

评价胰岛素类药物药代/药效动力学的正葡
萄糖钳夹试验指导原则
(征求意见稿)

2024 5

目录

一、概述.....	- 1 -
二、正葡萄糖钳夹试验的基本原理.....	- 2 -
三、正葡萄糖钳夹试验设计.....	- 3 -
（一）临床试验设计.....	- 3 -
（二）研究人群.....	- 3 -
（三）钳夹试验前受试者的准备.....	- 5 -
（四）钳夹试验方法的选择与实施.....	- 5 -
（五）胰岛素的剂量选择.....	- 7 -
（六）钳夹试验的目标血糖值.....	- 8 -
（七）钳夹试验的持续时间.....	- 8 -
（八）钳夹试验的质量评价.....	- 9 -
（九）研究终点及评价.....	- 11 -
四、安全性评价.....	- 14 -
五、小结.....	- 14 -
六、参考文献.....	-15 -

一、概述

胰岛素类药物包括人胰岛素及胰岛素类似物。根据其作用时间的长短，胰岛素类药物通常分为速效胰岛素、短效胰岛素、中效胰岛素以及长效胰岛素，其中前两类又称为餐时胰岛素，主要用于控制餐后血糖水平；后两类称为基础胰岛素，主要用于控制非进餐状态的基础血糖水平。上述胰岛素类药物在临床上可单独使用，也有用速效/短效胰岛素和中效/长效胰岛素（双相）按照各种比例混合使用或者以预混制剂的形式使用。

随着胰岛素类药物的广泛应用，近年来短效胰岛素类药物以及每周一次的长效胰岛素类药物等逐渐成为研发的热点。不同胰岛素类药物间的区别主要是药代动力学（Pharmacokinetics, PK）/药效动力学（Pharmacodynamics, PD）差异。正葡萄糖钳夹试验由于能很好地排除内源性胰岛素的影响，客观反映外源性胰岛素类药物的 PK/ PD 特点，目前在胰岛素类药物的临床研发中成为国际公认的可靠方法。

在国家药品监督管理局 2022 年 1 月发布的《每日一次基础胰岛素生物类似药临床研究设计指导原则》^{〔1〕}和 2022 年 2 月发布的《生物类似药临床药理学研究技术指导原则》^{〔2〕}

22 基础上，结合胰岛素类药物的特点和国外相关指导原则的建
23 议^{【3,4】}制定本指导原则。

24 本指导原则主要涉及采用正葡萄糖钳夹试验评价胰岛素
25 类药物的 PK 和 PD 特征,适用于胰岛素类药物的临床研究。

26 本指导原则仅代表药品监管部门当前的观点和认识,随着
27 科学研究的进展,本指导原则中的相关内容将不断完善与更
28 新,请同时参考《药物临床试验质量管理规范》(GCP)、应
29 用本指导原则时设计和实施研究时,还请同时参考药物临床
30 试验质量管理规范(Good Clinical Practice ,GCP)、人用药品注
31 册技术要求国际协调会(International Council for
32 Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals
33 for Human Use ,ICH)和其他国内外已发布的相关指导原则。

34 本指导原则未尽事宜,鼓励申请人与监管机构进行沟通交
35 流。

36 二、正葡萄糖钳夹试验的基本原理

37 根据研究目的的不同,葡萄糖钳夹技术分为高葡萄糖钳
38 夹、正葡萄糖钳夹、低葡萄糖钳夹。其中正葡萄糖钳夹试验是
39 目前公认的评估胰岛素 PK/PD 特征的最好方法,被广泛应用
40 于胰岛素类药物的临床研究。

41 在正葡萄糖钳夹试验中,血中胰岛素浓度升高(通过外源

性给予受试或非受试胰岛素制剂）所导致的降血糖作用被不断调整的静脉葡萄糖输注所拮抗，从而使内源性胰岛素分泌被有效地抑制，同时血糖水平被“钳制”在一个预先确定的目标范围。在“钳夹”试验系统稳定的情况下，给予受试胰岛素药物后，一方面可通过检测血浆中受试药物浓度随时间的变化描述其 PK 特征；另一方面可通过在钳夹试验中为保持血糖浓度稳定在目标范围所需的葡萄糖输注速率（GIR）变化绘制受试药物的时间-作用曲线，描述其 PD 特征。

