

· 临床研究 ·

# 不同剂量重组人源抗狂犬病病毒单克隆抗体注射液人体单次给药的安全性

王美霞<sup>1</sup>, 贾敏<sup>1</sup>, 金铭<sup>1</sup>, 韩靖<sup>1</sup>, 段瑾<sup>1</sup>, 王立清<sup>1</sup>, 金荣华<sup>1</sup>, 李宁<sup>1</sup>, 姚家琳<sup>2</sup>,  
李玉凤<sup>2</sup>, 张静<sup>2</sup>, 魏敬双<sup>2</sup>, 赵伟<sup>2</sup>

1. 首都医科大学附属北京佑安医院 国家药物临床试验机构办公室 北京 100069 ;
2. 华北制药集团新药研究开发有限责任公司 河北 石家庄 050015

**摘要：**目的 观察不同剂量重组人源抗狂犬病病毒单克隆抗体(recombinant human rabies immunoglobulin rhRIG)注射液人体单次给药的安全性。方法 采用随机、单盲、安慰剂平行对照的方法,对成功筛选的 48 名健康受试者按照随机数字表进行分组,共分低、中、高 3 个 rhRIG 单次给药组(10、20、40 IU/kg),每组 12 人,每个剂量组均按 3:1 设 1 个安慰剂(rhRIG 的赋形剂)平行对照组,每组 4 人,依次经上臂三角肌( $\leq 2$  ml)、臀大肌( $\leq 10$  ml)和大腿外侧肌肉(剩余药液)进行肌肉注射。分别在筛选期(入组用药前 14 d 内)、用药后 7、14 和 42 d 记录不良事件(adverse event AE)、严重不良事件(serious adverse events SAE)、局部反应、全身反应的发生情况,并进行生命体征、实验室(血常规、尿常规、血生化)、心电图、胸片、腹部 B 超检查。结果 不同剂量 rhRIG 组中共发生 7 例次 AE,分别为谷氨酰转氨酶、天门冬氨酸转氨酶和谷氨酰转氨酶升高、血白细胞下降、上呼吸道感染、宫外孕,其中宫外孕判断为 SAE。上述 AE 均判断与试验药物无关或可能无关。对照组未发生任何 AE/SAE。所有受试者用药后生命体征均未见异常改变。结论 受试者单次肌肉注射 10~40 IU/kg rhRIG 后耐受性良好。

**关键词：**狂犬病 狂犬病病毒 单克隆抗体 药物耐受性

中图分类号：R373.9 R392.33 文献标识码：A 文章编号：1004-5503(2013)07-0986-05

## Safety of a single injection with recombinant human rabies immunoglobulin at various dosages in humans

WANG Mei-xia\*, JIA Min, JIN Ming, HAN Jing, DUAN Jin, WANG Li-qing, JIN Rong-hua,  
LI Ning, YAO Jia-lin, LI Yu-feng, ZHANG Jing, WEI Jing-shuang, ZHAO Wei

\*State Drug Clinical Trial Institution, Beijing Youan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100069, China

Corresponding author: LI Ning, E-mail: youangcp@163.com

**Abstract :** **Objective** To observe the safety of a single injection with different dosages of recombinant human rabies immunoglobulin (rhRIG) in humans. **Methods** A randomized, single-blind, placebo-control method was utilized. Forty-eight health adult participants were divided into three groups, 16 for each. Twelve participants in each of three groups were injected i. m. with rhRIG at low(10 IU/kg), moderate (20 IU/kg) and high (40 IU/kg) dosages groups, respectively, while the other four with the excipient of rhRIG as placebo. The rhRIG was injected in deltoid in upper arm (not more than 2 ml), gluteus maxiumus (not more than 10 ml) and musculus vastus lateralis (the remained rhRIG) in turn. The occurrences of adverse events (AEs), serious adverse events (SAEs) as well as local and systemic reactions were observed within 14 d before injection and 7, 14 and 42 d after injection, while the vital signs were observed, and the participants were subjected to laboratory examination (blood routine examination, urine routine examination and blood biochemistry), ECG, chest radiography and abdomen B ultrasonography. **Results** Seven cases of AEs were observed in various dosage groups, including the elevations of ALT, AST and GGT, decrease in white blood cell count, upper respiratory tract infection and ectopic pregnancy which was judged as SAE, all of which were judged as irrelevant or possibly irrelevant to rhRIG. No AE/SAE was observed in any control groups. No abnormal changes of vital signs were observed in the participants. **Conclusion** A single administration of 10~40 IU/kg rhRIG by intramuscular injection was well-tolerated in healthy adults.

