

【安全性评价】

利用无创遥测技术开展伴随重复给药毒性试验的食蟹猴安全药理学研究

卢祺炯^{1#}, 吴常伟^{2#}, 徐 聪¹, 杨红忠¹, 杨正标¹, 徐志伟¹, 邓 军¹, 郑高利¹, 张立将^{1*}

1. 浙江省医学科学院安全性评价研究中心, 浙江 杭州 310053

2. 安徽智飞龙科马生物制药有限公司, 安徽 合肥 230088

摘要: 目的 应用食蟹猴重复给药毒性伴随安全药理学的实例, 探究利用无创遥测技术进行伴随于重复给药毒性试验的心血管、呼吸系统安全药理学的可行性。方法 重复给药毒性试验取食蟹猴40只(雌雄各半, 其中32只进行安全药理学研究), 分为4组, 即空白对照组、佐剂对照组和四价重组诺如病毒疫苗(毕赤酵母)低、高剂量组, 分别为不给任何受试物, 每次im佐剂对照品1 mL(2人份)/猴、四价重组诺如病毒疫苗(毕赤酵母)0.5 mL(1人份)/猴和1 mL(2人份)/猴, 每4周给药1次, 共给药4次。食蟹猴经穿脱马甲和猴椅固定的适应性训练后开始正式试验; 安全药理学试验数据的采集安排在首次与第3次给药时, 使用马甲式遥测系统采集给药后0~24 h的呼吸、心电、体温等相关参数, 并增加采集给药后0~2、5~6、23~24 h时间段的血压数据(将猴保定在猴椅上)。结果 单次及3次给予四价重组诺如病毒疫苗(毕赤酵母)低、高剂量以及佐剂对照品对食蟹猴呼吸、心电、血压、体温等各项指标均未见明显影响。部分时段的指标波动均属猴正常的应激(受束缚状态下)变化或昼夜生理节律性变化。结论 在本试验剂量条件下, 单次及多次im四价重组诺如病毒疫苗(毕赤酵母), 对食蟹猴呼吸系统、心血管系统均未见明显影响; 利用马甲式无创遥测系统结合重复给药毒性试验进行安全药理学研究(心血管、呼吸系统)具有良好的可行性, 符合动物福利3R原则, 尤其适合于重复给药后的安全药理学研究。

关键词: 重复给药毒性试验; 安全药理学; 无创遥测系统; 伴随试验; 食蟹猴; 四价重组诺如病毒疫苗(毕赤酵母); 心血管系统; 呼吸系统

中图分类号: R965.3 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2019)06-1120-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2019.06.012

Safety pharmacology study in cynomolgus monkeys combined with repeat-dose toxicity test using non-invasive telemetry technique

LU Qijiong¹, WU Changwei², XU Cong¹, YANG Hongzhong¹, YANG Zhengbiao¹, XU Zhiwei¹, DENG Jun¹, ZHENG Gaoli¹, ZHANG Lijiang¹

1. Center of Safety Evaluation, Zhejiang Academy of Medical Sciences, Hangzhou 310053, China

2. Anhui Zhifei Longcom Biopharmaceutical Co., Ltd, Hefei, 230088, China

Abstract: Objective The feasibility of the study of cardiovascular and respiratory safety pharmacology using non-invasive telemetry technology combined with repeated toxicity test was explored by the example of safety pharmacology study in cynomolgus monkeys. **Methods** As a case, this study observed the effects of quadrivalent recombinant norovirus vaccine (pichia pastoris), on the respiratory and cardiovascular systems in conscious cynomolgus monkeys combining with the repeat-dose toxicity test of quadrivalent recombinant norovirus vaccine (pichia pastoris). A total of 40 cynomolgus monkeys were used for repeat-dose toxicity test, 32 of them were subjected to safety pharmacology study. Animals were divided into four groups, namely blank control group, adjuvant control group, low dose group and high dose group of quadrivalent recombinant norovirus vaccine (pichia pastoris).

收稿日期: 2018-09-10

基金项目: 浙江省科技计划项目(2017F10001)

