

# 日本儿童药定价及价格激励政策对我国的启示<sup>△</sup>

张宸\*,凡馨,金秋晨,陈永法<sup>#</sup>(中国药科大学国际医药商学院,南京 211198)

中图分类号 R951 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2021)23-2822-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2021.23.02



**摘要** 目的:借鉴日本儿童药定价及价格激励政策,为我国儿童药价格体系的完善提供参考。方法:分析日本药品定价策略,总结日本儿童药价格激励政策及其实施现状与效果,提出完善我国儿童药价格体系的建议。结果与结论:日本医保药品定价策略包括医保目录准入定价和医保目录内药品价格调整两种类型,其中儿童药价格激励政策主要包括儿童新药初次定价补正加算、目录内新增儿童适应症加算和其他措施(如符合条件的药品可获得间接价格补偿、卫生技术评估时要考虑儿童因素等)等。整体而言这些措施加快了日本儿童药研发上市、有效推动了日本儿童药发展。笔者建议我国应开展体现儿童药特殊性的卫生技术评估,对儿童药医保支付价格予以适当的直接价格激励,并合理制定儿童适用的药品品规的价格并给予价格激励,以促进我国儿童药的发展。

**关键词** 儿童药;定价机制;价格激励政策;加算;日本

## Pediatric Drug Pricing and Price Incentive Policy in Japan and Its Enlightenment to China

ZHANG Chen, FAN Xin, JIN Qiuchen, CHEN Yongfa (School of International Pharmaceutical Business, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China)

**ABSTRACT** **OBJECTIVE:** To learn from pediatric drug pricing and price incentive policy in Japan, and to provide reference for the improvement of pediatric drug price system in China. **METHODS:** The drug pricing strategy of Japan was analyzed, and price incentive policy of pediatric drugs in Japan and its implementation status and effect were summarized. The suggestions of perfecting the price system of pediatric drugs in China were put forward. **RESULTS & CONCLUSIONS:** The pricing strategy of medical insurance drugs in Japan included two types, such as access pricing of medical insurance list and price adjustment of drugs in medical insurance list. Among them, price incentive policy for pediatric drugs mainly included the premium for initial pricing of new pediatric drugs, the premium for drugs with newly added pediatric indication included in medical insurance list and other measures (such as eligible drugs could obtain indirect price compensation, and children's factors could be considered in health technology assessment). Overall, these measures accelerated the R&D and marketing of Japanese pediatric drugs, and effectively promoted the development of pediatric drugs in Japan. The author suggests that our country should carry out health technology assessment which reflects the particularity of pediatric drugs, give appropriate direct price incentives to the payment price of pediatric drugs, and reasonably set the price of drug specification suitable for children and give price incentives so as to promote the development of pediatric drugs in China.

**KEYWORDS** Pediatric drugs; Pricing mechanism; Price incentive policy; Premium; Japan

儿童与成人在药物的吸收、分布、代谢和排泄方面存在许多差异,故药物不能以成人剂量简单折算后供儿童使用<sup>[1]</sup>。目前,儿童药存在儿童专用剂型少、规格少、品种匮乏,药品包装说明书中关于儿童剂量、疗效、安全性等信息不充分,以及超说明书用药等问题,儿童甚至被称为“临床治疗意义上的孤儿(therapeutic orphan)”<sup>[2]</sup>。

除了儿童受试者招募困难和存在伦理问题导致儿

<sup>△</sup> 基金项目:2020年江苏省研究生科研创新计划(No.KYCX20\_0697)

\* 硕士研究生。研究方向:医药政策与药物经济学评价。E-mail: zc\_cpu@163.com

<sup>#</sup> 通信作者:教授,博士生导师,博士。研究方向:国内外药事法规与药品评价。E-mail: cyf990@163.com

童药临床试验难开展等原因外,儿童药的研发、生产投入高,相对成人药而言盈利较少,也是企业研发儿童药积极性不高的另一重要原因<sup>[2]</sup>。目前,世界各国儿童药激励政策主要集中在药品注册环节,如延长儿童药专利期、儿童药优先审评等,但在能直接激励儿童药生产企业的医保准入定价环节却鲜有政策涉及<sup>[3-4]</sup>。考虑到成本-效益问题,如果能在定价环节也给予儿童药价格方面的支持,将进一步推动儿童药的发展。