**Key words :** Rabies; Rabies virus; Monoclonal antibody; Drug tolerance

通讯作者:李宁 E-mail youangcp@163.com

狂犬病是由狂犬病病毒所引起的自然疫源性或动物源性人畜共患急性传染病,该病流行范围广,病死率几近 100%,对人民生命健康造成了严重威胁<sup>[1-2]</sup>。

对于狂犬病暴露后预防,WHO 推荐 类暴露者在接种疫苗的同时,要在伤口周围浸润注射和肌肉注射马抗狂犬病血清(equine rabies immune globulin, ERIG)或人免疫球蛋白(human rabies immune globulin, HRIG),我国在疑似狂犬病暴露后,也采取 WHO 推荐的措施进行处理<sup>[3-5]</sup>。但 HRIG 来源有限,且价格昂贵,而马血清制品则易发生严重的过敏反应,因此有必要用重组单克隆抗体取代抗狂犬病病毒血清抗体。

目前,荷兰 Crucell 公司研发的抗狂犬病病毒单克隆抗体 CL184 已完成 期临床试验,并取得了预期结果。本次临床试验所用重组人源抗狂犬病病毒单克隆抗体(recombinant human rabies immunoglobulin, rhRIG)NM57 的基因序列来源于美国 THOMAS JEFFERSON 大学 Dietzschold 教授的发明专利(WO 03/016501, PCT/US2002/026584),华北制药集团新药研究开发有限责任公司已取得该专利在中国的独家使用权。

本次实验观察了 rhRIG 人体单次给药的安全性,现报道如下。

## 1 对象与方法

**1.1 观察对象** 以张贴招募广告及网上发布招募信息的方式招募在北京工作的健康成年人,要求 18~45 周岁,未接种过狂犬病疫苗。征得本人同意并签署知情同意书。

**排除标准:**认为不能遵守临床试验方案的要求者;对研究产品的任何组成成分过敏;有药物过敏史,尤其对疫苗、血清、免疫球蛋白、抗体等生物制剂过敏者;经询问病史或体检,有心、肝、肾、血液、消化道、神经系统、精神异常及代谢异常等病史者;近 3 个月内献血或作为受试者被采血者;试验前 1 个月内接种过如免疫球蛋白等预防制品者;2 周内使用过任何药物者;有嗜酒不良习惯者;哺乳期妇女;体重 < 50 kg,体重指数(body mass index, BMI) < 19 或 BMI > 24 者;接种过狂犬病疫苗者(血清抗体水平 > 阳性对照的 A 值);已知免疫学功能损伤者;已知活动性感染者(如乙肝、丙肝、HIV 感染者);尿妊娠试验结果阳性者;研究者认为有可能影响试验评估的任何情况者。

**1.2 rhRIG 注射液和安慰剂** rhRIG 注射液[500 IU/(瓶·2.5 ml),批号 20090704,200 IU/(瓶·1.0 ml),批号 20090703]和安慰剂[rhRIG 的赋形剂,2.5 ml/瓶的批号 20090702;1.0 ml/瓶的批号 20090701]均由华北制药集团新药研究开发有限责任公司研制,水针剂型,有效期至 2011 年 6 月,于 2~8℃暗处保存,在冷藏条件下运输。

**1.3 分组及给药** 采用随机、单盲、安慰剂平行对照的方法,对筛选的 48 名健康受试者按照随机数字表进行分组,共分低、中、高 3 个 rhRIG 单次给药组(10、20、40 IU/kg),每组 12 人,每个剂量组均按 3:1 设 1 个安慰剂平行对照组,每组 4 人。试验从 10 IU/kg 至 20 IU/kg 至 40 IU/kg 顺序递增进行,在上一个剂量组至少 4 名 rhRIG 组受试者完成给药,并至少观察 7 d 后,如未出现严重不良反应,可进行下一个剂量组的试验。

