

人用药物生殖毒性检测指导原则

S5 (R3)

当前版本：第 2 阶段草稿

2017 年 7 月 5 日

目 录

1 指导原则范围.....	4
2 引言和一般原则.....	4
3 生殖毒性评估策略.....	5
3.1 考虑/原则.....	5
3.1.1 目标患者人群/治疗适应症考虑.....	6
3.1.2 药理学考虑.....	6
3.1.3 毒理学考虑.....	7
3.1.4 时间考虑.....	7
3.1.5 生殖毒性试验的其他考虑.....	7
3.2 阐述生育力和早期胚胎发育毒性的策略.....	8
3.3 阐述胚胎-胎仔发育（EFD）的策略.....	9
3.3.1 阐述 EFD 风险的常规方法.....	9
3.3.2 阐述 EFD 风险的可选方法.....	11
3.3.2.1 替代试验的使用.....	11
3.3.2.2 体外和非哺乳动物的暴露信息.....	12
3.3.3 作为完整试验的一部分，延迟体内试验的潜在方法.....	12
3.4 阐述对 PPND 影响的策略.....	13
3.5 毒代动力学（TK）.....	13
4 试验系统选择.....	14
4.1 常规试验动物种属.....	14
4.1.1 大鼠作为生殖毒性试验的主要动物种属.....	15
4.1.2 兔作为 EFD 试验的第二种动物种属.....	15
4.1.3 预防和治疗性疫苗动物种属的选择.....	15
4.2 非常规试验动物种属.....	16
4.3 其他试验系统.....	16
4.3.1 疾病模型的使用.....	16
4.3.2 遗传修饰模型的使用和替代分子的使用.....	17
5 剂量水平选择、给药途径和时间.....	18
5.1 所有药物的常规剂量选择，包括生物制品.....	19
5.1.1 基于毒性的终点.....	19
5.1.2 基于饱和的吸收、分布、代谢和排泄（ADME）的系统暴露终点.....	19
5.1.3 基于暴露的终点.....	20
5.1.3.1 总体与未结合药物暴露的考虑.....	20
5.1.3.2 高度靶向药物的基于暴露的方法.....	21
5.1.4 最大可行剂量（MFD）终点.....	21
5.1.5 限制剂量终点.....	21
5.1.6 较低剂量水平的选择.....	22
5.2 疫苗的剂量选择和试验设计.....	22
6 哺乳动物体内试验的设计与评价.....	23
6.1 评价所有阶段的三段式试验（A—F）.....	23
6.2 单一（全程）试验设计.....	23
6.3 两段式试验设计.....	24
6.4 重复给药毒性试验和生育力试验的组合设计.....	24

6.5 数据评估.....	25
6.5.1 体内试验的数据处理/数据呈现/统计.....	25
6.5.2 统计.....	26
7 风险评估原则.....	26
7.1 生殖与发育毒性的风险评估.....	27
7.2 哺乳的风险评估.....	28
8 注释.....	29
9 术语.....	30
10 参考文献.....	34
11 附件.....	34
11.1 种属的优势/劣势表.....	34
11.2 体内试验设计.....	37
11.2.1 生育力与早期胚胎发育 (FEED) 试验.....	38
11.2.2 围产期 (PPND) 毒性试验.....	39
11.2.2.1 啮齿类动物 PPND 试验的优化改良以评估幼龄毒性终点.....	41
11.2.2.2 NHP 增强的围产期毒性试验 (ePPND).....	42
11.2.3 胚胎-胎仔发育 (EFD) 毒性试验.....	43
11.2.3.1 剂量范围探索 (DRF) 试验.....	43
11.2.3.2 pEFD 试验.....	43
11.2.3.3 确定性胚胎-胎仔发育毒性试验.....	43
11.2.4 组合式试验.....	45
11.2.4.1 生育力与胚胎发育 (FEFD) 试验.....	45
11.2.4.2 生育力和 PPND (FPND) 试验.....	45
11.3 监管可接受的替代试验系统的验证.....	46
11.3.1 ICH 参考化合物清单的选择因素.....	46
11.3.2 试验实施因素.....	47
11.3.3 提供给卫生管理部门的试验验证信息.....	48
11.3.4 ICH 参考化合物清单.....	49
11.3.5 EFD 试验策略示例.....	52
11.3.5.1 当有至少 2 种相关哺乳动物种属时 (种属选择) 的适用情况.....	53
11.3.5.2 如果没有或只有 1 种相关的哺乳动物种属 (种属选择) 的适用情况.....	56

1 指导原则范围

本指导原则适用于药物，包括生物制品、用于传染性疾病的疫苗（及其新的组成成分），以及作为药品成品一部分的新辅料。它不适用于细胞治疗、基因治疗和组织工程产品。本指导原则中提出的方法学原则（例如试验设计、剂量选择和种属选择）也适用于旨在治疗严重和危及生命的疾病（如晚期恶性肿瘤）的药物（即参见 ICH S9（3））。有关非临床生殖毒性试验是否及何时进行，本指导原则应与 ICH M3（R2）⁽¹⁾、ICH S6（R1）⁽²⁾ 和 ICH S9⁽³⁾ 一起阅读。

2 引言和一般原则

本指导原则的目的是为确定人用药物生殖风险和危害性特征制定试验策略提供关键性考虑。本指导原则提供了现有数据的使用，以及确定潜在的试验设计以补充现有数据，以确定、评估和传递风险信息。本指导原则提供了为支持药物临床开发和上市批准时，在阐述试验数据和评估生殖风险时应予以考虑的一般性概念和建议。

为了评估人用药物对生殖和发育的影响，信息通常应包括成年动物的暴露以及从妊娠至性成熟的所有发育阶段的影响。没有指导原则可以提供足够的信息来涵盖所有可能的情况，试验策略的灵活性是必要的。不管药物类别（见词汇表），制定整体综合试验策略时要考虑的关键因素包括：

- 目标人群中预期的药物用途（特别是与生殖可能性和疾病严重程度有关）；
- 拟用于人的药物制剂和给药途径；
- 任何现有的关于毒性、药效学、药代动力学、结构或活性相似的其他化合物数据的使用；
- 特定试验、试验种属/试验系统和剂量水平的选择。

这些概念在整个指导原则中进行了更详细的讨论，定义了开发试验策略的详细方法。本指导原则建议使用关于药物和患者人群的信息，以便仅开展必要的试验以评估相应的阶段（见下文），当这些阶段没有足够信息来告知生殖和发育的风险。

在一个完整的生命周期（即从一代受孕到下一代受孕）可以根据不同情况观察检测即时和迟发的不利影响。为了本指导原则的目的，妊娠第 0 天（GD 0；见词汇表）是检测到交配的阳性证据时。通常评估以下生殖阶段：

A) 从交配前到受孕（成年雄性和雌性生殖功能、配子的发育和成熟、交配行为、受精）。

B) 从受孕到着床（成年雌性生殖功能、着床前发育、着床）。

C) 从着床到硬腭闭合（成年雌性生殖功能、胚胎发育、主要器官形成）

D) 从硬腭闭合到妊娠结束（成年雌性生殖功能、胎仔发育和生长、器官发育和生长）。

E) 从出生至离乳（成年雌性生殖功能、新生幼仔对宫外生活的适应性、离乳前发育和生长）。

F) 从离乳至性成熟（离乳后发育和生长、适应独立生活、达到完全性功能成熟）。

单个试验所涵盖的阶段由申请人自行决定，尽管药物开发过程中的试验进行时间取决于试验人群和药物开发阶段（见 ICH M3 (R2) (1)、ICH S6 (R1) (2)、ICH S9 (3)）。

本指导原则还提供了作为风险描述的一部分，对所有可用的非临床信息进行阐述的考虑。

3 生殖毒性评估策略

3.1 考虑/原则

第一步是确定是否有必要对每个不同生殖阶段进行生殖毒性试验，如果有必要，什么是最合适的试验。考虑应该包括：a) 目标患者人群和给药持续时间，b) 化合物的已知药理学信息，c) 化合物的已知毒理学信息，d) 对生殖风险靶目标的影响的任何现有信息（例如，人体和/或动物遗传学，或类别作用），以及 e) 可以用于识别危害和/或风险（见第 3.3.2 节）的体外和非哺乳动物试验（替代试验，见术语）的资料。评估生殖风险的替代试验的验证和使用在下文进行阐述（第 3.3.2 和 9.5 节）。通常，正在开发的阐述与胚胎-胎仔发育（EFD）试验终点相关

的大多数替代试验方法在 3.3.2 节中讨论。然而，作为一个新开发的试验方法用于其他生殖终点，同样需要开展合适的验证工作。

产生数据的试验策略应考虑尽量减少动物的使用。替代试验和/或使用较少动物的体内试验可以分层方式识别危害。动物使用的减少也可以通过推迟确定性 EFD 试验（见第 9.4.3.3 节）至药物开发后期（见下文）来实现。在某些情况下，替代性检测可以替代确定性试验，或者其他情况下它们可以用于推迟传统试验直至开发后期（见第 3.3 节）。总体策略的一个重要组成部分是用于支持正在进行的临床开发所需的额外信息试验的时间安排，例如，支持可能生育妇女的发育毒性（见词汇表）数据）。

生殖和发育试验一般应遵循“良好实验室规范”（GLP）进行，将有助于风险评估。然而，如果一个相关非 GLP 试验开展确定了人类发育或生殖风险，则不需要在 GLP 条件下重复试验以确认该发现。初步胚胎-胎仔发育（pEFD;见术语）试验应在高质量的科学标准下进行，并且数据采集记录易获取或在 GLP 条件进行。已知认识到，对于采用特殊试验系统或方法的一些类型的试验或试验的一部分，如疾病模型或替代分子（见词汇表）或文献，预期未遵循 GLP 是认可的。但是，应该采用高质量的科学标准，随时可以获取数据采集记录。不遵循 GLP 的范围以及相对于总体安全性评价的意义应进行确认和评价。

3.1.1 目标患者人群/治疗适应症考虑

患者人群或治疗适应症可影响生殖毒性试验的范围。例如：

- 如果女性患者人群是绝经后的，评估任何生育阶段没有用处；
- 用于男性老年人的药物不需要进行评估 E 段和 F 段的试验；
- 如果该疾病表明生殖毒性对目标人群中药物使用的影响极小，那么仅需评估 C 段和 D 段的试验；
- 在高度控制条件下的短期治疗。

3.1.2 药理学考虑

在试验之前，应确定药理学作用是否与生育力试验、正常 EFD 以及正在考虑的试验终点指标测定不相容（例如，常规麻醉剂和交配行为的测定）。这种评

估可以基于具有相似药理学作用通路的其他药物的资料或与作用于人类相关遗传疾病的知识。基于这些考虑，有时不需要对特定生殖终点进行试验。相反，如果预期的药理作用对生殖终点是不利的，可以仅检测脱靶效应。实例包括：处于模拟靶药理学效应条件下的患者，具有正常生殖能力和健康的后代；或其他具有相似的药理学或作用通路药物产生影响，但没有显示生殖风险。

3.1.3 毒理学考虑

用性成熟动物进行重复给药毒性试验可提供生殖器官毒性的重要信息。应考虑到化合物的现有毒理学数据，同时考虑剂量水平、毒代动力学特征和给药持续时间。例如，如果这样的试验是适当的，损伤睾丸组织的药物的生育力影响的评估可能需要修改标准的生育力试验。

有时，动物的毒性妨碍了达到与人体暴露相关的动物全身暴露，在应用时应予以说明。

3.1.4 时间考虑

ICH M3 (R2) 和 ICH S9 指导原则^(1,3) 中介绍了关于临床试验阶段相关的涵盖 A-F 段的生殖毒性试验进行时间的一般指导。何时进行特定生殖毒性评估的时间应考虑到上述几点。基于这些因素，考虑改变特定生殖阶段的评估时机有时可能是适当的。例如，如果从初步试验中有一个可疑的观察，而同类别中的其他化合物没有风险，则应考虑加速进行确定性试验。相反，有可能推迟试验的情况。例如，当其他试验已经发现了风险而临床试验已采取了适当的预防措施时，评估相关生殖阶段的确定性试验可推迟到 ICH M3 (R2)⁽¹⁾ 中推荐的后期开发阶段。在非人灵长类动物 (NHP) 进行强化围产期发育 (ePPND) 试验时，请参阅 ICH S6 (R1)⁽²⁾ 的时间安排。

包括试验延期的其他选择在 3.3.3 节中讨论。

3.1.5 生殖毒性试验的其他考虑

对于一些动物种属和化合物，在单个试验中测试多个生殖阶段可能更合适（例如，NHPs 中的单克隆抗体；参见 ICH S6 (R1) (2)）。还可以考虑将生殖毒

性终点评估作为另一种试验类型的组成部分（例如，将雄性生育力作为重复给药毒性试验的一部分，参见第 3.2 节）。

在设计围产期发育（PPND）或 ePPND 试验时，应考虑幼龄动物终点的价值以支持儿科用药安全（见第 9.4.2.1 节）。

如下列实例所述，作为综合试验策略的一部分，替代试验法用于评估胚胎-胎仔发育终点（见第 3.3.2.1 节）。

3.2 阐述生育力和早期胚胎发育毒性的策略

生育力试验的目的是检测雄性和/或雌性动物由交配前直至交配和着床等阶段药物引起的干扰作用，包括评估生殖过程的阶段 A 和 B（见第 6 节和第 9.4 节）。

生育力试验通常仅在啮齿类动物或兔中进行。在非啮齿类动物（如犬和 NHPs）中，交配评估通常不可行。例如，如果 NHPs 是唯一的药理学相关种属（对于许多单克隆抗体，参见 ICH S6（R1）⁽²⁾），生育力评估可以基于重复给药毒性试验的结果（例如组织病理学检查）。

来自重复给药毒性试验的生殖器官的组织病理学是检测大多数雄性和雌性生育力影响的敏感方法，只要动物是性成熟的。

通常，在长期重复给药试验中使用的犬和小型猪应该在试验结束时性成熟。如果使用 NHPs 来评估对生育力的影响，在试验结束时应该有足够数量的性成熟动物。

如果使用重复给药毒性试验来评估对生育力的影响，则应对雄性和雌性动物的生殖器官进行全面的组织病理学检查（注 1）。

当基于作用机制或先前试验数据引起担忧时，可以在重复给药毒性试验中包括额外的检查，例如精子收集或监测发情或月经周期。给药两到四周的试验预期可以提供对生殖器官产生影响的初步评估。随后将在亚慢性和慢性毒性试验进行相应评价以补充这一信息。

