

【 安全性评价 】

注射用重组人成纤维细胞生长因子-21 食蟹猴急性毒性试验研究

项宗尚¹, 宋紫辉¹, 安梦瑶², 吴雅丽¹, 蔡永明¹, 胡金芳^{1*}

1. 天津药物研究院新药评价有限公司, 天津 300301

2. 天津大学, 天津 300350

摘要: **目的** 观察食蟹猴单次 sc 注射用重组人成纤维细胞生长因子-21 (RH-FGF-21) 的急性毒性反应。 **方法** 8 只健康食蟹猴, 随机分成 RH-FGF-21 组和对照组, RH-FGF-21 组 6 只, 对照组 2 只, 均雌雄各半, 分别单次 sc 最大给药浓度和最大给药体积的供试品 RH-FGF-21 (9.0 mg/kg) 和最大体积的对照品灭菌注射用水 (1.0 mL/kg), 给药后连续观察 21 d。在给药前适应期和给药后观察期内进行动物的一般观察 (外观、行为、饮食、反应能力、分泌物和排泄物等)、死亡情况、体重变化、肛温、进食量、眼科和心电图检查、血液学和血液生化学检测、尿液观察和分析; 观察期结束安乐死全部存活动物, 进行组织病理学检查。 **结果** 动物体重、肛温、进食量、心电图检查和眼科检查与同期对照组比较均未见明显异常; 血液学检测、血液生化检测、尿液观察和分析结果、组织病理学检查也未见由药物引起的异常变化。 **结论** 在本试验条件下未发现由药物引起的急性毒性症状, 9.0 mg/kg 可认为是食蟹猴单次 sc RH-FGF-21 的最大给药量。

关键词: 注射用重组人成纤维细胞生长因子-21; 食蟹猴; 急性毒性

中图分类号: R962.2

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376 (2018) 09- 1611 - 06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2018.09.009

Acute toxicity of recombinant human fibroblast growth factor-21 injection in cynomolgus monkey

XIANG Zongshang¹, SONG Zihui¹, AN Mengyao², WU Yali¹, CAI Yongming¹, HU Jinfang¹

1. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research New Drug Assessment Co. Ltd, Tianjin 300301, China

2. Tianjin University, Tianjin 300350, China

Abstract: **Objective** The acute toxicity produced by single sc administration of recombinant human fibroblast growth factor-21 (RH-FGF-21) in cynomolgus monkey. **Method** Eight healthy cynomolgus monkeys were randomly divided into the RH-FGF-21 group and the control group. There were six rats in the RH-FGF-21 group and two in the control group, male and female in half. Rats were treated with a single dose of RH-FGF-21 (9.0 mg/kg) and sterile water (1.0 mL/kg) by sc administration, respectively. During the observation period (21 days), general observations, body weight, local irritation, anus temperature, blood glucose, electrocardiogram (ECG), and eyes were checked, and hematology, serum biochemistry, and urine were also detected. Also, all the surviving animals were euthanized at the end of the observation period for organic weights and histopathological examination. **Results** Compared to the control group, no obvious abnormality was found in general observations, food intake, body weight, anus temperature, ECG, and ophthalmologic examination in the RH-FGF-21 group. No obvious toxicity was observed in hematology, serum biochemistry, urine, and histopathological examination. **Conclusion** Under the experimental conditions, no serious toxicity of RH-FGF-21 was found. It is suggested that the maximum feasible dosage (MFD) for RH-FGF-21 was 9.0 mg/kg in cynomolgus monkey (single sc.).