**给药方法** rhRIG 组:分别按照 10、20、40 IU/kg 计算给药剂量,依照给药体积依次经上臂三角肌(≤ 2 ml)、臀大肌(≤ 10 ml)和大腿外侧肌肉(剩余药液)进行肌肉注射;对照组按照 3 个 rhRIG 组的给药剂量(10、20、40 IU/kg)和每 ml 注射液含 200 IU 抗体换算,3 个对照组的注射剂量分别为 0.05、0.1、0.2 ml/kg,注射部位及各部位注射体积与 rhRIG 组相同。

**1.4 安全性观察** 随访期共 42 d,分别在筛选期(入组用药前 14 d 内)、用药后 7、14 和 42 d 记录不良事件(adverse event, AE)、严重不良事件(serious adverse events, SAE)、局部反应、全身反应的发生情况;并进行生命体征、实验室(血常规、尿常规、血生化)、心电图、胸片、腹部 B 超检查。

## 2 结果

**2.1 人口学资料及基线分析** 10、20、40 IU/kg rhRIG 组各有 12 人入组,3 个平行对照组各有 4 人入组,均完成试验,10 IU/kg rhRIG 组 11 号受试者因用药前血药浓度不为 0,且 18.432 ng/ml > 5% C<sub>max</sub>,因此只入 SS 集进行安全性分析,不做 PK 分析。所有受试者入组时均符合纳入标准,年龄、体重指数、性别、生命体征组间无明显差别。

### 2.2 安全性分析

**2.2.1 AE 发生情况** 10、20、40 IU/kg rhRIG 组分别有 1、3、3 例 AE 发生,对照组均未发生 AE。各组 AE 名称及例数见表 1,各 AE 的程度及其与试验用药相关性判断结果见表 2。

表 1 AE 分类

Tab 1. Classification of AEs

rhRIG 剂量 (IU/kg)	谷氨酸氨基 转移酶升高	天门冬氨酸 氨基转移酶升高	谷氨酰 转肽酶升高	尿隐血阳性	血白细胞下降	扁桃体炎	淋巴结炎	上呼吸道感染	宫外孕
10									
例数	0	0	0	0	0	0	0	0	1
例次	0	0	0	0	0	0	0	0	1
20									
例数	2	2	1	0	1	0	0	0	0
例次	2	2	1	0	1	0	0	0	0
40									
例数	1	1	0	1	0	1	1	1	0
例次	1	1	0	1	0	1	1	1	0

表 2 AE 详细列表

Tab 2. Detail list of AEs

受试者 编号	rhRIG 剂量 (IU/kg)	AE 名称	发生时间	程度	采取措施	与试验药品 的相关性	是否 为 SAE	结局	消失时间	是否退 出试验
14	10	宫外孕	2010-12-1 15 :30	极重度	需同时应用药物治疗 ; 需给予非药物治疗 ; 住院治疗 / 延长住院时间	无关	是	消失	2010-12-3 17 :30	否
19	20	血白细胞下降	2010-8-10 12 :50	轻度	未采取措施	无关	否	消失	2010-8-17 12 :59	否
25	20	谷氨酸氨基 转移酶升高	2010-9-7 13 :39	轻度	需给予非药物治疗	可能无关	否	消失	2010-10-19 11 :35	否
25	20	天门冬氨酸氨 基转移酶升高	2010-9-7 13 :39	轻度	需给予非药物治疗	可能无关	否	消失	2010-9-14 13 :43	否
27	20	谷氨酸氨基 转移酶升高	2010-9-1 14 :10	中度	需同时应用药物治疗	无关	否	消失	2010-9-14 13 :43	否
27	20	天门冬氨酸氨 基转移酶升高	2010-9-1 14 :10	中度	需同时应用药物治疗	无关	否	消失	2010-9-7 13 :40	否
27	20	谷氨酰转肽 酶升高	2010-9-1 14 :10	中度	需同时应用药物治疗	无关	否	缓解	-	否
39	40	谷氨酸氨基 转移酶升高	2010-9-21 13 :31	中度	需给予非药物治疗	无关	否	消失	2010-12-8 09 :40	否
39	40	天门冬氨酸氨 基转移酶升高	2010-11-9 11 :59	轻度	需给予非药物治疗	无关	否	消失	2010-12-8 09 :40	否
44	40	尿隐血阳性	2010-11-9 11 :55	轻度	未采取措施	可能无关	否	无变化	-	否
48	40	扁桃体炎	2010-12-1 00 :00	重度	需同时应用药物治疗	无关	否	消失	2010-12-2 00 :00	否
48	40	淋巴结炎	2010-12-1 00 :00	重度	需同时应用药物治疗	无关	否	消失	2010-12-2 00 :00	否
48	40	上呼吸道感染	2010-12-8 00 :00	中度	需同时应用药物治疗	无关	否	消失	2010-12-12 00 :00	否

