

英夫利西单抗质量控制中的趋势分析*

刘春雨, 于传飞, 武刚, 李萌, 付志浩, 俞小娟, 崔永霏, 王兰**

(中国食品药品检定研究院 单克隆抗体产品室 卫生部生物技术产品检定方法及标准化重点实验室, 北京 102629)

摘要 目的: 对英夫利西单抗的质量控制项目进行趋势分析。**方法:** 利用 WEHI164-13var 细胞株作为靶细胞, 通过细胞增殖抑制作用, 使用 CellTiter 96AQ_{ueous} 检测试剂进行英夫利西单抗的生物学活性检测, 以英夫利西单抗参比品计算供试品相对百分效价; 采用分子排阻色谱方法, 按面积归一化法计算单体峰面积百分比进行抗体纯度检测; 采用紫外分光光度法进行蛋白质含量检测; 采用电位法进行 pH 检测; 对中国食品药品检定研究院 (NIFDC) 和企业质控实验室多批次英夫利西单抗的上述检测结果, 分别建立警戒限 (均值 $\pm 2SD$) 和行动限 (均值 $\pm 3SD$), 绘制趋势分析图, 对结果进行连续性趋势分析; 并对生物学活性的检测结果进行周期性趋势分析。**结果:** 英夫利西单抗供试品和参比品在生物学活性中均存在量效关系, 符合四参数方程式: $y = (A - D) / [1 + (x/C)^B] + D$, 在半对数坐标纸上呈 S 型曲线分布。对 2008—2017 年某企业 65 批英夫利西单抗的生物学活性检测结果显示, 生物学活性相对百分效价均值 NIFDC 与企业分别为 $(98.000 \pm 9.384)\%$ 和 $(103.046 \pm 4.421)\%$; 蛋白质含量均值分别为 $(96.431 \pm 3.000)\text{mg} \cdot \text{瓶}^{-1}$ 和 $(99.692 \pm 1.185)\text{mg} \cdot \text{瓶}^{-1}$; 分子排阻色谱单体峰面积均值分别为 $(99.771 \pm 0.177)\%$ 和 $(99.543 \pm 0.179)\%$; pH 均值分别为 7.272 ± 0.111 和 7.309 ± 0.038 。对上述结果进行连续性和周期性趋势分析, 总体趋势较平稳。**结论:** 通过对英夫利西单抗的部分关键质量属性 (CQA) 进行趋势分析, 结果反映了该制品的变化情况, 对评价英夫利西单抗的批间一致性和生产工艺稳定性提供了参考, 也为其他单抗质控中的趋势分析提供重要指导。

关键词: 英夫利西; 单抗; 质量控制; 生物学活性; 蛋白质含量; 分子排阻色谱; pH; 趋势分析

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2019)01-0030-09

doi: 10.16155/j.0254-1793.2019.01.04

Trend analysis in quality control of infliximab*

LIU Chun-yu, YU Chuan-fei, WU Gang, LI Meng, FU Zhi-hao,
YU Xiao-juan, CUI Yong-fei, WANG Lan**

(Division of Monoclonal Antibody, National Institutes for Food and Drug Control, Key Laboratory of the Ministry of Health for Research on Quality and Standardization of Biotech Products, Beijing 102629, China)

Abstract Objective: To carry out trend analysis in the project of quality control of infliximab. **Methods:** The WEHI164-13 var cell line was used as the target cell, the inhibition of cell proliferation was used to detect the

* 国家“重大新药创制”科技重大专项资助项目 (No. 2018ZX09736008-006)

** 通信作者 Tel: (010) 53852159; E-mail: wanglan@nifdc.org.cn

第一作者 Tel: (010) 53852176; E-mail: foxfoxive@163.com

biological activity of infliximab using the CellTiter 96AQ_{ueous} detection reagent, and the relative potency was calculated by $EC_{50}(\text{reference})/EC_{50}(\text{test article}) \times 100\%$. Size exclusion chromatography methods was used to detect the purity by calculating the area percentage of the monomer peak according to the area normalization method. Ultraviolet spectrophotometry was used to detect the protein content. Potential method was used to detect pH. The warning limits (mean \pm 2SD) and action limit (mean \pm 3SD) were established according to the test results of several batches of infliximab by National Institutes for Food and Drug Control (NIFDC) and the quality control laboratory of manufacturer. Trend analysis graph was plotted and the consistency trend of infliximab was analyzed. Finally, the results of biological activity were carried out periodic trend analysis. **Results:** Both the samples and reference showed a dose-response relationship in biological activity, in line with the four-parameter equation: $y = (A-D) / [1 + (x/C)^B] + D$, presenting S-shaped curve distribution on semi-log coordinate paper. The results of the biological activity test of 65 batches of infliximab in a certain enterprise from 2008 to 2017 showed that the average relative potency of biological activity of the NIFDC and the enterprise were $(98.000 \pm 9.384)\%$ and $(103.046 \pm 4.421)\%$, respectively. And mean values of the protein content were (96.431 ± 3.000) mg per vial and (99.692 ± 1.185) mg per vial respectively. The monomer peak area of SEC-HPLC were $(99.771 \pm 0.177)\%$ and $(99.543 \pm 0.179)\%$, while pH were 7.272 ± 0.111 and 7.309 ± 0.038 respectively. The consistent and periodic trend analysis of the above-mentioned results showed that the total trend was relatively steady. **Conclusion:** This is the first time to conduct the trend analysis in some critical quality attributes (CQA) of infliximab. These results reveal the changes of the products, which provide references for evaluating the batch consistency and production stability, and also provide important guides for trend analysis in quality control of other monoclonal antibodies.