Key words: recombinant human fibroblast growth factor-21; cynomolgus monkey; acute toxicity

收稿日期: 2018-07-17

基金项目: 国家科技重大新药创制项目 (2015ZX09501004)

第一作者: 项宗尚, 助理研究员, 主要从事药物非临床安全性评价和药代动力学研究工作。E-mail: xiangzs@tjpr.com

*通信作者: 胡金芳, 副研究员, 主要研究方向为药理毒理。Tel: (022)84845248 E-mail: hujf@tjpr.com

成纤维细胞生长因子-21 (FGF-21) 是 FGF 家族的一名新成员, 由 FGF 基因家族成员编码, 具有广泛的生物学活性, 可以调控人体多种内分泌功能^[1-3]。FGF-21 的代谢调节功能与胰岛素类似, 并在很多方面优于胰岛素, 因此, FGF-21 有望成为代替胰岛素治疗糖尿病的新药。FGF-21 除了具有安全、可靠、不依赖胰岛素调节血糖的特点外, 还有调节血脂、减肥和改善胰岛素抵抗等作用, 可以改善与肥胖有关的高血糖和高血脂, 并在饥饿和酮症时发挥关键的调控作用^[4-7]。本试验旨在通过注射用重组人成纤维细胞生长因子-21 (recombinant human fibroblast growth factor-21 injection, RH-FGF-21) 的急性毒性试验, 为该药物的临床应用提供参考依据。

1 材料

1.1 药品及主要试剂

供试品: RH-FGF-21 (批号 20161001, 规格 3 mg/支, 检测含量: 113%, 3.39 mg/支), 药液配制时以检测含量为准, 即按 3.39 mg/支计, 由温州医科大学生物与天然药物开发中心有限公司提供; 对照品: 灭菌注射用水 (批号 1606407, 5 mL/支), 国药集团容生制药有限公司生产。

1.2 实验动物

健康食蟹猴 8 只, 3~4 岁, 体质量为 3.20~4.10 kg, 雌雄各半, 实验动物生产许可证号 SCXK (苏) 2012-0009, 由苏州西山中科实验动物有限公司提供。

1.3 主要仪器

PL203 电子天平, 梅特勒托利多仪器上海有限公司; 日立 7080 全自动生化分析仪, 日立公司; ADVIA2120 血液分析仪, SIMENS 公司; ACL9000 血凝分析仪, 美国贝克曼库尔特公司; OCS-W-100 kg 电子吊秤, 昆山钰恒电子衡量器有限公司; MC-670 电子体温计, OMRON 公司; CONTEC8000 心电工作站, 秦皇岛市康泰医学系统有限公司; URITEST-300 尿液分析仪, 桂林优利特电子集团有限公司; 显微镜, 日本奥林巴斯光学工业株式会社; 脱水机、封闭机、染色装置, Sakura Finetek Japan Co., Ltd; 切片机, 日本大和光机工业株式会社。

2 方法

2.1 剂量设计

RH-FGF-21 对 ob/ob 小鼠降血糖药效学剂量为 0.125、0.375、1.125 mg/kg, 均显示有一定药效且无明显剂量相关性, 按体表面积折合食蟹猴等效剂

量为 0.04、0.11、0.34 mg/kg^[8]。根据 CFDA 《药物单次给药毒性研究技术指导原则》^[9] 要求, 本试验按最大给药量 (MFD) 设计, 即最大给药体积 1.0 mL/kg 和最大给药浓度 9.0 mg/mL, MFD 为 9.0 mg/kg, 该剂量为食蟹猴等效剂量的 82 倍 (以中剂量 0.11 mg/kg 计)。

2.2 分组及给药

8 只健康食蟹猴, 适应期结束后, 参考适应期各监测指标, 随机分成 4 组, 每组 1 雌 1 雄, 其中 1 组为对照组, 另 3 组均为供试品 RH-FGF-21 给药组。即 RH-FGF-21 组 6 只动物 (雌雄各半), 对照组 2 只动物 (雌雄各半), 分别按 MFD 单次 sc 供试品 FGF-21 (9.0 mg/kg) 和对照品灭菌注射用水。

