

指导原则编号：

【	S	】	G	P	T	2	-	1
---	---	---	---	---	---	---	---	---

预防用生物制品
临床前安全性评价技术审评一般原则

二零零五年十二月

目 录

一、概述.....	2
二、适用范围.....	3
三、试验设计中的重点问题.....	3
(一) 相关动物.....	3
(二) 免疫毒性.....	4
(三) 具体问题具体分析.....	4
四、研究内容.....	5
(一) 急性毒性试验.....	5
(二) 长期毒性试验.....	5
(三) 局部刺激性试验.....	7
(四) 过敏试验.....	7
(五) 生殖毒性试验.....	8
(六) 其它特殊考虑.....	8
1. 免疫原性试验和保护力试验.....	8
2. 佐剂.....	9
3. 其它.....	10
五、结语.....	10
六、参考文献.....	10
七、起草说明.....	11
八、著者.....	117

一、概述

预防用生物制品（以下简称疫苗）系指含有抗原、能够诱导人体产生特异性主动免疫的制剂，它可以保护机体免受感染原、毒素，以及感染原引起的抗原性物质的损伤。

疫苗的安全性评价贯穿非临床试验、临床试验和上市后评价。它包括对原辅材料、生产工艺和过程的控制、理化性质和生物学性质的检定、动物安全性评价、临床安全性评价以及上市后不良反应监测等一系列过程。本文适用于疫苗的临床前动物安全性评价。

临床前动物安全性评价的主要目的系通过相关动物来考察疫苗的安全性，包括对免疫器官和其它毒性靶器官的影响、毒性的可逆性，以及与临床相关的参数，预测其在大规模人群中使用时可能出现的不良反应，降低临床试验受试者和临床使用者承担的风险，并为临床试验方案的制订提供依据。

疫苗可能导致的毒性反应主要包括：制品成分本身作为毒性物质对机体的直接损伤、诱导免疫系统引起的与免疫相关的毒性，以及污染物和残余杂质引起的毒性。由于疫苗系通过诱导免疫系统产生抗体及/或效应 T 细胞发挥作用，因此其最主要的潜在毒性来自与免疫系统相关的毒性，常规药物安全性评价的方法并不完全适用于疫苗。

本文仅代表目前对疫苗安全性评价的基本认识，其中的内容并不完全是注册申请人进行开发时必须完成的内容，仅作为技术审评的一般原则。

二、适用范围

本文适用于创新的灭活疫苗、减毒活疫苗、纯化疫苗、重组 DNA 技术制备的抗原疫苗、结合疫苗、合成肽疫苗，以及使用新佐剂的疫苗的动物安全性评价研究。

有关 DNA 疫苗和病毒载体疫苗的动物安全性评价请参见国家食品药品监督管理局颁布的《预防用 DNA 疫苗临床前研究技术指导原则》和《预防用以病毒为载体的活疫苗制剂的技术指导原则》。

已上市疫苗组成的联合疫苗或改变毒种、制备工艺、给药途径、给药系统、处方等疫苗的临床前安全性评价，应在本文和相关指导原则的基础上灵活掌握。

《中国药典三部》中规定的有关疫苗安全性研究的内容，本文不再赘述。

三、试验设计中的重点问题

（一）相关动物

应选用相关种属或品系的动物进行疫苗临床前安全性评价。理想的相关动物应符合以下条件：①对疫苗预防的感染原或毒素敏感；②免疫系统与人体相近，接种后产生与人体相同或相近的免疫应答；③对制品成分本身的固有毒性敏感；④已有大量历史对照数据，根据历史对照数据可以判断试验中出现的异常是动物散在的自发病变或与疫苗有关的毒性反应。由于尚不清楚幼年动物免疫器官的发育状态，及其与婴儿或儿童之间的相关性或差别，因此目前不推荐仅采用幼年

