能产生潜在的免疫毒性^[1-2]。抗药抗体的产生可能改变药物的药动学、药效, 以及可能引起自身免疫疾病、过敏反应等典型的免疫毒性。免疫应答抑制能够导致机体对感染因子或肿瘤细胞的抵抗力下降。免疫应答增强或激发能够导致过敏反应、或者细胞因子释放综合征。随着单抗, 尤其是具有免疫调节作用的单抗在肿瘤和自身免疫疾病领域的广泛应用, 在药物进入临床试验前对免疫毒性进行识别就变得越来越重要。临床前免疫毒性风险识别、安全范围定量数据是临床起始剂量拟定、临床剂量爬坡、临床风险控制的关键支持性数据。本文主要阐

述单抗的免疫毒性特点, 影响免疫毒性的因素, 以及非临床免疫毒性研究与评价的关注点。

1 单抗的免疫毒性特征

单抗具有高度特异性的药理作用、代谢明确、不会生成中间体或有毒代谢物^[3]。单抗分布通常局限在细胞外, 因此其潜在的脱靶毒性较低。单抗不能进入细胞质或者细胞核、不能与 DNA 发生直接作用, 因此没有直接的遗传毒性。与小分子化合物不同, 单抗与 hERG 通道或其他离子通道细胞发生相互作用的可能性较低。因此不需要进行体外遗传毒性试验和评估 QT 间期延长的体外心脏安全药理学试验^[3]。由于特异性高, 单抗的毒性主要来源于因抑制或激活靶抗原而放大的药理作用。在非治疗部位产生毒性的可能性取决于靶向结合的药理作用

收稿日期: 2017-06-10

作者简介: 闫莉萍, 女, 博士, 副主任药师, 主要从事药品技术审评工作。Tel: (010) 68585566 E-mail: yanlp@cde.org.cn

*通信作者 王海学, 男, 博士, 主任药师, 主要从事药品技术审评工作。Tel: (010) 68585566 E-mail: wanghx@cde.org.cn

(激活与抑制),靶抗原的分布、表达水平,靶抗原在正常生理过程中的作用以及单抗Fc段与免疫效应细胞和(或)补体相互作用的可能性^[3-4]。

单抗的免疫毒性在临床上主要表现为细胞或组织损伤、感染或肿瘤、自身免疫性疾病、过敏反应、细胞因子释放综合征(cytokine release syndrome, CRS)、输液反应、肿瘤溶解症等^[1, 2, 4, 5]。输液反应和过敏反应是一组相关症状的临床通用术语,通常包括过敏反应、假性变态反应和CRS。过敏反应一般由抗药IgE抗体介导,需要事先暴露于药物,因而第一次输液时不会发生,除非在罕见的病例中,患者有预先存在的与药物有交叉反应的抗体。假性变态过敏反应为非IgE介导的过敏反应,该反应可能由直接的细胞免疫和补体激活介导。假性变态过敏反应和CRS主要在药物第一次输液时发生,但在随后的给药中也可能发生。这3种类型免疫介导的输液反应的症状重叠,如果没有额外研究的话,很难识别^[4]。

总体上来说,从毒性的发生机制或相关因素可以将单抗的免疫毒性大致分为与Fab相关、与Fc相关以及及产品相关的免疫毒性^[4-5]。

1.1 与Fab相关的免疫毒性

与Fab相关的免疫毒性通常发生在具有免疫调节作用的单抗。免疫毒性通常来自于放大的靶向免疫药理作用,以及非靶向或者与预期的药理作用相关的非预期效应。免疫调节效应是此类单抗临床疗效所需的免疫药理作用,当对免疫靶细胞或者免疫途径产生永久或不可逆改变时就发展为免疫毒性。当药物对靶细胞附近的非靶免疫细胞产生激活或者抑制作用时也会产生免疫毒性。如,长时间使用抑制免疫系统的单抗可能会增加患者感染细菌、病毒、真菌和寄生虫的机率,或者增加病毒导致的癌症(如淋巴瘤)的风险。免疫激发类单抗(如抗CD28单抗、抗CD30单抗)、免疫检查点抑制剂(如抗CTLA4单抗、抗PD1单抗、抗PD-L1单抗)、嵌合抗原受体T细胞相关单抗引起的免疫系统激活可以导致急性CRS、输液反应或过敏反应,以及假性变态反应^[4-5]。