Keywords: infliximab; monoclonal antibody; quality control; biological activity; protein content; SEC-HPLC; pH; trend analysis

单克隆抗体类生物治疗产品是指含有抗体基因片段的蛋白药物,作为靶向药物,由于其作用机制明确,治疗效果比较理想,在抗肿瘤、自身免疫病、抗感染及器官移植排斥等多种疾病中取得了较好的疗效,因此成为国内外研发的热点。目前全球销售排名前10位的药品中有7个为抗体类新型生物大分子药物。抗体药物的接连上市和重磅销售引发了抗体药物的研发热潮^[1-3]。

肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor α , TNF α) 是一种主要由巨噬细胞和单核细胞产生的具有多种生物学活性的细胞因子,参与正常炎症反应和免疫反应,通过细胞膜上的 TNF 受体 (TNFR) 介导炎症发生,在抗感染和抗肿瘤治疗中发挥重要作用, TNF- α 在机体内过量产生却可与其他炎性因子一起介导多种免疫病理损伤^[4-5]。

抗 TNF- α 单抗作为肿瘤坏死因子的生物抑制剂,对类风湿性关节炎 (rheumatoid arthritis, RA)、强直性脊柱炎 (ankylosing spondylitis, AS)、银屑病性关节炎 (psoriaticarthritis, PsA)、溃疡性结肠炎 (ulcerative

colitis, UC)、成人和儿童克罗恩病 (Crohn's disease, CD) 等自身免疫病具有显著疗效^[6-10]。英夫利西单抗是一类人-鼠嵌合型抗 TNF- α 单抗,它可以高吸附性、高亲合性地与 TNF- α 的可溶性和跨膜形式 (tm TNF- α) 特异性结合,但不能结合于淋巴毒素 (TNF- β), 抗体的高特异性结合可以减少其对其他生物学过程可能的非特异性影响。与 tm TNF- α 结合后,英夫利西单抗可以抑制 TNF- α 与受体结合,从而中和 TNF- α 的生物活性^[11]。

WHO 疫苗批签发指南指出,趋势分析是疫苗批签发的一个重要组成部分。近年来,许多国家对质控实验室的检测结果以及企业自检结果进行趋势分析,是判定疫苗是否放行的重要依据之一^[12]。对于单克隆抗体的质量控制,各国国家质控实验室及制品生产企业在对制品进行质量控制时,除对制品进行检验外,也越来越重视对检测结果的趋势分析。面对国内外抗体类药物的快速发展,迫切需要建立相应的抗体药物趋势分析评价技术体系,对单抗类药物的关键质量属性进行较系统的趋势分析研究。趋势分析的结

果能够反馈生产工艺过程控制,为药物警戒性监测提供数据支持,也为上市后市场监督抽验提供依据。为了对英夫利西单抗药物进行有效的质量控制和上市后监管,本文在疫苗制品趋势分析的基础上,对英夫利西单抗的关键质量属性进行趋势分析^[13-14]。

1 材料与方 法

1.1 样品

英夫利西单抗供试品和英夫利西单抗参比品均为中国食品药品检定研究院单克隆抗体产品室留样。

1.2 主要仪器及试剂

M5 多功能酶标仪及 SoftMax 分析软件 (Molecular Devices 公司); SPSS 24 分析软件 (IBM 公司); Waters 2695 HPLC 系统 (Waters 公司); TSK G3000SWXL 凝胶色谱柱 (7.8 mm × 30 cm) (Tosoh Bioscience 公司); 紫外分光光度计 (岛津公司); pH 计 (Meteler Toleko 公司)。胎牛血清 (FBS)、胰蛋白酶和 RPMI 1640 培养基, Gibco 公司; TNF- α , NIBSC; 放线菌素 D, Sigma 公司; CellTiter 96AQueous 试剂盒, Promega 公司; WEHI164-13var 细胞株为中国食品药品检定研究院单克隆抗体产品室保存。

1.3 方法

1.3.1 生物学活性检测 以含 10% FBS 的 RPMI 1640 培养基 (完全培养基) 将英夫利西单抗供试品及参比品分别稀释至 1 000 ng · mL⁻¹, 再按照 1:2 的稀释倍数往下稀释 11 个梯度; 将稀释至 2 ng · mL⁻¹ 的 TNF- α 与各稀释梯度的单抗进行 1:2 混合后, 以每孔 75 μ L 加入 96 孔细胞培养板中, 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 条件下中和 1 h; 取培养至对数生长期的 WEHI164-13var 细胞, 加入胰蛋白酶 0.5 mL, 25 $^{\circ}$ C 条件下作用 1 min, 加入 5 mL 完全培养基终止消化, 200 g 离心 5 min, 再以完全培养基重悬, 调整细胞浓度至 2 × 10⁶ 个 · mL⁻¹, 向细胞悬液中加入放线菌素 D 至终质量浓度 8 μ g · mL⁻¹, 以每孔 25 μ L 加入中和后的 96 孔细胞培养板中, 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 条件下孵育 20~24 h; 每孔加入 CellTiter 96AQueous 检测试剂 20 μ L, 置 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 条件下孵育 2~3 h; 在酶标仪上读取吸收度 (A), 检测波长为 492 nm。检测结果利用 SoftMax 软件进行数据分析, 以英夫利西单抗浓度对数为 X 轴, 对应的吸收值为 Y 轴, 选用四参数方程回归模型, 拟合剂量效应曲线, 按照参比品 EC₅₀/供试品 EC₅₀ × 100% 计算供试品的相对百分效价。

1.3.2 蛋白质含量检测 采用紫外分光光度法, 以注射用水将样品稀释至适当倍数, 检测 278 nm 处吸收度, 按 $A_{278\text{ nm}} \times \text{稀释倍数} \times \text{复溶体积} / \text{消光系数}$ 计算蛋白质含量 (mg · 瓶⁻¹)。