专门的生育力试验包括交配阶段，用于检测不能通过生殖器官的组织病理学评估的影响。然而，如果药物在重复给药毒性试验中对雄性或雌性生殖器官具有临床相关的不良影响，那么在受影响的性别中进行的常规生育力试验将具有有限的价值，而不是必需。同样，对于不会在生育年龄的受试者中使用的药物，生育

力试验是不必要的。通常，重复给药毒性试验结果可用于设计生育力试验，而不需要进一步的剂量范围试验。

如果预期对生育力不会产生不利影响，可以在同一生育力试验中评估雄性和雌性啮齿类动物。然而，如果确定对生育力有影响，那么应该确定受影响的性别。另外，如果根据病理生理学评估不能确定影响是否可逆，则应评估所诱导的影响的可逆性。这些决定能够对风险评估产生重要影响。

3.3 阐述胚胎-胎仔发育（EFD）的策略

EFD 试验的目的是给予怀孕雌性动物药物，检测在胚胎主要器官形成期间（C 段）药物对妊娠雌性和胚胎和胎仔发育的不良影响。EFD 试验包括对胎仔发育和存活的全面评估。对于大多数非高度靶向药物（例如小分子药物），通常在两种种属（即啮齿类动物和非啮齿类动物）中评估对 EFD 的影响。有些情况下采用单一种属检测对 EFD 影响就足够。EFD 试验的一般策略如图 3-1 所示。

3.3.1 阐述 EFD 风险的常规方法

在使用啮齿类动物或兔的情况下，至少一种试验动物种属应显示出期望的药效学（PD）效应（第 4 节）。如果药物在任何常规使用的种属中不具有药效学活性（第 9.3 节），则可以考虑转基因动物或替代分子的使用。如果是高度靶向性药物，这些数据就足够了。如果药物是非高度靶向的，也可以将其给药于啮齿类动物或兔以检测脱靶效应。

然而，在某些情况下，其他方法可以用于延迟（表 3-1）或替代（第 9.5.5 节）确定性试验。或者，具有足够的信息来传达风险，而不需要额外的试验。证据提示预期药理机制对 EFD 的不良影响（例如作用机制，来自转基因动物的表型数据，化合物类别效应）足以传达风险。

如果合适的科学理由表明结果将呈现生殖风险的评估信息（第 4.3 节），对于小分子或生物制品，非常规动物模型或替代分子可以考虑代替 NHPs。

在某些合理的情况下，单一种属对于检测胚胎-胎仔发育的影响就足够。一个例子是对于高度靶向药物（例如生物技术产品，见 ICH S6（R1）），只有一个相关种属可用于生殖试验检测（2）。另一种情况是对于非高度靶向性药物，根据

药效学、药代动力学和代谢产物特征以及毒理学数据显示单一种属是与人相关种属。如果在相关的暴露下是明确的阳性结果（致畸性和/或胚胎致死性；TEFL；参见术语），则不必要进行第二种种属的试验。

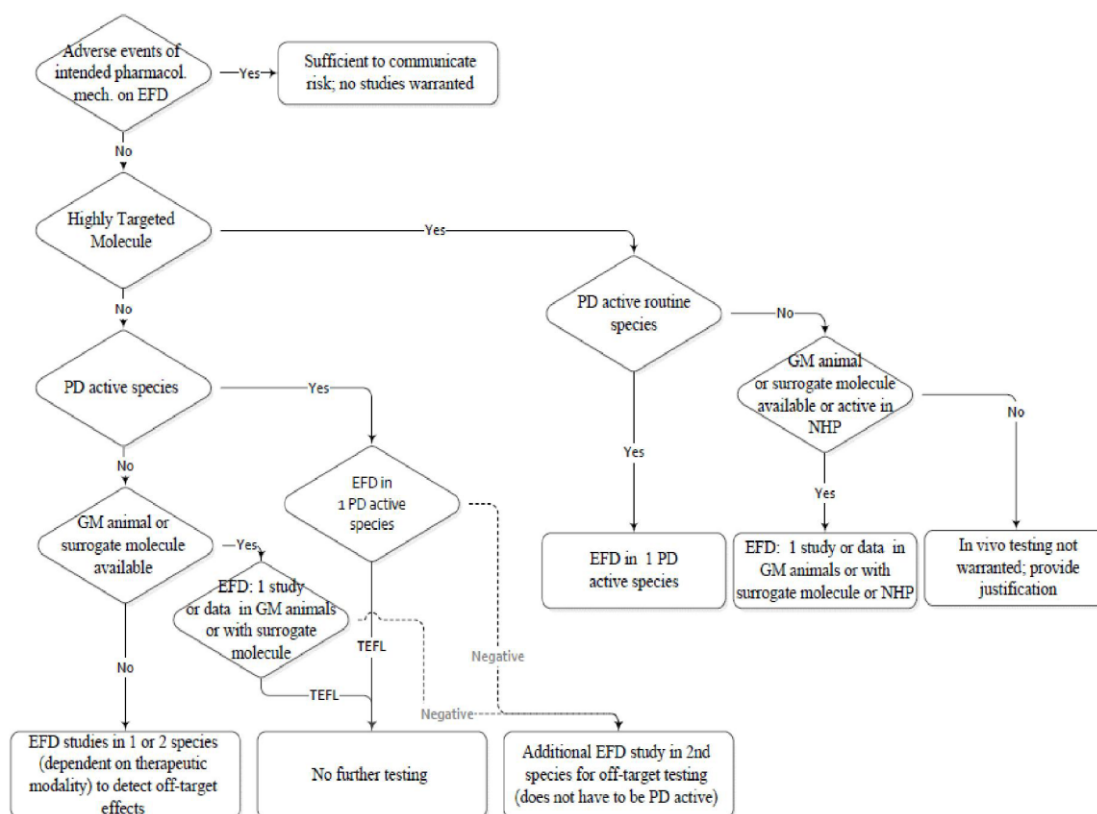
当没有药理学相关种属（例如，药理学靶标仅存在于人类中）时，根据治疗方式和适应症，两种种属的 EFD 试验仍然有必要以检测脱靶效应或次要药理学效应。

对于生物技术产品，因为其在与生殖毒性试验相关的任何种属中都无同源物靶标进行相互作用，当确定没有相关种属时，可以考虑使用替代分子或转基因模型，如 ICHS6 (R1)⁽²⁾ 中所详细描述。如果没有相关种属，基因修饰动物或替代物，体内生殖毒性试验均无意义；然而，所应用的方法应有充分理由。

对于在可用的生殖毒性动物种属中缺乏同源靶标参与并且还具有预期的脱靶效应的其它治疗方式，可以考虑使用替代分子或转基因模型。

综合试验策略的几种使用方案见附件 9.5.5。

图 3-1: 阐述解决 EFD 的一般策略 (General Strategy to Address EFD)



3.3.2 阐述 EFD 风险的可选方法

3.3.2.1 替代试验的使用

使用替代体外、离体和非哺乳动物体内试验（替代试验）可以减少动物使用，同时保持检测相关生殖风险的能力。使用合格的（注 2）替代试验方法可以是代替上述常规方法的适当方法。使用合格的替代方法适用于在某些情况下进行风险评估，当其结合体内生殖试验进行解释时。虽然它们不能替代所有体内生殖试验，但可以减少体内哺乳动物试验和/或动物使用（第 3.3.2.1 节）。综合试验策略的几种使用方案见附件 9.5.5。此外，虽然可以使用常规方法进行第二种种属的试验，但在某些情况下，考虑到给药途径、暴露和作用机制，使用替代试验可能会更有用。

在评估 EFD 风险的综合试验策略中整合入替代试验的情况将取决于许多因素。这些可能包括疾病的严重程度、患者人群的特征，或对于特定治疗靶标传统试验系统的局限性。药理学或生物学合理性对于发育毒性是关键考虑因素。

指导原则不推荐特殊的试验方法，但纳入了一些基本原则以确证一些检测方法，有助于潜在的监管用途（第 9.5.2 节）。

为了合理使用替代试验，重要的是要知道其对于体内生殖结果的可靠性和预测性。附件提供了可用于评估胚胎-胎仔发育/死亡的替代方法的各种参考化合物的信息（注 3）。有可能，一套试验/评估方法会显示改进的预测性。

在适用的情况下，试验策略可以考虑试验数据来自合格的替代试验结合一个或多个体内哺乳动物 EFD 试验。整合至试验策略中的任何替代试验应符合其预期的使用条件（第 9.5 节）。当替代试验用于风险评估时，通常应在 GLP 条件下进行，特别是当试验结果未鉴定出危害时。使用条件（见词汇表）可能包括但不限于：

- A. 作为第 9.5.5 节中所描述的评估胚胎-胎仔发育终点的综合试验策略的一部分；
- B. 推迟第 3.3.3 节所述的确定性试验；
- C. 与一种种属的增强型 pEFD 试验结合使用时，完全替代一种种属（参见第 9.5.5 节）；

D. 有证据（例如，影响发育生物学基础途径的作用机制，转基因动物的表型数据，化合物类别效应）表明对 EFD 有不利影响，或动物数据可疑时有助于提高证据权重；

E. 一种常规动物种属的毒性（靶标相关和/或脱靶）阻碍了在使用条件下达到与人体暴露相关的全身暴露，但在替代试验中可以获得更高的暴露量；

F. 在人体中的全身暴露低（例如，没有胚胎-胎仔暴露），如眼部给药。

应将合格的替代试验的信息与所有可用的体内非临床和人体数据结合，作为综合风险评估方法的一部分（参见风险评估原则;第 7 节）。

3.3.2.2 体外和非哺乳动物的暴露信息

如本指导原则第 7 节所述，为了风险评估的目的，在解释非临床生殖毒性评估试验中考虑暴露很重要。这也适用于使用体外或非哺乳动物系统进行的试验。考虑到在试验方法确证中使用常规化因子，所使用的药代动力学参数取决于与 EFD 试验观察浓度下相关联的试验方法如何确定。例如，应用试验方法确证常规化因子，体外系统试验未发现不利影响的最高浓度与人体的 C_{max} 进行对比，以确定潜在的人类风险。

3.3.3 作为完整试验的一部分，延迟体内试验的潜在方法

表 3-1 说明了支持在推迟进行确定性试验情况下，临床试验中纳入有可能生育妇女（WOCBP）的方法，这适用于需要为药物进行两个确定性 EFD 试验的情况。

其中一种方法是对其中一种种属使用增强 pEFD 试验。在这种情况下，pEFD 试验（见 ICH M3（R2））应遵循 GLP 法规，妊娠动物的数量应从每组 6 只增加至每组≥8 只，并包括胎仔骨骼检查。

表 3-1 延迟 2 种种属的确定性 EFD 试验的方法（Approaches for Deferral of Definitive EFD Studies in 2 Species）

方法	开发阶段			
	限制纳入 WOCBP ^a	非限制纳入 WOCBP 直至 3 期临床开始（支持 2a/b 期临床） ^b	非限制纳入 WOCBP 直至上市（支持 3 期临床）	支持上市 ^c
A	第一种种属 EFD（增强型 pEFD 或确定性试验）+合格替代试验		第二种种属确定性 EFD	第一种种属确定性 EFD，如果之前未进行
B	第一种种属 pEFD +第二种种属 EFD（增强型 pEFD 或确定性 EFD）		第一种种属确定性 EFD	第二种种属确定性 EFD，如果之前未进行
C ^d	二种种属 pEFD	两种种属确定性 EFD		
<p>a 最多 150 名 WOCBP 在相对较短的时间内（最多 3 个月）接受试验性药物。</p> <p>b 所有的方法包括“在临床试验中使用避免妊娠的预防措施（见上文）”。</p> <p>c 对于单克隆抗体，ePPND 通常在上市申请前进行（见 ICH S6（R1））。</p> <p>d 见 ICH M3（R2）所述地区差异。</p>				

3.4 阐述对 PPND 影响的策略

PPND 试验的目的是检测母体从着床至离乳时给药，对妊娠或哺乳期雌性动物以及子代发育的不良影响。由于在此期间引起的影响的表现可能会延迟，因此要监测子代的发育直至其性成熟（即 C 段至 F 段）。用于 PPND 的种属通常是大鼠；然而，可以适当地使用其他种属，并对所评估的终点进行修改。

在大多数情况下，初步的 PPND 试验是可选择的，因为通常可以从先前的试验中获得适当的信息来设计确定性试验。然而，在离乳之前或离乳时终止幼仔的初步 PPND 试验可用于选择剂量水平或为试验设计提供信息并提供幼仔暴露数据。

对于只能在 NHP 中进行试验的药物，ePPND 试验可以对产后影响进行有限的评估，但是跟踪子代直至成熟是不可行的。关于 ePPND 试验的时间见 ICH S6（R1）（2）。

3.5 毒代动力学（TK）

通常 TK 研究是希望要做的，本指导原则讨论了这些数据的使用。关于 TK

数据采集的基本概念在 ICH S3A 中讨论。

确定药物在胎仔中的浓度可以有助于解释发育危害的不一致或模棱两可的证据。然而，测定胎盘转运通常是不必要的，因为将动物数据转换为人类暴露的能力有限。

许多药物通过乳汁排泄，尽管动物的乳汁排泄数据对于人类的风险评估存在不确定性。因此，测定动物乳汁中药物浓度的试验通常是不必要的。然而，确定药物在子代中的浓度可以支持在离乳前期观察到的发现的解释。

4 试验系统选择

4.1 常规试验动物种属

当需要进行试验时，应该使用哺乳动物种属。对于主要种属，通常希望使用与其他毒性试验中相同的种属和种系，以避免进一步的试验来表征药代动力学和代谢性质，和/或用于剂量范围探索。所使用的种属应在健康、生育力、生殖力、畸形和胚胎-胎仔死亡背景率方面得到充分表征。通常，在生殖试验之内和试验之间，开始时动物的年龄、体重、分娩情况应具有可比性。实现这些因素的最简单的方法是在试验给药开始采用年轻、性成熟的成年动物，雌性应未交配，除了 NHP 试验已证实雌性有用于 ePPND 试验的优势之外。

