

药物肝毒性评价技术指导原则

2007 年 10 月 美国 FDA 发布草案

2009 年 6 月 药审中心组织翻译

安斯泰来制药有限公司翻译

北核协会审核

药审中心最终核准

目 录

I. 前言	1
II. 背景:	1
III. 药物肝毒性的信号和海氏法则.....	3
IV. 药物肝毒性的临床评价	6
A.一般考虑.....	6
1. 肝功能异常或肝病患者.....	6
2. 药物肝毒性的检测.....	7
3. 确认.....	7
4. 密切观察.....	8
5. 决定停药.....	8
6. 评价其他原因的资料.....	9
7. 随访至消除.....	10
8. 再暴露.....	10
9. 研究机会.....	11
B. 病例报告表.....	12
C. 药物肝毒性的信号或急性肝功能衰竭的解释	12
1. 肝脏 AT 异常的频率和强度.....	12
2. 转氨酶和胆红素联合升高.....	13
D. 药物肝毒性信号的分析.....	14
1. 药物代谢评估.....	14
2. 对照试验中肝脏相关不良事件的评估.....	14
3. 评估整个临床试验数据库中的肝脏相关不良事件.....	15
4. 临床试验数据库中海氏法则病例的评估.....	15
5. 对药物肝毒性潜力的整体评估.....	16
附录 A: 药物肝毒性的举例说明.....	18

药物肝毒性评价技术指导原则

I. 前言

本指南旨在协助制药行业和进行新药开发的其他研究者评估药物导致**严重**肝损伤的潜力（即致命的或需要肝移植的情形）。特别是本指南说明了在药物开发过程中，如何获得和评价预示这种药物引发的肝损伤（DILI）潜力的实验室测定指标。这样的评价很重要，因为大多数引起严重DILI的药物并不经常导致严重DILI；包括多达几千例受试者暴露于一种新药的典型药物开发数据库也不会出现这样的病例。然而，如果对临床和实验室数据进行评价，从而找到可能并不严重的较轻微损伤、但可预示能引起更严重损伤的证据的话，那么数据库确实经常可以提供药物引起严重DILI潜力的证据。本指南提供了一种方法，可用于区别确定药物可能导致显著肝毒性的DILI信号与提示药物不具有这一潜力的信号。本指南不阐述对潜在DILI进行临床前评价的问题，也不阐述药物批准及上市后DILI的检测和评价。

FDA的指南文件，包括本指南，并不确立强制性法律责任。相反，指南阐述机构对一个主题的当前的考虑，应仅被视为建议，除非引用了特定法规或法令要求。机构指南中所用的词“应”意为建议或推荐某种观点或方法，但不是要求。

II. 背景

到目前为止，在过去50年中肝毒性一直是由于安全性导致药物撤市的最常见的单一原因（如异丙异烟肼、氯噻苯氧酸、苯噻丙酸、溴芬酸、曲格列酮、萘法唑酮）。在批准上市后发现肝毒性也限制了许多药物的使用，包括异烟肼、拉贝洛尔、曲伐沙星、托卡朋和非氨酯（Temple 2001）。有几种药物因欧洲上市经验揭示了其肝毒性而未在美国获得批准（如异丁芬酸、哌克昔林、阿吡坦）。有些药物最终未在美国获得批准，因为上市前经验提供了其潜在毒性的证据（如地来洛尔、他索沙坦、希美加群）。尽管大多数明显的肝毒素主要引起肝细胞损伤，由转氨酶（AT）从损伤的肝细胞漏出、而且无明显的肝胆管阻塞证据所证实，但损伤模式可能不同。许多药物引起胆汁淤积，但停药后该症状通常可以逆转。虽然有一些例外，但胆汁淤积损伤不太可能导致死亡或移植。

药物可通过许多不同机制引起肝损伤。这些损伤与几乎所有已知的肝脏疾病相似，并且没有特殊的病理表现，甚至能确诊DILI的肝活检也无特殊发现。因此，

当怀疑可能为DILI时，应收集更多的临床和实验室信息，观察损伤的时程，并寻找肝损伤的其他原因，如急性病毒性甲、乙、丙型肝炎、自身免疫性或酒精性肝炎、胆道疾病、以及可能导致缺血性或低氧性肝病的低血压或右心充血性心衰等引起的循环障碍。评价受试者之前存在的、暴露于试验药物前可能已发现或未被发现的肝脏疾病——如慢性丙型肝炎或非酒精性脂肪性肝炎（NASH）——也是明智的做法。

在新药申请（NDA）中只有最明显的肝毒性药物才有望在申报的1000-3000例典型研究和描述的受试者中发现严重DILI的病例。明显具有肝毒性的药物（如四氯化碳、氯仿、二氯甲烷）对接受足够大剂量的任何人都会产生毒性，一般引起这种可预测且剂量相关性肝损伤的药物通常在临床前试验阶段就被发现和排除。难以发现的毒性是不可预测或有明显的剂量相关性、但似乎依赖于至今仍未确定其特征的个体易感性。大多数因肝毒性撤市的药物致死亡或移植的发生率不超过1/10000，因此在开发阶段尽管研究了数千名受试者，也找不出哪怕是一例这样的事件。在具有明显肝毒性的药物的开发项目中，很少发现严重DILI的病例。

在药物研发过程中通常所见到的是轻度肝损伤，经常是无任何症状的实验室信号。问题是能引起严重DILI的药物与不大可能引起严重损伤的药物[如阿斯匹林、塔克宁、肝素、羟甲基戊二酰辅酶A(HMG-CoA) 还原酶抑制剂（他汀类）]均能产生这类信号。因此，需要一种方法将可能引起严重DILI与不可能引起严重DILI的药物区别开来。