表中 7 例次 AE 分别为低剂量组出现 1 例宫外孕 ,是在即将完成最后 1 次访视的前 1 周发现的 ,经手术治疗 ,受试者痊愈 ,最后 1 次访视由受试者家属在施行手术的医院按照要求抽血后 ,送至我机构完成 ,该 SAE 判断为与试验药物无关。中剂量组出现 3 例次 AE ,分别为 :① 1 名受试者在给药后 14 d 出

现血白细胞轻度降低( $3.07 \times 10^9$  个 /L) ,未给予任何处理 ,1 周后复查时恢复正常 ,根据 AE 与药物相关性判断标准 ,判断为与试验药物无关 ;② 1 名受试者在给药后 14 d 出现谷氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase ,ALT)和天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase ,AST)轻度升高 ,分别为 58

和 50 U/L,而在筛选期分别为 28 和 23 U/L,经追问,受试者在访视前 1 周连续几天做搬运工作,属于重体力劳动,考虑肝酶升高可能与此相关,因此判断可能与试验药物无关,嘱受试者多休息,未给予药物治疗,1 周后复查,ALT 下降至 51 U/L,AST 恢复正常,在随后的访视中肝酶均正常;③ 另 1 名受试者在给药后第 7 天出现 ALT、AST 和谷氨酰转肽酶( $\gamma$ -glutamyl transpeptidase, GGT)中度升高,分别为 111.3、45.6 和 159.1 U/L,经追问,受试者在随访化验前 1 天有大量饮酒史,因伴有 GGT 平行升高,符合酒精性肝损伤特点,因此判断与试验药物无关,口服复方益肝灵 1 次 3 片治疗,于 1 周后复查,肝酶均恢复正常。高剂量组出现 3 例次 AE,分别为:① 1 名受试者在给药后 1 周出现 ALT 轻度增高,为 65.3 U/L,未给予治疗,于给药后 14 d 复查 ALT 下降至 52.7 U/L,于给药后第 56 天第 13 次随访时,再次出现 ALT 和 AST 轻度升高,分别为 72.9 和 43.9 U/L,同样未给予治疗,在第 84 天最后 1 次访视时 ALT 降至 40.2 U/L,接近正常值上限,AST 已恢复正常,经追问,受试者既往常出现 ALT 轻度升高,并能自行恢复正常的情况,因此判断本次肝酶升高与试验药物无关;② 1 名受试者在给药后 1 周出现尿隐血阳性(++) ,属于轻度异常,未给予治疗,随访至试验结束仍为(+) ,经追溯,筛选入组时也为(+) ,当时因受试者处于经期,未认为异常,用药前后一直为阳性,因此判断可能与试验药物无关,嘱受试者出组后去泌尿专科就诊,以便进一步诊断;③ 1 名受试者在给药后 14 d 出现扁桃体炎和淋巴结炎,给予抗生素和抗病毒药治疗 2 d,略有好转,之后 1 周又出现上呼吸道感染症状,给予肺宁颗粒和金感胶囊治疗 4 d 后,上述症状消失,因此判断与试验药物无关。

**2.2.2 生命体征及实验室检查结果** 所有受试者用药后生命体征均未见异常改变,均未发生国家食品药品监督管理局(State Food and Drug Administration, SFDA)2005 年 10 月 14 日发布的《预防用疫苗临床试验不良反应分级标准指导原则》中提及的注射部位局部反应和全身反应。用药后实验室指标检查异常,有临床意义者均已记录为 AE,详见 2.2.1 项。用药后均未出现心电图、胸片及腹部 B 超结果异常。