试验动物种属应根据其优缺点进行相关和合理的选择（见 9.3 节表 9-1）。如果所选择的种属与人类有明显不同，在解释生殖毒性数据时应考虑到这种影响（参见风险评估原则，第 7 节）。然而，在单个试验种属中对所有生殖终点或参数进行评估并不总是可行的。

在种属选择时要考虑的涉及药物与种属的相互作用的其他点，包括：

A. 药代动力学和代谢物特性（包括主要人类代谢物的充分暴露，如 ICH M3 (R2)⁽¹⁾ 中讨论的）；

B. 该种属是否表达药理学靶标（例如，是内源性或外源性靶标）以及该药物是否对所选择种属中的靶标具有足够的亲和力；

C. 药物的功能性药理活性是否在试验种属中显示。

对于高度靶向性分子，选择药理学相关的种属尤为重要，如 ICH S6 (R1)⁽²⁾

中更详细描述。

4.1.1 大鼠作为生殖毒性试验的主要动物种属

大鼠是基于科研实践最常用的啮齿类动物种属，该种属有药理学一般知识、大量可获得的用于药物研发解释非临床发现的毒理学数据以及大量的历史背景数据。因此，基于如何选择种属进行一般毒性试验的许多情况，大鼠通常适用于生殖毒性试验。

4.1.2 兔作为 EFD 试验的第二种动物种属

为了仅对 EFD 进行评估，尽管存在例外（例如，疫苗，治疗性抗体等，分别参见 4.1.3 和 4.2 节），但是第二种非啮齿类哺乳动物种属通常是有必要的。已经证明兔可用于鉴定在啮齿类动物中未检测到的人类致畸物；根据广泛的历史背景数据、动物的可获得性和实用性，兔为常规使用的非啮齿类动物种属。

4.1.3 预防和治疗性疫苗动物种属的选择

选择用于检测疫苗（含或不含佐剂）的动物种属应显示对疫苗的免疫应答。通常使用兔、大鼠和小鼠。只有没有其他相关动物种属可用时，才应使用非人灵长类动物，即使应答存在定量和定性的差异（例如体液和细胞终点指标）。仅使用一种动物模型进行发育毒性试验通常就足够。

兔是用于疫苗发育毒性试验的最常见种属，但其他种属也是适宜的。在灵长类动物（如人类）中，母体抗体通过胎盘转运是有限的，但在妊娠过程中通常会增加。在其他常规用于生殖毒性试验的种属中，转移的时间过程不同。基于所观察到的免疫应答和可给予合适剂量的能力，发育毒性试验的类型和动物模型的选择应该是合理的。

当缺乏合适的动物模型（包括 NHP）时，兔、大鼠或小鼠的发育毒性试验仍然可以提供关于疫苗组分/制剂的潜在胚胎/胎仔毒性作用和妊娠期间产品安全性的重要信息。

4.2 非常规试验动物种属

除了以上讨论的常规种属所涉及策略以外，也可以选择其他合适的策略。常见的例子是兔不适合用于 EFD 试验，在这种情况下，可以考虑替代种属或告知风险评估的方法。

许多其他种属已被用于评估药物对各种生殖阶段的影响。替代种属的适用性将取决于待评估的生殖终点（见 9.3 节表 9-1）。

NHPs 也可用于评估生殖毒性，特别是对于生物技术产品，如 ICH S6 (R1) (2) 中所述。如果它们是唯一的药物相关种属，则应考虑 NHP，前提是药物的药理学效应与正常发育或维持妊娠不相容尚不清晰。还有另外的因素进一步限制了生殖危害评估试验中 NHP 的使用（见附件 9.3 和 ICH S6 (R1)）。通过使用可在动物模型中产生合适的药理活性的替代分子或来自转基因动物的数据，小分子或生物技术产品可以考虑替代动物模型来代替 NHPs。这些试验结果可以为生殖危害性评估提供信息（见 4.3 和 7 节）。

对于生物制品，当没有相关种属可以被确定，因为生物制品在与生殖毒性试验相关的任何种属中不与同源物相互作用时，可以考虑使用替代分子或基因修饰的模型，如 ICH S6 (R1) (2) 和第 4.3.2 节所述。对于一些在有用的生殖毒理学种属中缺少同源靶点参与并且也有预期的脱靶效应的治疗方式，试验策略应该解决这两种情况。

代替或补充使用体内哺乳动物试验来评估生殖毒性，可以考虑的替代方法包括可预测生殖毒性的药理学或机制信息的评估，非哺乳动物体内试验，或预测生殖毒性的体外试验（见风险评估原则第 7 节）。

4.3 其他试验系统

4.3.1 疾病模型的使用

疾病动物模型通常不用于生殖毒性试验；然而，在某些情况下，它们可以提供信息。如果从健康动物获得的数据可能会误导，或以其他方式不适用于临床环境中的疾病状况时，疾病模型的试验是有价值的。在疾病模型中进行生殖毒性试验，包括替代疗法的药物，可以为风险评估提供信息，包括：当靶标仅存在于

疾病状态时，或者当受试物的药理活性在健康动物上可能产生混杂性结果（例如导致低血糖或低血压）时。

认识到没有动物模型可完全复制人类疾病，选择疾病动物模型研究生殖毒性有若干因素需考虑个。该模型应该有药理学相关性和合适的的生殖终点。模型中疾病进程的病理生理学应表征。与人类病理生理学的一些差异不会排除其使用，只要这些不太可能混淆数据解释。试验中，动物之间的差异性应表征和在适当范围。试验终点的参考数据应该能够获取或者在试验期间产生，以帮助数据解释。

虽然疾病动物模型可用于确定性生殖毒性试验，但更有可能用作补充方法以了解正常动物中药物的不良生殖影响的相关性。疾病动物模型的使用和该生殖毒性试验试验的设计应该有合理的理由。

4.3.2 遗传修饰模型的使用和替代分子的使用

对于遗传修饰模型和替代分子，正在研究预期药理学效应对生殖的影响，从而告知风险评估。例如，如果药理学与生殖的不利影响有关，可以有理由得出结论，在接受药物的孕妇中，有一定比例可能会出现不良反应。然而，受影响个体的实际比例（发病率）不能通过动物试验确定，即使使用实际的药物和药理学相关种属。

遗传修饰模型可用于创建疾病模型，或表征药物对生殖毒性参数的靶向和脱靶效应。这些模型可以获得靶标的药理学是否与生殖和发育的不利影响密切相关的信息。当使用这些模型并且基于治疗方式预期具有脱靶效应时，应该用该模型来评估临床候选物以评估靶向和脱靶效应。

当临床候选物在常规试验种属中不具有足够的针对靶受体的活性时，替代分子可用于任何方式来评估对生殖毒性的潜在不利影响。使用替代分子类似于鉴定具有相似药理学的结构多样化分子的类别效应。总体方法可比，使用在待测种属中具有药理学活性的替代抗体，总体方法是使用在被检测的动物种属上有药理学活性的替代物抗体，而不是仅在 NHP 中具有药理学活性的人源化抗体。

如果对目标药理学相关的生殖没有不利影响，则需要使用临床候选物评估脱靶生殖毒性。

5 剂量水平选择、给药途径和时间

作为剂量选择过程的一部分，给药途径和时间是生殖毒性试验设计中的一个重要组成部分。考虑到给药途径、时间、药代动力学特征和试验的可行性，剂量应优先选择与人相关的暴露。

剂量水平、给药时间和途径的选择应基于所有可获得信息（例如药理学，重复给药毒性，药代动力学/毒代动力学和剂量范围探索试验），并应提供理由。在 ICH M3 (R2) Q&A (1) 和 ICH S6 (R1) (2) 中给出了剂量选择原则的指南，并应使用所有可获得的数据。应选择剂量水平来研究试验主要终点的剂量-反应关系。采用与给药时间可比的重复给药毒性试验的相似剂量可以解释在一般系统毒理学背景下对生殖和/或发育终点的潜在影响，并使数据能够整合。当没有关于试验系统的耐受性和药代/毒代动力学的足够信息时，建议进行合适设计的探索性试验。

毒性试验中给药时间影响到暴露特性，这对风险评估很重要。通常模拟临床给药时间是足够的，但并不总是有必要。频次更高（例如，每天两次）或更低的给药方案可能提供与临床暴露更相关的暴露特性。当计划频次更高的给药时，应考虑到实际因素（如试验的后勤保障、对动物的压力）。

一般来说，给药途径应与临床给药途径相似，只要相关的人类生殖风险可得到评估。在，无法达到全身暴露或仅达到临床全身暴露的很小倍数的情况而未产生母体毒性时，应考虑不同的给药途径。使用临床给药途径以外的给药途径应在一般毒理学计划的背景下证明是合理的。当在人类中评估多种给药途径时，与临床给药途径相比，如果实现了足够的全身暴露，则试验种属中的单一给药途径就足够了。

使用妊娠动物进行剂量选择并不总是有必要，即使生殖试验评估的是妊娠动物。然而，当使用基于暴露的终点作为选择剂量水平的基础时（见 5.1.3），从妊娠动物上获取 TK 可能很重要。如果来源于非妊娠动物的 TK 被用于剂量选择，则应在妊娠动物中确认 TK 终点的实现。

5.1 所有药物的常规剂量选择，包括生物制品

有许多可用于生殖毒性试验剂量选择的终点。本节中讨论的所有终点被认为在试验设计方面同样适用。如下面第 5.1.1 至 5.1.6 节所述，确定性试验中的高剂量应该是预期会在终点产生的预期变化。选择的高剂量应基于在适当设计的试验中所做的观察，包括在其他试验（例如重复给药，TK，pEFD）中更高剂量水平下观察到的影响。

选择非以下指定的其他终点进行高剂量选择的理由可以根据具体情况进行。

5.1.1 基于毒性的终点

该终点是基于在高剂量下亲代动物中最小毒性的预测。最小毒性被定义为对父母动物有不利影响，而不会对生殖结果产生预期的直接影响。从以前进行的试验确定高剂量的限制因素可能包括：

- 体重改变（增重或绝对值；减少或增加）。体重增重或体重的微小的、暂时性变化不被认为是剂量限制。当评估体重变化的影响时，应考虑试验的整个给药持续时间。体重的绝对变化取决于测量的参数、种属、种系和正在评估的发育窗口。
- 在计划的生殖或发育毒性试验的持续时间内，特异性靶器官毒性（如卵巢，子宫）或临床病理学干扰（如葡萄糖变化）会干扰试验终点。
- 放大的药理学反应（如过度镇静或低血糖）
- 毒理学反应（如抽搐、增加 TEFL）。

5.1.2 基于饱和的吸收、分布、代谢和排泄（ADME）的系统暴露终点

通过药物相关物质的检测获得的全身暴露饱和而选择的高剂量是合适的（参见 ICH M3（R2）（1））。

然而，如果不能增加血浆浓度，则给药剂量增加没有任何价值。为了本指导原则的目的，暴露的饱和定义为剂量显著增加，而总暴露量最小增幅（例如，剂量的加倍仅导致暴露增加约 20%）。

5.1.3 基于暴露的终点

根据人最大推荐剂量(MRHD)的暴露之上的暴露倍数来选择剂量是合适的。对于在试验种属中具有主要和次要药理学(或脱靶效应)的药物(例如小分子),代表人类 AUC(暴露曲线下面积)或 C_{max} 的大倍数的全身暴露对于高剂量选择可以是适当的终点。当人类和试验种属代谢特性在定性上相似时,可以使用这种剂量选择方法。应提供使用的理由。预期的剂量产生 > 25 倍临床 MRHD 时的全身暴露,通常被认为适合用作生殖毒性试验的最大剂量(注 4)。通常这是基于母体药物,如果它是药理活性物质。还有其他情况(例如,前体药物,药理学活性代谢物),申请人应该为暴露倍数计算值提供理由。

当使用基于暴露的终点评估针对人内源性靶标的药物时,建议至少选择一种具有药效学活性的种属。对于使用替代分子的试验,应该使用在试验种属中具有足够药效活性的剂量。除了检测替代物之外,如果临床候选物预期具有次要药理学或脱靶效应,临床候选物也应在预期在常规种属暴露 \geq 25 倍 MRHD 的剂量下进行试验。

另外,不使用替代物,对于在试验种属中仅在暴露 \geq 25 倍时才显示一些药效学活性的临床候选物,可以使用在常规试验种属中达到药效学活性的剂量。然而,应该注意的是,可能会观察到不相关的脱靶效应。

如果常规试验种属没有一个是药效学相关的,但靶标是内源性的,并且预期临床候选物具有脱靶效应,则应考虑替代终点而不是基于暴露的终点(例如,限制剂量,最大可行剂量,基于毒性的终点)。

当没有人内源性靶标(例如病毒靶标)时,> 25 倍 MRHD 的暴露量足以用于高剂量选择。

5.1.3.1 总体与未结合药物暴露的考虑

使用药物总暴露或未结合药物暴露应有合理的理由。总暴露量可以作为默认值,除非未结合部分比总暴露产生一个更低的暴露范围;在这种情况下,较低的暴露倍数应该用于比较动物与人类的暴露。或者,如果以下条件适用,则可以使用未结合药物暴露部分,无论其是否产生比总暴露倍数更低或更高的暴露倍数。

- 未结合部分可以从总药物暴露中精确计算，在人体的有效浓度和动物的毒性浓度下是可重现的，而未结合部分在统计学上显著不同。

下面提供了如何计算而影响暴露倍数的两个例子。

- 25 倍暴露倍数未满足：如果动物总暴露量为 25 μ M-hr，人体为 1 μ M-hr，未结合蛋白部分为 5%，在动物中未结合药物部分为 1%，则范围为 5。

- 超过 25 倍暴露倍数：如果暴露在动物体内为 10 μ M-hr，在人体中为 5 μ M-hr，未结合蛋白的部分在人体中为 1%，在动物中为 20%，则未结合比例将为 40，而不是基于总暴露量的表面上的比例 2。

5.1.3.2 高度靶向药物的基于暴露的方法

高度靶向药物（例如，单克隆抗体，治疗性蛋白质）显示无或最小的脱靶效应。对于在试验种属中显示药效学的治疗药物，可以通过确定在临床前种属中提供最大预期药理作用的剂量或在最大暴露下提供约临床暴露的 10 倍的剂量来选择高剂量，选择其中较高者（ICH S6（R1））（2）。在剂量选择中应考虑对动物种属和人类之间靶标结合亲和力和体外药理学活性有较大差异的校正，以便使较高剂量可引发药效学作用，如果不受毒性或分子的限制，则替代物的剂量，采用在试验种属中引起预期药理活性的 10 倍是合适的。