一般来说，导致严重DILI的肝损伤类型主要为肝细胞损伤。损伤的肝细胞可释放丙氨酸或天冬氨酸氨基转移酶（ALT或AST），导致血清转氨酶活性升高，从而显示肝细胞损伤。然而，药物引起肝细胞损伤的能力并不是判断药物致严重DILI的潜力的可靠指标。许多能引起血清转氨酶活性一过性升高的药物即使持续给药也不会引起进展性的或严重的DILI。只有那些能引起广泛的肝细胞损伤、从而足以影响肝脏清除血浆中胆红素或合成凝血酶原和其他凝血因子的功能性能力的药物，才会引起严重DILI。因此快速识别这些药物是很重要的。

在人体中引起严重DILI的药物并未在动物试验中显示明确的肝毒性，一般也未显示剂量相关性毒性，正如已观察到的，一般在人体引起严重损伤的发生率较低（1/10000~1/5000或更低）。因而这些反应似乎反映了宿主因素和个体易感性。

结果，他们被定义为特异体质，意为依赖于个人的特殊体质。尚不清楚他们是遗传的结果还是获得性的差异，到目前为止尚未发现遗传、代谢或其他的特征可以预测个体发生严重的DILI。

一些严重DILI病例与较常见的肝细胞特异体质类型不同。一种在欧洲上市的抗心绞痛药物哌克昔林，在几个月内产生的毒性具有酒精性肝硬化的组织学表现（Pessayre and Biachara et al. 1979）。非阿尿苷引起中度的急性肝损伤，但最重要的是，在几个月内因线粒体氧化功能丧失导致严重代谢性酸中毒和多器官衰竭（Kleiner and Gaffey et al. 1997; Semino-Mora and Leon-Monzon et al. 1997）。丙戊酸甚至在血清转氨酶活性无明显增加的情况下引起高血氨性脑病。苯噁洛芬（Oraflex）引起肝内胆汁淤积，超过几个月后导致显著的、有时致命的肝损伤，尤其是年老患者（Taggart and Alderdice 1982）。

对早期经验的回顾性评价，加上最近的经验，使我们相信在上市前研究中进行适当的试验和分析可提高对可能引起严重肝细胞损伤的药物的早期发现。

III. 药物肝毒性的信号和海氏法则

因为肝细胞损伤（转氨酶升高）既可以由很少引起严重DILI的药物（如阿司匹林、HMG-CoA还原酶抑制剂、肝素）引起，也可以由确实引起这种损伤的药物引起，因此肝细胞损伤的证据是判断致严重DILI潜力的一项必要、但非充分的指标。转氨酶升高的频度也不是一项良好的指标，因为像塔克宁（不引起严重DILI）这样的药物可引起多达50%的患者转氨酶升高。转氨酶升高的程度可能是判断致严重DILI潜力的一项更好的指标，但最特异的指标是肝功能改变的证据。

正如已经知道的，典型的NDA或BLA数据库通常显示不出任何严重的DILI病例，即使对于确实能引起这种损伤的药物也是如此。但是，许多药物，包括明显的肝毒性药物和不引起严重肝损伤的药物，均引起肝损伤的实验室证据——肝酶泄漏并出现在血液中，血清转氨酶活性升高至正常值上限（ULN）的3倍、5倍或更多倍。一般来说，ALT被认为是比AST更具有肝脏特异性的转氨酶（Green and Flamm 2002），尽管其也存在于许多组织中。这种升高在药物治疗的受试者中的发生率高于对照组，这一发现是预测药物致严重DILI潜力的一种敏感信号，但它不是非常特异的信号。更具特异性的信号是明显的转氨酶升高峰值的较高的发生率（ $10\times$ -, $15\times$ ULN），升高 $>1000\text{U/L}$ 的病例引起更多关注。但是，到

目前为止发现的对药物引起严重肝毒性潜力的最明确（最特异）的预测指标是1例或多例受试者整体肝功能降低的证据，表现为不能用任何其他原因解释的血清总胆红素（TBL）升高同时转氨酶升高，以及与对照组相比，整个研究人群中转氨酶升高者的比率增加。

除肝损伤外，对肝功能改变的重要性的认识始于海曼·齐默曼的发现——即药物引发的肝细胞损伤（即转氨酶升高）伴黄疸者预后不良——急性肝功能衰竭的死亡率达10%-50%死于（移植前）（齐默曼 1978, 1999）。该现象的原因现在似乎已经明确。肝脏有过剩的胆红素分泌能力；足以引起黄疸或近似黄疸（即胆红素 $>2\text{mg/L}$ ）的肝细胞损伤表明其损伤程度如此之大，以致某些患者不可能再恢复。齐默曼的发现——即足以损害胆红素分泌功能的肝细胞损伤是不良预兆，已被食品药品监督管理局（FDA）使用多年，以识别可能引起严重肝损伤的药物，并区别可能引起较轻微肝细胞损伤（即无胆红素升高的转氨酶升高）、但不可能导致严重损伤的药物（如阿斯匹林、塔克宁、肝素）。海氏法则已被非正式的当作肝功能改变的重要性的发现（Temple 2001; Reuben 2004）。

简言之，海氏法则有下列三个组成部分：

1. 药物引起的肝细胞损伤，通常表现为与（无肝毒性的）对照药物或安慰剂相比，ALT或AST常升高至正常值（ULN）的三倍或以上。
2. 在表现为转氨酶升高的受试者中，转氨酶通常远高于正常值的3倍，某些受试者也表现为在未发现胆汁淤积[血清碱性磷酸酶活性（ALP） $>2 \times \text{ULN}$]的情况下血清TBL升高至大于正常值（ULN）的2倍。
3. 无其他原因可以解释转氨酶（AT）和TBL联合升高，如病毒性甲、乙或丙型肝炎、先前已存在的或急性肝病，或能引起所观察到的损伤的其他药物。

在临床试验中发现1例海氏法则病例具有预示作用；发现2例可高度预示发生严重DILI的可能性。 β -阻滞剂地来洛尔（拉贝洛尔的对映异构体，一种非对映异构体混合物）的临床试验在约1000例暴露者中出现2例这种病例，对葡萄牙的上市后研究审查发现有致命性肝损伤，该药未在美国获得批准。他索沙坦——一种血管紧张素II阻滞剂——的临床试验中出现1例海氏法则病例，其生产商被要求在药物批准前进行一项大规模安全性研究。该研究从未进行。