### 3 讨论

狂犬病的防控以动物免疫为上策,国外已研发出不同疫苗,用于自然界常见动物宿主的主动免疫,

如浣熊、土狼等<sup>[6]</sup>。中国疾病预防控制中心(Chinese Center for Disease Control and Prevention, CDC)最近的一篇流行病学调查显示,狂犬病的发病率近年有下降趋势<sup>[7]</sup>,但因其几近 100% 的致死率,对该病的控制仍然刻不容缓。暴露后注射狂犬病疫苗和人源抗狂犬病免疫球蛋白是降低狂犬病致死率的最可靠方法。鉴于人源抗狂犬病免疫球蛋白来源较紧缺,制备成本较高,对重组免疫球蛋白的研发十分必要,荷兰 Crucell 公司研发的 CL184<sup>[8]</sup>以及印度血清研究所研发的 SH RMab<sup>[9]</sup>均为重组抗狂犬病病毒单克隆抗体,目前已在进行临床试验。

本次观察中 rhRIG 剂量的设定参考荷兰 Crucell 公司研发的同类产品 CL184 的 I 期临床试验文献报道<sup>[8]</sup>、Cabasso 等<sup>[10]</sup>进行的临床试验结果、本试验研发团队临床前的研究结果<sup>[11]</sup>以及 1992 年 WHO 狂犬病专家共识(WHO Expert Committee on Rabies)认为 20 IU/kg 为临床应用的最佳剂量,由此确定 20 IU/kg 为中间剂量,向下设定低剂量组(10 IU/kg),向上设定高剂量组(40 IU/kg)。考虑加大剂量会增加给药体积,增加肌肉注射的难度,同时会增加受试者的痛苦,而且在早期研究显示<sup>[10]</sup>,40 IU/kg 剂量已对疫苗的主动免疫有干扰作用,因此本试验未再设定更高剂量进行耐受性观察。

受试者单次肌肉注射 10、20、40 IU/kg rhRIG 后,在 3 个剂量组中分别有 1、3、3 例出现 AE,而 3 个剂量组的 12 例平行对照均未出现 AE。上述 7 例出现 AE/SAE 的受试者均未退出试验,其中有 3 例在用药后 7~14 d 访视化验时,出现了肝酶的轻至中度升高,分别在中、高剂量 rhRIG 组。虽然目前判断 2 例与试验药物无关,1 例可能无关,但因对照组无 1 例出现相关现象,且低剂量组亦无肝酶升高病例,而且这 3 例受试者肝酶升高的时间与用药时间较接近,均在用药后 7~14 d,因此尚需在后期 b 期临床试验中进一步观察肝酶改变情况及其与用药时间的相关性,以便对该试验药物是否引起肝功能损伤作出客观判断。

### 参考文献

- [1] 游绍莉,皇甫玉珊. 狂犬病防治现状 [J]. 传染病信息, 2005, 18 (1): 7-8.
- [2] 王敏, 许培扬, 池慧. 全球狂犬病流行概况及其防制策略 [J]. 医学研究杂志, 2006, 35 (10): 67-69.
- [3] 王显军, 陶小润, 赵世立, 等. 被动物 度咬伤者联合使用狂犬病疫苗和免疫球蛋白免疫实验研究 [J]. 疾病监测, 1998, 13 (9): 325-327.



- [4] 任桂玲,张拴虎,高银生,等. 狂犬疫苗与狂犬免疫球蛋白联合应用的血清学效果观察 [J]. 中国人兽共患病杂志, 2002, 18(2): 125-125.
- [5] 李振平,王玉琳,刘燕,等. 人狂犬病免疫球蛋白使用效果观察 [J]. 微生物学免疫学进展, 2004, 32(2): 32-34.
- [6] Mainguy J, Rees EE, Canac-Marquis P, *et al.* Oral rabies vaccination of raccoons and striped skunks with ONRAB baits: multiple factors influence field immunogenicity [J]. J Wildl Dis, 2012, 48(4): 979-990.
- [7] Zhu WY, Liang GD. Current status of canine rabies in China [J]. Biomed Environ Sci, 2012, 25(5): 602-605.
- [8] Bakker AB, Python C, Kissling CJ, *et al.* First administration to humans of a monoclonal antibody cocktail against rabies virus: safety, tolerability, and neutralizing activity [J]. Vaccine, 2008, 26(47): 5922-5927.
- [9] Gogtay N, Thatte U, Kshirsagar N, *et al.* Safety and pharmacokinetics of a human monoclonal antibody to rabies virus: A randomized, dose-escalation phase 1 study in adults [J]. Vaccine, 2012, 30(50): 7315-7320.
- [10] Cabasso VJ, Loofbourow JC, Roby RE, *et al.* Rabies immune globulin of human origin: preparation and dosage determination in non-exposed volunteer subjects [J]. Bull World Health Organ, 1971, 45(3): 303-315.
- [11] 贾茜,徐葛林,赵伟,等. 重组人抗狂犬病病毒单抗 SO57、SOJB 对不同狂犬病病毒毒株中和作用的研究 [J]. 病毒学报, 2006, 22(4): 256-261.