2.3 检测指标

试验期间每天观察动物外观体征及进食量, 于适应期 d-64 (给药前 64 d)、d-2, 给药后观察期内的 d2 (给药后次日)、d7、d14、d21, 各进行体重质量检查; 于适应期 d-12、d-2, 给药后观察期内的 d7、d21 进行肛温、眼科、尿液、血液学、血清生化及心电图检查; 单次给药后观察期结束 (d21 次日) 安乐死全部存活动物, 进行组织病理学检查。

采用尿液分析仪检测食蟹猴尿液的白细胞、酮体、亚硝酸盐、尿胆原、胆红素、蛋白质、葡萄糖、尿比重、隐血和 pH 等项目; 采用心电图机测量心率 (HR)、P 波电压、R 波电压、T 波电压、P-R 间期、QRS 时限、Q-T 间期、ST 段电压。

食蟹猴静脉血经 EDTA-K2 抗凝进行血细胞分析, 用 ADVIA 2120 多物种血液分析仪测定红细胞 (RBC)、血红蛋白 (HGB)、红细胞压积 (HCT)、红细胞平均体积 (MCV)、红细胞平均血红蛋白量 (MCH)、平均红细胞血红蛋白浓度 (MCHC)、网织红细胞 (Retic)、白细胞 (WBC)、及其分类 N、L、M、E、血小板计数 (PLT) 血液学参数; 取新鲜血液枸橼酸钠抗凝血, 采用 ACL9000 型全自动血凝仪测定血浆凝血酶原时间 (PT)、活化部分凝血活酶时间 (APTT) 指标; 取血清, 采用日立 7180 型全自动生化仪测定天冬氨酸氨基转移酶 (AST)、丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、谷氨酰转肽酶 (GGT)、碱性磷酸酶 (ALP)、血尿素氮 (BUN)、血肌酐 (CREA)、总胆固醇 (TCHO)、血糖 (GLU)、总蛋白 (TP)、白蛋白 (ALB)、总胆红素 (TBIL)、三酰甘油 (TG)、肌酸激酶 (CK) 血清生化参数; 同时测定血清中 K^+ 、 Na^+ 、 Cl^- 浓度。

动物剖杀后,对动物的脑、脑垂体、心脏、主动脉、肺、气管、唾液腺、肝、胆囊、胰腺、肾、脾、脊髓、坐骨神经、乳腺、子宫、宫颈、卵巢、输卵管、阴道、前列腺、睾丸、附睾、肾上腺、较远淋巴结、食管、胃、小肠、大肠、膀胱、皮肤、骨骼肌、给药部位皮肤及肌肉、给药相关淋巴结等,进行病理检查;并称量部分脏器质量,计算脏器系数(g湿组织/kg体质量)。

2.4 统计学分析

数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS19.0软件对数据进行统计分析。计量资料采用单因素方差分析或非参数检验,计数资料采用SPSS NPar Tests、Mann-Whitney Test、 χ^2 或等级指数检验。

3 结果

3.1 一般观察

食蟹猴单次sc供试品RH-FGF-21(9.0 mg/kg)和对照品灭菌注射用水后的当日和观察期内,动物的外观、行为、饮食、分泌物和排泄物均未观察到明显异常,也未观察到动物死亡;各试验组的所有

受试动物摄食量检查(包括食欲和食量)也未见明显异常,每次饲喂后动物均能很快吃完定量的食物,表明药物对动物摄食量没有明显影响。

3.2 体质量、肛温

如表1所示,各试验组给药后,在21 d的观察期内,动物体质量和体质量增长率与同期对照组比较无显著性差异。试验期各剂量组食蟹猴动物肛温个体变化范围为37.8~39.6℃,各检测时间点肛温均值与同期对照组比较无显著性差异。表明,按MFD单次sc给予供试品RH-FGF-21后对动物体质量和肛温均无明显影响。