作为经验法则，基于齐默曼最初估计的与足以损害肝脏胆红素分泌功能的肝细胞损伤有关的死亡率为10%-50%，可以估算出严重DILI的发生率为所谓的海氏法则病例(Temple 2001)的至少1/10。这一发现在最近西班牙(Andrade and Lucena et al. 2005)和瑞典(Björnsson and Olsson 2005)进行的大型DILI研究中得到证实，其中大约10%出现高胆红素血症或黄疸的受试者死亡或需要肝移植。

最近发生的某些药物引起特异体质肝毒性(如溴芬酸、曲格列酮、希美加曲)的例子进一步证实了海氏法则的预测价值，在临床试验期间发现有海氏法则病例，并且上市后发生了严重DILI。这些实例在附件A中有详细描述。

过去的经验(包括3个实例)表明，在几千例受试者的数据库中有一组实验室异常信号能预测发生严重DILI的潜力，并有一定的灵敏度和特异性。尽管尚不能对不同信号提供精确的特异性和灵敏度估计，但下列指南可以指导这些预测严重DILI潜力的重要指标的使用：

- **与对照组相比，转氨酶(AT)过度升高至超过正常值(ULN)的3倍**

转氨酶(AT)升高至正常值的3倍以上相对常见，可能在所有组中均可见到，但与对照组相比的过度升高几乎经常在最终证实严重肝毒性发生率相对较高(1/10000)的药物中观察到。因此，将高于3倍正常值的转氨酶AT过度升高作为预测严重DILI潜力的指标的灵敏度较高。但许多药物显示该信号而无发生严重肝损伤的风险(如塔克宁、他汀类药物、阿司匹林、肝素)，提示单独将转氨酶过度升高作为指标的特异性较低。目前尚无良好的数据分析，以得出与对照组相比多大程度的过度升高(如2倍、3倍)可提示DILI的风险增加。

- **试验药物组少量的受试者转氨酶AT显著升高至正常值的5倍, 10倍, 或20倍，而对照组中未观察到此现象(或观察到的频率低的多)**

事实上所有严重肝毒性的药物均出现这种病例，表明其预测严重DILI的高度灵敏性，但是，某些药物如塔克宁和其他非严重肝毒性药物也可引起转氨酶(AT)升高到这种程度，因此这一发现的特异性不是最理想的。

- **在纯肝细胞损伤的情况下(无阻塞证据，如胆囊中的ALP升高或胆管疾病、恶性肿瘤)出现1例或多例胆红素升高至正常值的2倍以上，而无其他解释(病毒性肝炎、酒精性或自身免疫性肝炎、其他肝毒性药物)，并伴随试验药物组转氨酶升高至正常值3倍以上的整体比率高于安慰剂**

组。

如果有足够多的人暴露于药物，那么对于任何给定发生率的严重DILI来讲，这一发现的灵敏度似乎较高。因此，如果严重损伤的实际发生率是1/10000，而海氏法则病例的发生率为1/1000，那么就需要3000例受试者（规则3）以保证有95%的可能性在治疗人群中观察到1例海氏法则病例（Rosner 1995）。如果至少观察到2例病例（如地来洛尔、溴芬酸、曲格列酮、希美加曲），那么该发现的灵敏度似乎很高。我们未观察到假阳性的海氏法则病例。因此，2例海氏法则病例的发现，甚至可能只是1例，是预测有意义的严重肝损伤发生率的有力指标。但是，未发现病例并不意味着引起转氨酶（AT）升高的药物无严重DILI风险。确信度依赖于人群暴露足够长的时间以及令人感兴趣的严重DILI的发生率。

对于目前患有肝病如脂肪肝、非酒精性脂肪性肝炎（NASH）、或慢性乙型或丙型肝炎、及胆红素代谢异常（Gilbert's 综合征）的患者，以及服用治疗肝病的药物或抑制胆红素葡萄糖苷酸的药物如茚地那韦或阿扎那韦的患者，这三种发现的意义可能不同（Zhang and Chando et al. 2005）。

IV. 药物肝毒性的临床评价

A. 一般考虑

对于大多数进入III期试验的开发药物来说，发生严重DILI的几率较低。早期试验中轻度肝毒性（转氨酶升高）发生率的增加通常会导致III期试验期间的高度筛选以检测和评价肝损伤。但是，确定轻度肝毒性是反映严重DILI的潜力还是仅反映导致有限损伤是非常关键的。为进行这种区分，找出更严重损伤的病例进行详细检查、观察损伤的进程和结局、并寻找可能发现其他原因的额外信息是非常必要的。下列评价和监测潜在的药物引发肝毒性的一般建议可能不适用于所有情况，对特殊人群如之前患有肝病或恶性肿瘤的患者，应根据积累的数据进行修改。此外，细胞和基因治疗以及疫苗的临床试验对试验规模和设计、向量的持续性和组织特异性提出了特殊的挑战。鼓励申请者与审评部门就这些问题进行讨论。

1. 肝功能异常或肝病患者

患者有时因基线肝功能检查异常或肝病史被排除出临床试验，但除了为避免以前的疾病和试验药物的作用之间产生混淆外，这样做的原因尚不明确。一般来说这些患者至少应被纳入III期试验中，因在药物上市后他们可能将接受该药治

疗。还不清楚以前的肝病是否使患者对DILI更易感（齐默曼1978, 1999），但是肝脏储备功能或恢复能力的降低可能使损伤情况恶化，使这些患者似乎对严重DILI更易感。如果药物批准后打算经处方或上市销售给这类患者，那就应该在对照试验中对这些患者进行研究。但在对已经确诊和病情稳定的慢性肝病患者进行研究前，首先确定在试验前肝功能正常的人群中是否发生DILI可能更为妥当。