1.2 与Fc相关的免疫毒性

与Fc相关的免疫毒性是指Fc段与FcγRs相互作用介导的免疫不良反应。大致的作用机制包括:与FcγRs相互作用导致靶受体聚集,靶受体聚集使Fab相关的药理学作用放大(免疫活化或抑制);直

接激活带有FcγRs的细胞(如NK细胞、血小板、巨噬细胞),从而导致细胞因子释放;或者激活带有FcγRs的NK细胞、巨噬细胞产生抗体依赖的细胞介导的细胞毒作用(antibody-dependent cellular cytotoxicity, ADCC),抗体依赖性细胞吞噬作用(antibody-dependent cell phagocytosis, ADCP)效应,或通过补体活化产生补体依赖的细胞毒作用(complement-dependent cytotoxicity, CDC)效应,ADCC、ADCP和CDC效应介导靶细胞裂解后可能导致细胞因子释放。

无论研发者还是监管机构在评价单抗的免疫毒性时,均应重点关注Fc效应功能。IgG亚型是Fc效应功能主要的决定因素^[4-5]。有4种IgG亚型,IgG1、IgG2、IgG3和IgG4,其中IgG1、IgG2和IgG4与FcRn相互作用,因此在人体的半衰期较长。IgG3对FcRn具有低亲和力,IgG3抗体的半衰期较短,因此,一般不采用IgG3亚型。IgG1、IgG2和IgG4与免疫效应细胞,如NK细胞,吞噬细胞的FcγRs(FcγRIIIA/CD16、FcγRIIA/CD32A)和补体C1q的结合能力不同,因此诱导ADCC、ADCP和CDC的能力不同。IgG1和IgG3与所有的FcγRs和补体结合,从而具有最大的Fc效应功能。IgG4和IgG2与FcγRs不结合或弱结合,没有或具有微弱的效应功能。IgG2具有很弱的补体活性,而IgG4没有补体活性。研发者应根据适应症的需要选取合适的IgG亚型,对于用于免疫疾病治疗,以及通过作用于免疫细胞用于肿瘤治疗的单抗,应避免ADCC、ADCP和CDC效应,理论上应选用IgG4或者IgG2亚型。但是,IgG4具有不稳定的铰链区,可导致半抗体的产生,这些半抗体的Fab臂在体内有可能与内源性IgG4发生交换。IgG2具有二硫键(S-S)重排导致异构体和二聚体形成的问题。因此,有研究者不选用IgG2和IgG4,而选用经改造后Fc效应功能丧失或变弱的IgG1亚型^[4]。不过,目前上市或在研的大部分免疫调节单抗采用IgG2或IgG4亚型(如抗PD1单抗nivolumab和pembrolizumab,抗IL17A单抗ixekizumab,以及抗PCSK单抗evolocumab)。

1.3 与产品相关的免疫毒性

一般是指抗药抗体介导的不良反应。抗药抗体介导的不良反应一般为IgE介导的过敏反应,免疫复合物疾病如血管炎、肾小球肾炎,内源性蛋白交叉反应或诱导自身免疫疾病^[1, 2, 6]。单抗免疫原性影

响因素除了患者因素外,主要来自于产品,影响免疫原性的产品相关因素包括:来源(表达构建体)和活性物质的性质(结构同源性,翻译后修饰)、结构修饰(如聚乙二醇化、融合蛋白、双特异性抗体、蛋白质与化学药物/部分之间的结合物)、产品相关(如降解产物、杂质、聚合物)和生产过程相关的杂质(宿主细胞蛋白、脂质或DNA、细菌污染物)、制剂(如蛋白质和化学药物/部分之间的结合物)以及配方(辅料)和产品包装(容器、塞子)^[1-2]。