动物进行拟用于婴儿和儿童的疫苗的毒理学研究。疫苗临床前安全性评价中，动物种属或品系的选择应具有合理和科学的依据。

（二）免疫毒性

疫苗的免疫毒性是临床前研究关注的重点，主要包括超敏反应、自身免疫等。在毒理学试验中若发现疫苗对免疫系统（免疫器官，免疫组织及免疫细胞）有影响，应有针对性地进行有关免疫功能、免疫病理学等方面的研究。

疫苗抗原表位与宿主分子之间的相似性可能导致宿主的自身免疫，自身免疫的病理学后果包括直接的组织损伤、激活补体的免疫复合物沉积，或对靶器官功能的刺激作用等。由于目前动物试验尚无法准确预测外来物质引起的人体自身免疫性疾病，因此在疫苗的前期开发时，应尽量从理论上避免疫苗引起人体自身免疫的可能性。

（三）具体问题具体分析

考虑到疫苗的自身特点，以及目前免疫毒理学研究和临床前动物试验的局限性，疫苗的临床前动物安全性评价应在药物安全性评价的普遍规律的基础上，遵循“具体问题具体分析”的原则。影响临床前安全性评价的因素主要包括：疫苗的结构特点和作用机制、理论上存在的不安全因素、不同种系的动物与人体免疫系统之间的相关性、临床适应症和临床接种人群、接种途径、接种方案，以及同类疫苗在国内或国外的临床使用情况。不同的疫苗应针对其不同的特点进行试验设

计。

疫苗是否需要进行临床前动物安全性评价，以及如何进行临床前动物安全性评价均应具有合理和科学的依据。

四、研究内容

本文重点阐述与疫苗特点有关的临床前安全性评价研究内容，其中试验动物和受试物的质量控制，接种途径、动物数量和性别的确定等内容与化学药品基本相同，可参考相关化学药品临床前安全性研究技术指导原则。

（一）长期毒性试验

长期毒性试验设计的原则是尽量模拟人体的临床接种效果，该试验可以单独进行，也可以结合免疫原性试验同时进行。

1、动物选择

至少选择一种相关动物进行长期毒性试验。

2、接种剂量

接种剂量原则上应使疫苗在动物体内达到最佳的免疫应答。可以通过免疫原性试验筛选出诱导动物产生最佳免疫应答的剂量，并以此剂量来进行长期毒性试验；也可以直接采用临床试验中拟用的高剂量（按人份计）进行长期毒性试验。一些小型动物由于给药体积的限制，接种剂量难以达到临床剂量，此时建议使用同途径多点给药的方式进行试验。某些情况下，疫苗中佐剂的存在会导致动物产生严重的炎症反应，此时可适当降低接种剂量。改变处方可能改变接种机体对抗原

的应答，在研究时不宜为提高抗原浓度等目的改变疫苗的处方。另外，由于免疫应答和体表面积之间关系并不明确，所以不推荐使用体表面积折算疫苗的接种剂量。

3、接种次数

建议至少比临床拟定的接种次数多一次。

4、接种频率

疫苗的动物长期毒性试验不需要每日给药。暴露间隔一般应根据动物的免疫应答而确定。由于动物一般在一次接种 2-3 周后抗体形成达到稳定期，因此长期毒性试验一般采取 2~3 周的暴露间隔。

5、观测指标

疫苗长期毒性试验的观测指标通常包括：动物外观体征、行为活动、体温、局部刺激性、腺体分泌、粪便性状、摄食量、体重、血液学和血液生化学指标（如白细胞分类及绝对和相对计数、白蛋白/球蛋白比例、血清酶等）、大体解剖和组织病理学检查等。与免疫细胞、组织和器官有关的指标是观测的重点。组织病理学检查至少应包括：注射局部和注射局部附近的引流淋巴结、胸腺、脾脏、骨髓、派氏集合淋巴结或支气管伴随的淋巴结；脑、肝脏、肾脏、生殖系统等重要器官；以及可能受到特殊接种途径影响的器官对疫苗产生免疫应答是选择试验动物的最低要求，因此疫苗长期试验应同时考察免疫原性，以助于判断试验动物的选择。如果以上指标提示疫苗可能存在某些安全性方面的问题，或疫苗在理论上存在某种安全性方面的担心（如引起超敏反应、自身免疫性疾病病，或特殊污染物、杂质具有潜在毒性