2. 药物肝毒性的检测

一般来说，对假定肝功能正常的受试者进行药物的早期研究时应每隔2-4周进行肝功能检查，至少坚持几个月。目前尚不清楚早期症状（如食欲减退、恶心、疲劳、右上腹不适、呕吐）出现在肝损伤的首次实验室检查结果（ALT、AST或ALP升高）之前还是之后，并且不同药物和受试者的临床和实验室检查结果变化的模式可能不同。但在大多数情况下，出现异常的首个证据是AT或ALP升高。在长期试验中，如果在合理的暴露期间后（如3个月）无肝损伤的体征，则监测间隔可延长至每2-3个月一次。如果无肝毒性征象，后面的试验也可使用更低频度的肝化学监测。

如果DILI症状在发现血清异常之前出现，则无论下次访视或监测间隔计划在什么时候，应立即进行肝酶检查。在某些情况下，症状可能为损伤的早期信号。依靠早期症状而非血清酶监测，已成为用异烟肼治疗预防结核的监测标准，并且如果行动迅速，就能预防严重肝损伤（Nolan and Goldberg et al. 1999）。在研究药物试验中观察症状并不能取代对AT、TBL和ALP的常规定期评估。

3. 确认

一般来说，血清转氨酶增加至正常值的3倍以上就应紧接着在48到72小时内对四项常规血清学指标（ALT、AST、ALP和TBL）进行重复检查，以确认异常，并确定是增加还是减少。还应询问症状情况。血清转氨酶AT可能升高和降低非常快，且在获得对转氨酶升高的确认前等待一周或两周可能导致错误结论，即初次观察到的异常是假的，或更令人担忧的是，如果初次观察到的异常是随后发生严重反应的预兆，则该异常可能导致严重恶化。如果转氨酶（AT）远高于正常值的3倍以上或TBL远高于正常值的2倍以上，则非常需要进行快速重复检查。对于门诊患者的研究或受试者离研究中心很远，受试者可能难以快速返回研究中心。在这种情况下，受试者应在当地接受重复检查，但应记录正常实验室参考值

范围，并将检查结果立即报告给研究者，数据应被纳入病例报告中。如果症状持续或重复检查表明基线测量值正常的受试者转氨酶升高超过正常值的3倍，或者接受药物治疗前转氨酶已升高的受试者转氨酶比基线值高2倍，则应密切观察以确定异常得到改善还是继续恶化。

4. 密切观察

密切观察定义如下：

- 每周重复进行肝功能检查2到3次。如果异常状况稳定或者研究药物已停用且受试者无症状，则重复检查的频率可降为每周一次。
- 获得症状及先前或并发疾病的更详细的病史。
- 获得合并用药史（包括非处方药、草药和食品补充剂）、饮酒史、娱乐性用药史和特殊饮食史。
- 获得对周围环境中化学品的暴露史。
- 适当的话，进行其他检查以评价肝功能 [如国际标准化比率（INR）]。
- 考虑进行胃肠病学或肝脏病学会诊。

一旦发现并证实可能的DILI的早期征象，应立即开始密切观察，而不要等到下次安排的访视或监测间隔。转氨酶水平高于正常值3倍以上的阈值是合理的，因为较轻度的升高常见且无特异性。如果除研究方案中规定的检查之外还进行了其他检查，则应将受试者信息添加到病例报告表或数据库中，这一点是非常重要的。

5. 决定停药

已经观察到去激发（停药）并不总是、或者并不经常导致异常实验室检查值立即改善。引起异常的药物停用后，异常检查值和症状可能持续几天或甚至几周。例如，紧随转氨酶升高后的TBL升高通常持续几天或几周。密切观察的主要目的是尽快确定观察到的异常结果是一过性并能自行缓解的，还是进展性的。对于大多数DILI，无可用的特异性治疗药物（除外N-乙酰半胱氨酸在立即给药情况下可治疗急性对乙酰氨基酚过量，或静脉给予卡尼丁可治疗丙戊酸肝毒性）。迅速停止给药通常是唯一可能有效的治疗。

难题是何时停止给予研究药物。因为ALT或AST一过性升高或降低是常见的，进展为严重DILI或急性肝功能衰竭是不常见的，当发现ALT或AST高于正常

值3倍时自动停药可能是不必要的。对于大多数人来说，肝脏似乎能适应外来化学物质引起的损伤，这使得人们尽管继续暴露于药物，但能耐受。在首次发现轻度损伤征象时即停止用药将无法了解肝脏是否产生了适应，正如象塔克宁这类药物可引起肝损伤但不引起严重DILI。另一方面，一旦肝细胞损伤后出现显著的转氨酶升高或功能性损害的证据，那么连续给药太长时间将是危险的，这已由代表实质性肝损伤的胆红素或INR升高所证实。尽管在面对实验室检查异常时何时停药尚未形成共识，并且决定将受到有关药物的信息、积累的临床经验、患者体质及许多其他因素影响，但下列各项指标可作为基本指针。一般来说，如果出现下列情况，应停止治疗：

- ALT或AST $>8\times$ ULN（正常值）
- SLT或AST $>5\times$ ULN，持续超过2周
- ALT或AST $>3\times$ ULN并且（TBL $>2\times$ ULN 或INR >1.5 ）
- ALT或AST $>3\times$ ULN，并有严重疲劳、恶心、呕吐、右上象限痛或压痛、发热、皮疹或嗜酸性粒细胞增加。

6. 评价其他原因的资料

密切观察的重要目的之一是收集其他临床信息，以确定所观察到异常的最可能原因，特别是是否存在研究药物以外的其他原因，如下列常见原因之一。其他较不常见的原因也需要考虑。