2 单抗非临床免疫毒性研究的总体设计

为了最大限度识别潜在的免疫毒性风险,应在临床前基于药物的结构特点、药理作用、免疫学效应、拟定的适应症、给药方案,设计并进行评价免疫毒性的试验。通过这些研究来选择疗效好、不良反应小的候选药物,并确定临床试验的安全给药方案,包括拟定首次临床试验的起始剂量(对于免疫激动剂和具有严重急性作用的单抗尤其重要)。对于具有免疫调节作用的单抗,由于免疫毒性常与预期的免疫药理相互关联,相互作用,因此,这类单抗的免疫毒性需与免疫药理相结合进行综合评价。总体来说,单抗的免疫毒性非临床评价按照层级包括以下内容:(1)从分子结构,基于常识或者生物信息学进行评估,该评估一般在药物分子初期的结构设计和筛选时进行,评估内容包括脱靶作用、免疫原性以及Fc功能;(2)采用人或动物细胞、组织进行体外或离体研究以评估靶向和脱靶结合,Fc效应功能和免疫原性潜能;(3)在药理学相关种属中进行体内研究。

2.1 体外免疫毒性研究

将体外、体内研究数据结合可以更好地理解单抗预期的免疫药理学和潜在免疫毒性,以及判断潜在的免疫毒性是否能被毒理学试验种属预测。

2.1.1 靶向/非靶向作用 对于免疫调节类单抗,免疫毒性可能来自于靶向作用,当作用于多效免疫功能的靶器官,产生放大或延迟的,治疗不需要的调节作用时就会产生免疫毒性。除了靶向作用,对免疫靶细胞附近的免疫细胞或非免疫细胞的作用也可造成免疫毒性^[4-5]。

单抗与免疫靶点的亲合力和免疫药理学活性可通过体外/离体试验来评价,评价内容包括免疫细胞抑制/激活、消耗或者细胞因子的产生。在临床相关的细胞试验中,应获得完整的免疫效应剂量反应曲线。在评估免疫药效的同时应考虑评估潜在的非

预期免疫效应,如验证一个拮抗作用的单抗没有激动性,或验证受体阻断单抗是否造成免疫细胞消耗。应考虑同时进行人和动物细胞体外试验,并进行比较,可以帮助了解人类相关的免疫药理学是否能在毒理学动物种属(食蟹猴或者啮齿动物)中完全表现出来,判断是否有些人类的潜在免疫毒性无法通过动物进行预测,需要通过人源细胞进行体外试验或早期临床试验来进行评估^[4-5]。

2.1.2 Fc 功能 如上所述,Fc可通过与FcγRs结合介导细胞因子释放等免疫不良反应。临床前应通过体外试验对Fc功能检测。可以在无细胞系统中使用BIAcore对IgG的Fc段与重组人FcγRs(如活化FcγRIIIA和FcγRIIA以及抑制性FcγRIIB)的亲合力进行检测。通常需在细胞水平进一步进行验证,对于ADCC和ADCP细胞试验,靶细胞选择取决于靶抗原的表达,可以考虑采用转染过表达靶抗原的细胞系。对于ADCC测定,免疫效应细胞通常采用经白介素(IL)-2活化后高水平表达FcγRIIIA的原代人NK细胞或NK细胞系。T细胞系经修饰以表达FcγRIIIA并转入报告基因结构,也可用于评估效应子活化程度。ADCP可以在全血或外周血单核细胞培养物中通过流式细胞方法进行评估,可以对细胞群进行绝对定量。CDC可以通过免疫检测直接评估补体C1q与Fc段的结合能力,使用固定相固定的IgG来捕获C1q并用荧光标记的抗C1q抗体进行检测。更常见的是,将表达靶抗原的细胞系或原代细胞与不同浓度的人补体和单抗受试物一起孵育,之后使用与ADCC试验类似的检测方式来进行细胞毒性检测^[4-5]。

2.1.3 细胞因子释放试验 细胞因子释放综合征是免疫激发类单抗普遍的免疫毒性反应。TGN1412(抗CD28单抗)在英国进行的I期临床试验中出现严重的CRS^[7]。这一严重的临床事件后,研究者和监管机构开始高度重视对CRS进行临床前风险识别和临床风险监控。欧洲药物管理局(EMA)发布的指导原则建议不能过于依赖临床前动物体内试验,啮齿类和非人灵长类动物可能不会表现CRS,完整的安全性评价需要整合所有可用的体内和体外试验数据^[8]。美国食品药品监督管理局(FDA)的回顾性分析结果显示,32个免疫激动机制的生物制品中(包含5个双特异性抗体),28个进行了独立的体外人全血单核细胞或人外周血单核细胞细胞因子释放试验^[9]。