3.3 心电图检查

在21 d的观察期内,测量II导联心电图5个心动周期的HR、P波电压、R波电压、T波电压、P-R间期、QRS时限、Q-T间期及ST段电压等指标,并观察异常指标的出现。结果显示,观察期的d7:给药组P-R间期略短于同期对照组(62.3 ± 3.6 vs 70.5 ± 2.1),具有统计学意义($P < 0.05$),但属正常范围内波动,与药物无关。其他均未见明显异常。见表2。

表1 RH-FGF-21对食蟹猴体质量和体质量增长率的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effect of RH-FGF-21 on body weight and growth rate of body weight of cynomolgus monkeys ($\bar{x} \pm s$)

组别	n/ 只	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	体质量/kg					体质量增长率/%			
			d0	d2	d7	d14	d21	d2	d7	d14	d21
对照	2	—	3.78±0.39	3.83±0.32	3.88±0.32	3.83±0.39	3.88±0.39	1.43±2.02	2.76±2.16	1.33±0.14	2.66±0.27
RH-FGF-21	6	9.0	3.33±0.31	3.45±0.28	3.50±0.29	3.39±0.23	3.44±0.22	3.72±5.51	5.28±7.25	2.00±3.85	3.54±4.74

表2 sc FGF-21对食蟹猴HR和II导联心电图影响($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effect of FGF-21 (single sc) on ECG parameters of cynomolgus monkeys ($\bar{x} \pm s$)

组别	n/ 例	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	给药前 d-2							
			HR/(B·min ⁻¹)	P/mV	R/mV	T/mV	P-R/ms	QRS/ms	Q-T/ms	ST段/mV
对照	2	—	241.00±21.20	0.20±0.02	0.61±0.31	0.37±0.17	68.00±7.10	67.50±10.60	158.00±1.40	0.03±0.01
RH-FGF-21	6	9.0	252.30±23.50	0.16±0.05	0.62±0.28	0.33±0.15	59.70±5.00	69.50±9.50	157.80±14.40	0.04±0.04
组别	n/ 例	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	观察期 d7							
			HR/(B·min ⁻¹)	P/mV	R/mV	T/mV	P-R/ms	QRS/ms	Q-T/ms	ST段/mV
对照	2	—	228.00±5.70	0.17±0.02	0.64±0.04	0.38±0.03	70.50±2.10	64.00±1.40	163.00±5.70	0.08±0.01
RH-FGF-21	6	9.0	251.20±20.20	0.14±0.03	0.50±0.20	0.28±0.08	62.30±3.60*	67.50±6.00	156.80±10.60	0.04±0.03
组别	n/ 例	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	观察期 d21							
			HR/(B·min ⁻¹)	P/mV	R/mV	T/mV	P-R/ms	QRS/ms	Q-T/ms	ST段/mV
对照	2	—	258.00±22.60	0.18±0.00	0.64±0.00	0.34±0.12	64.50±7.80	68.50±2.10	153.50±13.40	0.06±0.05
RH-FGF-21	6	9.0	249.50±17.70	0.16±0.05	0.52±0.24	0.29±0.12	61.50±4.50	68.70±5.60	158.20±10.80	0.03±0.05

与对照组比较: * $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group

3.4 血液学和血液生化检查

食蟹猴单次 sc 供试品 RH-FGF-21 (9.0 mg/kg) 和对照品灭菌注射用水后, 在适应期 d-2 供试品 RH-FGF-21 组 MCH 检测结果的均值略低于同期对照组 (23.48 ± 0.47 vs 24.70 ± 0.99), 具有显著性差异 ($P < 0.05$), 但属正常范围内波动, 且为给药前, 与药物无关; 血清生化方面, 在 21 d 的观察期内, RH-FGF-21 组 d7 的 TG 低于同期对照组 (0.51 ± 0.28 vs 1.46 ± 0.29), 具有显著性差异 ($P < 0.01$); 但与自身给药前和单次给药后观察期 d21 比较无显著性差异, d7 的 TG 差异与同期对