- 急性病毒性肝炎。通常肝细胞DILI的起始与急性甲型或乙型病毒性肝炎难以区分。丙型肝炎的发病通常不太紧急，倾向于隐袭性，但有时可能类似于急性药物损伤。急性病毒性甲、乙和丙型肝炎通常应通过血清学标记物评价。病毒性丁型（需要合并感染乙型肝炎）和戊型肝炎在美国相对较少见。戊型肝炎在发展中国家更常见，包括东南亚，在近期到过这些国家的患者中应加以考虑。EB病毒和巨细胞病毒引起的肝损伤也较少见，尽管在免疫抑制患者中更常见。发生可能的DILI的青少年和年轻患者应检查EB病毒。在患CMV病的移植病人中，肝炎很常见。
- 酒精性和自身免疫性肝炎。急性酒精性肝炎通常为复发性，并在发作前有大量饮酒史，它有某些特征性表现，如相关的发热、白细胞增多、右上象限疼痛和压痛、以及AST $>$ ALT，这些特征有助于将其与其他原因

的肝损伤区分开来。自身免疫性肝炎在发病时可能为急性甚至爆发性；通常不会对皮质激素治疗产生立即反应，但可能存在有价值的血清学标记物。酒精性和自身免疫性肝炎应通过病史和血清学检查（如抗核抗体）进行评价。

- 胆道疾病。胆道疾病最初通常引起胆汁淤积性损伤，应通过胆囊和胆管超声检查，尤其当ALP升高时。还应考虑恶性胆道梗阻。
- 心血管原因。心血管疾病，尤其是右心衰和低血压，可能引起急性小叶中心性缺氧性肝细胞坏死（缺血性肝炎），以及血清转氨酶的明显增加（如AT>10000）。心血管功能障碍包括低血压或右心衰竭，应通过体检和病史进行评价。

在所有怀疑为DILI的病例中，应尽可能排除两种为肝损伤病因的“ABC”（即病毒性甲、乙或丙型肝炎；酒精或自身免疫性肝炎、胆管疾病和循环障碍），并记录结果。至于应进行多少次检查以排除较不常见的肝病，如急性Wilson's病或 α -1-抗胰蛋白酶缺乏症，尚存在应用的局限性。

发现可能引起损伤的合并治疗也是很关键的。许多人服用多种药物，因为排除标准所限通常较少的人参加对照的临床试验，但受试者可能不报告服用的禁用药物或其他药物。除非被特别提问，受试者不会主动报告可能暴露的有潜在毒性的草药、成分不明的食品补充剂、非处方药如对乙酰氨基酚、或职业性化学品。

7. 随访至消除

所有出现可能的DILI的受试者均应随访至所有异常恢复正常或至基线状态。即使在停用致病药物后，DILI也可能发展或进展。结果应记录在病例报告表和数据库中。应该注意的是更长时间的随访有时会揭示与药物无关的重复出现的DILI，提示肝损伤与基础肝病相关。

8. 再暴露

是否对出现轻度DILI的受试者进行再暴露是一个难题。再暴露可能引起有时为爆发性和更严重的反应，正如几十年前在三氟乙烷中观察到的。某些DILI病例出现免疫学反应的指征，如嗜酸性粒细胞增多、皮疹、发热或其他症状或结果，这些病例再暴露时可能更倾向于复发。另一方面，大多数人能适应外来物质如新

药，并对其产生耐受，甚至在能引起严重损伤的药物中也发现这种现象，如异烟肼。大多数因使用异烟肼治疗而出现肝细胞损伤的人完全恢复或在继续用药过程中恢复，某些患者但并非全部患者能恢复或者继续用药而无进一步不良结果。如果产生这种耐受，则利用再暴露来验证药物致病性将会得到假阴性结果。

一般来说，对转氨酶AT显著升高（ $>5 \times \text{ULN}$ ）的受试者不应尝试进行再暴露。如果让这些受试者接受再暴露，就应对其密切随访。如果药物对受试者来说获益很大而且别无选择，或者如果试验药物的真实累积数据未显示有致严重损伤的潜力，则可考虑再暴露。受试者应被告知潜在的风险，并同意进行再暴露。

9. 研究机会

尚不清楚为何仅少数人接受肝毒性药物治疗后发生严重DILI，而其他人则无反应或似乎产生了适应。目前认为这种差异可能存在一定的遗传基础，但后天获得性因素同样重要。密切观察期提供了收集和储存系列血样和尿样的重要机会，以研究发生轻度或严重DILI的受试者特征，并观察其相互之间的差异以及在年龄、性别和药物暴露程度相似却未显示任何作用的人群之间的差异。这些系列样品可通过基因组、蛋白质组、和代谢物组方法进行研究，以确定受试者之间的差异，并寻找识别易感人群的生物标记。

作为关键路径计划的一部分，FDA正与企业界、学术界和其他专家一起扩展我们对DILI的生物化学和遗传基础的了解。2006年6月，FDA协助发起了一个学术专题讨论会，以确定开发一种DILI数学模型（利用硅片）的可行性，从该模型中可衍生出其他预测性实验模型，以确定潜在肝毒性的特征。长期目标是开发出一个或多个模型，以帮助研究者确定标准来判断开始早期临床干预（即停止用药）的适当时机。还希望能找到预测性生物检定和生物标记以帮助确定哪些患者最有可能对特定化合物产生肝毒性。

这项急需的研究不是一项法规要求，而是一次重要机会。目前，我们仅能在药物引起损伤的患者中进行研究，以预测在其他患者中可能发生的情况。理想的是，我们应寻求在给予患者其不能耐受的药物之前识别高风险患者的方法。目的是能够找出绝对不能暴露于所给药物的患者，因为其特异体质对药物引起的DILI高度敏感或者因此而不能康复。如果能开发出筛选严重DILI易感人群的检查方法，那么对严重DILI不易感的人群仍可使用肝毒性药物，而非将药物撤市，使得

任何人都不能从中获益。

此外，在对一种或多种肝毒性药物发生DILI的患者中找出常见基因型特征，有利于开发出体外或体内研究方法或遗传改变的动物品系，以用于更好地预测同一类或密切相关类新药产生严重肝毒性或缺乏肝毒性的潜能。