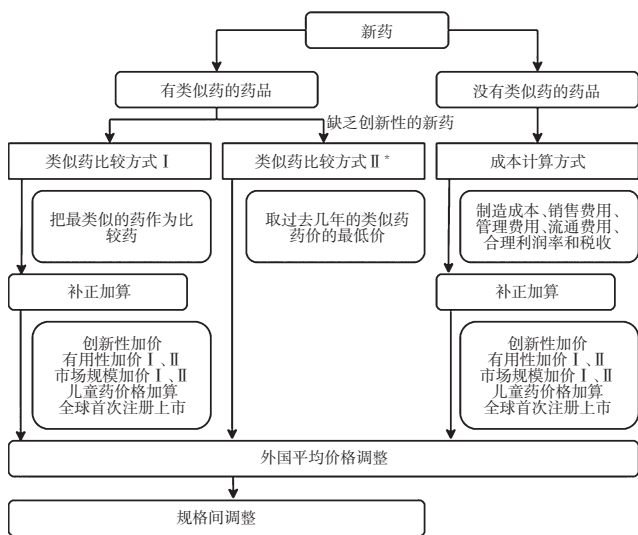
为鼓励儿童药研发、上市,日本除出台了与欧美类似的延长儿童药专利期等措施外,其独特的药品定价制度更是对儿童药产生了直接价格激励,获得了很好的成效。为此,本文对日本儿童药定价及价格激励政策进行分析,旨在为我国儿童药价格体系的完善提供参考。

# 1 日本医保药品定价

日本《健康保险法》第七十六条规定,凡是适用于医疗保险的药品价格统一由厚生劳动省制定。日本医保药品定价包括医保目录准入定价和医保目录内药品价格调整两种类型。

## 1.1 医保目录准入定价

按照《日本药品价格计算基准》,新药首次进入医保目录时根据在目录内有无可比较的类似药品采取不同的定价方案<sup>[5]</sup>(如图1所示)。若新药有可比较的类似药,则采用类似药比较方式定价,类似药比较方式按照新药创新程度又分为I和II两种形式;若新药没有可比较的类似药,则按成本定价法确定价格<sup>[6]</sup>。此外,若新药仅为已上市药品的新规格,则可直接按照“规格间调整”的方式确定价格<sup>[7]</sup>。



注:“\*”表示类似药比较方式II仅能根据国际平均价格下调

Note: “\*” means comparison method of similar drugs II can only be reduced according to the international average price

图1 日本新药价格计算方式

Fig 1 Pricing method of new drug in Japan

## 1.2 医保目录内药品价格调整

日本医保目录现有约16 000种药品,厚生劳动省每2年对这些药品进行价格调整<sup>[5]</sup>。目录内药品首先按照市场实际价格初步调整药价,再根据相关因素对价格调增或调减。调增或调减因素包括新增儿童和罕见病适应证、是否符合“鼓励创新、避免超适应证用药”条件、卫生技术评估结果、仿制药对原研药的替代率、药品在目录内存在的时间等。若存在实际销售大幅超过预期、主要适应证发生变化、主要适应证的用法用量发生变化等情形,还需要对目录内药品进行重新定价<sup>[8]</sup>。

# 2 日本儿童药价格激励政策

日本厚生劳动省在药品医保准入及定价的过程中,通过一系列直接或间接影响儿童药价格的措施激励儿童药研发,其中最主要的价格激励措施为儿童药价格加

算(以下简称“儿童加算”)。儿童加算分为儿童新药初次定价修正加算和目录内新增儿童适应证加算,两者的加算幅度均在5%~20%。除此之外,日本还给符合“鼓励创新、消除超适应证用药”条件的儿童药以间接价格补偿并在通过卫生技术评估(health technology assessment, HTA)调整药品价格时,特殊考虑儿童因素<sup>[9]</sup>。日本儿童药加算政策详见表1。

表1 日本儿童药加算政策汇总

Tab 1 Summary of pediatric drug premium policy in Japan

项目	儿童新药初次定价修正加算		目录内新增儿童适应证加算
	类似药比较方式(I)	成本计算方式	
开始实施年份	2006年	2018年	2010年
加算幅度	5%~20%	5%~20%	5%~20%
补充说明	2006年首次设立儿童药加算指标,加算幅度为3%~10%;2008年调整后,加算幅度增至5%~20%	加算幅度需经企业公开透明度折算后才是最终加算额*	加算幅度需纳入医保目录后的实际市场规模调整后才是最终加算额