5.1.4 最大可行剂量（MFD）终点

使用 MFD 应达到在试验种属的最大暴露，而不是最大给药剂量（另见 ICH M3（R2）（1））。

当与给药途径/给药频率相关的试验物质（或制剂）的物理化学性质以及试验动物种属的解剖/生理属性限制了受试物的给药量时，MFD 可用于高剂量选择。

5.1.5 限制剂量终点

当其他剂量选择因素未达到较低剂量水平时，也可采用 1 g / kg / 天的限制剂量（其他考虑另见 ICH M3（R2）（1））。

5.1.6 较低剂量水平的选择

通常需要为发育和生殖毒性确定“没有观察到不良反应的剂量”。选择高剂量后，应考虑暴露、药理学和毒性来选择较低剂量，以使组间预期结果有区别。产生未达到治疗暴露的任何剂量水平通常不能为风险评估提供信息，除非是在父母体动物中未产生毒性可以达到的最高剂量。对于生殖毒性试验中的一些变量，有能力区分背景和给药影响可能是困难的，是否存在剂量相关趋势可以提供信息。低剂量通常应提供人体 MRHD 暴露时的一个较低倍数（例如，1 至 5 倍）。中剂量的暴露应在低剂量和高剂量暴露之间；但是，通常不推荐导致暴露增加小于 3 倍的剂量间隔。

5.2 疫苗的剂量选择和试验设计

本指导原则涵盖用于预防和治疗传染性疾病的疫苗（有或无佐剂）。所列出的原理可适用于其他适应症疫苗（例如癌症）的非临床试验。试验类型取决于疫苗的目标人群和相关的生殖风险。

一般来说，对于新生儿、青春期前儿童或老年人的疫苗，不需要进行生殖毒性试验。

对于疫苗的生殖毒性试验，评估在动物模型中能够诱导免疫应答的单个剂量水平（第 4.1.3 节）通常足够。这个单一剂量水平应该是没有校正体重的最大人体剂量（即，1 人剂量= 1 动物剂量）。如果由于给药总体积的限制或由于剂量限制性毒性（例如，局部的、全身的）而对动物给予最大的人体剂量不可行，则可以使用以 mg/ kg 计超过人体剂量的剂量。为了使用一个降低的剂量，应提供为什么在动物模型中不能使用等人体剂量的理由。

疫苗接种方案应在胚胎、胎仔和产后早期阶段最大化产生母体抗体滴度和/或免疫应答。给药时间和次数将取决于特定疫苗的免疫应答的出现和持续时间。在妊娠期间给予正在开发的疫苗时，申请人应根据其预期用途（例如，在妊娠期间保护母亲或出生后早期保护儿童）来证明其试验设计的合理性。

每日给药方案可能会导致疫苗成分过度暴露。推荐使用妊娠动物间断性给药而不是每日给药。此外，更适合于大多数针对传染病预防和治疗的疫苗，间断性给药最好与临床免疫时间点接近。考虑到常规动物种属的妊娠期短，通常建议在

交配前几天或几周向动物给予初始剂量,以便在妊娠的关键阶段(即器官形成期)引起免疫应答高峰。给药方案可以根据人类预期疫苗接种时间进行修改。

应在器官形成早期至少给药一次,以评估疫苗制剂组分潜在的直接胚胎毒性作用,并在妊娠的其余时间保持高抗体反应。如果观察到 EFD 毒性,可以使用在特定时间点给药的动物亚组进一步评估。

在疫苗包括新型活性组分(包括新型佐剂)的情况下,考虑与非疫苗产品相似的其他试验策略是合适的。

建议给药途径与临床给药途径相似。

6 哺乳动物体内试验的设计与评价

用于评价药物潜在生殖风险的试验策略可以包括一个或多个体内试验。虽然大多数药物的开发已经采用了三段式独立试验设计,但是可以进行这些试验设计的各种联合以减少动物使用。在确定采用哪种试验设计时,应考虑药物的所有药理学、药动学和毒理学资料。关于生育力、EFD 和 PPND 的试验细节及其联合试验可以在附件 9.4 中找到。下面列出了不同的方法。

6.1 评价所有阶段的三段式试验(A—F)

- 生育与早期胚胎发育(FEED)

如果怀疑对生育力有影响,根据作用方式或重复给药试验的结果,建议对雌性和雄性给药采用分别的组别或分开的试验,包括与未给药的异性动物进行交配。

- 胚胎-胎仔发育(EFD)

- 围产期发育,包括母体功能(PPND)

6.2 单一(全程)试验设计

生育、妊娠和产后发育的组合(A-F段)。

当预期不会产生生殖毒性时,啮齿类动物的单一试验设计可能是合适的。如果这样的试验在适当选择的剂量下为明确的阴性结果,则不需要对该种属进行进

一步的生殖试验。在这项试验中，应对所有新生仔和幼仔进行形态学异常检查，包括死胎和所选幼仔。如果观察到生殖和发育毒性，应详细评估这些毒性风险。

6.3 两段式试验设计

•组合 FEED 和 EFD (A-D 段) + PPND (C-F 段) 试验。除了 PPND 试验之外,FEED 和 EFD 的这种组合试验提供了从进行单独的 FEED 和 EFD,以及 PPND 试验获得的所有信息,但使用较少的动物。

•EFD (C-D 段) + FEED 和 PPND (A-C + D-F 段) 的组合试验。

这种组合试验设计不包括对外部、软组织或骨骼形态的评估。在 EFD 试验中未观察到与给药有关的 TEFL 效应时最有用。生育力和 PPND 联合试验,与 EFD 试验一起,为所有发育阶段提供所需的信息,但使用动物比三段式试验设计更少。

6.4 重复给药毒性试验和生育力试验的组合设计

在长期重复给药毒性试验中,预期对雄性或雌性生育力没有影响的情况下,或者由于观察生殖器官毒性而适当延长给药期限,可以考虑重复给药和生育力试验的组合设计。如果怀疑对生育力的影响,根据作用方式或重复给药试验的结果,建议在分开的试验中给药雄性和雌性,包括与未经给药的异性动物交配。

在长期的重复给药毒性试验(例如,13 或 26 周重复给药试验)所定义的给药期后,来自重复给药试验的雄性可以与单独试验组的性成熟雌性同笼(未给药的性成熟雌性,或雌性在交配前至少给药两周)。这种组合试验可以减少使用的动物数量;然而,重复给药试验中的雄性动物数量应为每组的 16 只。将对雌性动物及其胎仔检查生育力试验程序中所描述的终点(附件第 9.4.1 节)。

同笼之前的雄性给药持续时间应根据第 3.2 节和第 9.4.1 节中所描述的生育力试验的设计原则确定。用于此评估的给药雄性可以来自任何重复给药试验(例如,4 周,13 周或 26 周试验),只要给药持续时间足以满足试验目标,雄性是性成熟的,并且用于同笼的雄性数量足以评估对雄性生育力和着床生存的影响。选择用于评估雄性生育力的样本大小应根据种属/种系特征来合理确定。这种组合试验能够减少给药动物的数量,对暴露途径技术上有挑战性的尤其有用。在对雄

性生殖性能的长期影响进行评估时，也是特别有用的。

同时检测雄性和雌性生育力也是可能的，使用来自重复给药毒性试验的雄性，与已经给药至少两周的单独试验组的性成熟雌性同笼。根据生育力试验所描述的（第 9.4.1 节）对雌性和胎仔进行评估。然而，为了检测药物对发情周期的影响，组动物数应至少为 16 只，除非可以提供较小组大小的理由。

6.5 数据评估

6.5.1 体内试验的数据处理/数据呈现/统计

良好报告的关键是以清晰、简洁的方式将个体数据列表，以说明所有正在评估的动物。因为数据来源于往往不被直接给药的子代，所以应该清晰、简洁地列表呈现使得可追踪从起始到试验结束的任何个体动物信息。这样可以评估个体值对同组汇总值的贡献。组汇总值应保留有效数字，避免错误的精确度，并反映变量的分布。

为了呈现关于结构变化（例如胎仔异常）的数据，主要列表（表格）应清楚地识别含有异常胎仔的窝，识别窝中受影响的胎仔，并报告受影响胎仔中观察到的所有变化。合适时，次级列表列出变化的类型。

描绘多天采集的数据平均值（例如，平均体重）的图表对直观呈现大量数据是有用的。个体值的附件或表格，如体重、摄食量和窝值应简明扼要。虽然默认呈现绝对值，但体重增加或窝存活指数等计算值可以提供进一步的支持。如果来自非妊娠动物的数据已被排除在汇总表之外，那么应该明确指出。

表示胎仔异常的发现应使用一致和容易理解的术语。

试验数据的阐述分析应主要依赖于与平行对照组的比较。当数据的阐述分析依赖于对更大量对照群体以及特别是先前试验中对照组之间变异性的认识时，历史对照/参考数据是最有用的。例如，当试图了解畸形的相关性时，历史对照数据有助于阐述罕见事件的意义。个别实验室最近的历史对照数据库（如果有的话）优于其他实验室的数据汇编。理想情况下，历史数据应反映同期试验的数据（例如，该试验直接相连的之前或之后几年内获得），因为遗传漂移可能是一个问题。

通常采用将试验数据与历史平均值、标准偏差或范围进行比较，考虑事件发生的频率很重要。如果是这样，那么应该呈现频率。

6.5.2 统计

发育和生殖毒性试验通常显示不符合正态分布的应答分布，而从任何连续变化到离散分布可以不同。因此，应该告知所使用的统计方法。当采用推论统计（确定统计学意义）时，应使用基本比较单位。实验单位是一个经常被误解的概念，是指已经被随机化和给药的单位。因此，应以窝为测量单位来计算剖宫产和胎仔数据；试验结果推论回到母代，而不是胎仔。这是因为妊娠的雌性被分配到不同的剂量组（不是胎仔或新生仔），并且指定的窝中个体子代的发育并不独立。在指定的窝中的个体子代比来自不同窝的子代有更加相似的反应。类似地，对于生育力试验，配对组应该被用作比较的基本单位。

在大多数情况下，推论统计（“显著性检验”）将评估反应与治疗因素之间的关系。来自统计模型的用于评估给药影响的关键结果是 p 值和置信区间 - 通常将所有组与溶剂组进行成对比较和/或趋势性检验。这种显著性检测的结果只能用作对结果阐述分析的支持。应讨论给药组动物与平行对照组之间差异的生物学意义。仅有统计学意义并不意味着是阳性结果，同样缺乏统计学意义也不意味着缺乏影响；在这种情况下，应考虑历史对照、生物学合理性和重现性。在处理组别小的试验（例如 NHP）时，对单独使用统计学意义来进行推论应谨慎。

7 风险评估原则

在本评估中，应考虑所有关于药物和任何相关化合物的可用数据（例如替代物或可疑类别）以及关于人类遗传学、转基因动物以及靶标在生殖中的作用的信息。可获得的信息量取决于药物开发的阶段、药物的性质及其预期用途。应考虑（预计）人体暴露、种属之间的比较动力学和生殖毒性的可能机制（如果有的话）。

治疗受益考虑可以影响适当的人类风险水平。例如，治疗危及生命的药物比一些改变生活方式的药物有更高程度的风险也是合适的，因为已知现有治疗方法对生殖均具有不利影响。人类数据（例如已知的人类遗传变异影响、临床试验经验）可以极大影响人类生殖或发育毒性风险的总体评估。确定性的人类数据将取代非临床资料。

可获得的非临床生殖毒性数据包中，任何限制因素（例如试验系统相关性、

所达到的暴露)、不确定性和数据差距应予以说明, 并对其影响进行评估。

风险评估应产生与预期患者人群的风险沟通和管理相关的结论。

7.1 生殖与发育毒性的风险评估

对于人用药物, 应进行评估, 以确定药物开发过程中人类生殖的潜在风险。

如果没有其他理由, 应该阐述反映第 2 节所述潜在的生殖和发育影响的全部范围的终点。

并非所有非临床试验的观察都被认为是不利的。如果一个确定的影响只是适应性改变 (例如酶诱导), 而对生殖或发育功能没有影响, 也可以被认为是非不利影响。

应评估不利的非临床影响, 以估计使用药物条件下人类生殖或发育风险增加的可能性。建议对提高或降低担忧程度的各种因素进行分析。这些因素包括动物-人类暴露比率、母体毒性水平、剂量反应关系、所观察影响的类型、种属间一致性或药理学和毒理学机制之间的相似性。例如, 如果在以下任何一种情况下观察到影响, 就会增加对生殖或发育风险的担忧: 动物相对暴露低、种属间一致性、不存在母体毒性或药理学与生殖/发育毒理机制相似。相反, 通过动物相对高暴露、不存在种属间一致性、过度的母体毒性或种属特异性机制, 可以减少担忧。

当评估对胎仔-胚胎发育的影响时, 在对母体也有毒性的剂量水平观察到胎仔毒性时, 会出现一个特别的困难。不能假设发育毒性是继发于母体毒性, 除非这种关系可以重新再来或从先前所公开的资料来证明。对此一种方法是评估在各个母体中毒性的严重程度与其窝胎仔的影响之间的一致性程度。

此外, 试验之间的一致性可以提供药物不利影响的进一步证据 (例如, 在与啮齿类动物 EFD 试验中所见胎仔死亡率增加与 PPND 试验中生存窝大小的减少相一致)。重要的是考虑在试验和种属之间所观察到的特定影响的暴露。了解动物试验中确定的生殖或发育效应的机制可以帮助解释种属之间的反应差异, 并提供有关该效应的人类相关性的信息 (例如, 啮齿类动物对前列腺素合成酶抑制剂对心血管胎仔发育的特异性影响)。