B. 病例报告表

除收集关于实验室异常、临床症状和任何肝病的潜在原因外，肝损伤病例的病例报告表还应包括下列信息（包括发生这种损伤的对照受试者）：

- 从开始给药至开始发病的时间和日期
- 停止给药或中断给药的时间和日期
- 用于记录描述病程，包括转氨酶、ALP和TBL异常的自由文本空间。
- 风险因素，尤其是饮酒史
- 所有合并药物的使用（剂量、开始和结束日期、药物是否已知有肝毒性、再激发和去激发信息）
- 非药物原因的评价：最近的甲、乙、丙型肝炎病毒学、胆管梗阻证据、急性酒精性肝炎（ $AST > 2 \times ALT$ ），最近的严重低血压或充血性心衰或其它潜在的病毒性疾病病史。
- 可疑药物的再激发和去激发信息，及时间和剂量详情
- 所有补充信息，包括当地实验室检查、计划外检测和体格检查报告、会诊报告、叙述信息和特殊研究

所有可能的海氏法则病例均应作为药物相关严重非预期不良事件处理，并迅速报告FDA。报告应包含所有可用信息，并应开始密切随访，直至问题完全解决且尽所能获取补充数据后。

C. 药物肝毒性信号或急性肝功能衰竭的解释

1. 肝脏 AT 异常的频率和强度

上市前临床试验数据库中即使仅出现1例治疗导致的严重肝功能衰竭病例也是高度肝毒性风险的一种指示因素。但较常见的情况是，可能不存在可识别的严重肝损伤病例，而存在不同程度的需要解释的血清AT异常。如先前提及的，这种轻微异常（ $< 3 \times ULN$ ）在未治疗和安慰剂治疗的受试者中很常见，不能提供关于发生严重DILI潜力的信息。

因此，观察较大的偏离如 $AT \geq 3 \times -$ ， $5 \times -$ 或 $10 \times -ULN$ 已成为标准做法。因为这些异常可在安慰剂治疗组发生，对比其在药物暴露受试者组和对照组（即安慰剂或不引起转氨酶升高的产品）中的发生率很重要。 $AT > 3 \times ULN$ 的过度异常是发生严重DILI潜力的一种信号，虽然其有高度敏感性，但不具特异性。比较药物治疗组与对照组的AT升高比率对较大的异常（如 $10 \times ULN$ ）可能并不重要，因为这种升高极罕见。因此，这种较高的AT升高可在整个临床试验数据库中查到，而非仅在对照试验中查到。应了解血清AT活性是一种相对不稳定的测量值，经常在几天内升高和下降。不能从一次测量断定已观察到峰值，因此检测到异常升高时应进行系列测量，以确定异常变化的趋势是升高还是下降。

许多因素可能混淆在NDA和BLA数据库中观察到的AT异常的解释。尽管较强烈的AT升高比较小程度的升高可能更好地预测毒性，但如果因密切监测导致的早期停药阻止了较大异常的出现，则密切监测有可能影响观察到的异常程度。此外，药物治疗引起先前存在的肝病的恶化作用可能难以确定。最后，持续治疗出现的异常情况的恢复不能证明该异常不是药物导致，而可能是由肝脏对药物耐受所致。

2. 转氨酶和胆红素联合升高

如果提示肝细胞损伤的AT异常伴有肝功能损伤的证据（胆红素升高 $> 2 \times ULN$ ），在缺乏胆管梗阻（即ALP显著升高）的证据或对损伤（如病毒性肝炎、酒精性肝炎）的某些其他解释时，联合结果（即海氏法则）可作为发生严重DILI潜力的一种信号。经验表明，即使1例或2例明确记录的这种联合病例也有预示作用，提示药物将导致严重肝损伤的可能性。

NDA或BLA数据库中缺乏海氏法则病例，可使用基于简单的二维计算的法则三来估计严重DILI发生率的上限。如果在n例受试者中发生1例DILI，则在3n例受试者中观察到1例或多例DILI的概率至少为95%，并对受试者组进行密切观察。因此，如果在3000例密切观察的受试者中未观察到AT和胆红素升高，则可有95%的把握度确信这种情况的真实发生率不会超过1/1000。假设当AT和TBL均升高时严重损伤的发生率约为10%，该计算将提示暴露患者中预期严重肝损伤的发生率将 $\leq 1/10000$ （Andrade and Lucena et al. 2005; Björnsson and Olsson 2005）。

D. 药物肝毒性信号的分析

根据我们的经验，当怀疑出现DILI并对其进行评价时，我们建议进行与发生肝损伤潜力相关的下列分析，并纳入NDA或BLA中，或纳入研究新药申请中。

1. 药物代谢评估

药物代谢可对药物的安全性特征产生重要影响。药物可被代谢为一种肝毒性代谢产物(如对乙酰氨基酚、三氟乙烷和异烟肼)。大多数肝毒性药物通过CYP450系统被氧化代谢。

有几种体外试验方法可用于对药物或其代谢产物与肝脏蛋白质结合进行检测和定量，包括放射化学和免疫分析方法。

2. 对照试验中肝脏相关不良事件的评估

尽管研究与研究之间的差异可能会受到关注，仍应提供在对照试验中接受至少一次药物暴露的受试者中观察到的肝脏相关不良事件（AT、胆红素和ALP水平异常）发生率的分析，通常为汇总数据。发生率可用每一定数量暴露受试者中不良事件的数量、或每一受试者暴露年中不良事件的数量来表示，最好二者兼有。对于许多药物来讲，DILI发生前需要一个最低暴露持续时间。因此，给出已经历最低暴露持续时间的受试者中肝脏相关不良事件的发生率（如暴露至少1个月的受试者的发生率）是十分有用的。汇总数据的发生率应包括，但不限于：