注:“\*”表示公开透明程度≥80%,折算幅度=1;50%≤公开透明程度<80%,折算幅度=0.6;公开透明程度<50%,折算幅度=0.2

Note: “\*” means openness and transparency ≥80%, conversion range=1; 50% ≤ openness and transparency <80%, conversion range=0.6; openness and transparency <50%, conversion range=0.2

## 2.1 儿童新药初次定价修正加算

通过类似药比较方式或成本计算方式定价的新药可根据修正加算指标获得加价,其修正加算指标及加算率由日本中央社会保险医疗协会(以下简称“中医协”)制定。修正加算指标共有包括创新性、有用性、市场规模、儿童药、在日本通过优先审批全球首次上市等在内的7个,且分别对应不同的加算率。

2006年,厚生劳动省在新药定价的修正加算环节首次设立了儿童新药初次定价修正加算,加算幅度设定为3%~10%,并于2008年将加算幅度增至5%~20%<sup>[10]</sup>。获得该加算的药品必须对儿童(包括婴儿、幼儿、新生儿及低出生体重儿)适应证、剂量和给药方法作出明确说明。若新药在医保目录内对应的类似药已获得儿童新药初次定价修正加算,则不再重复加算;若药品同时满足市场规模加算和儿童新药加算,则优先采用加价幅度更高的儿童新药加算;未在日本国内进行临床试验的儿童药品无法享受儿童新药加算<sup>[11]</sup>。

2.1.1 有类似药的儿童新药修正加算方案 当与医保目录内原有药品在临床疗效、药理作用、药品成分、化学结构以及给药途径等方面类似的儿童新药进入目录时,将该新药与其类似药进行对比,按照“新药的日费用应与类似药在规定用法用量下的标准日费用相同的原则”进行初步定价。根据创新程度不同,类似药比较定价方式有2种:创新程度高的药品适用类似药比较方式I,选取与其最类似的药品价格进行比较;创新程度低的药品适用类似药比较方式II,选取过去几年所有类似药的最低价格进行比较。只有采用类似药比较方式I的儿童

新药可获得儿童新药初次定价补正加算,具体加算幅度由日本中医协确定<sup>[4]</sup>。

2.1.2 无类似药的儿童新药补正加算方案 若目录内没有合适的类似药可供价格比较,则使用成本计算方式对儿童新药进行定价。2018年后,通过成本定价的儿童新药也可获得包括儿童新药初次定价补正加算在内的加算。与有类似药的儿童新药不同,其获得的加算额在5%~20%基础上还需再按该药品的成本公开透明程度折算(公开透明程度=该药可以公开的成本/总成本),具体折算幅度如表1所示。

## 2.2 目录内新增儿童适应证加算

2010年开始,在日本医保目录内的药品若新增儿童适应证也可获得一定程度的价格加算。目录内新增儿童适应证加算幅度与儿童新药初次定价补正加算幅度相同,均为5%~20%<sup>[4]</sup>。获得新增儿童适应证加算的药品必须根据临床试验结果在说明书中标明与儿童有关的治疗效果和用法用量。但是在未进行或仅进行了部分临床试验,亦或仅通过文献系统评价等所需成本很低的方式新增了儿童适应证的情况下,该药则无法获得相关加算。

## 2.3 其他儿童药价格激励政策

2.3.1 符合“鼓励创新、消除超适应证用药”条件的儿童药还可额外获得间接价格补偿 2010年起,为了鼓励创新药研发,逐步消除广泛存在的超适应证用药等问题,日本规定符合“鼓励创新、消除超适应证用药”条件的药品在上市并被纳入医保目录后可获得加算(以下称为“鼓励创新等加算”),能够享受在其仿制药上市前或者在医保目录中15年不下调价格的优惠<sup>[11]</sup>。获得加算的药品主要以日本医疗上必要性高的未上市药物和超适应证用药研讨会(以下简称“研讨会”)负责界定的药品范围为基础。其中儿童药是研讨会的重点讨论对象,为此,日本相关部门还设立了“儿童药物治疗法发展改革小组”,专门负责界定符合条件的儿童药范围<sup>[12]</sup>。