照组个体数少且检测数值偏大有关, 非药物所致。

另外, RH-FGF-21 组适应期 d-2 及观察期 d21 的 GLU 和适应期 d-2 TCHO, 均值略高于同期对照组 ($P < 0.05$), 但属正常范围内波动, 与药物无关。结果见表 3、4。

3.5 尿常规检查

食蟹猴单次 sc 供试品 FGF-21 (9.0 mg/kg) 和对照品灭菌注射用水后, 肉眼观察动物尿液外观颜色呈淡黄色或黄色, 未见浑浊等异常现象。经尿液分析检测其白细胞、酮体、亚硝酸盐、尿胆原、胆红素、蛋白质、葡萄糖、尿比重、隐血和 pH 值等

表 3 单次 sc FGF-21 对食蟹猴动物血液学指标的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effect of FGF-21 (single sc) on hematological indexes of cynomolgus monkeys ($\bar{x} \pm s$)

组别	n/例	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	药前（适应期 d-2）							
			WBC/(×10 ⁹ ·L ⁻¹)	N/%	L/%	M/%	E/%	RBC/(×10 ¹² ·L ⁻¹)	Hb/(g·L ⁻¹)	HCT/%
对照	2	—	13.27±3.78	34.15±12.23	56.80±8.91	5.35±2.90	1.80±0.85	5.18±0.20	128.00±0.00	43.65±0.78
RH-FGF-21	6	9.0	10.65±3.05	35.15±15.90	58.50±16.13	3.47±0.82	1.07±0.56	5.66±0.30	132.83±5.56	44.70±2.22
组别	n/例	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	给药期 d7							
			WBC/(×10 ⁹ ·L ⁻¹)	N/%	L/%	M/%	E/%	RBC/(×10 ¹² ·L ⁻¹)	Hb/(g·L ⁻¹)	HCT/%
对照	2	—	14.78±2.83	37.70±16.40	57.55±17.61	2.75±0.92	0.65±0.07	4.92±0.33	113.00±5.66	39.65±0.35
RH-FGF-21	6	9.0	10.64±3.29	50.73±11.81	42.95±10.02	4.03±2.19	0.97±0.73	4.96±0.26	113.50±6.72	39.72±3.32
组别	n/例	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	给药期 d21							
			WBC/(×10 ⁹ ·L ⁻¹)	N/%	L/%	M/%	E/%	RBC/(×10 ¹² ·L ⁻¹)	Hb/(g·L ⁻¹)	HCT/%
对照	2	—	10.77±0.23	24.80±4.24	67.15±5.44	4.15±0.35	1.60±0.71	5.10±0.65	120.00±11.31	40.45±2.90
RH-FGF-21	6	9.0	10.16±2.47	35.43±16.36	56.87±16.13	4.78±1.94	1.28±0.70	5.05±0.39	120.33±8.91	40.43±2.73
组别	n/例	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	药前（适应期 d-2）							
			MCV/fL	MCH/Pg	MCHC/(g·L ⁻¹)	PLT/(×10 ⁹ ·L ⁻¹)	Ret/%	PT/s	APTT/s	
对照	2	—	84.30±1.70	24.70±0.99	293.00±5.66	464.00±104.65	1.54 ± 0.37	10.90 ± 0.99	27.00±1.84	
RH-FGF-21	6	9.0	79.15±3.75	23.48±0.47 [*]	297.33±11.57	396.83±43.58	1.59 ± 0.26	11.12 ± 1.40	25.62±3.31	
组别	n/例	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	给药期 d7							
			MCV/fL	MCH/Pg	MCHC/(g·L ⁻¹)	PLT/(×10 ⁹ ·L ⁻¹)	Ret/%	PT/s	APTT/s	
对照	2	—	80.85±4.88	23.00±0.28	284.50±13.44	484.00±154.15	2.64±0.37	10.00±0.42	24.80±1.70	
RH-FGF-21	6	9.0	80.12±5.96	22.92±0.95	286.67±15.23	466.33±83.86	3.18±1.09	10.03±0.79	24.37±2.00	
组别	n/例	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	给药期 d21							
			MCV/fL	MCH/Pg	MCHC/(g·L ⁻¹)	PLT/(×10 ⁹ ·L ⁻¹)	Ret/%	PT/s	APTT/s	
对照	2	—	79.60±4.53	23.55±0.78	296.50±7.78	473.00±140.01	2.34±1.26	11.00±0.14	27.90±0.57	
RH-FGF-21	6	9.0	80.20±4.16	23.80±0.99	297.00±8.05	426.00±62.71	2.07±0.45	11.82±1.38	27.02±2.61	