- AST、ALT，AST或ALT升高至3x-, 5x-, 10x-, 和 20xULN。
- 任何胆红素的升高；胆红素升高至>1.5 xULN, 以及至>2 xULN
- 任何ALP>1.5 xULN的升高
- AT升高（>3 xULN）伴胆红素升高（>1.5 xULN, >2 xULN）。
- 可能与肝脏相关的死亡以及与肝脏相关的治疗终止。应对这些病例加以描述，并进行事件-时间分析。还应提供随访状况。应对任何组织学和再激发数据加以描述。

应对药物、安慰剂和活性药物对照组分别计算所有发生率。应提供所有检查的正常范围。应提供显著性个别事件（如AT、胆红素升高）中比率升高的事件-时间分析。应探索性别、年龄、危险因素和药物剂量或给药方案对观察到的异常的作用。

3. 评估整个临床试验数据库中的肝脏相关不良事件

应提供全部临床试验数据库中肝脏相关不良事件（AT、胆红素和ALP水平异常）发生率的分析，包括在I期或II期试验中、或在非对照、开放的、扩展试验中接受至少一次研究给药的受试者。我们推荐使用与章节IV.D.2中讨论的对照试验数据库中所使用的相同的评价。应提供显著异常的事件-时间分析、死亡率、研究退出和类似数据。应探索性别、年龄和药物剂量或给药方案对观察到的异常的作用。

4. 临床试验数据库中海氏法则病例的评估

递交的NDA和BLA应包括由治疗组鉴定的可能的海氏法则病例列表（如AT>3 xULN的任何升高，ALP<2 xULN，并伴随胆红素升高 ≥ 2 xULN）。应提供对每个海氏法则病例的叙述总结。叙述总结应不仅以文本格式提供病例报告表中已存在的数据，还应提供对所有可用临床数据和病例知情讨论的完整综述，以更好地了解受试者的经历。有效的叙述总结应包含下列信息：

- 受试者年龄、性别、体重和身高
- 与肝毒性相关的体征和症状的讨论：类型和时间
- 暴露时间和剂量与发生肝损伤之间的关系
- 相关病史
- 合并用药及日期和剂量
- 相关体格检查发现
- 试验结果（如实验室数据、活检数据和报告，注明日期和正常值范围）
- 血清酶和胆红素升高的时程
- 已知的所有可用临床信息的总结，包括：
 - 过去或当前的饮酒史
 - 之前或并存的病毒性肝炎或其他形式肝病的证据
 - 症状及包括随访至消退的临床病程
 - 特殊研究、放射学检查、肝活检结果
 - 存在或缺乏可能的混淆因素，包括合并疾病、使用已知具有肝毒性的合并用药如对乙酰氨基酚
- 对由有效临床数据以及治疗医生、会诊医生和申请者关于DILI可能性的

总体评估所支持的肝毒性进行讨论

- 提供的治疗
- 已完成的去激发和激发结果
- 结果和随访信息
- 出院小结、病理和尸检报告副本

由检查人员或外部专家顾问进行病理检查所用的肝活检、外植体、尸检切片有助于FDA对这种情况的评估。申请者从外部顾问专家获得的评价报告应向FDA提供。

对所有死于肝病或因肝毒性停止研究用药的受试者，包括出现的异常与研究方案特定的停药标准一致的受试者，还应提供包括之前所列因素的完整叙述总结。

5. 对药物致 DILI 潜力的整体评估

整体评估应描述一种药物导致DILI的潜力，并应至少考虑下列问题：

- 肝脏监测的频率和精细程度是否足以描述DILI风险？
- 是否存在很可能由药物导致的严重或重度DILI病例？
- 是否存在发生DILI潜力的信号（如AT升高、海氏法则病例），这些信号是怎样评估的？
- 与肝毒性信号相关的暴露剂量和时间如何？
- 上市后预期轻度、中度和重度DILI的近似发生率如何？
- 试验信息是否足以对整体风险-收益进行评估？
- 是否存在足够的药物暴露（即受试者例数和每例受试者的治疗时间）及适当的肝脏试验监测，以对上市后发生严重DILI的风险可靠地设定一个上限？
- 提示严重损伤的发生率如何（假定海氏法则病例的发生率约为严重损伤发生率的10倍），或排除严重损伤的发生率如何（如3000例受试者中无海氏法则病例意味着这种病例的发生率 $<1/1000$ ，因此严重DILI的发生率 $<1/10000$ ）。该考虑应反映有无其他信号，如AT显著升高。
- 是否需要通过症状或血清检查的某种形式的监测？一般来说，仅当存在严重肝损伤证据或可能的情况下才考虑进行。如果这样，应讨论

NDA数据库中监测的有效性。

附录A：DILI的举例说明

Duract (溴芬酸)

溴芬酸是一种非甾体抗炎药（NSAID），研究用于短期止痛和长期关节炎治疗。在短期止痛治疗试验中，仅有很少的肝毒性证据，但在较长期的关节炎临床试验中，观察到在2.8%接受溴芬酸治疗的患者中ALT升高 $>3 \times \text{ULN}$ ，而安慰剂组中为0。在NDA阶段，递交审查的临床试验数据中，1195例暴露患者中有2例TBL升高和AT升高。对可能的肝毒性的担忧使溴芬酸在1997年7月仅被批准用作短期治疗，未被批准用于治疗骨关节炎或风湿性关节炎。但是作为一种NSAID，该药长期作为关节炎患者的标示外用药，并出现严重的肝毒性。批准后6个月内，收到严重肝功能衰竭报告，包括2例需要肝移植的病例。所有严重病例均涉及使用溴芬酸超过10天——标签上推荐的最长治疗时间。