2.3.2 进行卫生技术评估时特殊考虑儿童因素 2019年,日本正式引入了HTA,在保持现行定价规则基础上对部分药品进行成本-效果评价,并将评价结果作为目录内药品价格调整的依据。日本目前优先将市场规模大或单价明显较高的药品选作HTA评价对象,但是出于价格保护的考虑,首次纳入目录的儿童专用药暂不适用HTA法调整价格<sup>[13]</sup>。

在应用HTA对具有儿童适应证的药品进行评估时,相关人员不仅会充分考虑儿童用药和成人间的差异,对儿童目标人群单独确定增量成本-效果比(incremental cost-effectiveness ratio, ICER),而且给予了儿童药更高的价格调整阈值。根据现有报销水平、支付意愿调查结果、人均国内生产总值(GDP)和各国药价情况,日本目

前基于ICER的基本价格调整阈值设为500、750、1 000万日元/质量调整寿命年(QALY);但是对于治疗方法有限的儿童疾病,则可在基本价格调整阈值的基础上再提高50%来设定阈值,这意味着厚生劳动省可以接受儿童药相较其他药更高的医保支付价格<sup>[14]</sup>。

## 3 日本儿童药价格激励政策实施现状及效果分析

日本儿童药相关价格政策出台后,已有多项药品获得包括儿童新药初次定价补正加算和目录内新增儿童适应证加算,儿童药研发显著加速。本文对截至2020年12月底厚生劳动省官网所公布的获得儿童药加算的药品做了进一步统计分析。其中,获得儿童新药初次定价补正加算的药品由《新药清单》(《新医薬品一覧表》)统计得出,获得目录内新增儿童适应证加算的药品由《与儿科适应证相关的附加项目清单》(《小児適応の効能追加等に係る加算品目表》)统计得出。日本2006—2020年获得儿童药加算的药品统计如表2所示。

表2 日本2006—2020年获得儿童药加算的药品统计  
Tab 2 Quantity statistics of drugs obtained children's drug premium in Japan during 2006-2020

类别	品种数,个	品规数,个	平均加算幅度,%
获得儿童新药初次定价补正加算的药品	34	50	6.54
获得目录内新增儿童适应证加算的药品	38	104	5.13

### 3.1 儿童药加算实施现状

3.1.1 儿童新药初次定价补正加算实施情况 截至2020年12月,进入日本医保目录的34个新品种、合计50个品规的儿童药获得了儿童新药初次定价补正加算。34个药品中,仅有1个品种获得15%的加算,其余加算幅度均在5%~10%,平均加算幅度为6.54%。

获得儿童新药初次定价补正加算的34个药品中,通过类似药比较方式I定价的药品最多,有26个。6个新剂型、新规格的药品通过规格间调整法定价。通过该方式定价的儿童药在所有定价方式中的加算幅度最高,平均获得了7.50%的加算。由于成本定价法儿童加算政策于2018年才实行,故截至2020年12月仅有2个药品获得该项加算。

就剂型而言,获得加算的儿童药共有口服制剂18个、注射剂11个、外用制剂5个。获得加算的非口服剂型药品占比接近一半。外用制剂中还有包括吸入气雾剂、吸入粉末剂在内的更适合儿童使用的剂型。18个口服制剂中常用片剂仅有5个,其余13个则涉及分散片、崩解片、胶囊剂、颗粒剂、干糖浆等多种剂型,这充分体现了儿童用药在剂型上的特殊性。除唯一获得15%加算的拉莫三嗪为片剂外,整体而言外用制剂获得加算幅度最高(平均达8.50%)。注射剂与口服制剂加算幅度基本相同,而片剂之外的其他口服制剂获得加算的幅度均高于片剂。儿童新药初次定价补正加算情况统计结果如表3所示。

表3 儿童新药初次定价补正加算情况统计

Tab 3 Statistics for the premium of new pediatric drugs pricing

类别	品种数,个	加算幅度,%
按定价方式分类		
成本定价法	2	5.00
类似药比较法I	26	6.44
规格间调整法	6	7.50
按剂型分类		
口服制剂	18	6.38
除拉莫三嗪外的口服制剂	17	5.88
除拉莫三嗪外的片剂	4	5.00
除片剂外的其他口服制剂	13	6.15
注射剂	11	5.91
外用制剂	5	8.50
总计	34	6.54