1.3.3 分子排阻色谱 (SEC-HPLC) 分析 采用分子排阻凝胶填充色谱柱, 流动相为含 0.2 mol · L⁻¹ 磷酸钠, 0.01% 吐温 80, pH 6.8 的缓冲液, 上样量不低于 10 μ g, 在 25 $^{\circ}$ C 条件下以 0.5 mL · min⁻¹ 的流速进行洗脱, 检测波长为 214 nm, 按面积归一化法计算单体峰面积百分比。

1.3.4 pH 检测 采用电位法检测供试品的 pH, 将电极插入 5 mL 样品中, 待样品与电极充分接触后读数。

1.4 趋势分析

1.4.1 数据来源 选取 2008—2017 年来, 连续 10 年 NIFDC 以及某企业质控实验室对 65 批英夫利西单抗的生物学活性、蛋白质含量、分子排阻色谱及 pH 的检测数据。

1.4.2 图表绘制和分析 以批次为横坐标, 检测结果为纵坐标, 将每批产品 NIFDC 以及某企业质控实验室的检测数据、警戒限、行动限和均值绘于图上, 观察图中检测数据的趋势线是否有较大的波动, 是否超出警戒限、行动限及在均值两侧平均分布的情况。连续性趋势分析: 从 2008—2017 年底, 共检测英夫利西单抗 65 批。周期性趋势分析: 每隔 1 年对制品进行周期性趋势分析, 分别对本年度的检测结果与上一年度的检测结果以及 NIFDC 检测结果与企业自检结果进行比较, 对该英夫利西单抗 2014—2017 年度的生物学活性检测结果进行周期性趋势分析, 采用图表直接对比法结合 SPSS 24 统计学软件进行比较。将近几年试验数据进行单因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

1.4.3 警戒限和行动限的建立 使用统计学 SPSS 24 软件, 对企业及 NIFDC 的检测数据进行正态性检验, 数据需符合正态分布。根据已累积的 65 批英夫利西单抗的检测数据, 计算均值及标准差 (SD), 均值 ± 2SD 作为警戒限 (引起警示的界限), 均值 ± 3SD 作为行动限 (需采取措施控制产品质量的界限)^[12]。

1.4.4 可疑结果的调查和分析 通常情况下, 1 批制品的检测数据超出行动限, 或连续 3 批制品的检测数据超出警戒限, 或结果趋势有严重的漂移 (连续 6 批结果上升或下降, 连续 8 批结果在均值同侧), 或连续 2 批结果相差 4SD 以上, 均应视为严重问题, 应对产

生的原因进行调查分析,并根据制品的检验项目及质量标准进行讨论^[12]。

2 结果

2.1 检测结果

2.1.1 生物学活性检测 英夫利西单抗参比品及供试品均存在量效关系,在半对数坐标纸上呈 S 型曲线分布,且符合四参数方程 $y=(A-D)/[1+(x/C)^B]+D$ 曲线相关系数在 0.99 以上(图 1)。

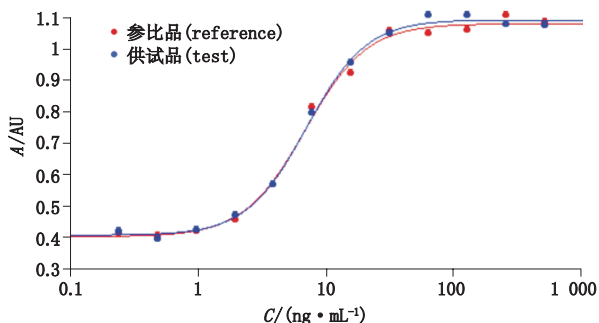


图 1 英夫利西单抗参比品及供试品剂量反应曲线
Fig. 1 The dose-response curves of reference and test articles of infliximab

2.1.2 分子排阻色谱检测 英夫利西单抗经分子排阻色谱检测(图 2),于 214 nm 处检测吸收值,按面积归一化法计算单体峰面积百分比。

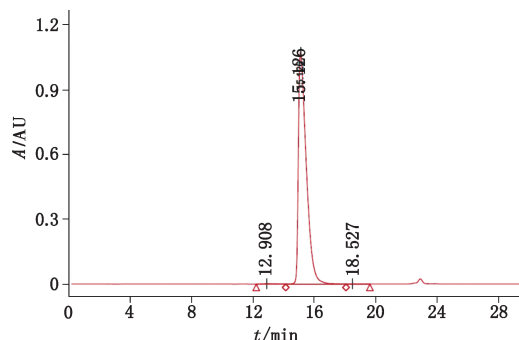


图 2 英夫利西单抗分子排阻色谱检测图谱
Fig. 2 SEC-HPLC chromatogram of infliximab

2.2 连续性趋势分析

从 2008—2017 年底,共检测某企业英夫利西单抗 65 批,其生物学活性、蛋白质含量、分子排阻色谱及 pH 的检测结果的均值(\bar{x})、标准差(SD)、相对标准偏差(RSD)见表 1。

表 1 某企业英夫利西单抗检测结果 ($n=65$)

Tab. 1 Test results of infliximab of a manufacturer

质控项目 (quality attribute)	NIFDC		企业 (manufacturer)	
	$\bar{x} \pm SD$	RSD/%	$\bar{x} \pm SD$	RSD/%
相对百分效价 (relative potency) /%	98.000 ± 9.384	9.576	103.046 ± 4.421	4.290
蛋白质含量 (protein content) / (mg per vial)	96.431 ± 3.000	3.111	99.692 ± 1.185	1.188
SEC-HPLC 单体峰面积 (monomer peak area) /%	99.771 ± 0.177	0.178	99.543 ± 0.179	0.180
pH	7.272 ± 0.111	1.528	7.309 ± 0.038	0.526