等), 则应根据“具体问题具体分析”的原则, 考察特定的观测指标, 进行进一步的毒理学研究。

6、观测时间

长期毒性试验应在接种过程中和恢复期对毒理学指标进行观测。一般在首次接种和末次接种后 1~3 天, 以及末次接种 2-3 周后进行血液学和血液生化学指标的观测; 在末次接种及末次接种 2-3 周后进行大体解剖和组织病理学检查。

(二) 急性毒性试验

由于疫苗的接种剂量和接种频率通常较低, 对机体产生直接损伤的可能性并不大, 通常情况下, 采用一种动物 (不一定是相关动物) 进行的急性毒性试验就能够反映出疫苗对机体的直接损伤, 为临床使用提供安全范围参考。急性毒性试验的具体内容可参考相应化学药品研究技术指导原则。

(三) 局部刺激性试验

应重点观察疫苗的局部刺激性, 疫苗的局部刺激性试验应根据临床拟用给药途径进行。本试验可单独进行, 也可结合长期试验进行。具体试验内容可参见相关化学药品研究技术指导原则。

(四) 过敏试验

由于疫苗在临床上很可能引起超敏反应, 因此应在临床前完成常

豚鼠主动过敏试验。豚鼠主动过敏试验内容可参见相关化学药品研究技术指导原则。

鼓励在临床前进行其它动物试验，预测疫苗在临床上可能引起的超敏反应。

（五）生殖毒性试验

拟用于儿童的疫苗一般不用进行生殖毒性试验。拟用于妊娠妇女的疫苗必须进行生殖毒性试验。除非有证据显示疫苗在临床上不存在生殖毒性方面的担忧，拟用于可能妊娠妇女的疫苗应考虑进行生殖毒性试验。

由于疫苗诱导的免疫应答主要可能影响胚胎或新生儿的发育，因此其生殖毒性试验研究一般仅考察疫苗对动物胚胎和幼仔发育的影响。疫苗的生殖毒性试验应选用敏感动物。由于试验动物的妊娠周期通常较短，为使动物在整个妊娠期间充分暴露，一般需在交配前接种。接种间隔一般应根据动物的免疫应答而确定，必要时应在妊娠期间进行加强免疫，以维持妊娠期间疫苗诱导的最佳免疫应答。试验观测指标至少应包括活胎数、吸收胎数、流产数、胎体重量和形态学检查，以及幼仔断乳前的生存率、体重和体重增长等。必要时，生殖毒性试验还应考察脐带或胚胎血液中的抗体水平，以确定胚胎的抗体暴露水平。

（六）其它特殊考虑

1. 免疫原性试验和保护力试验

免疫原性试验考察疫苗在动物体内引起与人体相关的体液免疫或细胞免疫应答。体液免疫试验主要测定动物血清中和抗体效价。必要时，疫苗在临床前还应进行其它与免疫应答有关的研究。在可能的情况下，还应在动物体内进行疫苗的保护力试验，以反映疫苗的保护作用。

临床前动物免疫原性试验不仅可以为疫苗进入临床试验提供支持，而且可以为安全性评价试验方案的设计（包括试验动物的选择、接种的剂量、途径、频率等）和临床试验方案的制订提供参考和依据。

2. 佐剂

佐剂属非特异性免疫增强剂，当其与抗原一起注射或预先注入机体时，可增强机体对抗原的免疫应答或改变免疫应答的类型。佐剂一般通过增加抗原在体内的滞留时间、增强机体对抗原的处理和提呈能力或刺激淋巴细胞增殖分化发挥作用。佐剂的活性受多种因素影响，同一佐剂与不同抗原联合使用时可能获得完全不同的免疫应答。