另外如上文所述,厚生劳动省虽规定了适用儿童新药初次定价补正加算的条件,但未明确各药品实际加算幅度的确定原则。笔者通过对厚生劳动省官方所公示的34个获得儿童新药初次定价补正加算的药品加算理由进一步总结归纳后发现,药品获得加算的幅度与该药在日本国内儿童临床试验中的开展程度最为相关。唯一获得15%加算的药品拉莫三嗪在日本按要求对大量儿童患者开展了Ⅲ期临床试验,获得了充分的儿童临床证据来证明其安全性、有效性。其他获得10%及以上加算的药品也均在日本国内进行了充分的临床试验,而临床试验开展不充分(如患者人数较少、未在日本国内开展等情况)的药品加算幅度则均小于10%。除了临床试验开展程度外,厚生劳动省在确定加算幅度时还考虑了临床需求、剂型、对应疾病患者的规模等因素。

3.1.2 目录内新增儿童适应证加算实施情况 自2010年日本医保目录内新增儿童适应证加算政策实施以来,有38个药品、共计104个品规获得目录内新增儿童适应证加算。其中除2个药品获得7.5%的加算外,其他所有药品的加算幅度均为5%,平均加算幅度为5.13%,低于儿童新药初次定价补正加算。该项加算涉及口服制剂18个、注射剂14个、外用制剂6个,而2个获得7.5%加算的药品均为口服制剂分类下的舌下片剂。

### 3.2 日本儿童药价格激励政策实施效果

在日本儿童药价格激励政策的鼓励下,日本儿童药在审批上市数量方面以及儿童临床试验开展程度方面都有所改善。在2006年儿童新药初次定价补正加算、2010年目录内新增儿童适应证加算等儿童药价格相关政策实施时间点上,日本审批上市的儿童药数量均明显增加。厚生劳动省统计的2004—2018年日本审批上市的儿童药数量如图2所示。

此外,通过上文研究发现,儿童加算幅度与临床试验开展情况最为相关。日本的1项研究以“年度儿童药研发绩效指数”(每百万儿童人口进行的儿童临床试验

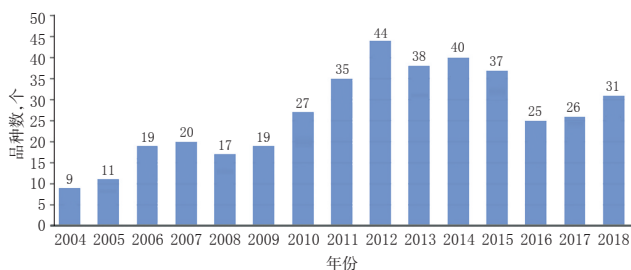


图2 2004—2018年日本审批上市的儿童药数量

Fig 2 Quantity statistics of approved pediatric drugs in Japan during 2004-2018

数)为指标,结果显示自2006年儿童药价格激励政策实施以来,日本开展的儿童临床试验数量逐年上升;2010年儿童加算政策进一步丰富后,日本儿童临床试验开展数量显著增多<sup>[15]</sup>。2006—2014年日本儿童药研发绩效指数变化如图3所示。