以批次为横坐标,检测结果为纵坐标,将 NIFDC 检测结果及企业自检结果、各自均值、警戒限(均值 ± 2SD)、行动限(均值 ± 3SD)绘于趋势分析图上。英夫利西单抗的检测结果均符合标准规定,趋势分析的结果如下:

2.2.1 生物学活性检测结果的趋势分析 NIFDC 检测结果未出现超出警戒限,未出现连续 2 批结果相差 4SD 以上,未出现连续 6 批结果上升或下降情况,出现连续 13 批结果在均值同侧的漂移情况。经分析,漂移数据在趋势分析曲线上集中且接近均值,未超过警戒限(均值 ± 2SD);企业自检结果出现

1 批超出行动限但在质量标准范围内结果,为早期批次数据结果。见图 3。

2.2.2 蛋白质含量检测结果的趋势分析 NIFDC 绝大多数结果在警戒限以内,未出现连续 2 批结果相差 4SD 以上,未出现超出行动限或连续 3 批超出警戒限结果,未出现连续 6 批结果上升或下降情况,但出现连续 13 批结果在均值同侧的漂移情况;企业自检结果出现 1 批超出行动限但在质量标准范围内结果,为早期批次数据结果。见图 4。

2.2.3 分子排阻色谱检测结果的趋势分析 NIFDC 绝大多数检测结果在警戒限以内,未出现连续 2 批

结果相差 4SD 以上, 出现 2 批结果超出行动限, 但未超出质量标准范围, 未出现连续 6 批结果上升或下降或连续 8 批结果在均值同侧的漂移情况; 企业自检结果出现 3 批结果超出行动限, 但未超出质量标准范围, 出现连续 11 批结果在均值同侧的漂移情况。几批超出行动限的结果均为早期批

次, 从趋势分析曲线可以看出, 早期的数据变异较大, 而随着时间, 生产批次增加, 检测结果趋于上升且趋于稳定; 出现漂移的数据也均在平均值以上, 对于分子排阻色谱的单体峰质量控制为不低于某一限值, 因此, 高于平均值的结果认为纯度更高 (图 5)。