如上所述,单抗可通过 Fab 臂介导的靶向/非靶向作用或者 Fc 段与 FcγRs 相互作用而介导细胞因子释放,或通过两者组合来实现。判断是否进行细胞因子释放试验时,应考虑单抗是否与能产生细胞因子/趋化因子的靶抗原细胞表面结合,或与免疫细胞的 FcγRs 结合,或者与能够产生细胞因子/趋化因子的其他细胞类型,如内皮细胞、成纤维细胞结合。当药物具有很强的交联 FcγRs 的能力时,即使靶细胞本身不产生细胞因子也应该考虑进行细胞因子释放试验。将靶生物学和药物作用机制特征的所有信息进行整合可以有助于识别细胞因子释放的可能来源。尽管对于靶向可溶性分子的药物通常不分析细胞因子释放,但存在一些例外,如当存在靶细胞聚合体或者细胞膜上存在靶抗原变异体的情况时,需要考虑进行细胞因子释放试验^[4-5]。由于大量细胞群(如溶瘤综合症)的凋亡/坏死引起的细胞因子释放反应的体外预测是不可行的,因此目前的细胞因子释放试验方法不能检测利妥昔单抗已知的人细胞因子释放。通常它是相应药物的作用机制的一部分,取决于体内因素如肿瘤负荷^[4-5]。

细胞因子释放试验方法的选择应基于细胞因子释放机制进行,应根据上述靶向/非靶向、Fc 效应功能对可能的作用机制进行预测。如果 FcγRs 结合是可能的机制,那么应在包含表达 FcγRs 的细胞(如中性粒细胞和血小板)的全血细胞中进行试验,试验中应加入补体。如果直接靶向 T 细胞的单抗或者靶聚集可能参与细胞因子释放,应采用外周血单核细胞进行试验。如果靶抗原仅在疾病状态(如在肿瘤细胞或活化的效应细胞或自发致病性细胞上)表达或者如果细胞因子释放机制涉及在全血或者外周血单核细胞中不存在的细胞类型之间的协作,那么诸如肿瘤细胞、成纤维细胞、内皮细胞或在活化时过度表达靶标的细胞系或原代细胞可以包含在检测系统中^[10-11]。除了试验系统的考虑,细胞因子释放的动力学是试验分析的重要关注点,可减少由于在错误的时间窗进行分析而导致假阴性的风险。药物的研究应伴有对阳性对照的分析,阳性对照应与受试单抗细胞因子释放预期的机制类似。细胞因子的检测项目应与受试药临床安全性考虑密切相关,无论采用哪种方法,一般来说 IL-2、IL-8、IL-6、IFN-γ 和 TNF-α 是基本的观察指标^[10-11]。

2.1.4 免疫原性 抗药抗体(anti-drug antibody, ADA)对临床的影响主要是降低药效,但有时也会

造成严重的免疫毒性反应。在动物体内试验中除了关注 ADA 的生成,还要关注 ADA 相关的免疫毒性,如 IgE-介导的过敏反应,或免疫复合物疾病(如血管炎、肾小球肾炎)以及与内源性抗体交叉反应或诱导自身免疫。但是,由于多数人源化抗体对于动物种属是外源蛋白,动物体内免疫原性结果对于人体免疫原性的预测性较差。因此,在抗体的早期研发中可考虑采用生物信息学方法或者人源细胞对单抗的免疫原性进行预测。这些评估主要针对免疫识别和激活的关键免疫突触。生物信息学包括通过计算模型来评估可能与人主要组织相容性复合物(major histocompatibility complex, MHC) II 类分子结合的单抗序列,单抗和杂质(聚集体、宿主细胞蛋白)对树突状细胞(dendritic cells, DC)细胞成熟和活化的影响^[3]。采用人天然免疫细胞或者获得性免疫细胞进行的体外分析能够帮助揭示细胞介导的反应。持久的抗体产生需要刺激 CD⁺T 细胞,因此可以用抗原提呈细胞和 T 细胞检测 T 细胞激活以评价蛋白多肽药物的免疫原性。经过多轮体外 T 细胞激活或启动,刺激克隆扩增,再用酶联免疫斑点试验(enzyme-linked immunospot assay, ELISPOT)法检测单细胞细胞因子产生,以反映 T 细胞的激活^[12]。