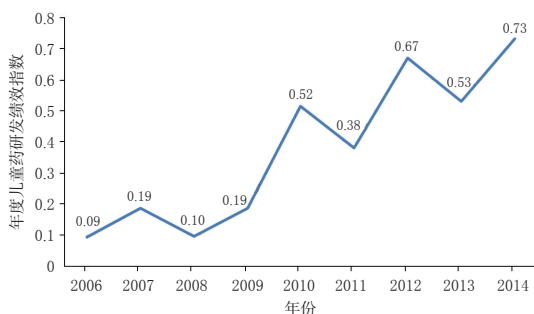


图3 2006—2014年日本儿童药研发绩效指数变化

Fig 3 Performance index change of pediatric drug R&D in Japan during 2006-2014

## 4 日本儿童药定价及价格激励政策对我国的启示

我国同样也面临各年龄段儿童药不足、儿童适用剂型和规格不丰富、儿童药标签信息缺乏等国际普遍存在的问题<sup>[16]</sup>。为提高儿童药的可及性,我国出台了一系列鼓励儿童药发展的法规文件,但更多还是集中在注册、生产供应、临床应用环节。直接涉及儿童药价格的规定分别为2013年国家食品药品监督管理局颁布的《关于深化药品审评审批改革进一步鼓励创新的意见》<sup>[17]</sup>和2014年国家卫生计生委等国家六部委联合印发的《关于保障儿童用药的若干意见》<sup>[18]</sup>。两项意见出台的时间较早,但仅涉及保护儿童药价格的原则,缺少进一步的细化措施。日本通过价格管理有效激励了儿童药研发、上市,故本文在借鉴日本经验的基础上,从医保准入及定价角度出发提出以下建议。

### 4.1 鼓励开展体现儿童药特殊性的HTA研究

应用HTA结果进行药品医保准入及定价决策是大势所趋。欧美等国较早开始基于价值的儿童药HTA探索,而在药品价格领域政府直接干预度极高的日本也在2019年引入了HTA。我国在药品医保准入及定价决策过程中已将药物经济学证据作为参考,但受限于儿童药

研究的规模不大、质量不高以及评价结果对决策的支持力度较弱等因素,这一举措尚未发挥其应有的作用<sup>[9]</sup>。我国应明确鼓励开展能体现儿童药特殊性的HTA方法及应用研究,探索其在儿童药定价及医保支付决策过程中的运用,在定价与医保环节有效激励儿童药的研发上市、市场准入。具体建议包括:(1)在《中国药物经济学评价指南》的基础上根据儿童人群特殊性制定儿童药专项评价指南;(2)对儿童药设定更宽松的医保支付阈值;(3)医保部门根据生产企业提供的高质量儿童药HTA,及时作出准入及价格调整决策。

#### 4.2 对儿童药医保支付价格予以适当的直接价格激励

日本的儿童新药初次定价补正加算、目录内新增儿童适应证加算等对儿童药的直接价格激励,促进了儿童药研发、上市。对此,笔者建议我国对首次进入医保目录的创新儿童药予以一定幅度的价格加成,可在我国谈判药品准入及价格测算的过程中将儿童药作为单独的考虑因素进行加价考虑。具体加价幅度可在我国医保基金支付承受能力的基础上,综合考虑儿童临床试验开展情况、其所满足的临床需求以及儿童药HTA结果等因素确定。对于医保目录内新增儿童适应证或补充了儿童临床研究证据的儿童药,同样可在其续谈时予以加价,在一定程度上保障其价格水平。

#### 4.3 合理制定儿童适用的药品品规的价格并给予价格激励

儿童群体的特殊决定了其对药品规格、剂型的特殊要求。日本的规格间调整规则虽未特指适用于儿童药,但在保障儿童所需小规格药品的可及性方面起到一定的作用。按此规则,同一药品不同规格的价格并非简单按倍数计算,如10 mg药品的价格不是按照5 mg的2倍计算,而仅是按照1.8倍左右进行计算<sup>[7]</sup>。其次,日本儿童适用的剂型如吸入粉末剂、颗粒剂、注射剂等更易获得加算,且加算幅度较高,反映了日本对儿童药临床所需剂型的重视。我国目前已经在政策中明确取消了“差比价”这类不利于儿童药的定价政策,也已在医保目录中纳入了部分限定为仅在儿童使用时予以报销的药品剂型(例如右旋布洛芬口服液)。笔者建议医保进一步关注药品小规格制剂的价格,保障其价格制定的合理性;同时建议医保在不断纳入更多儿童适用剂型的同时,可考虑对于同一种药品的儿童临床所需剂型也予以小幅度加价,例如分散片、崩解片、颗粒剂、干糖浆、注射剂等,进一步从剂型和规格上保障儿童药的可及性。

总之,目前我国重视、鼓励儿童药研发上市已成为共识。日本的实践表明,对儿童药进行适当价格激励,可显著激发儿童药上市的动力。为此,在消化吸收国外相关实践经验的基础上,出台符合我国实际的针对性举措,有助于促进我国儿童药产业的健康发展,惠及我国数亿儿童人群。