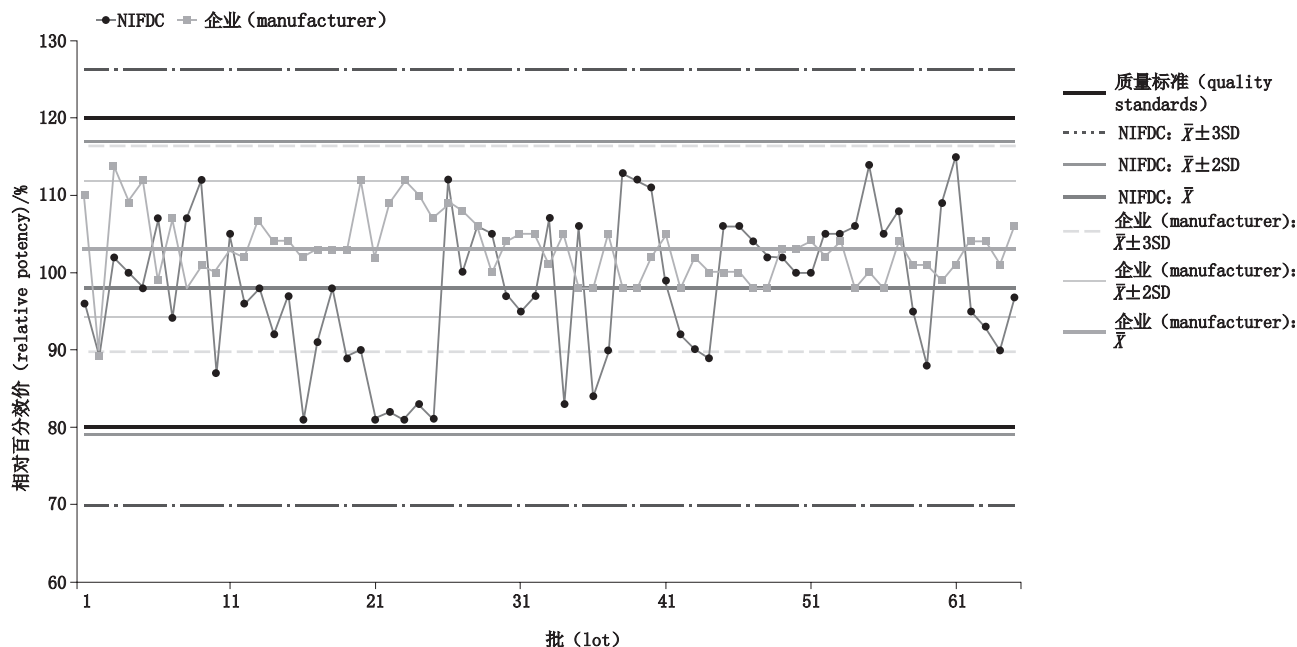


图 3 英夫利西单抗生物学活性检测结果的连续性趋势分析

Fig. 3 Consistent trend analysis of biological activity for infliximab

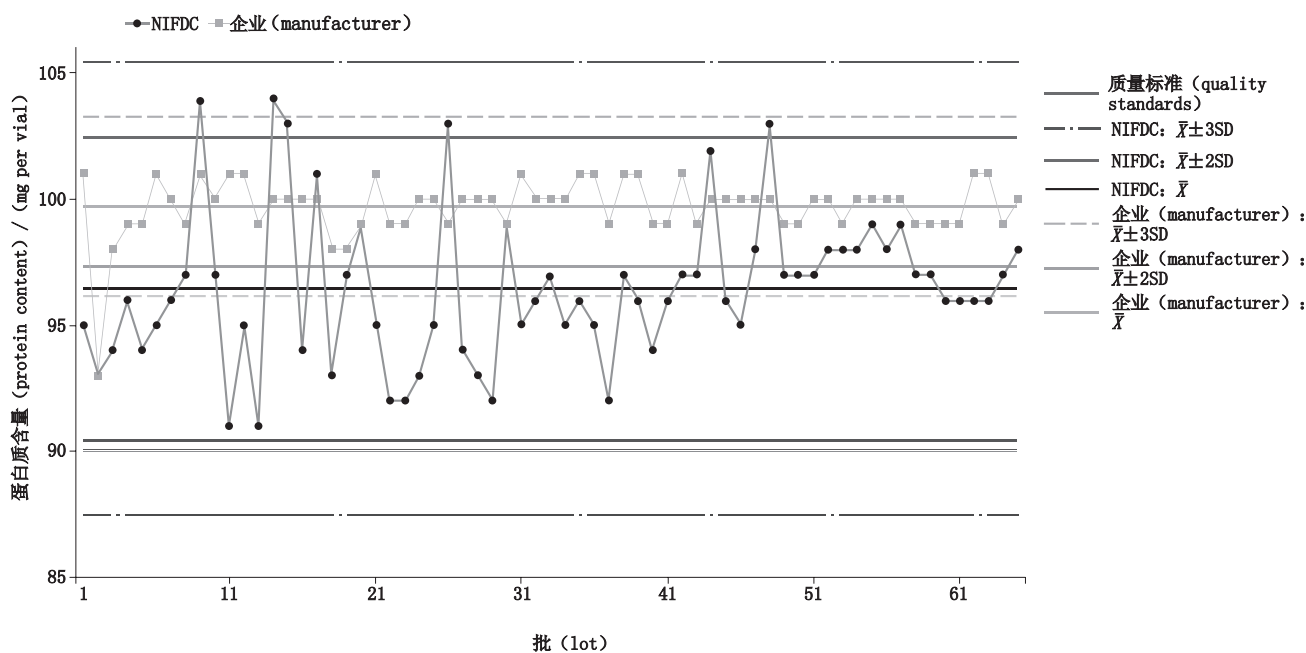


图 4 英夫利西单抗蛋白质含量检测结果的连续性趋势分析

Fig. 4 Consistent trend analysis of protein content for infliximab

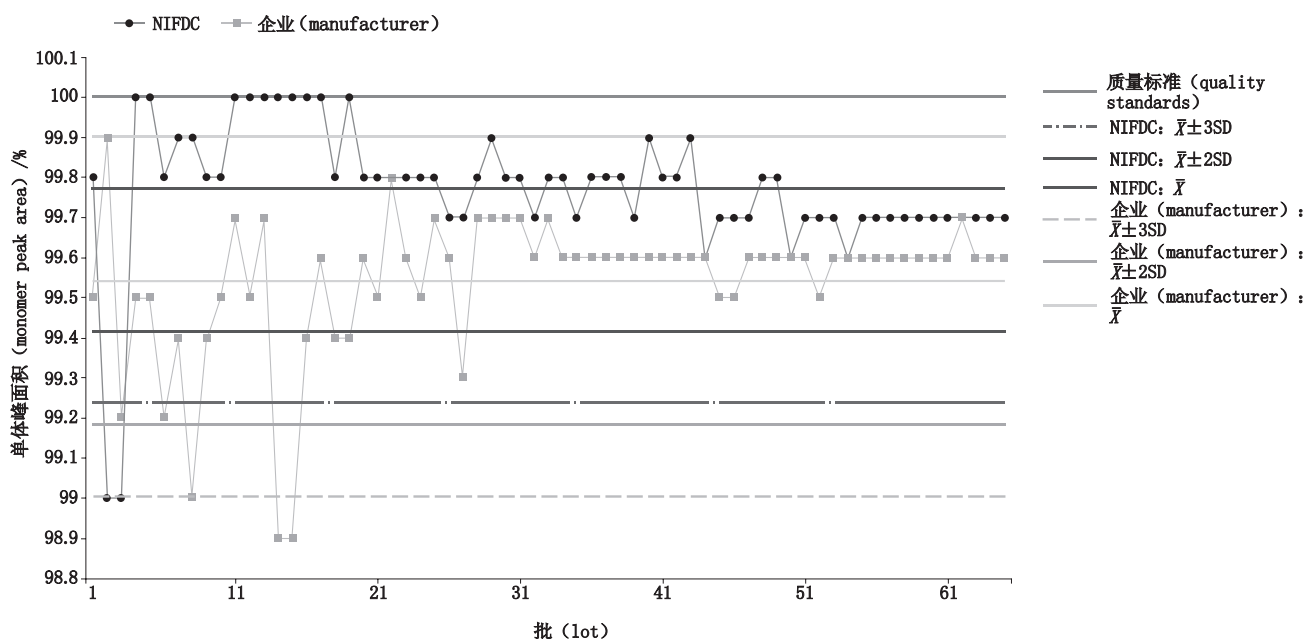


图 5 英夫利西单抗 SEC-HPLC 检测结果的连续性趋势分析
Fig. 5 Consistent trend analysis of SEC-HPLC for infliximab

2.2.4 pH 检测结果的趋势分析 NIFDC 绝大多数结果在警戒限以内, 未出现连续 2 批结果相差 4SD 以上, 未出现超出行动限结果, 出现连续 3 批超出警戒限结果, 存在连续 8 批以上结果在均值同侧的漂移情况, 经回顾该漂移批次为仪器更新原因; 企业自检