2.2 体内免疫毒性研究

目前我国没有发布免疫毒性相关指导原则。在国际上, FDA、人用药品注册技术要求国际协调会(international conference on harmonization, ICH) 分别在 2002 年和 2005 年发布了免疫毒性指导原则。在 ICH S6、ICH M3 指导原则中参考 ICH S8 指导原则对免疫毒性进行了较少篇幅的提及。尽管 ICH S8 和 FDA 免疫毒性指导原则将生物制品排除在外,但许多原则和策略也同样适用于单抗^[4, 6, 13]。

ICH S8 指导原则建议在一般毒性试验中观察免疫终点。在有免疫毒性担心、需要追加试验时,进行追加验证试验,如免疫功能试验或宿主防御试验。这些追加试验的考虑因素包括:一般毒性试验结果,药物的药理作用、用药人群、与已知免疫调节剂结果的相似性,药物在免疫器官的分布,临床已知结果。不管单抗是否具有免疫调节作用,所有单抗的免疫毒性均应在一般毒性试验中评估。评价内容包括:血液学白细胞分类计数(包括巨噬细胞)、临床化学(球蛋白和白蛋白:球蛋白比值)、器官质量(胸腺、脾脏、淋巴结)和组织病理学(淋

巴器官和组织)^[13]。与小分子药物不同,由于单抗半衰期长,应观察停药后是否能恢复到正常,是否存在长期不可逆转的免疫毒性作用,因此应设置充分的恢复期来观察药物清除后的毒性反应。

对于免疫调节类单抗,需验证除了免疫药理是否对其他免疫系统具有影响,或者免疫影响的维持时间是否超出了治疗的需求。需要在确认药理作用,如B细胞去除或者T细胞激活的同时,识别与药理作用相关的轻微或者非靶向的非预期免疫毒性。正常动物在毒理学研究中可能只表现出低水平反应,可能有补偿/冗余机制,可以掩盖真正药物作用。免疫组织有改变时,应考虑进行免疫表型分析。对于特异结合免疫细胞或者具有很强Fc效应功能的单抗应检测血清细胞因子,也应考虑检测急性期蛋白、补体、凝血因子、离体淋巴细胞因子激活、离体T细胞的增殖。心电图评估可与细胞因子释放取样同步进行,以评估细胞因子水平升高是否引起心血管方面的改变。对于靶向免疫系统的单抗,即使在预试验中没有免疫状态的改变,可考虑在相关种属中进行的4周或13周一般毒性试验中设置卫星组观察对免疫功能的影响,或者追加单独的研究观察对免疫功能的影响,推荐的观察终点为T细胞依赖性(T cell dependent antibody response, TDAR)^[6,13]。如果在4周和13周试验中观察到免疫抑制,在26周试验中应注意组织病理学观察淋巴增生疾病或者肿瘤风险,可考虑检测单抗对内源性促癌病毒滴度的影响,如检测猴中淋巴滤泡病毒的滴度。免疫抑制剂阿巴西普在猴中可增加淋巴滤泡病毒的滴度,在一只猴子中观察到淋巴瘤。但尚未有阿巴西普在人体诱发淋巴瘤的报道。患者的免疫状态和病毒控制机制可能与正常的毒理学动物不同。或者淋巴瘤可能只在免疫抑制剂单抗长期暴露(多年)后才可能发生。单抗除了免疫抑制或免疫激发外,还可以引起自身免疫疾病或者过敏反应。自身免疫性疾病发病率低,依赖于病人疾病状态、遗传、种族、年龄、环境因素、免疫状况等,这是在动物模型很难复制的。目前尚没有经过验证的自身免疫性疾病动物模型和过敏性动物模型,但可以考虑采用动物模型进行2个抗体的比较研究^[2-3]。