正葡萄糖钳夹试验的实施方法有两种，即全自动方法与人工方法。前者采用自动正葡萄糖钳夹仪通过闭环系统持续自动检测血糖，并根据实测血糖值与目标血糖值的差距经电脑程序每分钟自动调整 GIR 以维持血糖水平的稳定。后者一般每 2.5 分钟~30 分钟人工采血测定一次血糖，根据血糖检测值及研究者经验调整 GIR，以尽可能维持血糖在目标血糖值附近。

三、正葡萄糖钳夹试验设计

（一）临床试验设计

根据胰岛素类药物的作用特点，一般采用单剂量皮下注射给药的研究设计，并尽可能采用双盲设计。最好在同一个钳夹试验中同时研究胰岛素类药物的 PK 特征和 PD 特征。

（二）研究人群

63 正葡萄糖钳夹试验中，研究人群可选择对胰岛素敏感的
64 健康受试者或 1 型糖尿病（T1DM）患者。受试者的年龄建
65 议为 18~45 岁，体重男性 ≥ 50 kg，女性 ≥ 45 kg，身体质量指
66 数(BMI) $19.0 \sim 26.0$ kg/m²。

67 1、选择健康受试者为研究对象：

68 优点：1) 受试者招募难度以及管理难度较小；2) 钳夹试
69 验耗时较短，操作相对较简单；3) 健康受试者外周胰岛素敏
70 感性的差异较小。

71 缺点：内源性胰岛素分泌不能完全被抑制。特别是在质量
72 控制欠佳的钳夹试验中，如果血糖水平波动较大，则会导致
73 受试者内源性胰岛素分泌波动较大，影响受试胰岛素类药物
74 的 PD 数据。

75 当以健康人作为研究对象时，应尽可能减少内源性胰岛
76 素分泌及肝糖输出对胰岛素类药物的 PK / PD 数据的影响。

77 2、选择 T1DM 患者为研究对象：

78 优点：由于 T1DM 患者自身胰岛 β 细胞功能严重受损，
79 故受试者内源性胰岛素分泌对胰岛素类药物的 PK/PD 数据
80 影响较小。

81 缺点：1) 试验前需根据胰岛素类药物的类型（如长效、
82 速效）不同，更换或调整受试者原有胰岛素治疗方案。但这

83 可能导致受试者空腹血糖显著升高，且有可能增加夜间低血
84 糖风险，增加试验过程中的风险；2）钳夹试验的操控难度较
85 大且耗时；3）T1DM 受试者的胰岛素敏感性个体间差异较大，
86 有可能影响胰岛素类药物的 PD 数据；4）T1DM 受试者的招
87 募难度大。

88 综上，研究者可根据上述情况以及所研究的胰岛素类药
89 物的 PK/PD 特征合理选择研究对象。

90 （三）钳夹试验前受试者的准备

91 在正葡萄糖钳夹试验开始前 1 日，受试者需避免剧烈运
92 动，避免摄入可能影响研究药物的食物（如酒精、含咖啡因
93 的饮料等）及药物，戒烟，保持良好的膳食及作息习惯，避
94 免精神紧张及过度劳累，入睡时间不能太晚。研究对象应禁
95 食过夜（至少 10 至 12 小时）后进行钳夹试验，并在整个试
96 验过程中保持禁食，以避免对研究结果产生影响。在钳夹试
97 验过程中，受试者需卧位或半卧位休息，保持情绪稳定。

98 如果受试者为 T1DM 患者，在保障受试者安全的情况下
99 应将原治疗方案中睡前注射的长效胰岛素更换为中效或短
100 效胰岛素制剂，以减少受试者在试验前最后一次注射胰岛素
101 后的残留效应。