一般而言, TEFL 被认为是评估产前发育毒性的关键终点。相比之下, 从风险评估的角度来看, 发育毒性 (例如, 胎仔体重变化、骨骼变异) 本身的可逆或

微小表现是不重要的。然而，变异发生率的增加可能会影响对相关畸形可疑性增加的解释。担忧的程度也将受到其他因素的影响（例如发现发生时的暴露倍数，种属间的一致性）。

至于发育毒性，从风险评估的角度来看，其生殖毒性的可逆或轻微表现（例如，精子发生的暂时抑制）本身的担忧很小。

比较试验种属中未观察到不良反应水平(NOAEI)时的药物暴露量与 MRHD 时的药物暴露是一个关键指标。该比较应基于最相关的指标(例如, AUC, Cmax, Cmin, 体表面积校正剂量)。一般来说, 当在相关动物种属中观察到 NOAEI 的暴露<10 倍 MRHD 暴露时, 对人类生殖或发育毒性的担忧将增加。当 NOAEI 的暴露>10 倍 MRHD 暴露量时, 担忧会降低。当动物 NOAEI 的暴露>25 倍 MRHD 暴露时, 药物临床使用的担忧最小(注 4)。如果在多个试验种属之间观察到相对暴露的显著差异, 则应重新评估用于种属间暴露比较的指标(例如, AUC, Cmax)的合适性。当替代度量指标不能减少种属之间的差距时, 风险评估应基于最敏感的种属。如果适用, 相对暴露比率应考虑母体化合物及其代谢物。

一般来说, 与 MRHD 暴露相比较具有足够暴露的确定性体内试验的结果, 比来自替代试验或初步试验的结果更重要。此外, 从体内试验获得的暴露数据可用于确定在替代试验中鉴定的阳性信号是否在采用 MRHD 临床条件下呈现风险。

7.2 哺乳的风险评估

一般来说, 动物试验中药物对哺乳期的影响及其在乳汁中的存在的评估与人类风险评估相关性不大。药物可以改变哺乳母体的哺乳过程。虽然 PPND(或 ePPND)试验的结果可以告知风险评估, 并且可以告知哺乳幼仔中是否存在明显的全身暴露, 但是, 关于乳汁中的药物量和泌乳的信息最好来自于人类经验, 因为啮齿类动物和人类之间乳汁的组成差异很大。对哺乳婴儿的直接不良影响的风险取决于药物及其代谢物在乳汁中的浓度、吸收和婴儿的年龄。与大龄婴儿相比, 早产儿和新生儿的吸收、代谢和排泄药物的能力不同。

8 注释

注 1：特别是，睾丸和附睾应该采用保存组织结构并能够看到精子循环的方法进行取材和处理。详细的对生精周期定性显微镜评估足以检测对精子生成的影响。通常不推荐对精子的阶段（即分期）进行定量分析，但可用于进一步表征和确认这些影响。对于雌性动物，应对卵巢（包括卵泡、黄体、基质、间质和脉管系统）、子宫和阴道（啮齿类动物）进行详细的定性显微镜检查，并特别注意对原始和初级卵泡的定性评估。

注 2：本指导原则范围内合格的替代试验只能在某些具体情况下适用，且未经过正式验证。欧盟要求非动物方法只有进行验证后才可使用并被接受用于监管目的（2010/63 / EU 指令，部门立法和相关指导）。但是，该欧盟指令不适用于本指导原则中的合格的替代试验。

注 3：附件 9.5.4 中的 ICH 参考化合物清单是不完整的，因此我们正在取得额外参考化合物（阳性和阴性）的数据，以便潜在纳入清单，包括下文所述的相关信息。这些化合物可以是药物或非药物，并且应该是可商购的。要提交的数据应包括：

- 化合物的名称、结构、建议的化合物类别和 CAS 标识符（如果有的话）；
- 在非临床试验种属中观察到的特异性 TEFL；
- 最低观察到不良反应水平（LOAEL）（如适用）和 NOAEL 的暴露（C_{max} 和 AUC）；
- 所提供的具体数据的参考文献/资料来源（将使可公开获得，如果尚未公布的话）：

请参见附件 9.5.4 表 9-7 中关于所要求数据类型的表 9-7 中的例子，例如四种阳性化合物（卡马西平，氟康唑，5-氟尿嘧啶和托吡酯）和一种阴性化合物（沙格列汀）。应使用与这些示例中所示类似的格式来汇总数据。

这不是附件 9.5.4 表 9-6 中列出的化合物的数据要求，也不是可以使用的试

验实例的要求。

注 4：对 20 种已知的人类致畸物的分析表明，如果观察到畸形，则在至少一种种属中的 LOAEL 暴露 < 25 倍 MRHD 暴露。这表明在发育毒性试验中选择使用大于 25 倍的高剂量的暴露量足以检测所有这些药物的致畸危害。该分析还表明，对于在动物种属中检测到的所有人类致畸物，至少一种种属中 NOAEL 的暴露 < 10 倍 MRHD 暴露。

此外，IQ DruSafe 领导小组对 EFD 毒性试验进行了调查。这项调查分别确定了 163 和 152 个确定性大鼠和兔 EFD 试验，这些试验在未出现混杂（即，剂量限制）母体毒性的情况下，达到 ≥ 15 倍的动物与人体原型药物暴露比率（采用预期治疗剂量的人体暴露）。分析表明：

- 在 163 只大鼠试验中，51 只（31%）达到人体暴露的 25 倍以上，其中只有 6 只（3.7%）具有 TEFL 发现。对于所有 6 之大鼠试验，LOAEL ≥ 50 倍人体暴露，其中一之是基于作用机制预测为阳性。
- 在 152 只兔 EFD 试验中，35 只（23%）达到人体暴露的 25 倍以上，其中仅有 2 只（1.3%）具有 TEFL 发现。对于这 2 只兔试验，LOAEL ≥ 50 倍人体暴露

这些数据显示，当没有母体毒性（否则会限制高剂量）时，动物给药实现暴露 ≥ 25 倍人体暴露，只有少数能检测到 TEFL。在这些情况下，直到暴露量超过 50 倍才能观察到 TEFL 的发现，并且这种高暴露的结果不认为与人类风险评估相关。在没有混杂（即剂量限制的母体毒性）的情况下，EFD 和 PPND 试验的高剂量选择，达到预期最大治疗剂量下的总原型化合物的人血浆暴露 > 25 倍的暴露比例是因此被认为用于检测与人类风险评估相关的结果是实用和足够的。

9 术语

替代试验：旨在评估发育终点（即致畸性或胚胎/胎仔致死性；参见 TEFL）的体外、离体或非哺乳动物体内试验。

适用领域：描述的是根据物理性质或特定类型适合进行哪种试验的物质类型。这适用于可在试验中检测哪种类型的化学物质，适用的化学空间。适用性的实例可以包括药物的物理化学性质，例如溶解度、挥发性或分子干扰试验。适用领域还涉及为什么以及试验可以提供信息或不能提供有用结果的情况。它可以包括适用于对新化合物进行预测的模型建立训练。

试验验证（用于监管用途）：如本指导原则中所述，对替代试验预测性的确认用以确定的不良发育结果（即 TEFL）的。

组分：在用作赋形剂、稀释剂化学或生物物质或疫苗中的佐剂，包括作为给药辅助并单独提供的稀释剂。

使用背景/条件（Context of use）：本指导原则适用于注册监管条件下，试验结果需注册申报。实例可以是：在特定条件下对体内试验的一个单独的替代试验，包括在一组试验/评估中以代替体内试验，或将确定性试验推迟到临床开发后期。

发育毒性：在达到成年之前引起的任何不良影响。它包括从妊娠至产后诱发或表现出的影响。

GD：妊娠日。

GD 0：检测到交配阳性证据的当天（例如，啮齿类动物阴道涂片中发现精子/阴栓，或观察到兔交配）。

高度靶向或高度选择性的药物/治疗：由于靶结合的性质而表现出无或最小的脱靶效应治疗剂（例如，单克隆抗体、治疗性蛋白）。

ICH 基于拟定作用机制的参考化合物列表分类：

- 通道调节剂：**主要作用方式为靶向细胞通道或转运蛋白的化合物。

- DNA 修饰剂：主要作用方式为 DNA 嵌入或 DNA 修饰[直接（例如烷基化、甲基化）或间接作用的（例如，基于酶调节）]的化合物。
- 酶调节剂：未被其他类别（例如激酶调节剂）包含酶抑制剂、活化剂或诱导剂。
- 激素/类固醇：主要作用方式为模拟、调节或拮抗旁分泌、内分泌或外分泌功能的化合物。
- 激酶调节剂：特异性影响激酶的酶调节剂的特定亚型。
- 核苷调节剂/营养阻滞剂/中枢代谢抑制剂：核苷、营养素或代谢途径中间体的抗代谢物。
- 基于寡核苷酸的调节剂：影响转录或翻译的基于 DNA 或 RNA 的寡核苷酸。
- 受体调节剂：结合受体而引发反应的化合物，无论是基于核还是基于膜受体（非激酶受体调节剂）。
- 第二信使调节剂：结合靶标，直接改变细胞内和细胞外室的细胞信息传递。
- 其他：不属于上述任何类别或不具有预期生物活性的其他化合物（如工业化学品）。

畸形 (Malformation)：永久性结构变异，通常与正常的出生后发育或存活不一致或严重损害。

形式 (Modality)：小化学实体、单克隆抗体、寡核苷酸、纳米体、肽、蛋白质、疫苗等药物的种类。

归一化因子 (Normalization Factor)：基于本指导原则的目的，为一种用于将替代试验结果与体内发生暴露所发现相结合的数学算法。

脱靶或次要药理学活性：与其预期治疗作用无关的药物作用或影响。

药理学活性或主要药理学活性：通过直接影响靶标（例如抑制、活化、上调或下调）或产生预期的生理结果（例如降低血压）引起预期的作用。

PND: 出生后天数。

PND 0: 一窝子代确定分娩的当天。

初步 EFD (pEFD) (Preliminary EFD): 包括器官形成期的暴露、具有足够的剂量水平、每组至少使用 6 只妊娠动物，并包含对胎仔存活率、胎仔重量和外部和软组织改变的评估的发育毒性试验（见 ICH M3 (R2) (1)）。

增强的 pEFD (Enhanced pEFD): 符合 GLP 标准、妊娠动物数量增加到每组≥8 只，并包括胎仔骨骼检查的 pEFD 试验。

替代分子: 在试验动物种属中显示出与人用药物在人体中相似药理学活性的分子；对于生物制品，也可以指同源蛋白。

TEFL: 致畸性和/或胚胎-胎仔致死性。

致畸物 (Teratogen): 对于本指导原则的目的，是指引起畸形的药物。

训练集 (Training Set): 用于发现潜在预测相关性的一组数据。

试验集 (Test Set): 用于评估预测相关性的强度和效用的一组数据。

疫苗 (Vaccine): 对于本指导原则的目的，该术语是指预防或治疗传染性疾病的疫苗。疫苗（包括术语为疫苗产品）被定义为完整的制剂，包括抗原（或免疫原）和任何添加剂（如佐剂、赋形剂或防腐剂）。疫苗旨在刺激免疫系统并产生对疫苗抗原的免疫应答。疫苗的主要药理作用是预防和/或治疗感染或感染性疾病。

变异: 不影响生存、发育或功能的结构性变化（例如，骨化延迟），是可逆的，并在所研究的正常群体中发生。

10 参考文献

1. International Conference on Harmonisation M3(R2): Guidance on Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals (2009) together with ICH M3(R2) Questions & Answers (2012)
2. International Conference on Harmonisation S6(R1): Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals (2011)
3. International Conference on Harmonisation (2009). S9: Nonclinical Evaluation for Anticancer Pharmaceuticals.

11 附件

11.1 种属的优势/劣势表

表 9-1 发育与生殖毒性试验种属

种属	优势	劣势
常规种属		
大鼠	<ul style="list-style-type: none">• 生物学了解全面• 广泛用于药效学和药物发现• 妊娠期短、生殖能力强• 较大规模的组和窝• 适用于所有试验阶段• 大量的实验室经验和高实验室容量• 大量的历史数据	<ul style="list-style-type: none">• 胎盘形成不同(例如, 时间、卵黄囊倒置)• 依赖于催乳素作为建立和维持早孕的主要激素, 这使得其对某些药物(例如, 多巴胺激动剂)敏感<ul style="list-style-type: none">○ 对中断分娩的药物高度敏感(例如妊娠晚期对非甾体抗炎药高度敏感)• 与人相比, 对生育干扰的敏感度低• 人源化单克隆抗体的有限应用<ul style="list-style-type: none">○ 药理活性有限或无活性○ 结合力有限或无结合力○ 显著的抗药性免疫应答

兔	<ul style="list-style-type: none"> • 与大鼠相似的优点，加上 • 非啮齿类动物模型 • 可轻松适应精液收集 • 抗体的胎盘转运比啮齿类动物更接近灵长类动物 	<ul style="list-style-type: none"> • 对于生物制品，与大鼠具有相似的限制 • 有限的生育力和围产期试验的历史数据 • 对胃肠道紊乱敏感；（例如，一些抗生素） • 易于自发流产 • 临床症状难以解释 • 通常不用于一般毒理学（疫苗除外），缺乏动力学或毒性数据 • 用于药效学试验有限
小鼠	<ul style="list-style-type: none"> • 与大鼠类似的优点 • 遗传修饰的模型可获得或容易制备 • 适合于替代方法 • 使用少量的试验材料（受试物） 	<ul style="list-style-type: none"> • 与大鼠类似的限制 • 胎仔体积和组织体积小 • 对应激敏感 • 群体畸形特别明显 • 某些种系具有较少的历史数据 • 胎盘形成不同（例如，时间、卵黄囊倒置） • 与人相比，对生育干扰的敏感度低
非常规种属		
NHP（详情请见食蟹猴）	<ul style="list-style-type: none"> • 物种和生理上与人更相似 • 比啮齿类动物更能显示出药理效应和对人蛋白的组织反应性 • 胎盘形成与人相似 • 尺寸和组织样本更大 • 用于重复给药毒性试验 • mAb 的胎盘转运与人相似 	<ul style="list-style-type: none"> • 低生殖力 <ul style="list-style-type: none"> ○ 妊娠流失背景值高 ○ 单一子代 • 月经周期长（30 天）和孕期长（165 天） • 对于生育力（交配）试验不可操作 • 年龄在 3 至 6 岁之间性成熟 • 在产后共同生活期间将母体和新生仔隔离可能对新生仔有影响 • F1 生殖功能难以评估 • 组动物数少（伦理考虑因素），因此统计效力较低 • 动物福利考虑 • 与其他种属一样，动力学与人类不同 • 有限的历史对照和实验室经验/能力 • 有限的养殖动物可获得性 • 开始时年龄，体重和平均值