对于尚未在国内上市销售、缺少毒理学数据的佐剂，为了解其自身的性质，建议进行单独的常规急性毒性试验、一般药理学试验、28天的长期毒性试验、生殖毒性试验、遗传毒性试验、局部刺激性试验，以及免疫毒理方面的研究，必要时应考察佐剂组织分布方面的特性。对于蛋白类佐剂，研究时应考虑到佐剂的种属特异性。

使用佐剂的疫苗需在长期毒性试验、免疫原性试验和保护力试验

中设立模拟疫苗（即没有抗原，但制备工艺一致的制品）对照组。

3. 其它

疫苗通常不需要进行一般药理学试验、遗传毒性试验、致癌性试验和常规的药代动力学研究。但某些特殊疫苗应进行组织分布的研究。疫苗的组织分布研究，除考察主要组织脏器外，还应考察注射局部和注射局部附近的引流淋巴结，以反应疫苗的局部滞留特点。

五、结语

疫苗临床前安全性评价是以科学为基础的、具有内在逻辑关系的、渐进的研究过程，试验动物的选择和试验设计的科学性在很大程度上决定了临床前安全性评价的价值。

虽然科学的临床前安全性评价能够为疫苗的临床试验和使用提供大量的信息，但由于动物的感染和免疫应答过程不可能与人体完全相同，因此动物试验在反映临床安全性时必然存在局限性。但从药物评价的角度出发，临床前安全性评价中动物出现的任何毒性反应在临床试验中都必须得到充分的重视。

六、参考文献

(1) *WHO Guidelines on Preclinical Evaluation of Vaccines*. 2003.

(2) *U.S. Department of Health & Human Services, FDA Office of Women's Health and CBER: Workshop on Non-clinical Safety Evaluation*

of Preventive Vaccines: Recent Advances and Regulatory Considerations (Proceedings). 2002.

(3) *EMEA: Note for Guidance on Preclinical Pharmacological and Toxicological Testing of Vaccines*. 1997

(4) *ICH S6: Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-derived Pharmaceuticals*. 1997

(5) *FDA: Considerations for Reproductive Toxicity Studies for Preventive Vaccines for Infectious Disease Indications(Draft)*. 2000.

(6) *FDA: Immunotoxicology Evaluation of Investigational New Drug*. 2002.

(7) *Francois Verdier Non-clinical vaccine safety assessment, Toxicology, 2002: 174, 37-43*

(8) *EMEA Concept Paper: Note for Guidance on Requirements for the Evaluation of New Adjuvants in Vaccines*. 2002.

七、起草说明

(一) 关于起草背景（含技术背景）的介绍

近年来，随着新疫苗、新佐剂和新给药系统的不断产生，以及疫苗接种人群日益扩大，疫苗的安全性逐渐成为一个日渐重要的问题。创新性疫苗进行临床前安全性评价现已成为国际上的共识。世界卫生组织（WHO）和欧盟药品管理机构（EMA）均已颁布了关于疫苗临床前或非临床评价的技术指导原则，WHO在相关指导原则中指出：

临床前试验是疫苗从实验室研究过渡到临床试验的先决条件，它包括产品性质研究、免疫原性验证研究和动物安全性研究。美国食品药品监督管理局（FDA）目前也在筹备起草疫苗临床前评价的相关指导原则。

2002年底之前，国内药品注册法规并没有要求预防用生物制品（疫苗）进行临床前安全性评价。2002年底国家食品药品监督管理局颁布的《药品注册管理办法》（试行）首次明确提出“根据疫苗的使用人群、疫苗特点、接种剂量、免疫毒性等，提供有关的毒性试验研究资料”。

疫苗（尤其是创新性疫苗）为什么要进行临床前安全性评价？其原因主要基于以下几点：

1 首先，从新药研究和开发的角度，疫苗作为一类特殊的药品，在从试验室研究阶段到临床试验阶段的开发过程中，通过动物试验来考察其安全性，为临床试验提供安全性方面的信息，符合新药开发的一般规律。目前大部分疫苗开发过程中临床前安全性评价的缺失，更多的是一种“仿制”开发思路的体现。对于创新性疫苗而言，这种开发模式在科学性上有失严谨。