102 （四）钳夹试验方法的选择与实施

目前多采用无静脉胰岛素输注的正葡萄糖钳夹试验或小剂量胰岛素静脉输注的高胰岛素-正葡萄糖钳夹试验来评价胰岛素类药物的 PK/PD 特征。

1、选择健康受试者为研究对象：

当以健康人作为受试者研究速效/短效胰岛素类药物时，如果采用无静脉胰岛素输注的正葡萄糖钳夹试验，其钳夹试验的目标血糖值应严格控制在低于受试者自身空腹血糖水平以尽可能抑制内源性胰岛素分泌^[5]。如果采用高胰岛素-正葡萄糖钳夹试验，则在受试胰岛素类药物给药前，需持续静脉输注小剂量（如 0.10 ~ 0.15 mU/min/kg 体重）速效或短效胰岛素以抑制内源性胰岛素分泌，并同时输注葡萄糖液以维持血糖水平于预先设定的目标值（如 4.5-5.5mmol/L），待 GIR 稳定达平台后再注射受试胰岛素类药物，并在其后的钳夹试验中继续维持血糖于目标值附近。

以健康人作为受试者研究中效/长效胰岛素类药物时，建议最好采用无静脉胰岛素输注的正葡萄糖钳夹试验^[4]。因为在胰岛素持续静脉输注的钳夹试验中，随着静脉输注胰岛素的时间延长，外周组织对胰岛素的敏感性增加，这会导致 GIR 增加^[6]，有可能改变中效/长效胰岛素类药物的后期 PD 参数，高估受试胰岛素类药物的药效学数据。

尽管在钳夹试验中使用生长抑素能更好地抑制健康志愿

者内源性胰岛素、胰高血糖素和生长激素分泌，但由于其耐受性问题以及钳夹试验结束后的低血糖问题，一般不推荐使用。此外，使用生长抑素后会使胰岛素的清除率降低约 20%，从而人为地延长了受试胰岛素类药物的作用时间^[4]。

2、选择 T1DM 患者为研究对象：

如果以 T1DM 患者作为受试者，应根据患者原治疗方案中胰岛素的作用时间，在受试胰岛素类药物给药前适时提前调整原胰岛素治疗方案，以避免对受试胰岛素类药物 PK/PD 数据的影响（残留效应）。在受试胰岛素类药物给药前至少 4-6 小时即开始静脉输注短效或速效胰岛素，必要时静脉输注葡萄糖液，以维持血糖水平在目标值（如 5.5 mmol/l）附近。在受试胰岛素类药物给药前至少 1 小时钳夹试验应达到稳态，停止静脉输注胰岛素后皮下注射受试胰岛素类药物。给药后当血糖水平较目标值下降超过约 0.28mmol/L 时，开始正葡萄糖钳夹试验。

（五）胰岛素的剂量选择

钳夹试验中受试胰岛素类药物的剂量最好在临床常规使用的合理范围内。试验中常用的胰岛素类药物的剂量为：速效/短效胰岛素 0.2 ~ 0.3U/kg，中效胰岛素 0.3 ~ 0.4U/kg，长效胰岛素 0.4 ~ 0.6U/kg^[4]。

较高的胰岛素剂量通常会获得更可靠的 PD 参数，从而减

少 PD 变异性。此外，较高剂量胰岛素吸收入血后所产生的血胰岛素水平预计位于胰岛素剂量-反应曲线的陡峭部分，这有助于选择合适的剂量进行后期剂量探索研究。但如果所选择的受试胰岛素类药物的剂量超出了临床上多数 1 型或 2 型糖尿病常用的剂量范围，则该试验中所获得的 PK/PD 参数外推至临床糖尿病患者时需谨慎。

(六) 钳夹试验的目标血糖值

在健康受试者中进行的正葡萄糖钳夹试验，其目标血糖值通常应低于受试者空腹血糖值（如较空腹血糖值降低 0.3mmol/L，或较空腹血糖降低 10%）^[4]。如果采用高胰岛素-正葡萄糖钳夹试验，其目标血糖值可选择在 4.5-5.5mmol/L。在 T1DM 患者中进行的钳夹试验，血糖浓度通常维持在 5.5 mmol/L 左右。

在钳夹试验中，应预先确定可接受的实际血糖水平与目标血糖值的偏差范围（如 $\pm 10\%$ ）。一般而言，试验中血糖水平不能低于 3.3 mmol/L^[7]，因为这可能导致肾上腺素、胰高血糖素、皮质醇、生长激素等升糖激素的分泌，使外周组织对胰岛素敏感性迅速而显著地降低，从而影响到所研究的胰岛素类药物的时间作用曲线。