与对照组比较: * $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group

表4 单次 sc FGF-21 对食蟹猴动物血液生化指标的影响 ($\bar{x} \pm s$)Table 4 Effect of FGF-21 (single sc) on blood biochemical indexes of cynomolgus monkeys ($\bar{x} \pm s$)

组别	n/ 例	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	药前(适应期 d-2)							
			ALT/ (U·L ⁻¹)	AST/ (U·L ⁻¹)	ALP/ (U·L ⁻¹)	BUN/ (mmol·L ⁻¹)	Crea/ (μmol·L ⁻¹)	TP/ (g·L ⁻¹)	ALB/ (g·L ⁻¹)	GLU/ (mmol·L ⁻¹)
对照	2	—	61.65±46.32	52.40±20.36	404.45±212.91	7.04±0.11	93.60±5.66	78.50±9.62	39.40±0.28	2.95±1.65
RH-FGF-21	6	9.0	46.23±12.54	54.25±5.17	284.98±128.49	7.34±1.77	96.05±13.46	77.27±2.60	41.72±2.91	5.09±0.88*
组别	n/ 例	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	给药期 d7							
			ALT/ (U·L ⁻¹)	AST/ (U·L ⁻¹)	ALP/ (U·L ⁻¹)	BUN/ (mmol·L ⁻¹)	Crea/ (μmol·L ⁻¹)	TP/ (g·L ⁻¹)	ALB/ (g·L ⁻¹)	GLU/ (mmol·L ⁻¹)
对照	2	—	96.75±41.37	77.50±20.08	397.90±159.81	7.55±1.09	97.65±7.85	77.80±4.67	39.50±2.69	5.88±1.56
RH-FGF-21	6	9.0	78.05±48.16	72.63±36.87	286.42±133.56	7.11±1.56	96.68±14.20	71.97±3.99	41.77±3.00	5.11±1.58
组别	n/ 例	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	给药期 d21							
			ALT/ (U·L ⁻¹)	AST/ (U·L ⁻¹)	ALP/ (U·L ⁻¹)	BUN/ (mmol·L ⁻¹)	Crea/ (μmol·L ⁻¹)	TP/ (g·L ⁻¹)	ALB/ (g·L ⁻¹)	GLU/ (mmol·L ⁻¹)
对照	2	—	64.75±21.00	50.40±23.90	292.20±136.75	5.90±0.57	83.20±4.53	77.40±6.93	39.50±0.71	3.09±0.12
RH-FGF-21	6	9.0	90.83±128.72	55.83±23.54	254.33±121.32	6.79±1.43	91.10±8.32	71.23±2.41	40.70±3.43	4.91±0.95*
组别	n/ 例	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	药前(适应期 d-2)							
			TCHO/ (mmol·L ⁻¹)	TBIL/ (μmol·L ⁻¹)	TG/ (mmol·L ⁻¹)	CK/ (U·L ⁻¹)	GGT/ (U·L ⁻¹)	Na ⁺ / (mmol·L ⁻¹)	K ⁺ / (mmol·L ⁻¹)	Cl ⁻ / (mmol·L ⁻¹)
对照	2	—	2.31±0.87	1.50±0.86	0.30±0.09	254.10±157.54	53.95±16.48	147.40±1.56	5.42±1.00	110.45±0.92
RH-FGF-21	6	9.0	4.18±0.85*	1.59±0.59	0.47±0.31	335.38±221.49	68.45±72.23	147.63±2.73	5.58±0.67	108.68±2.07
组别	n/ 例	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	给药期 d7							
			TCHO/ (mmol·L ⁻¹)	TBIL/ (μmol·L ⁻¹)	TG/ (mmol·L ⁻¹)	CK/ (U·L ⁻¹)	GGT/ (U·L ⁻¹)	Na ⁺ / (mmol·L ⁻¹)	K ⁺ / (mmol·L ⁻¹)	Cl ⁻ / (mmol·L ⁻¹)
对照	2	—	3.04±0.16	2.19±0.90	1.46±0.29	246.05±4.17	34.65±8.70	147.90±1.41	4.41±0.98	108.75±0.49
RH-FGF-21	6	9.0	3.35±1.05	1.89±0.72	0.51±0.28**	203.20±115.50	73.45±73.65	147.18±3.88	4.89±0.32	111.15±2.90
组别	n/ 例	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	给药期 d21							
			TCHO/ (mmol·L ⁻¹)	TBIL/ (μmol·L ⁻¹)	TG/ (mmol·L ⁻¹)	CK/ (U·L ⁻¹)	GGT/ (U·L ⁻¹)	Na ⁺ / (mmol·L ⁻¹)	K ⁺ / (mmol·L ⁻¹)	Cl ⁻ / (mmol·L ⁻¹)
对照	2	—	3.16±0.42	2.41±0.82	0.40±0.14	205.65±8.98	34.30±0.61	149.35±3.75	5.20±0.18	110.25±1.06
RH-FGF-21	6	9.0	3.53±1.05	2.11±0.80	0.35±0.15	231.02±66.44	74.12±71.43	149.20±4.51	4.89±0.16	110.88±3.32