2 由于大部分疫苗的使用人群是健康人群，尤其是健康儿童，因此从药物评价的角度出发，对于疫苗安全性方面的要求应高于一般治疗性药物。在临床前研究阶段缺少安全性评价，可能会为健康受试者，尤其是健康儿童受试者带来未预见的风险。

3 随着生物技术和免疫学的发展，疫苗的开发水平不断提高，除传统的减毒、灭活疫苗外，亚单位疫苗、糖蛋白结合疫苗，以及重组蛋白疫苗、DNA疫苗和病毒载体疫苗不断涌现。这些疫苗由于其自

身制备工艺的特点，与传统疫苗相比，可能带来额外的安全性方面的担忧。

4 此外，回顾现有疫苗的临床使用情况，疫苗并不仅仅引起过敏、局部疼痛或发热等使用人群可以接受的不良反应。国外研究报道，Lyme疫苗可能引起自身免疫性关节炎的发生，流感疫苗可能与Guillain-Barré症有关。基于以上考虑，为降低临床受试者的风险，在新疫苗的开发过程中，对疫苗进行临床前安全性评价十分必要。

（二） 指导原则起草的指导思想和一般原则

由于长期以来国内在疫苗临床前安全性评价方面的工作开展不多，药品注册管理部门和大多数疫苗研制生产单位对如何进行预防用生物制品的毒理学研究缺少明确的思路。本指导原则力求能够在这方面为药品评价部门和疫苗研制生产单位提供原则性的技术参考，以助于有效发挥临床前安全性评价的作用，合理地降低疫苗临床受试者和上市后使用者承担的风险。

本指导原则在起草过程中参考了 WHO、FDA 和 EMEA 的相关疫苗临床前安全性评价技术指导原则和文献，大量借鉴了其中的科学内涵，同时也考虑到国内对于疫苗临床前安全性评价的认识水平，以及现实的评价和研究水平，以期本指导原则能够最大程度地符合中国的目前的国情条件。

一篇指导原则不可能适用于所有的新药的所有情况，本指导原则亦然。本指导原则仅代表药品审评中心目前对于疫苗临床前安全性评价的基本认识，它具有原则性，但这种原则性并不是僵化的。每种疫

苗都具有自身的特点，指导原则不是疫苗研制、生产单位都必须遵守的“八股格式”，疫苗研制和生产单位应将“以科学为基础和具体问题具体分析”作为疫苗开发的基本思路，这也是本指导原则起草过程中一贯坚持的基本原则。

（三）与其它指导原则的关联性及适用范围

本指导原则适用于预防用灭活疫苗、减毒活疫苗、纯化疫苗、重组 DNA 技术制备的抗原疫苗、结合疫苗、合成肽疫苗，以及使用新佐剂的疫苗的临床前动物安全性评价，但不涉及治疗性疫苗的有关内容。另外，有关 DNA 疫苗和病毒载体疫苗的动物安全性评价请参见国家食品药品监督管理局颁布的《预防用 DNA 疫苗临床前研究技术指导原则》和《预防用以病毒为载体的活疫苗制剂的技术指导原则》。

（四）内容设置的说明

本指导原则在内容上主要分为概述、适用范围、试验设计中需考虑的重要问题、研究内容、其它特殊考虑及结语等几个主要部分。“概述部分”主要阐述有关的概念、疫苗临床前安全性评价的目的以及起草本指导原则的目的和基本思路等内容。“试验设计中需考虑的重要问题”部分是针对相关动物、免疫毒性这两个试验设计中最重要因素的阐述，并同时明确提出了“具体问题具体分析”的审评和研发的基本原则。“研究内容”部分是对于每个安全性研究项目的相对详细的论述。“其它特殊考虑”则阐述与安全性评价密切相关的免疫原性研究和有关佐剂的内容。