#### 参考文献

- [1] 郭文姣,欧阳昭连,王艳斌,等.我国儿童用药安全问题分析及政策建议[J].中国药房,2013,24(21):1926-1929.
- [2] 汤少梁,朱亚,冯莉钧,等.基于供给侧改革的我国儿童用药安全性与可及性优化路径研究[J].中国医药导报,2017,14(35):125-129.
- [3] 张雅慧,闫根全,张文,等.国内外儿童用药鼓励研发政策比较[J].国际药学杂志,2016,43(4):591-596.
- [4] 厚生労働省.薬価算定の基準について[EB/OL].(2020-02-07)[2021-03-07].<https://www.mhlw.go.jp/content/12400000/000593956.pdf>.
- [5] 王亮,李爱花,岳晓萌,等.日本药品价格制度研究及对我国药品价格管理的启示[J].中国卫生经济,2017,36(10):87-91.
- [6] 刘秋风,田侃,余同笑,等.日本医保药品价格谈判对我国的启示[J].中国医药工业杂志,2018,49(10):1474-1480.
- [7] 刘绮莉,王志伟.中日医药品价格体系比较研究[J].经济师,2017(1):83-86.
- [8] 常峰,崔鹏磊,夏强,等.日本医保药品支付价格调整机制对我国的启示[J].中国医药工业杂志,2015,46(8):915-920.
- [9] 厚生労働省.平成20年度薬価制度改革の骨子(平成19年12月14日中医協了解)の概要[EB/OL].(2007-12-14)[2021-02-18].<https://www.mhlw.go.jp/shingi/2008/03/dl/s0326-8c.pdf>.
- [10] 厚生労働省.市場性加算と小児加算との整理について[EB/OL].(2011-10-19)[2021-03-05].<https://www.mhlw.go.jp/stf/shingi/2r9852000001syo5-att/2r9852000001-sytd.pdf>.
- [11] 厚生労働省.薬価制度の抜本改革について(その10)⑥新薬創出等加算の在り方(参考資料)[EB/OL].(2017-06-14)[2021-03-01].<https://www.mhlw.go.jp/file/05-Shingikai-12404000-Hokenkyoku-Iryouka/0000167674.pdf>.
- [12] ITO T, URUSHIHARA H, MATSUSHIMA Y, et al. Mode of regulatory applications of drugs used off-label reviewed by the evaluation committee on unapproved or off-labeled drugs with high medical needs[J]. Jpn J Clin Pharmacol Ther, 2015, 46(5):233-241.
- [13] MASATAKA H, SHIGEKAZU K, TAKERU S, et al. Formal implementation of cost-effectiveness evaluations in Japan: a unique health technology assessment system[J]. Value Health, 2019, 23(1):43-51.
- [14] ISAO K, ROBT, ANNA H, et al. Health technology assessment in Japan: a work in progress[J]. J Med Econ, 2020, 23(4):317-322.
- [15] KATUSRA T, KELLY A C, TAKU O, et al. Improvement of pediatric drug development: regulatory and practical frameworks[J]. Clin Ther, 2016, 38(3):574-581.
- [16] WU W, TANG Z, CHEN J, et al. Pediatric drug development in China: reforms and challenges[J]. Pharmacol Res, 2019, 148:104412.

# 溶瘤病毒M1诱导宫颈癌细胞C-33A凋亡的作用及机制<sup>Δ</sup>

肖晓<sup>1\*</sup>,周雅思<sup>2</sup>,彭楚茵<sup>1</sup>,邓金清<sup>2</sup>,王来友<sup>1</sup>,朱文博<sup>3#</sup>[1.广东省人民医院(广东省医学科学院)药学部,广州510080;2.广东药科大学药学院,广州510006;3.中山大学中山医学院药理教研室,广州510080]

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2021)23-2827-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2021.23.03



**摘要** 目的:研究溶瘤病毒M1(简称“M1病毒”)诱导宫颈癌细胞C-33A凋亡的作用及机制。方法:采用MTT法检测不同滴度(0、0.001、0.01、0.1、1、10 PFU/cell)M1病毒处理后C-33A细胞的存活率;将C-33A细胞分为对照组(0 PFU/cell)和M1病毒低、中、高剂量组(0.001、0.01、0.1 PFU/cell),加入相应滴度病毒,培养48 h后,采用流式细胞仪检测细胞的凋亡率和感染率,采用Western blot法检测细胞中C/EBP同源蛋白(CHOP)、胱天蛋白酶12(caspase-12)、caspase-3、活化的caspase-3(cleaved-caspase-3)的表达水平。结果:经不同滴度M1病毒处理后,C-33A细胞存活率均显著降低( $P<0.01$ ),且呈剂量依赖趋势。与对照组比较,M1病毒各剂量组细胞的凋亡率和感染率以及中、高剂量组细胞中CHOP、caspase-12、cleaved-caspase-3(中剂量组除外)蛋白的表达水平均显著升高( $P<0.01$ )。结论:M1病毒可诱导宫颈癌细胞C-33A的凋亡,其作用机制可能与激活内质网应激通路有关。