结果出现 1 批超出行动限但在质量标准范围内结果, 为早期批次数据结果, 存在连续 8 批以上结果在均值同侧的漂移情况, 从趋势分析曲线可以看出, 早期的数据变异较大, 且数据偏高, 导致总体均值较高, 而随着生产批次增加, 检测结果趋于稳定。(图 6)

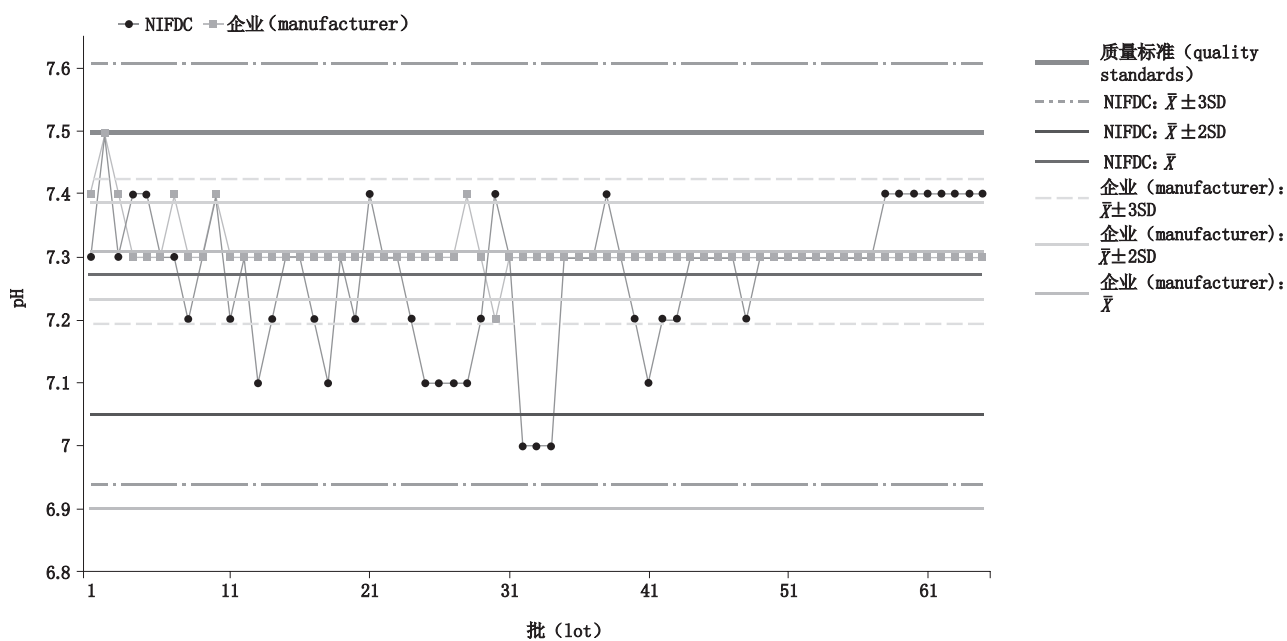


图 6 英夫利西单抗 pH 检测结果的连续性趋势分析
Fig. 6 Consistent trend analysis of pH for infliximab

2.3 英夫利西单抗生物学活性检测结果的周期性趋势分析

对制品的检测结果进行周期性趋势分析,分别对该段时间内的检测结果与前段时间内的检测结果进行比较。以生物学活性检测为例,对 NIFDC 检测结果与企业自检结果进行比较。选取 2014—2017 年度数据,采用直接的图表对比法进行比较。以批次为横坐标,检测结果为纵坐标,以上一年度检测生物学活

性结果的均值和标准差制定警戒限(均值 $\pm 2SD$),行动限(均值 $\pm 3SD$),对下一年度数据进行周期性趋势分析。结果显示,NIFDC 检测结果绝大多数在警戒限以内,未出现超出行动限结果,出现连续 4 批超出警戒限结果;而企业自检结果未超出行动限,未出现连续 6 批结果上升或下降或连续 8 批结果在均值同侧的漂移情况。见图 7~9。

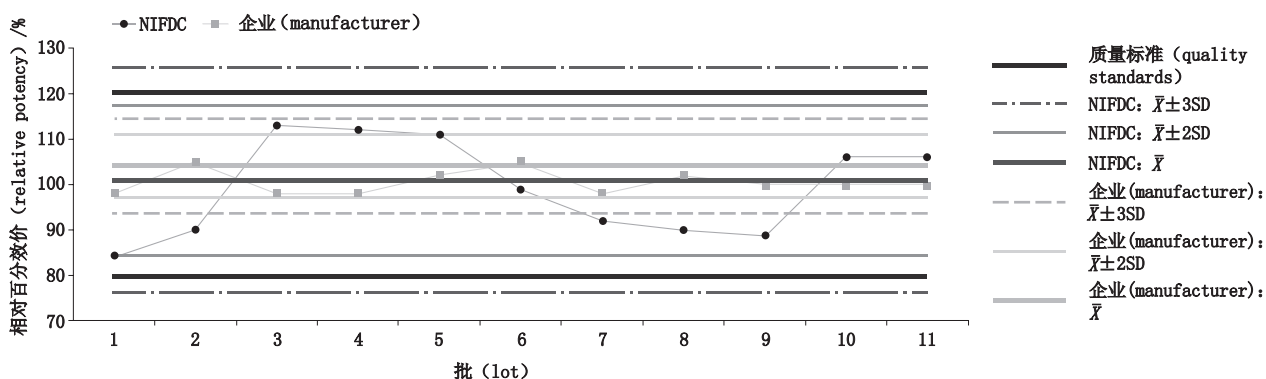


图 7 英夫利西单抗生物学活性周期性趋势分析 (2014/2015 年度)