本指导原则在撰写过程中，一方面重点突出了预防用生物制品的

临床前安全性评价的特点,适当省略了与化学药品和一般治疗用生物制品的相同之处;另一方面,也尽量体现药品审评工作的理念和重点关注的问题,希望能够对国内创新性疫苗的开发能够有所帮助。

(五) 有关数据和资料来源的说明

本指导原则起草过程中最主要的信息来源包括: Recent Advances and Regulatory Considerations (US, 2002), WHO Guidelines on Preclinical Evaluation of Vaccine (WHO, 2003), Note for Guidance on Preclinical Pharmacological and Toxicological Testing of Vaccines (EMA, 1997),以及 Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-derived Pharmaceuticals (ICH6, 1997)。

(六) 有关重要问题的讨论过程及结果

1 指导原则的整体结构框架

指导原则的整体结构框架经过讨论后,部分内容进行了合并调整,目前认为现在的结构较为合理。

2 动物种系的选择

部分专家认为除指导原则中阐述的一般规律外,应该考虑部分疫苗的动物毒理试验需要使用幼年动物。但考虑到目前尚不清楚幼年动物免疫器官的发育状态,及其与婴儿或儿童之间的差别,因此目前不推荐仅采用幼年动物进行毒理学研究。

3 临床前安全性评价的剂量

经讨论认为,对于敏感动物,疫苗在一定剂量范围内存在量效关系,低于最低有效量,则不产生抗体,高于最高有效量,则出现免疫

抑制。因此有必要首先通过免疫原性试验筛选出有效的剂量范围，分别或同时以人用接种剂量和动物最高有效接种剂量进行毒理试验。

4 佐剂的安全性评价

曾有观点认为新佐剂应该象新辅料一样进行完整的毒理学研究，经讨论认为，佐剂与辅料的作用原理不同，考察佐剂的药代动力学过程和组织分布对佐剂的实际应用作用不明显。

5 豚鼠过敏试验

尽管目前用豚鼠过敏试验的结果与临床的相关性并不很好，但经讨论认为这个试验至少对部分疫苗可以起到一定的提示作用，因此应将豚鼠过敏试验列入指导原则中。

（七）有争议待解决问题的介绍及目前的基本认识和思路

在本指导原则的起草和讨论过程中，疫苗应在何种情况下进行生殖毒性试验问题引起了较大的争议。

FDA、EMA 及 WHO 对疫苗的生殖毒性研究要求非常严格，认为凡接种人群包括孕妇和有怀孕可能妇女的疫苗均应进行生殖毒性研究。

经专家讨论认为针对孕妇的疫苗需要进行生殖毒性试验。但对于其它使用范围的疫苗，产生了很大的分歧。一种观点认为动物致畸试验非常复杂，而且动物试验结果阴性，不能代表孕妇使用一定安全；以往的疫苗没有进行类似研究，到目前为止临床上也没有出现严重的后果。另一种观点则认为目前用于肿瘤的疫苗都进行了有关的研究，预防用疫苗的使用者是健康人，对于健康人而言，生殖毒性是不能容忍的；虽然到目前为止尚未发现疫苗产生严重的与生殖毒性有关的不

良反应，但不能保证下一个疫苗不具有生殖毒性。如果不进行生殖毒性试验，注册申请人和受试者都将承担巨大风险。

目前，本指导原则提出“拟用于儿童的疫苗一般不用进行生殖毒性试验。拟用于妊娠妇女的疫苗必须进行生殖毒性试验。除非有证据显示疫苗在临床上不存在生殖毒性方面的担忧，拟用于可能妊娠妇女的疫苗应考虑进行生殖毒性试验。”

总之，预防用生物制品的临床前安全性评价是一项崭新的课题，许多工作仍不成熟，处在探索阶段。希望药品审评部门和疫苗研制生产单位能够充分认识疫苗临床前安全性评价的重要意义，结合研究开发的实践，不断进行这方面工作的探索和创新，使相关的工作更加科学和完善。

八、著者

预防用生物制品临床前安全性评价技术审评一般原则课题研究组