(七) 钳夹试验的持续时间

应提供选择钳夹试验持续时间的理由。

钳夹试验的持续时间需要考虑到受试胰岛素类药物的已知作用时间及其剂量依赖性（胰岛素类药物的剂量对胰岛素作用时间的影响）。对于健康受试者，在钳夹试验中受试胰岛素类药物作用时间可定义为从注射胰岛素到 GIR 恢复到基线或预定值（如 0.5mg/kg/min）的时间；对于糖尿病患者则可定义为血糖值超过预定阈值的时间（如 8.3-13.9mmol/L）且持续 30 分钟以上。

一般而言，速效胰岛素类药物的钳夹试验时间是 8 到 10 小时，短效胰岛素类药物的钳夹试验时间是 10 到 12 小时。对于中效和长效胰岛素类药物，建议钳夹试验的时间至少为 24 小时。

（八）钳夹试验的质量评价

钳夹试验的质量直接关系到胰岛素类药物 PK/PD 数据的准确性。钳夹试验过程中的血糖水平是否稳定在靶目标附近以及血 C 肽水平是否被抑制到可接受的范围是评估钳夹试验质量的两项主要指标。

在正葡萄糖钳夹试验中应力求将血糖尽可能稳定在一个狭窄的正常范围，以达到以下两个目的：

- 1、避免血糖降低所导致的升糖激素分泌及由此引起的机体胰岛素敏感性改变；

2、避免血糖升高所刺激的内源性胰岛素分泌。

由于血糖检测的间隔时间不同、取样测定血糖水平和调整 GIR 之间固有的时间延迟、以及受试者血糖水平对 GIR 变化所作出反应的延迟等因素的影响，钳夹试验中实际的血糖值通常不符合预先设定的目标血糖值，而是围绕该目标值上下波动。钳夹试验可通过评估在试验中实际血糖值距目标血糖值波动的大小以及持续时间的长短来判断其质量^[8]。一般而言，在钳夹试验中，实际血糖值越接近目标血糖值，则钳夹试验的质量越高。钳夹试验中实际血糖值短时间小幅度偏离靶值不可避免，对受试胰岛素类药物的 PD 值影响不大。但长时间大幅度偏离血糖靶值的钳夹试验中所获得的受试胰岛素类药物的 PD 数据可靠性较差。

建议使用：（1）血糖变异系数（CVBG）来评价钳夹试验的精确性，即每次钳夹试验中所测的全部血糖值的标准差与均数的比值，以反映钳夹试验中血糖的波动大小，其计算公式如下：血糖值标准差/血糖值均值×100%。一般而言，钳夹试验的 CVBG 最好不超过 5%^[7]。（2）：血糖偏离靶值的幅度（如血糖距靶值的绝对偏移度均值，Mean absolute relative difference，MARD）来评价钳夹试验的准确性，该指标可反映整个试验过程中钳夹血糖值距靶值的波动情况^[9]。MARD（%）的计算公式如下：

208

$$\frac{\sum_1^n |BG_i - Target|}{n \times Target} \times 100$$

209

210

211

其中 BGi 为钳夹试验中各点的实测血糖值，Target 代表本次钳夹试验设定的血糖靶值，n 代表本次钳夹试验中所检测的血糖个数。

212

213

214

215

216

217

218

219

220

221

222

223

钳夹试验中给药后血清 C-肽水平较基线 C 肽水平的变化也是钳夹试验重要的质控指标。胰岛 B 细胞分泌囊泡中的胰岛素原在蛋白水解酶的作用下分解为胰岛素与 C 肽，C 肽与胰岛素以等分子量释放并进入门静脉。在钳夹试验中通常使用血 C 肽水平评估受试者内源性胰岛素分泌的抑制情况。理想情况下，给药后的 C 肽水平应持续低于给药前的基线水平（通常采用给药前的 2-3 个不同时间点的 C 肽均值作为此次钳夹试验的 C 肽基线值）。生理状态下内源性胰岛素呈脉冲式分泌，给药后 C 肽值可围绕基线值小幅度波动，但上升幅度最高不应超过其基线值的 1 倍。如果出现给药后 C 肽值超基线 1 倍以上的情况，此次钳夹试验所获得的 PD 数据需慎重纳入统计，建议进行敏感性分析。