作为回应，FDA和生产商以黑框警告强化了包装说明书中的警告，并发布了一封告医疗卫生人员的信。尽管进行了这些努力，生产商和FDA仍持续收到严重损伤报告，包括死亡或需要肝移植的报告（Moses and Schroeder et al. 1999; Hunter and Johnston et al. 1999; Rabkin and Smith et al. 1999; Fontana and McCashland et al. 1999）。考虑到还有其他具有同等有效性和安全性的NSAID可用，溴芬酸1998年6月被撤市。药物研发期间，在长期暴露人群中，约1000例受试者中出现的2例海氏法则病例可预测在长期使用期间严重肝毒性的发生率约为1/10000-1/5000。批准后，据估计溴芬酸的急性肝功能衰竭发生率约为1/10000（Goldkind and Laine 2006）。

Rezulin (曲格列酮)

曲格列酮1997年1月被FDA批准治疗II型糖尿病。在批准前对曲格列酮临床试验进行评价，在NDA数据库中，2510例暴露于药物的受试者中无肝衰竭病例，但1.9%接受曲格列酮治疗的受试者ALT $>3 \times \text{ULN}$ ，而安慰剂组这一数值为0.3%，1.7%的曲格列酮组受试者ALT $>5 \times \text{ULN}$ ，0.2%（5例受试者）的曲格列酮组受试者ALT $>30 \times \text{ULN}$ （最后一组中的2例受试者还发生了黄疸）。ALT升高峰值出现之前的曲格列酮平均治疗时间为121天。批准后的国立卫生研究院（NIH）进行的糖尿病预防试验中，585例接受曲格列酮治疗的受试者中，4.3%

的受试者 $ALT > 3 \times ULN$ ，1.5%的受试者 $ALT > 8 \times ULN$ ，2例受试者 $ALT > 30 \times ULN$ ，而安慰剂组中3.6%的受试者 $ALT \geq 3 \times ULN$ （Knowler and Hamman et al. 2005）。其中1例 $ALT > 30 \times ULN$ 的受试者尽管接受了肝移植，仍发生肝功能衰竭并死亡。另1例受试者康复。这些数据提示严重肝功能衰竭的发生率约为1/10000-1/3000。

上市后，有许多与曲格列酮使用相关的急性肝功能衰竭报告（Gitlin and Julie et al. 1998; Vella and deGroen et al. 1998; Herrine and Choudary 1999），执业医师在1997年至1999年之间已收到4封敦促每月进行监测及谨慎用药的信件。这些信件并未显著影响医生的监测行为，医生并未定期进行在告医疗卫生人员信和包装说明书中推荐的AT监测（Graham and Drinkard et al. 2001）。此外，对94例自发报告至FDA的肝功能衰竭病例的分析显示，19例患者从正常肝功能检测结果进展至不可逆肝损伤发生在1个月内（推荐的监测间隔）。损伤发生于曲格列酮治疗3天后至2年以上（Graham and Green et al. 2003a; Graham and Drinkard et al. 2003b）。从黄疸至发生肝性脑病、肝移植或死亡的时间通常很短，平均24天。曲格列酮2000年3月从美国撤市，当时已有疗效相似但肝毒性很小或无肝毒性的其它药物（罗格列酮、匹格列酮）可用。

曲格列酮治疗经验除可作为又一例有预测价值的伴随2例胆红素升高的肝细胞损伤证据外，我们还可从中获得其他教训：（1）即使向所有执业医师发出几封警告信之后，监测建议可能仍未得到良好执行；（2）某些严重肝毒性病例发生迅速，低于合理及实际推荐的监测间隔，提示即使遵循监测建议，监测最多也仅能提供部分保护。此外，随着曲格列酮的撤市，许多公司开始寻找产生毒性的原因，以确定个体对DILI的易感性，NIH 2003年建立了一个全国性网络研究该问题（Watkins 2005）。

Exanta (希美加群)

Exanta (希美加群)，一种口服抗凝血剂（抗纤维蛋白酶）因肝毒性和临床试验期间发现的其他问题未在美国上市。在2004年9月的一次FDA听证会上，提出并讨论了与希美加群的潜在肝毒性相关的问题（He 2004）。在该药预防关节置换术后血栓栓塞并发症的短期临床试验期间，与依诺肝素-华法林组相比，希美

加群组的转氨酶升高发生率未增加，并且未观察到严重肝毒性。但是在慢性房颤患者中进行的预防栓塞性或血栓性卒中的长期（>35天）试验中，6978例患者中有7.6%的患者ALT>3×ULN，而接受华法林治疗的患者中ALT>3×ULN的为1.1%；1.5%接受希美加群治疗的患者ALT>10×ULN。

AT升高通常在开始希美加群给药后1-6个月发生，并在随机化后2-3个月内达到峰浓度。在531例希美加群治疗的ALT>3×ULN的患者中，39%完成了研究治疗，61%中断药物治疗。无论是否停药，几乎所有ALT>3×ULN的患者均恢复至<2×ULN，尽管如果希美加群给药停止，ALT恢复至正常水平的速度更快。在18例ALT恢复至正常后重新开始给药的患者中，仅2例AT再次升高。在约7000例患者中观察到37例ALT和胆红素伴随升高，分别为>3×ULN 和>2×ULN，其中至少13例患者ALT和胆红素的伴随升高无另一种解释。这37例患者中有9例死亡，但在大多数病例中死亡与肝毒性无明确相关性。仅进行1例尸检，发现肝脏为小的、易碎的、弥漫性斑块样，提示严重弥漫性肝坏死，但希美加群导致的肝功能衰竭还可促成某些其它死亡（He 2004; Lewis 2006; Kaplowitz 2006; Senior 2006; Temple 2006）。因为在一项整形外科试验的35天扩展治疗中观察到严重肝毒性，Exanta 2006年2月从22个获批国家撤市，并放弃在美国的进一步研发。

此外，希美加群的短期耐受性，及大多数情况下ALT实质性升高的消退，均不能预测长期安全性。海氏法则病例的相对高发生率——约0.2%或1/500（7000例暴露患者中的13例）——可预测到严重肝毒性的发生率约为1/5000（海氏法则病例的10%）。事实上，7000例暴露患者中继肝毒性后至少发生1例死亡，进一步证实了这一估计。