2.3 结果评价

免疫毒性试验结果的评价应包括毒性反应的特征、严重程度、频率、剂量相关性和可恢复性。通常,对于某些潜在的免疫毒性在追加非临床试验

验证的同时,更应考虑在临床研究中控制。免疫药理、免疫毒性数据有助于研究者了解什么免疫药理作用是治疗需要的,什么风险属于免疫毒性。可以有助于制定受试者纳入标准,指导联合用药。对于免疫激发类单抗,由于毒性反应主要来自于免疫毒性,靶向免疫药理反应、免疫毒性如细胞因子释放等试验数据对于首次临床起始剂量的拟定非常重要。此类单抗新药通常基于最低预期生物效应剂量(minimum anticipated biologic effect level, MABLE)进行临床起始剂量的拟定,将拟定的起始剂量与毒性反应剂量,如细胞因子释放剂量相比,评估起始剂量的安全风险。

3 结语

大多数单抗可诱导免疫反应,非药理所需的免疫反应,可对机体造成免疫毒性。产生抗药抗体的免疫原性,可能影响药物的疗效,也有可能产生免疫毒性。免疫毒性主要为细胞或组织损伤、感染或肿瘤、自身免疫性疾病、过敏反应、细胞因子风暴、输液反应、肿瘤溶解症等。对于免疫调节类单抗,免疫反应是药理作用,免疫毒性是主要的毒性反应。应在临床前,基于药物作用特征,对药物的免疫毒性进行逐步分层研究,当需要追加试验时,应进行追加研究。应注意体内外研究相结合,动物种属和人离体细胞相结合,多途径进行研究。

参考文献

- [1] EMEA. Guideline on Immunogenicity assessment of therapeutic proteins [EB/OL]. (2002-10)[2017-04-07]. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2017/06/WC500228861.pdf.
- [2] FDA. Immunogenicity Assessment for Therapeutic Protein Products [EB/OL]. (2014-08)[2017-04-07]. <https://www.fda.gov/downloads/drugs/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm338856.pdf>.
- [3] International Conference on Harmonisation. ICH S6(R1): preclinical safety evaluation of biotechnology-derived pharmaceuticals [EB/OL]. (2011-06-12)[2017-04-02]. http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Safety/S6_R1/Step4/S6_R1_Guideline.pdf.
- [4] Brennan F R, Morton L D, et al. Safety and immunotoxicity assessment of immunomodulatory monoclonal antibodies [J]. MAbs, 2016, 2: 233-255.
- [5] Brennan, F R, Cauvin A, Tibbitts J, et al. Optimized nonclinical safety assessment strategies supporting clinical development of therapeutic monoclonal

- antibodies targeting inflammatory diseases [J]. Drug Dev Res, 2014, 75: 115-161.
- [6] FDA Guidance for Industry Immunotoxicology Evaluation of Investigational New Drugs [EB/OL]. (2002-10)[2017-04-07]. <https://www.fda.gov/downloads/drugs/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm079239.pdf>.
- [7] Goodyear M. Learning from the TGN1412 trial [J]. BMJ, 2006, 332(7543): 677-678.
- [8] EMEA. Guideline on Strategies to Identify and Mitigate Risks for First-In-Human Clinical Trials with Investigational Medicinal Products [EB/OL]. (2007-07)[2017-04-05]. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2016/11/WC500216158.pdf.
- [9] Haleh S, Ramadevi G, Michael M. An FDA oncology analysis of immune activating products and first-in-human dose selection [J]. Regul Toxic Pharmacol, 2016, 81: 448-456.
- [10] Finco D, Grimaldi C, Fort M, et al. Cytokine release assays: current practices and future directions [J]. Cytokine, 2014, 66: 143-155.
- [11] Grimaldi C, Finco D, Fort M M, et al. Cytokine release: A workshop proceedings on the state-of-the-science, current challenges and future directions [J]. Cytokine, 2016, 85: 101-108.
- [12] 王海学, 陆国才, 张子腾, 等. 生物类似药的免疫原性研究与评价技术思考 [J]. 中国药理学杂志, 2015, 50(6): 483-489.
- [13] International Conference on Harmonisation. ICH S8: Immunotoxicity studies for human pharmaceuticals [EB/OL]. (2005-09-15)[2017-04-07]. http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Safety/S8/Step4/S8_Guideline.pdf.