Fig. 7 Periodic trend analysis of biological activity for infliximab (in 2014/2015)

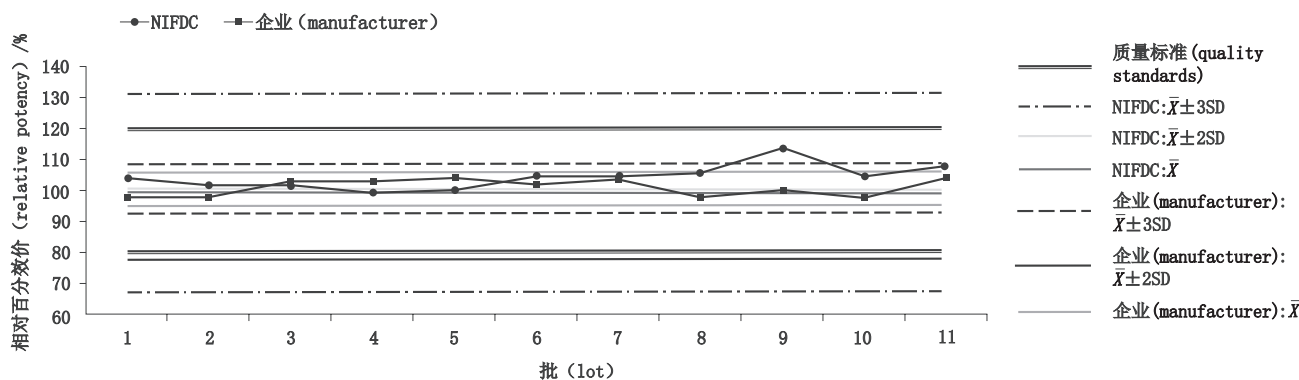


图 8 英夫利西单抗生物学活性周期性趋势分析 (2015/2016 年度)

Fig. 8 Periodic trend analysis of biological activity for infliximab (in 2015/2016)

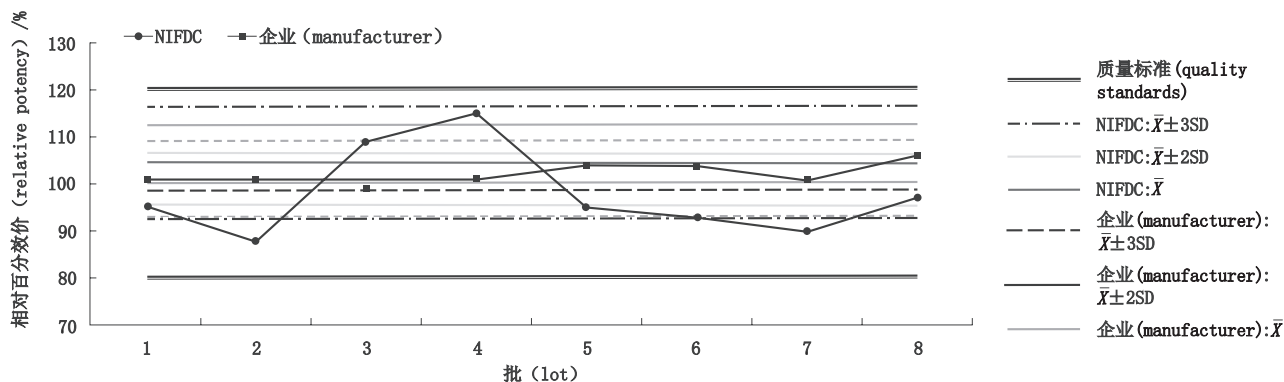


图 9 英夫利西单抗生物学活性周期性趋势分析 (2016/2017 年度)

Fig. 9 Periodic trend analysis of biological activity for infliximab (in 2016/2017)

3 讨论

近20年来,抗体类药物的发展势头迅猛,其安全性和有效性越来越受到关注,建立和完善各类单抗的质量控制分析方法是质控关键,与此同时,对检测结果的评价和分析也是不可或缺的质控步骤。

本文对2008—2017年以来,连续10年共计65个批次的英夫利西单抗进行趋势分析,发现NIFDC的生物学活性和蛋白质含量检测结果绝大多数在警戒限以内,未出现超出行动限结果,但出现连续结果在均值同侧的漂移情况,回顾出现漂移结果的批次,发现生物学活性与蛋白质含量结果存在大部分重叠,将该部分检测数据进行相关性分析($P=0.617$),结果证明两者存在相关关系,说明蛋白质含量与生物学活性具有相关性;分子排阻色谱检测结果出现个别结果超出行动限情况,但全部结果均在质量标准范围内。提示应对整个检验过程进行回顾分析,对仪器校准、人员培训、标准液批次、样品稀释操作及缓冲液配制等相关因素的影响进行评估。

企业的生物学活性、蛋白质含量、分子排阻色谱和pH检测的自检结果均出现1批超出行动限但未超出质量标准范围内的结果,回顾出现超出行动限结果的批次,发现其中生物学活性与蛋白质含量和pH的超出行动限结果均为2008年的同一批次,当时英夫利西检测批次和数据积累有限,未能及时监测及提示,这也进一步证明了动态监测试验数据和对每次检测结果进行趋势分析的在产品质量控制中的重要性,而趋势分析曲线上显示早期的检测数据变异较大,随着生产批次的增加,检测结果趋于稳定,也从侧面反映产品生产工艺趋于稳定。