		<p>差异很大</p> <ul style="list-style-type: none"> • 使用大量的试验材料（受试物）
小型猪	<ul style="list-style-type: none"> • 常规毒性试验和生殖毒性试验的替代啮齿类动物 • 对一些人类致畸物敏感 • 器官形成期短（GD 11-35） • 确定的遗传背景和无特定病原体的动物 • 可能的剂量范围试验短（中期） • 养育且适应实验室条件 • 在3至5个月达到性成熟 • 与NHP相比，窝大小良好 • 适应于连续精液抽样和交配试验 • 可通过超声检查妊娠 • 有关生殖终点的历史背景资料充足 	<ul style="list-style-type: none"> • 有限的有经验的实验室 • 妊娠期长 • 使用大量的试验材料（受试物） • 需要大的饲养空间 • 抗体的产前转运最小至无转运
有限使用种属（主要用于研究性目的）		
豚鼠	<ul style="list-style-type: none"> • 可以显示有效性和交叉反应性的替代啮齿类动物模型 • 抗体在妊娠后期的胎盘转运与人水平相似 	<ul style="list-style-type: none"> • 历史对照和实验室经验仅限于少数实验室 • 对 GI 紊乱敏感；对某些抗生素敏感 • 出生后行为和功能检测的验证有限 • 胎仔期长 • 缺乏动力学或毒性数据 • 血液采样更困难
仓鼠	<ul style="list-style-type: none"> • 可以显示有效性和交叉反应性的替代啮齿类动物模型 	<ul style="list-style-type: none"> • 由于同食化造成的更高的出生后损失 • 有限的历史对照和实验室经验 • 出生后行为和功能检测的验证有限 • 静脉给药困难，经口给药可以将药藏在颊囊中 • 攻击性 • 对 GI 紊乱敏感 • 对许多化学物质致畸反应过度敏感 • 缺乏动力学或毒性数据 • 血液取样更困难

犬	<ul style="list-style-type: none"> • 通常有重复给药毒性数据 • 组织体积大 • 易于适应精液收集 	<ul style="list-style-type: none"> • 每年两次排卵和妊娠期长（63天） • 有限的历史对照和实验室经验 • 出生后行为和功能检测的验证有限 • 使用大量的试验材料（受试物） • 免疫原性/过敏反应担忧
雪貂	<ul style="list-style-type: none"> • 可以显示有效性和交叉反应性的替代模型 	<ul style="list-style-type: none"> • 季节性繁殖，除非使用特殊的管理系统（成功高度依赖于人/动物的相互作用） • 历史对照数据和实验室经验最少

11.2 体内试验设计

在每个试验中每组动物的数量是基于这些试验设计多年来的经验的科学判断，以及适当使用动物的伦理考虑的平衡。当化合物的药理作用或现有试验证据表明预期使用的剂量会引起高频率的影响，因此可需要较少的动物来确认这种影响的存在时，可以调整组动物数量的大小。根据所考虑的变量（终点），其在对照群体中的流行率（罕见或绝对事件）或围绕中心化趋势的离散（连续或半连续变量），动物的数量可以不同。

除了最罕见的事件（如畸形，流产，总窝丢失）之外，对于 16 至 20 窝的啮齿类动物和兔评估试验倾向提供试验之间一定程度的一致性。每个试验低于 16 窝的评估试验，试验之前间的结果将不一致。每组 20~24 窝之上，一致性和准确度不会明显提高。应可获得用于评估的窝相关数量。如果将组划分为亚组用于进行不同的评估，则应该相应地调整试验开始时的动物数量。同样地，在 2 代繁殖试验中，应获得 16 至 20 窝用于 F1 代的最终评估。为了允许自然损耗，建议将 F0 代的起始组大小至少为 20 窝。

以下提供可用的代表性试验设计。然而，参数、时间和评估可以修改以符合试验目标。为适应每个实验室和试验目的这些概括设计，应采用专家判断。

11.2.1 生育力与早期胚胎发育 (FEED) 试验

通常建议采用啮齿类动物进行生育力评估 (见第 3.2 节和第 4.1 节)。FEED 试验的目的通过从交配前 (雄性/雌性) 至交配直至胚胎着床期间给药, 来评价受试物产生的毒性作用/干扰。这包括对生殖过程 A 段和 B 段的评估 (见第 2 节)。对于雌性动物, 应检测对动情周期、输卵管转运、着床及胚胎着床前发育的影响。对于雄性动物, 应可检测不能通过雄性生殖器官组织学检查来检测的功能性影响 (例如附睾精子成熟)。生育力试验旨在评估配子的成熟、交配行为、生育力、胚胎着床前阶段和着床。

通常使用组合的雄性/雌性 FEED 试验 (见表 9-2), 但通过在试验设计中替换适当数量的未经给药的雄性或雌性动物, 可能仅对雄性或雌性单独给药, 这应基于个案原则进行考虑。

表 9-2: FEED 试验设计: 大鼠, 雄性和雌性组合试验

参数	雄性、雌性
典型的组大小	20 + 20
剂量组数	4
给药期 ^a	雄性: 同笼前≥2 周直至确认交配前 F: 同笼前≥2 周至着床 (GD6)
交配比例	1 雄: 1 雌
交配周期 ^b	≥2 周
发情周期评估	每日, 从同笼前两周开始, 直到交配确认
临床观察/死亡率	至少每天一次
体重	每周至少两次
摄食量	至少每周一次 (交配前除外)
雄性安乐死 ^c	进行大体肉眼检查, 和保留大体观察结果、睾丸和附睾用于可能的显微镜检查
精子分析 ^d	可选
交配的雌性安乐死 ^e	进行大体肉眼检查和剖宫产; 保留大体观察结果、卵巢和子宫用于可能的显微镜检查

计划剖宫产：子宫着床数据	黄体数、着床点数、活胎数和死胎数
--------------	------------------

a: 从毒性试验获得的数据（例如组织病理学、生殖器官重量，在某些情况下的激素试验和遗传毒性数据）应该用于证明对精子产生的影响的给药持续时间。如果在给药至少 2 周的重复给药毒性试验中没有发现任何影响，排除这种情况，雌性和雄性可以在交配前 2 周给药。雄性动物给药应持续至整个交配确认期间，尽管确定雌性生育力之后终止可能是有价值的。雌性动物给药应持续至至少着床。这将可以评价重复给药毒性试验中无法通过组织病理学检查的功能性影响和交配行为影响。如果其他试验的数据表明雄性或雌性生殖器官的重量或组织病理学有影响，则应考虑更全面的试验。

b: 大多数大鼠将在同笼后 5 天内（即在第一次发情期）进行交配，但在某些情况下，某些雌鼠可能会假孕。将雌性与雄性分离长达 3 周以使这些雌性重新开始发情周期并妊娠。

c: 延迟安乐死雄性直至交配结果已知时是有价值的。如果对生育力产生影响，雄性可与未给药的雌性交配，以查明任何潜在对雄性的影响。雄性也可用于评估对雄性生殖系统的毒性，如果给药持续时间超过交配期和延迟安乐死（例如组织病理学，精子分析（见 d））。

d: 精子分析（例如，精子计数、运动性和/或形态学）可作为一个可选方法，以确定其他方法中的发现，并进一步表征这种影响。

e: 一般雌性于妊娠 13-15 日终止妊娠足以评估对生育力或生殖功能的影响（例如，区分着床和吸收位点）。

11.2.2 围产期（PPND）毒性试验

通常需要进行啮齿类动物 PPND 试验（见 3.4 和 4.1 节）。PPND 的目的是检测雌性从着床直至离乳给药，对妊娠/哺乳期的雌性动物、胚胎发育和子代发育的影响。由于在此期间诱发的影响的表现可能延迟，因此应持续观察至性成熟（即生殖过程的 C 至 F 阶段，见第 2 节）。PPND 毒性试验旨在评估与非妊娠雌性相比增强的毒性、围产期子代的死亡、子代的生长和发育的改变，以及功能缺陷，包括性成熟（青春期）、性成熟期的生殖能力、感觉功能、运动功能、学习和记

忆。

允许雌性动物分娩并哺乳其子代至离乳，此时每窝应选择至少一只雄性和一只雌性子代饲养至成年，然后进行交配，以评估生殖能力（见表 9-3）。

表 9-3: PPND 毒性试验设计：大鼠

参数	
典型的组大小 a	约 20 只雌性
剂量组数	4
给药期	从着床（GD 6/7）至离乳（PND 20/21）
F0 雌性	
临床观察/死亡率	至少每天一次
体重	每周至少两次
摄食量	至少每周一次直至分娩
分娩观察	GD 21 直至完成
尸检	PND 21 在尸检时，保留并保存具有大体发现的组织以及对照组相应组织以进行可能的病理组织学评估
F1 离乳前	
临床观察/死亡率	从 PND 0 起，每日一次
窝大小，活的和死的	从 PND 0 起，每日一次
体重和性别	PND 1、4、7、14 和、21
窝大小的可选标准	≥PND 4，每性别 4 或 5 只幼仔
身体发育和个体反射 b	依靠设定的标准
F1 离乳后	
离乳后评估和组大小的选择 c	PND 21，至少每窝 1 只雄性和 1 只雌性，可能达到每性别每组 20 只动物
临床观察/死亡率	每日
体重	每周
摄食量	每周

性成熟（青春期）d	雌性：阴道张开，从 PND 30 至试验完成 雄性：包皮分离，从 PND 40 天至试验完成
其他功能性试验	按照标准程序
生殖行为	至少 10 周龄，同组内雌雄配对（1M：1F）（不是兄弟姐妹）
	保留具有大体发现的器官以进行可能的病理组织学评价；保留足够量对照组相应的器官以进行比较 剖宫产：子宫着床数据，黄体数，着床点数，活胎数和死胎数

a: 在 2 代繁殖试验中，应有 16-20 只窝可用于对 F1 代进行最终评估。为了允许自然损耗，F0 代的起始组大小应约为 20 只。

b: 身体发育的最佳指标是体重。离乳前发育的标志性指标如睁眼、耳廓展开，以及其他与幼仔体重高度相关的指标。条件反射、翻转反射、听觉反射、空气反射、光反射均依赖于身体发育。因此，在缺乏体重影响的情况下观察时，应注意这些参数的差异。

c: 每窝每性别保留一只进行行为和其他功能性检测，并评估生殖功能。有些情况下每窝可以保留更多的动物用于独立功能评估。

d: 应记录体重，以确定与对照的任何差异是否是特异性的或与一般生长有关。

e: 鼓励研究者采用评估感官功能、运动及学习记忆的方法。学习和记忆应该在复杂的学习任务中进行评估。应在足够的时间（以使适应）内评估自主活动和对前脉冲抑制剂的惊跳反射（如果进行）。

11.2.2.1 啮齿类动物 PPND 试验的优化改良以评估幼龄毒性终点。

在某些需要进行幼龄动物试验的情况下，可以改良 PPND 试验以增加幼龄毒性终点，以潜在地减少动物使用，并解决特定的担忧问题（1）。应考虑以下方面来支持这种方法：

- 确定合适的暴露时间以适合支持儿科使用。
- 通过乳汁和/或考虑在发育敏感期间对幼仔直接给药，对幼仔进行充分的暴露（在产后早期选择 F1 代中剔除或离乳前不久的试验动物进行 TK 采样，可

提供暴露数据，并可以避免离乳前的给药)。

改良 PPND 试验中的终点应基于适用于支持儿科用途的幼龄动物试验设计的原则，不在本指导原则中讨论。

11.2.2.2 NHP 增强的围产期毒性试验 (ePPND)

NHP 中的 ePPND 毒性试验 (表 9-4) 是一项结合了 EFD 和 PPND 试验的终点，其给药延长至贯穿妊娠期至分娩 (即 GD20 至分娩)。有关要评估的时间和附加参数的信息，请参阅 ICH S6 (R1)。

表 9-4: ePPND 毒性试验设计: 食蟹猴 a

参数	
组别 b	一般 ≥16 推测已妊娠动物
剂量组数	至少一个治疗组，加一个对照组
给药时间	发现妊娠 (约 GD20) 至分娩
F0 雌性	
临床观察/死亡率	至少每天一次
体重	至少每周一次
分娩观察	记录完成日
超声评估	仅用于追踪妊娠状态
尸检和组织评估	仅必要时
F1 代	
临床观察/死亡率	从 PND 0 开始每天
体重	每周
形态学和体格发育检查/物理	PND 0 之后，常规时间间隔
母婴互动	至少在产后早期以确认哺乳；此后适当时
外部评估	PND 0 后，常规时间间隔
骨骼评估	第 1 个月和/或以后
内脏评估	尸检时

尸检	时间可变，取决于评估的目的 保存和保留组织以进行可能的组织学评估
----	-------------------------------------

a: 如果使用除食蟹猴以外的 NHP，则应相应调整试验设计，并提供合理性依据。

b: ePPND 试验中的组别规模应能产生足够数量的幼仔（出生后第 7 天每组 6-8 只），以便评估出生后发育情况，并提供必要时的特异性评估的机会（如免疫系统）。大多数 ePPND 试验在几个月内增加了妊娠的动物。参见 ICH S6 (R1) 关于动物的增加。

11.2.3 胚胎-胎仔发育 (EFD) 毒性试验

EFD 毒性试验的目的是检测雌性动物从着床到硬腭闭合的暴露后对妊娠雌性和胚胎和胎仔发育的不良影响（表 9-5）。这包括对生殖过程 C 段至 D 段的评估（见第 2 节）。胚胎发育毒性试验旨在评估与非妊娠雌性相比，增加的母体毒性、胚胎-胎仔死亡、生长的改变和结构变化。

11.2.3.1 剂量范围探索 (DRF) 试验

交配雌性的 DRF 试验最常用于为确定性 EFD 试验选择适当的剂量水平或给药方案，但是从现有重复给药毒性的耐受性和 TK 数据足以用于此目的。

11.2.3.2 pEFD 试验

初步的胚胎-胎仔发育毒性试验（表 9-5）在设计上与确定性胚胎发育毒性试验相似。典型的 pEFD 试验设计包括在器官形成期给药，具有足够的剂量水平，每组至少评估 6 名妊娠雌性，并且包括胎仔存活和体重评估，以及外部和软组织检查（见 ICH M3 (R2)）。