224

225

226

研究者在总结报告中应对反应钳夹试验质量的数据如 CVBG、MARD、给药后 C 肽水平较基线值的变化等进行评估和讨论。

227

（九）研究终点及评价

1、药代动力学 (PK) 特征, 以胰岛素类药物的生物等效性试验 (BE) 为例:

速效和短效胰岛素类药物, 应选择从给药到钳夹试验结束的时间 t 的血浆浓度曲线下面积 $[AUC_{(0-t)}]$ 、从给药到无限长时间的血浆浓度曲线下面积 $[AUC_{(0-\infty)}]$ 和最大血药浓度 (C_{max}) 作为主要终点, 可选择部分有意义时间段 AUC (对相应的胰岛素有意义)、血药浓度达峰时间 (T_{max}) 和血药浓度半衰期 ($t_{1/2}$) 作为次要终点^[4, 10]。

中效胰岛素类药物的主要终点可选择从给药到某个时间段的血浆浓度曲线下面积 $[AUC_{(0-T)}]$ 和 C_{max} , 次要终点可选择 $AUC_{(0-t)}$ 、 $AUC_{(0-\infty)}$ 、部分有意义时间段 AUC、 t_{max} 和 $t_{1/2}$ ^[4, 10]。

长效及超长效胰岛素类药物表现为较平坦的药代动力学曲线, 血药浓度长时间稳定在相对较低的浓度。因此, 确定 C_{max} 以及 t_{max} 的可能性不大且无临床意义。因此, 应选择 $AUC_{(0-T)}$ 作为主要终点, 而部分时间段 AUC 如在一个给药间隔前半段的 AUC $[AUC_{(0-T50\%)}]$ 和用药间隔后半段的 AUC $[AUC_{(T50\%-T)}]$ 则作为次要终点。如有可能的话应确定 $t_{1/2}$ ^[1, 4, 10]。

PK 的等效性判定: 等效标准推荐采用传统的接受范围, PK 的主要终点如 AUC 和 C_{max} 受试制剂/参比制剂的 90% 置信区间在 80% 至 125% 之间^[11]。

生物等效性适用于主要的 PK 参数，当 T_{\max} 与药物的临床疗效密切相关时，可采用配对非参数方法对 T_{\max} 进行差异性检验。如果预计有高的变异性，应考虑进行重复设计研究（如 3 期交叉设计并重复参比制剂），以证明扩大接受范围的合理性。

2、药效动力学（PD）特征，以胰岛素类药物的 BE 试验为例：

随时间变化的葡萄糖输注速率（GIR）反映了胰岛素类药物的时间作用曲线。从 GIR-时间曲线中获取的 GIR 数据可作为评价胰岛素类药物的 PD 指标。

速效和短效胰岛素类药物，可选择从给药到钳夹试验结束的时间 t 的葡萄糖输注速率曲线下面积 $[GIR-AUC_{(0-t)}]$ 和最大葡萄糖输注速率 $[GIR_{\max}]$ 作为主要终点；其他有意义的终点包括反映速效/短效胰岛素类药物早期作用的相关指标，如 $GIR-AUC_{(0-2)}$ ，达到最大葡萄糖输注速率前的时间（ $t_{GIR_{\max}}$ ）， $Tonset$ 以及 $t_{GIR\ 0-50\%}$ ^[4]。GIR 相关的时间参数可从平滑后的 GIR-时间曲线中获得。

中效胰岛素类药物，可选择在一个给药间隔时间的葡萄糖输注速率曲线下面积 $GIR-AUC_{(0-T)}$ 和 GIR_{\max} 作为主要终点，其他有意义的终点包括 $t_{GIR_{\max}}$ 以及 $Tonset\ of\ action$ 。