将NIFDC各项检测结果与企业的自检结果进行配对 t 检验,发现两者差异有统计学意义($P<0.05$),而NIFDC检测结果相对于企业结果变异性较大,分析其原因,首先企业自检为多次试验结果取均值,因此整体变异度相对较小,而NIFDC为单次试验结果;另外,NIFDC的检测有操作人员变动,仪器换代等因素,这也是出现较大变异的原因。

英夫利西单抗的生物学活性评价是将英夫利西单抗参比品和供试品进行同步检测,拟合四参数

曲线并计算供试品相对于参比品的相对百分效价,相对百分效价越高,则供试品的效力越高^[15]。生物学活性,相对于其他项目,检测结果受细胞状态、孵育时间、关键试剂批次以及人员操作等影响较大,因此是一个变异度较大的检测项目;对生物学活性检测结果进行年度周期性趋势分析,也能够从侧面反映这些因素对结果的影响。各年度NIFDC检测结果与企业自检结果绝大多数位于根据上一年度检测结果均值及标准差制订的警戒限内,表明与上一年度相比,当年的检测结果未发生大的偏移,也说明该制品的生产工艺和检测方法在近几年之内相对稳定。

通过对英夫利西单抗几个关键质量项目的趋势分析,不但可以监测该制品生产的批间一致性,从而间接反映生产过程稳定性,保证每批制品应用于人体的安全有效,同时也可以提示单抗生产企业通过对连续生产批次的检测结果进行数据积累及趋势分析,从而达到质量控制和质量检测的目的,趋势分析结果还对单抗生产的工艺过程控制具有一定反馈作用。如果在趋势分析中发现某批制品的数据异常,超出警戒限或行动限,则应对整个生产过程进行回顾,检查环境、仪器、人员、原料、方法等相关因素,查明原因并及时进行纠正。在进行趋势分析时,有时需要考虑一些特殊情况,如生产工艺变更、实验方法变更以及参比品批次更换等重大改变,均需要重新累积批数来计算均值及标准差。

本文以英夫利西单抗为例对抗TNF- α 单抗的检测结果进行趋势分析,对其他单抗类治疗药物的质控和监测具有一定借鉴意义,也为单抗的稳定性提供参考。

参考文献

- [1] SLIWKOWSKI MX, MELLMAN I. Antibody therapeutics in cancer [J]. *Science*, 2013, 341(6151): 1192
- [2] GAO K, WANG J. The biopharmaceutical industry in China: history and future perspectives [J]. *Front Med*, 2012, 6(2): 101
- [3] 陈玉琴,刘春雨,郭玮. 等. 关于进口单克隆抗体类生物治疗产品注册检验资料规范性的思考 [J]. *中国新药杂志*, 2015, 24(16): 1838
CHEN YQ, LIU CY, GUO W, *et al.* Normalization of registration testing information of imported monoclonal antibody-based biotherapeutics [J]. *Chin J New Drugs*, 2015, 24(16): 1838

- [4] LI J, ZHU ZP. Research and development of next generation of antibody-based therapeutics [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2010, 120 (2): 1198
- [5] BRADLEY JR. TNF-mediated inflammatory disease [J]. *J Pathol*, 2008, 214 (2): 149
- [6] GARY R, FAYE AH, JOHN DI, *et al.* Emerging immunotherapies for rheumatoid arthritis [J]. *Hum Vaccin Immunother*, 2014, 10 (4): 822
- [7] HINZE AM, LOUIE GH. Osteoporosis management in ankylosing spondylitis [J]. *Curr Treatm Opt Rheumatol*, 2016, 2 (4): 271
- [8] FELETAR M, BROCKBANK J, SCHENTAG C, *et al.* Treatment of refractory psoriatic arthritis with infliximab: a 12 month observational study of 16 patients [J]. *Ann Rheum Dis*, 2004, 63 (2): 156
- [9] SUNG CP. Current and emerging biologics for ulcerative colitis [J]. *Gut Liver*, 2015, 9 (1): 18
- [10] JONATHAN RD, SOUDABEH FD, ETHAN AS, *et al.* Defining the ultrasound longitudinal natural history of newly diagnosed pediatric small bowel Crohn disease treated with infliximab and infliximab-azathioprine combination therapy [J]. *Pediatr Radiol*, 2017, 47 (8): 924
- [11] TAKAHIKO H, HIROKI M, SHINICHI H, *et al.* Transmembrane TNF-alpha: structure, function and interaction with anti-TNF agents [J]. *Rheumatology*, 2010, 49 (7): 1215
- [12] WHO Expert Committee on Biological Standardization. Guidelines for Independent Lot Release of Vaccines by Regulatory Authorities [S/OL]. [2018-10-11]. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/89148/1/9789241209786_eng.pdf
- [13] 刘春雨, 王兰, 郭玮, 等. 抗 CD20 单克隆抗体质量控制中生物学活性的趋势分析 [J]. *中国生物制品学杂志*, 2015, 28 (1): 58
LIU CY, WANG L, GUO W, *et al.* Trend analysis of biological activity in quality control of anti-CD20 monoclonal antibody [J]. *Chin J Biol*, 2015, 28 (1): 58
- [14] 刘欣玉, 张洁, 贾丽丽, 等. 乙型脑炎减毒活疫苗质量控制中趋势分析的应用 [J]. *中国生物制品学杂志*, 2012, 25 (11): 1562
LIU XY, ZHANG J, JIA LL, *et al.* Application of trend analysis in quality control of Japanese encephalitis attenuated live vaccine [J]. *Chin J Biol*, 2012, 25 (11): 1562
- [15] MORRIS TS, SINGER R. Biological potency assays are key to assessing product consistency. The bioassay procedure can ensure up-to-date measurement of the potency of biological and biotechnology-derived products [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2009, 22 (6): 66

(本文于 2018 年 11 月 12 日收到)