11.2.3.3 确定性胚胎-胎仔发育毒性试验

雌性于临近分娩期剖宫产，包括对胎仔生存和体重的评估，以及外部、软组织和骨骼检查（表 9-5）。表 9-5 给出的时间适用于大鼠和兔。对于其他种属，应使用适当的时间。

表 9-5 大鼠和兔的胚胎-胎仔发育毒性试验设计

参数	EFD		pEFD ^a
	大鼠	兔	
GLP 状态	是	是	否
最小窝数	16	16	6 (妊娠动物) ^g
剂量组数	4	4	4
给药期限 ^b	GD6-17	GD7-19	合适的种属
临死前终点			
临床观察/死亡率	至少每天一次	至少每天一次	至少每天一次
体重	至少每周两次	至少每周两次	至少每周两次
食物消耗量	至少每周一次	至少每周一次	至少每周一次
毒代动力学	是	是	可选
处死后终点			
剖宫产 ^d	GD20 / 21	GD28 / 29	合适的种属
肉眼检查			
子宫重	可选	可选	可选
黄体	可选	可选	可选
着床位点			
活胎和死胎			
早期和晚期吸收			
胎盘的总体评估			
胎仔体重			
胎仔性别			
胎仔外部评价 ^{e, f}	是	是	是
胎仔软组织评估 ^{e, f}	是	是	是
胎仔骨骼评价 ^{e, f}	是	是	否

a: 在增强的 pEFD 试验中，妊娠动物的数量应该从每组 6 只增加到每组≥8 只，包括胎仔骨骼检查，并且应该遵循 GLP 规定进行。

b: 将雌性动物从着床到硬腭闭合（即生殖过程的 C 段，参见第 2 节）给予受试物。

c: 治疗期间妊娠雌性的每日称重可以提供有用的信息。

d: 分娩前约一天进行剖宫产。保持具有大体发现的器官以进行可能的组织学评估；保持足够的对照组相应器官进行比较。

e: 应检查所有胎仔的生存能力和异常情况。允许随后评估不同技术胎仔观察结果之间的关系，每只胎仔应单独确定。将通过不同的检查技术（即，体重，外部检查，软组织和/或骨骼检查）的所有发现与单个样本联系起来以便检测异常模式是至关重要的。

f: 如果所采用的方法（例如新鲜解剖或 μ CT，MRI 等）允许，最好检查所有胎仔的软组织和骨骼改变。当使用的技术妨碍在同一胎仔进行软组织和骨骼变化评估时，每项检查应分配每窝 50% 的胎仔。应在至少 50% 的胎仔中检查头内部软组织。

g: 最小窝数等于每组妊娠动物的数量，而不是 pEFD 试验的窝数量。

11.2.4 组合式试验

11.2.4.1 生育力与胚胎发育（FEFD）试验

组合 FEFD 试验的目的是检测从交配前（雄性/雌性）至交配、着床直至器官形成结束后给药所产生的毒性作用/干扰。这包括评估生殖过程的阶段 A 至 C（见第 2 节）。

通常使用组合的雄性/雌性 FEFD，但是当雄性生育力在单独的一个试验如适当给药周期的重复给药试验中已评价时，单独的雌性试验是可能的。这样的试验将使用未给药的雄性进行交配。具体的试验设计和观察参数见第 9.4.1 和 9.4.3 节（FEED 和 EFD）。

11.2.4.2 生育力和 PPND（FPND）试验

组合生育力和围产期发育试验（FPPND）研究的目的是检测交配前（雄性/雌性）给药引起的毒性作用/干扰，并检测雌性从着床到离乳后给药对妊娠/哺乳

期雌性、妊娠发育和子代的不良影响。由于这一时期诱发的影响表现可能会延迟，因此应持续观察至性成熟。这包括评估生殖过程的 A 段至 F 段（见第 2 节）。围产期发育毒性试验旨在评估相对于非妊娠雌性中，增强的毒性、子代产后死亡、生长发育改变、子代功能缺陷，包括行为、性成熟（青春期）和性成熟期的生殖能力。

试验设计特征应包括单个试验中使用的动物数量和评估参数。具体的试验设计和观察参数见第 9.4.1 和 9.4.2 节（分别为 FEED 和 PPND）。

可以使用组合的雄性/雌性 FPPND，但是当雄性生育力在单独的一个试验如适当给药周期的重复给药试验中已评价时，单独雌性试验是可能的。这样的试验将使用未给药的雄性进行交配。

11.3 监管可接受的替代试验系统的验证

本节提供了一个框架和检测方案，以促进替代试验的验证，包括试验化合物列表（ICH 参考化合物列表）。ICH 参考化合物列表提供了关于各种参考化合物的胚胎-胎仔毒性的信息，通过总体类别进行组织。该清单产生基于认识到列表使用将告知特定替代评估方法的可接受性。还列出了检测方法可接收的性能因子。ICH 参考化合物列表拟定期更新。

适用领域（见词汇表）连同预期的监管使用一起影响试验资质和达到监管可接受的严格性的因子。

11.3.1 ICH 参考化合物清单的选择因素

ICH 参考化合物列表旨在涵盖动物或人类的 TEFL 效应已知的参考化合物，即使作用方式不确定。

在没有母体毒性的情况下，在大鼠和/或兔中显示出明确的 TEFL 影响的数据的可用性，代表了所选择的阳性化合物的基本纳入标准。这包括（当可用时）观察到影响时的暴露与人类暴露的倍数比较。

可获得的试验种属中的药物动力学和毒代动力学数据是选择参考化合物的重要标准。因此，所使用的化合物在与所预测种属体内试验产生阴性或阳性结果的近似条件下，应具有非临床暴露数据（C_{max} 和/或 AUC）。虽然首选这些药物，

但也可以考虑其他化学品。 ICH 参考化合物清单目前不包括生物技术药物。该列表有利于对胎仔有直接影响的化合物；然而，已知少数依赖于细胞色素 P450 代谢活化而引起 TEFL。细胞毒性和/或遗传毒性化合物被有限纳入，因为它们预期通过先损伤后快速分裂细胞的固有特性来诱导 TEFL。

用于检测种属特异性差异的替代试验可以通过在单一种属中检测已知引起 TEFL 的参考化合物来评估；然而，在公共领域可获得的这种化合物的数量是有限的。

不引起 TEFL 的化合物（阴性化合物）也包括在 ICH 参考化合物列表中，以便评估试验特异性。这些化合物在所有体内试验的剂量下是阴性的，或者可以在更高的剂量/暴露下为阳性（观察到 TEFL），只要替代性试验可预测阴性至阳性结果。替代试验应该在体内试验产生阴性结果（无 TEFL）的条件下在某些外推倍数时预测阴性结果。

此外，ICH 参考化合物列表纳入了来自不同化学/药理学类别的化合物，其与阴性和阳性化合物重叠，以使得能够充分覆盖用于药物和多种化学结构和作用模式的替代试验。

对于试验鉴定目的来说，在导致阴性或阳性 TEFL 结果的动物中实现的暴露超过人类暴露并不重要。这与应用风险外推的试验结果相反，后者优选试验的最高剂量/暴露等于或高于 MRHD。

最后，在列表的生成中考虑了所选择的具有适当质量的化合物的商业可获得性。

11.3.2 试验实施因素

为了适合监管使用，应使用 ICH 参考化合物清单来表征替代试验。该清单并不详尽，所提供的建议是基于现有的信息和务实考虑。应至少检测 45 种化合物。其他化合物可以代替非核心化合物，但是根据上述的纳入因素，它们的用途应该证明其合理性。

化合物分为多种类别，涵盖广泛的生物和化学活性。所有类别均应进行检测（每个类别至少 2 或 3 种化合物）。所检测阳性与阴性化合物的比例应约为 2:1，因为鉴定阳性化合物很重要，但是这一比例还可以确保与可获得的有限化合物有

关的选择性。为了安全性评估的目的，对于某些使用情况，假阴性率可能比假阳性率更重要。

在试验中检测阳性信号的灵敏度应至少为 80%，具有选择性的证据（即真阳性和真阴性之间的区分）。

评估应确定适用范围和试验的任何限制，并包括准确性和随时间的重现性的评估。如果在多个实验室中使用一个特定试验，应建立实验室间的重现性和转移性。

单独试验或试验组合可用于预测 TEFL。应规定每个单独试验的性能特征以及组合的性能（如果使用）。各种统计方法可用于确定哪些评估组合将给出最佳的预测性。

11.3.3 提供给卫生管理部门的试验验证信息

为了使替代试验评估用于监管目的的风险评估，应提供以下信息。

应该详细说明预测模型是什么，试图采用何种种属进行预测（如大鼠，兔和/或人类的结果）以及其评估的何种生殖终点。预测模型可以由单个试验法或一组试验组合，以在各自的种属如大鼠预测终点（例如，TEFL）。如果使用试验组合，则应充分描述每一种试验方法。应该描述使用的特定终点（例如，基因特征、形态），以及如何进行评估，包括如何选择终点以及确定阳性和阴性结果的特异性因素。

还应该介绍用于确定试验观察结果的阳性和阴性结果的详细算法。预测模型应将替代试验中试验浓度与体内暴露相关联，这可导致所预测种属的不良结果。例如，与终点的阳性作用相关的浓度应考虑体内暴露如 C_{max} 或 AUC。这样可以将模型用于基于暴露的风险评估。应使用包括用于与体内结果相关的任何归一化因子的药代动力学参数（第 3.5.3 节）。

应提供用于鉴定试验性能的化合物列表。文件应包括用作训练集的化合物列表的明确标识（见术语）以开发试验，以及用作试验集的复合列表（见术语）以评估试验的性能。试验训练集可以包括申请人选择的化合物，不在 ICH 参考化合物列表中。不在 ICH 参考化合物列表中的其他化合物可用作培训集或试验集的一部分，但不能同时使用。ICH 参考化合物列表中不超过 15% 的化合物可用

于训练集。这允许从 ICH 参考化合物列表中获得足够数量的化合物作为试验集的一部分用于鉴定目的。保留来自 ICH 参考化合物列表中 $\geq 85\%$ 的化合物用于试验集，可以对试验的预测性进行足够强的评估。

训练集和试验集的性能应分别进行评估，并提供每项分析结果。性能摘要应列出敏感性、特异性、阳性预测值和阴性预测值。如果使用多个试验法，除了用于预测模型的综合评估之外，还应单独提供每个试验的性能。在模型中整合多种试验的情况下，应该说明如何进行单个试验的整合以达到综合预测模型。

作为试验验证和预测模型使用的一部分，试验可以和不能预测的化合物的类别（例如，适用范围的一个组成部分）应从 ICH 化合物参考表中包含的以下列表中定义（参见术语）：通道调节剂、DNA 修饰剂、酶调节剂、激素/类固醇、激酶调节剂、核苷调节剂/营养阻断剂/中枢代谢物抑制剂、受体调节剂、于寡核苷酸的调节剂、二级信使调节剂等。此外，还应评估在大鼠和/或兔体内未检测到的人类致畸物，以了解该试验是否可以检测到它们，即使试验用于预测大鼠或兔的结果。这些结果应单独提交，申请人应证明合理与否，以及如果合理，如何将它们纳入预测性评估。

应评估试验重现性，并且可以通过在每次试验中或穿插在试验化合物运行之间包含至少一个阳性对照和一个阴性对照。申请人应该证明加入阳性和阴性对照的方式的合理性。所提供的信息应描述用于证明分析重现性的方法。此外，应定期再评价 ICH 参考化合物清单中的几种化合物，并提供与化合物一起评估用于药物开发的数据。应提供试剂来源、生物材料和检测的化合物。同样，除了 ICH 参考化合物清单中的化合物外，还应提供验证数据集中化合物的所有体内暴露数据的来源/参考。试验技术应发展，同时需了解，期望用于注册监管的试验通常应遵循 GLP。

替代试验的申请人应说明以前是否将检测资质提交给任何卫生管理部门以支持生殖毒性评估，如果是，提交给哪个。

11.3.4 ICH 参考化合物清单

ICH 参考化合物清单（表 9-6）并不旨在涵盖特殊的方法以研究特异性药物靶点或结构相关类似物。对于特异性的药物和使用情况，应给出使用特定试验/

评估的理由（例如，申请人具有关于该类别中其他药物的体内信息）。表 9-7 提供了在 ICH 参考化合物列表中包含化合物进行验证替代试验的数据记录示例。

表 9-6 ICH 参考化合物用于验证替代试验

类别	阳性对照	阴性对照
通道调节剂	索他洛尔 (Sotalol) 阿莫兰特 (Almokalant) 地尔硫卓 托吡酯 三甲双酮 (Trimethadione) 苯妥英 (二苯乙内酰脲) (Phenytoin (Diphenylhydantoin)) 卡马西平	氢氯噻嗪 (Hydrochlorothiazide) 氯噻酮 (Chlorthalidone)
DNA 修饰剂	环磷酰胺 白消安 顺铂 噻替哌	
酶调节剂	阿司匹林 卡托普利 依那普利 (Enalapril) 甲基咪唑 (甲巯咪唑) (Methimazole (Thiamazole))	沙格列汀 (Saxagliptin) 维格列汀 (Vildagliptin)
激素/类固醇	地塞米松 氟替卡松	孕酮
激酶调节剂	阿法替尼 (Afatinib) Ceritinib Dabrafenib 达沙替尼 依罗替尼	

	帕唑帕尼 他克莫司 伊马替尼	
核苷调节剂/中枢 代谢物抑制剂	阿糖胞苷 5-氟尿嘧啶 羟基脲 甲氨蝶呤 利巴韦林 特立氟胺 华法林	
其他	青蒿琥酯/阿莫西喹 克拉霉素 多西环素 氟康唑 波沙利度胺 氯苯唑酸 (Tafamidis) 特拉万星 沙利度胺 丙戊酸	阿莫西林 克林霉素 环苯扎林 红霉素 柳氮磺胺吡啶
受体调节剂	波生坦 (Bosentan) 氯巴占 (Clobazam) 芬戈莫德 (Fingolimod) 普乐沙福 (Plerixafor) 舒马曲坦 (Sumatriptan)	西替利嗪 赛庚啶 Cyproheptadine 多西拉敏 Doxylamine 马拉韦罗 Maraviroc 甲氧氯普胺 尼扎替丁 Nizatidine
第二信使调节剂	茶碱	
转录调节剂	阿维 A (Acitretin) 异维 A 酸 (13-顺式-维甲酸) 维莫德吉 Vismodegib	