长效胰岛素类药物，可选择 $GIR-AUC_{(0-T)}$ 作为主要终点。

其他有意义的终点包括反映胰岛素作用平稳的相关指标，如
GIR-AUC_{0-6h}, GIR-AUC_{6-12h}, GIR-AUC_{12-18h}, 以及 GIR-AUC_{18-24h}（一般按照每间隔 25% 时间段进行分析）的变化，或者每
小时 GIR-AUC 的波动 AUC-FGIR, τ （ τ = [AUC above
GIRmean + AUC below GIRmean]/24 [以 24 小时为时间间隔]）
【1, 4, 12】。

PD 的等效性判定: 等效标准推荐采用传统的接受范围，
PD 的主要终点指标 GIR 受试制剂/参比制剂的 90% 置信区间
在 80% 至 125% 之间【11】。如果进行重复设计研究，应记录
PD 终点的个体内变异性。

四、安全性评价

在胰岛素类药物临床试验中，除了常规的安全性评价指标
外，重点应关注低血糖事件、注射部位局部反应以及免疫原
性问题。鉴于评价胰岛素类药物 PK/PD 特征的正葡萄糖钳夹
试验多采用单次给药的临床方案，在单次给药后的数天内检
测胰岛素类药物的抗体发生率和滴度其结果不太可靠。建议
将免疫原性的检测放在 III 期临床试验中进行。

五、小结

在胰岛素类药物的临床研发中，正葡萄糖钳夹试验常用来
评价胰岛素类药物的 PK 和 PD 特征，本指导原则对正葡萄
糖钳夹试验的原理、试验设计、试验实施和质量评价进行了

291 阐述，仅代表了当前审评的认识，诚挚期盼业界提出宝贵意
292 见和建议，以便后续完善。

293 六、参考文献

294 1.国家药品监督管理局. 每日一次基础胰岛素生物类似药临
295 床试验设计指导原则，20220128

296 2.国家药品监督管理局. 生物类似药临床药理学研究技术指
297 导原则，20220211

298 3.FDA. Guidance for Industry: Bioavailability and
299 Bioequivalence Studies Submitted in NDAs or INDs—General
300 Considerations— Draft Guidance. 2014

301 4.European Medicines Agency. Guideline on non-clinical and
302 clinical development of similar biological medicinal products
303 containing recombinant human insulin and insulin analogues
304 [EB/OL].

305 5.刘辉,喻红玲,柳佳利,李佳琦,谭惠文,余叶蓉. 正葡萄糖钳夹
306 中建立高胰岛素平台与否对内源性胰岛素分泌的影响[J]. 中
307 国新药杂志,2018,27(02):167-172.

308 6.Soop M, Nygren J, Brismar K, Thorell A, Ljungqvist O. The
309 hyperinsulinaemic-euglycaemic glucose clamp: reproducibility
310 and metabolic effects of prolonged insulin infusion in healthy
311 subjects. Clin Sci (Lond). 2000; 98: 367-374

312 7.Heinemann L. Time-action profiles of insulin preparations:

313 Publishers. Mainz: Kirchheim & Company GmbH (2004)

314 8.刘辉,喻红玲,韩丽娜,张思琴,柳佳利,李佳琦,谭惠文,
315 余叶蓉. 正葡萄糖钳夹试验的质量量评价. 四川大学学报
316 (医学版) [J]. 2019; 50(4): 588-593.

317 9.Benesch C, Heise T, Klein O, Heinemann L, Arnolds S. How
318 to Assess the Quality of Glucose Clamps? Evaluation of Clamps
319 Performed With ClampArt, a Novel Automated Clamp Device.
320 J Diabetes Sci Technol. 2015 Jul;9(4):792-800

321 10.国家药品监督管理局. 以药动学参数为终点评价指标的
322 化学药物仿制药人体生物等效性研究技术指导原则,
323 20220210

324 11.US Food and Drug Administration. GUIDANCE
325 DOCUMENT. Scientific Considerations in Demonstrating
326 Biosimilarity to a Reference Product. 2015

327 12.Heise T., Zijlstra E., Nosek L., Heckermann S., Plum-
328 Morschel L., Forst T. Euglycaemic glucose clamp: what it can and
329 cannot do, and how to do it. Diabet. Obes. Metab. (2016) 18 962-
330 972

331