(收稿日期 2012-11-12)

(上接第 982 页)

感性及准确性均最佳。3 种蛋白诊断结核病的特异性较高,而敏感性相对较低。下一步将优化检测步骤,进一步提高融合蛋白的纯度。本实验为 MTB 诊断试剂盒的开发奠定了基础。

#### 参考文献

- [1] 吴雪琼,张宗德,乐军. 分枝杆菌分子生物学 [M]. 北京:人民军医出版社, 2010 2-5.
- [2] Siddiqi UR, Leano PS, Chagan-Yasutan H, *et al.* Frequent detection of anti-tubercular-glycolipid-IgG and -IgA antibodies in healthcare workers with latent tuberculosis infection in the Philippines [J]. Clin Dev Immunol, 2012, 2012(5): 610707-610716.
- [3] Guo S, Xue R, Li Y, *et al.* The CFP10 / ESAT6 complex of *Mycobacterium tuberculosis* may function as a regulator of macrophage cell death at different stages of tuberculosis infection [J]. Med Hypotheses, 2012, 78(3): 389-392.
- [4] 董志玲,何永林,徐蕾,等. 结核分枝杆菌 CFP10-PPE68 融合基因原核表达质粒的构建及表达 [J]. 中国生物制品学杂志, 2012, 25(4): 469-472.
- [5] Leidl L, Mayanja-Kizza H, Sotgiu G, *et al.* Relationship of immunodiagnostic assays for tuberculosis and numbers of circulating CD4+ T-cells in HIV infection [J]. Eur Respir J, 2010, 35(3): 619-626.
- [6] Zvi A, Ariel N, Fulkerson J, *et al.* Whole genome identification of *Mycobacterium tuberculosis* vaccine candidates by comprehensive data mining and bioinformatic analyses [J]. BMC Med Genomics, 2008, 1(1): 18-42.
- [7] Trilling AK, De Ronde H, Noteboom L, *et al.* A broad set of different llama antibodies specific for a 16 kDa heat shock protein of *Mycobacterium tuberculosis* [J]. PLoS One, 2011, 6(10): e26754.
- [8] Lee MF, Chen YH, Peng CF. Evaluation of reverse transcription loop-mediated isothermal amplification in conjunction with ELISA-hybridization assay for molecular detection of *Mycobacterium tuberculosis* [J]. J Microbiol Methods, 2009, 76(2): 174-180.
- [9] Manabe YC, Breen R, Perti T, *et al.* Unmasked tuberculosis and tuberculosis immune reconstitution inflammatory disease: a disease spectrum after initiation of antiretroviral therapy [J]. J Infect Dis, 2009, 199(3): 437-444.
- [10] Lee JY, Choi HJ, Park IN, *et al.* Comparison of two commercial interferon-gamma assays for diagnosing *Mycobacterium tuberculosis* infection [J]. Eur Respir J, 2006, 28(1): 24-30.
- [11] Li Q, Yu H, Zhang Y, *et al.* Immunogenicity and protective efficacy of a fusion protein vaccine consisting of antigen Ag85B and HspX against *Mycobacterium tuberculosis* infection in mice [J]. Scand J Immunol, 2011, 73(6): 568-576.
- [12] Shi C, Yuan S, Zhang H, *et al.* Cell-mediated immune responses and protective efficacy against infection with *Mycobacterium tuberculosis* induced by Hsp65 and hIL-2 fusion protein in mice [J]. Scand J Immunol, 2009, 69(2): 140-149.

(收稿日期 2012-11-16)