表 9-7 用于替代方法验证的参考化合物清单的数据记录示例

卡马西平 (Carbamazepine)

略

氟康唑 (FLUCONAZOLE)

略

5-氟尿嘧啶 (5-FLUOROURACIL)

略

托吡酯 (TOPIRAMATE)

略

沙格列汀 (SAXAGLIPTIN)

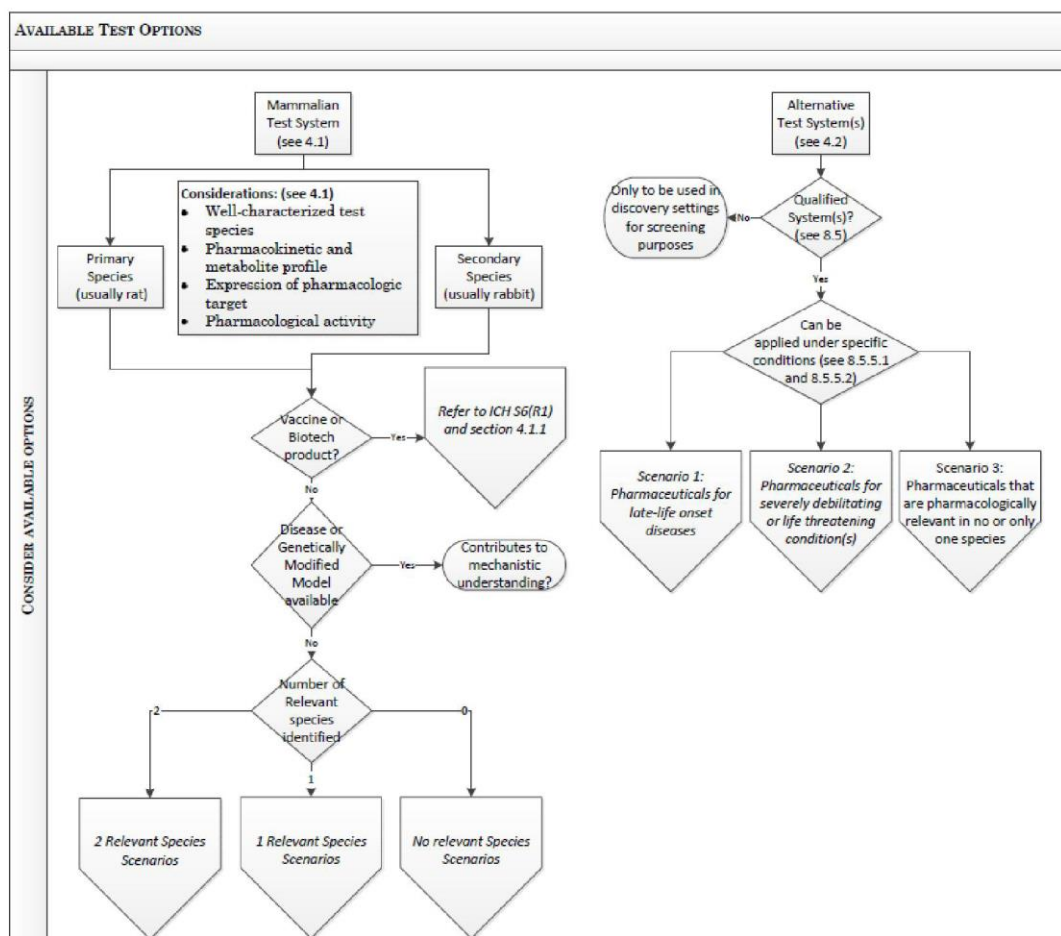
略

11.3.5 EFD 试验策略示例

本节介绍用于检测对 EFD 的不利影响的可选择的综合试验策略。使用特定策略需要证明其合理性。

在不同于以下 9.5.5.1 和 9.5.5.2 中描述的情况以及本指导原则中其他地方所提出的使用替代试验的情况下，替代试验中的阳性结果也可以减少哺乳动物体内试验。相反，在大多数这些其他情况下，替代试验的阴性结果将不会被期望减少体内试验。见图 9-1。

图 9-1 已有试验选择的总结 (Summary of Available Test Options)



11.3.5.1 当有至少 2 种相关哺乳动物种属时（种属选择）的适用情况

本节介绍可用于检测胚胎-胎仔发育的不良影响可选择的综合试验策略。使用特定的试验策略应证明其合理性。

a) 情况 1：晚期发病的疾病药物（图 9-2）

1. 当合格的替代分析法在一种种属（例如大鼠）中预测 TEFL 或结果为可疑时，应进行另一种属（例如兔）的 EFD 评估（例如，pEFD，增强的 pEFD）以评估多种属风险并评估体内发现。

a. 如果在体内试验（例如兔）中观察到 TEFL，则基于替代试验和体内结果，该药物将被认为在多种种属中诱导 TEFL。

b. 如果在体内试验中没有检测到 TEFL，则应在对应于替代试验的种属中进行确定性 EFD，以进一步评估 TEFL 在体内的潜力。如果在这个确定性体内 EFD 试

验中观察到 TEFL，则基于替代试验和相同种属的体内试验阳性结果，该药物将被认为在动物试验中是阳性的。不需要进一步的 EFD 试验，因为已经确定了危害，并且可以根据信息的整体性进行风险评估。如果在体内 EFD 试验中没有观察到 TEFL，则替代试验的结果代表假阳性，并且该药物将被认为不可能诱导 TEFL，只要在体内试验中实现足够的暴露（例如体内暴露超过人类暴露）。

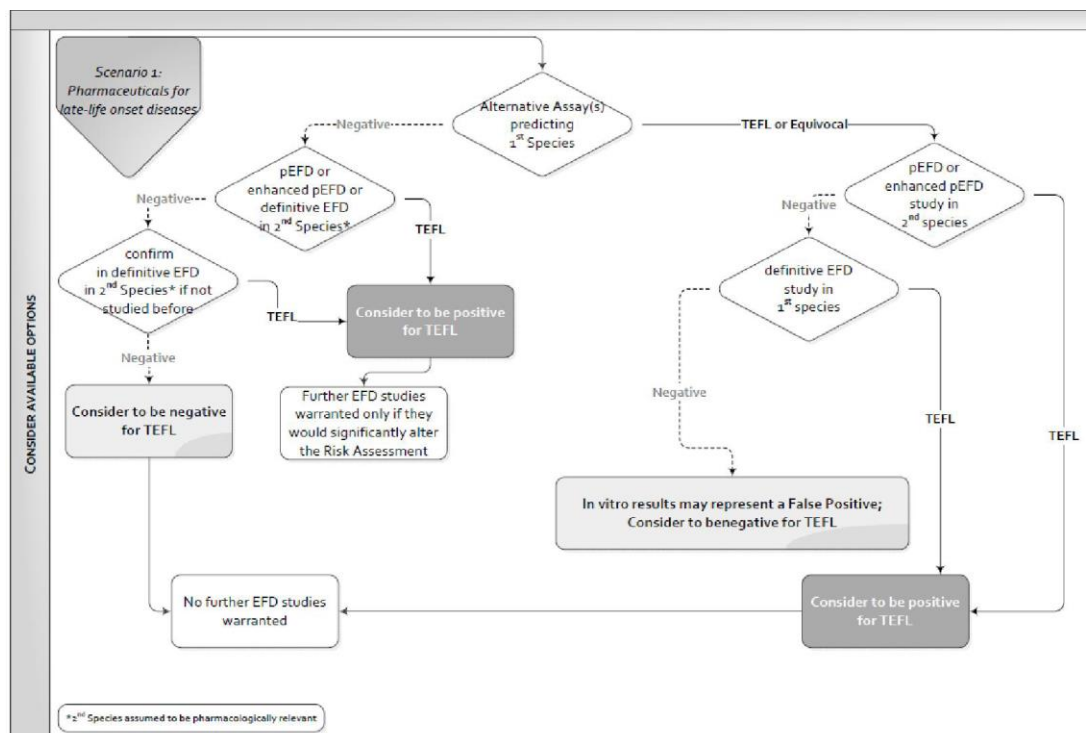
2.当一种种属的替代性试验（如大鼠）预测为阴性结果（即无 TEFL）时，应进行其他种属（如兔）中的 EFD 试验，以确定药物在体内对 TEFL 是否为阳性。

a.如果在第二个种属 EFD 试验中观察到 TEFL 结果，那么在动物中药物将被认为是阳性的。进一步的 EFD 试验只有在显著改变风险评估（例如，仅在临床暴露的高倍数下才是阳性结果，因此另一个种属可能在低暴露时表现出相关风险）时才需要。

b.如果在第二次种属的确定性 EFD 试验中没有检测到 TEFL，则该药物将被认为在动物试验（体外和体内）中不太可能诱导 TEFL，并且不需要进一步的 EFD 试验。

对于上述未进行大鼠 EFD 试验的情况，在大鼠生育力或围产期发育试验中提供了确认体外阳性结果的额外机会，其中体内暴露可进一步说明发育生殖风险。

图 9-2：情景 1 显示用于晚期发作疾病药物的 EFD 综合试验策略（Scenario 1 Showing the Integrated Testing Strategies for EFD for Pharmaceuticals for Late-life Onset Diseases）



b) 情景 2: 严重衰弱或危及生命的疾病药物 (图 9-3)

考虑到与较不严重的慢性疾病相比, 药物对于严重衰弱或危及生命的疾病的风险/益处, 使用证明合格的替代试验有助于且足以评估相关风险。

1. 当证明合格的替代试验法在一种种属 (如大鼠) 中预测 TEFL 或结果可疑 (或者如果确定了类别效应), 则不需要进行额外的试验 (流程图 2), 除非结果被怀疑为假阳性。

a. 如果申请人想要证明结果是假阳性, 则应在两种种属中进行确定性 EFD 试验, 以确认体内不存在 TEFL。

i. 如果两种种属体内没有观察到 TEFL, 且体外替代试验的结果为假阳性, 药物将被认为是体内试验阴性, 该信息将用于风险评估。

ii. 如果这些体内试验中的一个或多个具有 TEFL 阳性结果, 则药物将被认为是体内试验阳性, 该信息将纳入风险评估。

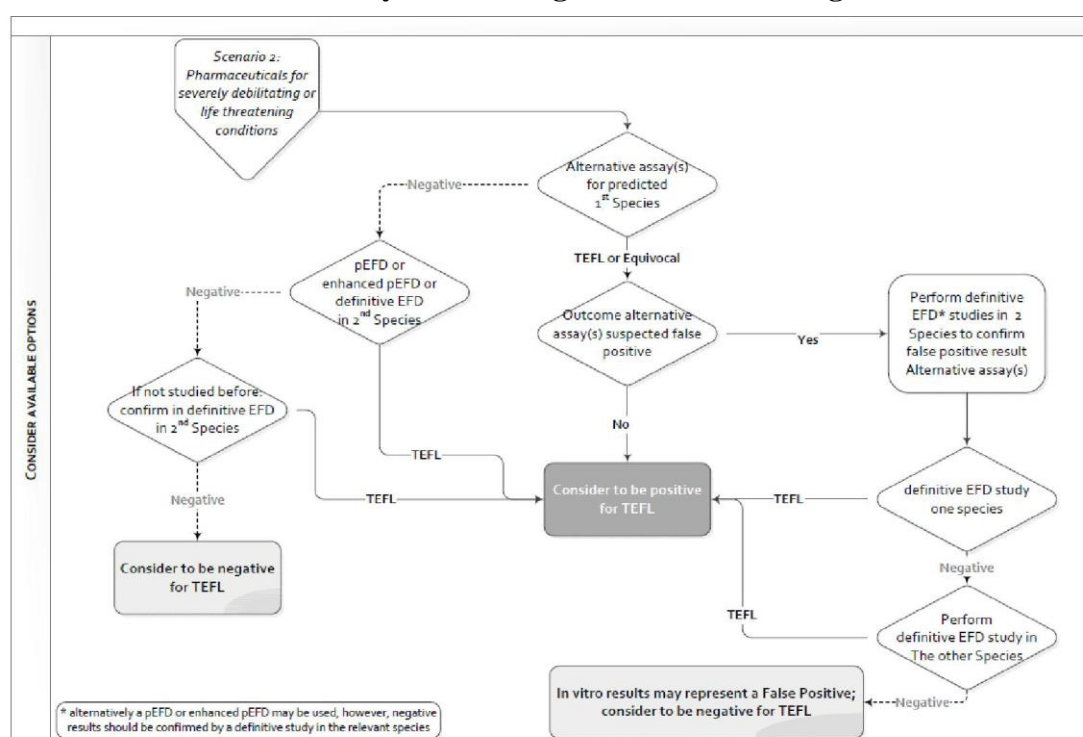
2. 如果替代性检测预测为阴性结果 (即无 TEFL), 应进行其他种属 (例如兔) 的 EFD 试验以确定该药物在体内是否为阳性。

a. 如果在第二个种属 EFD 试验中观察到 TEFL 结果, 那么药物将被认为是在动物

中阳性。进一步的 EFD 试验只有在显著改变风险评估（例如，仅在临床暴露的高倍数下为阳性，因此另一个种属可能在低暴露时可能表现出相关风险）才需要进行。

b.如果在第二次种属确定性 EFD 试验中没有观察到 TEFL，该药物将被认为在动物中是阴性，并且不需要进一步的 EFD 试验。

图 9-3: 情景 2 显示用于严重衰弱或威胁生命疾病的药物 EFD 的综合试验策略 (Scenario 2 Showing the Integrated Testing Strategies for EFD for Pharmaceuticals for Severely Debilitating or Life Threatening Diseases)



11.3.5.2 如果没有或只有 1 种相关的哺乳动物种属（种属选择）的适用情况

a) 情景 3: 仅在一种种属或无种属中具有药理活性的非高度靶向药物

如果有证据（例如，作用机制、转基因动物的表型数据、类别效应）会对妊娠结果产生不利影响，这些数据可以提供足够的信息来传递生殖风险，不需要非临床体内试验。其他指导原则（ICH S6（R1）（2）和 ICH S9（3））讨论了类似的方法。

如果缺乏证据，对 TEFL 效应不确定或阴性，则应进行一个种属的 EFD 试验。如果这项试验是 TEFL 阳性，观察发现发生在相关的暴露边缘和解释不会被母体毒性所混淆，不需要第二个种属的 EFD 试验。