与对照组比较: *P<0.05 **P<0.01

*P<0.05 **P<0.01 vs control group

各项指标也未见与药物相关的异常变化。

3.6 脏器质量和组织病理学检查

给药结束及恢复期结束剖检可见, 各只动物毛顺, 有光泽, 营养状况良好; 胸、腹膜光滑, 胸、腹腔内未见积液、粘连, 被检脏器形态、颜色、位置等未见肉眼可见的病理改变。

镜下检查发现, 组织病理学检查见给药组 6 只动物中, 胸腺 1 例局部囊肿; 肝脏 1 例汇管区炎细胞浸润, 1 例散在点、灶状坏死, 2 例肝细胞轻度空泡变性, 1 例局部钙化灶伴纤维组织包裹; 甲

状腺 1 例少数滤泡囊性扩张; 甲状旁腺 1 例局部囊肿。上述病变的程度较轻, 且是动物常见背景性病变, 根据病变性质和发生情况分析是动物自发性病变, 而非供试品的毒性反应。动物的其他脏器均未发现明显由供试品 RH-FGF-21 引起的组织病理学改变。

4 讨论

新药非临床评价是药物从药学研究进入临床试验的重要环节, 为预测药物临床应用提供科学依据, 而急性毒性试验则是为药效学及其他毒理试验剂量

设计提供必要的参考^[10-11]。人类与食蟹猴的生理特征较接近,且食蟹猴为常规非啮齿类动物,各种背景生物学资料丰富,因此本试验选用食蟹猴进行急性毒性试验。

FGF-21 是广泛存在于多种组织中的一类多肽因子,能影响多种细胞的生长、分化及功能,具有广泛的临床研究价值^[12-13]。研究表明,FGF-21 可以独立于胰岛素摄取葡萄糖,并与胰岛素有协同作用,可以显著降低血糖及血脂水平,改善脂代谢,刺激胰岛素分泌,显示出潜在的糖尿病治疗作用。有望成为与胰岛素替代、竞争或联合用药的 2 型糖尿病治疗的一线药物^[14-15]。