**关键词** 溶瘤病毒M1;宫颈癌;C-33A细胞;内质网应激;细胞凋亡

## Effects and Mechanism of Oncolytic Virus M1 Inducing the Apoptosis of Cervical Cancer C-33A Cells

XIAO Xiao<sup>1</sup>, ZHOU Yasi<sup>2</sup>, PENG Chuyin<sup>1</sup>, DENG Jinqing<sup>2</sup>, WANG Laiyou<sup>1</sup>, ZHU Wenbo<sup>3</sup>(1. Dept. of Pharmacy, Guangdong Provincial People's Hospital/Guangdong Academy of Medical Sciences, Guangzhou 510080, China; 2. School of Pharmacy, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China; 3. Dept. of Pharmacology, Zhongshan School of Medicine, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To study the effects and mechanism of oncolytic virus M1 (called M1 virus for short) inducing the apoptosis of cervical cancer C-33A cells. METHODS: MTT assay was used to detect survival rate of C-33A cells that were treated with different titers (0, 0.001, 0.01, 0.1, 1, 10 PFU/cell) of M1 virus. C-33A cells were divided into control group (0 PFU/cell), low-dose, medium-dose and high-dose groups of M1 virus (0.001, 0.01, 0.1 PFU/cell). After treated with corresponding titers of M1 virus for 48 h, flow cytometry was used to detect the apoptotic rate and infection rate of cells; Western blot was performed to detect the protein expression of C/EBP homologous proteins (CHOP), caspase-12, caspase-3 and cleaved-caspase-3. RESULTS: After treated with different titers of M1 virus, the survival rate of C-33A cells decreased significantly ( $P<0.01$ ), and showed a dose-dependent trend. Compared with control group, the apoptotic rate and infection rate of cells in M1 virus groups as well as the protein expression of CHOP, caspase-12 and cleaved-caspase-3 (except for medium-dose group) in M1 virus medium-dose and high-dose groups were increased significantly ( $P<0.01$ ). CONCLUSIONS: M1 virus can induce the apoptosis of cervical cancer C-33A cells, and its mechanism may be related to the activation of endoplasmic reticulum stress pathway.

**KEYWORDS** Oncolytic virus M1; Cervical cancer; C-33A cells; Endoplasmic reticulum stress; Cell apoptosis

[17] 国家食品药品监督管理局.关于深化药品审评审批改革进一步鼓励创新的意见:国食药监注[2013]37号[EB/OL]. (2013-02-22)[2021-03-05].<https://www.nmpa.gov.cn/directory/web/nmpa/xxgk/fgwj/gzwj/gzwjyp/20130222-120001551.html>.

<sup>Δ</sup> 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81903652);广东省人民医院第二批双青人才项目(No.KY012021187)

\* 药师,博士。研究方向:药理学。电话:020-83827812-36066。E-mail: xiaoxiao@gdph.org.cn

# 通信作者:副教授,博士。研究方向:肿瘤药理学。电话:020-87333258。E-mail: zhuwenbo@mail.sysu.edu.cn

[18] 国家卫生计生委,国家发展改革委,工业和信息化部,等.关于保障儿童用药的若干意见:国卫药政发[2014]29号[EB/OL]. (2014-05-30)[2021-03-05].<http://www.nhc.gov.cn/cms-search/xxgk/getManuscriptXxgk.htm?id=e51-354d631944fa68aac0c4d9585f291>.

[19] 徐蔼琳,李文君,卢梦情,等.我国2009—2018年儿童药物经济学研究文献质量评价[J].中国药房,2020,31(6):718-723.

(收稿日期:2021-05-27 修回日期:2021-10-27)

(编辑:刘明伟)