本研究进行了 RH-FGF-21 临床前安全性评价中急性毒性试验,由于前期文献调研结果显示,FGF-21 可有效调节患有糖尿病人的血糖,抵抗糖尿病有显著疗效。因此本试验中特别关注了 RH-FGF-21 对正常食蟹猴心电图、血液学和血液生化影响。实验结果显示,心电图统计中除了观察期的 d7 的 P-R 间期略短于同期对照组,但也在正常范围内波动,其他均未见明显异常;血液生化统计中 d7 的 TG 低于同期对照组,但与自身给药前和单次给药后观察期 d21 相比无显著性差异,d7 的 TG 差异与同期对照组个体数少且检测数值偏大有关,非药物所致;另外,适应期 d-2 及观察期 d21 的 GLU 和适应期 d-2 TCHO,均值略高于同期对照组,但属正常范围内波动,与药物无特定的相关性,考虑应为动物的偶发生理现象。本试验证明 FGF-21 对正常动物没有降糖作用,对心脏功能也没有影响,今后在试验中可更多的关注 RH-FGF-21 对血糖血脂的调节。

参考文献

[1] 徐琳,周博,孙宏志. 成纤维细胞生长因子 21 的

研究进展 [J]. 医学综述, 2010, 16(19): 2918-2920.

[2] 尹彬彬,王蕾,宋莹,等. FGF-21 的研究进展 [J]. 吉林医药学院学报, 2011, 32(4): 226-229.

[3] Tomiyama K, Maeda R, Urakawa I, et al. Relevant use of Klotho in FGF 19 subfamily signaling sysproc [J]. Natl Acad Sci USA, 2010, 107: 1666-1671.

[4] 王会岩,张耀方,方晓珊,等. 人成纤维细胞生长因子-21 分泌型表达及鉴定 [J]. 吉林农业大学学报, 2009, 31(3): 255-272.

[5] 张健,李婷婷,唐禄珊,等. 重组人成纤维细胞生长因子-21 降糖作用研究 [J]. 中国药理学通报, 2009, 28(5): 632-639.

[6] Muise E S, Azzolina B, Kuo D W, et al. Adipose fibroblast growth factor 21 is up-regulated by peroxisome proliferator-activated receptor gamma and altered metabolic states [J]. Mol Pharmacol, 2008, 74(2): 403-412.

[7] Woo Y, Xu A, Wang Y, et al. Fibroblast growth factor 21 as an emerging metabolic regulator: clinical perspectives [J]. Clin Endocrinol (Oxf), 2013, 78(4): 489-496.

[8] 徐叔云,卞如濂,陈修. 药理实验方法学 [M]. 第 3 版. 北京:人民卫生出版社, 2001.

[9] 药物单次给药毒性研究技术指导原则 [S]. 2014.

[10] 吕秋军,丁林巨. 生物技术药物临床前安全性评价研究进展 [J]. 中国新药杂志, 2001, 10(4): 252-256.

[11] 黄芳华,王庆利.《药物单次给药毒性研究技术指导原则》解读 [J]. 中国新药杂志, 2015, 4: 386-389.

[12] 朱建丽. 成纤维细胞生长因子安全性研究进展 [J]. 海峡药学, 2009, 6(1): 55-58.

[13] 张健,李婷婷,唐禄,等. 成纤维细胞生长因子 21 降糖作用研究 [J]. 中国药理学通报, 2012, 28(5): 632-636.

[14] Kong L J, Feng W, Wright M, et al. FGF21 suppresses hepatic glucose production through the activation of atypical protein kinase C α [J]. Eur J Pharmacol, 2013, 702(1-3): 302-308.

[15] 张林,安振梅. 成纤维细胞生长因子-21 与糖尿病 [J]. 国际内分泌代谢杂志, 2008, 28(3): 174-176.