#第一作者: 卢祺炯, 助理研究员, 硕士, 研究方向为安全药理学研究。E-mail: luqijiong@163.com

吴常伟, 硕士, 研究方向为重组类疫苗的研发、生产。E-mail: wuchangwei@zhifeishengwu.com

*通信作者: 张立将, 博士, 副研究员, 主要从事药物毒理学研究和评价工作。E-mail: zhanglj127@163.com

Animals in blank control group did not administrate any article, and those in other three groups were intramuscularly injected with adjuvant 1 mL (2 human dose)/monkey, quadrivalent recombinant norovirus vaccine (pichia pastoris) 0.5 mL (1 human dose) / monkey, 1 mL (2 human dose) / monkey, once every 4 weeks, a total of 4 times for repeat-dose toxicity test. The cynomolgus monkeys began formal testing after the adaptive training of wearing the vest and fixed in the monkey chair. The data of safety pharmacology test were collected on the first and third administration, and the parameters of respiration, electrocardiogram, body temperature from 0 to 24 hours after administration were collected using the telemetry system, and the data of blood pressure in period of 0-2, 5-6, 23-24 hours after administration were collected for the monkey fixed on the monkey chair. **Results** The first and third administration of quadrivalent recombinant norovirus vaccine (pichia pastoris), in low or high dose, or adjuvant control all had no significant effect on the respiratory, electrocardiogram, blood pressure and body temperature in cynomolgus monkeys. The fluctuation of the few indexes in some periods was related to the normal stress in the state of restraint or the circadian rhythm of the monkey. **Conclusion** Under the conditions of this test, single or multiple intramuscular injections of preventive biologics quadrivalent recombinant norovirus vaccine (pichia pastoris) had no significant effect on the respiratory and cardiovascular system in cynomolgus monkeys. It is feasible to perform a safety pharmacology study combined with a repeat-dose toxicity test using a non-invasive telemetry system, which would be following animal welfare 3R principle, especially be suitable for safety pharmacology studies after multiple administration.

Key words: toxicity test of repeated administration; safety pharmacology; non-invasive telemetry system; combined study; cynomolgus monkey; quadrivalent recombinant norovirus vaccine (pichia pastoris); cardiovascular system; respiratory system

安全药理学研究是药物非临床安全性评价的重要组成部分,主要是研究药物在治疗范围内或治疗范围以上剂量时,潜在的不期望出现的对生理功能的不良影响,其核心组合试验主要观察药物对中枢神经系统、心血管系统和呼吸系统三大系统的影响,其中心血管、呼吸系统安全药理学试验通常使用非啮齿类动物(犬、猴等)^[1]。国家食品药品监督管理总局2014年发布的“药物安全药理学研究技术指导原则”以及ICH S7A “Safety Pharmacology Studies for Human Pharmaceuticals”,均建议体内安全药理学研究采用清醒动物^[2-3],故只有应用遥测技术才能获取清醒动物的各类生理信息,近年来国内外已有大量机构在使用植入式或马甲式的遥测设备进行安全药理学研究。在此前提下,遵循3R原则,应用遥测技术,伴随其他毒性试验在同一批动物个体上获取清醒动物的安全药理学核心数据(呼吸、心血管系统)的试验方法值得尝试与应用。但经查阅文献发现,完全伴随在重复给药毒性试验或其他毒性试验中进行安全药理学研究的试验方法鲜有报道,或仅见于部分会议报告/论文^[4-6]中。为了探索应用无创遥测技术进行完全伴随于重复给药毒性试验的安全药理学研究的可行性,本研究进行了食蟹猴重复给药毒性试验伴随安全药理学的实例研究,初步归纳总结了遵循GLP法规条件下,进行伴随重复给药毒性试验的结合型安全药理学研究工作的关注要点。该结合型研究方法应用简便,为新药研发阶段观察受试物可能出现的心血管、呼吸系统毒性提供可靠的评价手段,除了节省研究成

本、人力、遵循3R原则减少了动物使用数量、并满足安全药理学研究自身数据采集需要之外,还可以根据重复给药毒性试验的需求灵活增加受试动物心血管和呼吸系统的实时监控获取时间段,并对重复给药毒性试验的各类操作无明显干扰影响。基于伴随试验方法的各种优势,应用伴随方法进行安全药理学研究也成为国内外药物安全性评价研究的一种趋势(尤其非人灵长类动物研究)。本研究将为今后国内外具备无创遥测系统的机构开展类似研究提供良好参考案例。

1 材料

1.1 实验动物

食蟹猴,普通级,年龄3~5岁,体质量2.41~4.09 kg,40只,雌雄各半,由广西防城港常春生物技术有限公司提供,实验动物生产许可证号SCXK(桂)2013-0004。经训练筛选后选用其中的32只(雌雄各半),按照雄性奇数、雌性偶数的规则赋予动物编号。饲养于浙江省医学科学院安全性评价研究中心普通级猴饲养室中,温度20~24℃,相对湿度59%~64%,中央空调集中通风8~10次/h,光照12 h明、12 h暗,实验动物使用许可证SYXK(浙)2017-0010。喂饲猴全价颗粒营养饲料,城市饮用水经Laws-2000T实验动物饮用水处理器处理后供自由饮用。

1.2 供试品与佐剂对照品

四价重组诺如病毒疫苗(毕赤酵母)(代号ZJ007),规格0.5 mL/瓶;佐剂对照品:四价重组诺如病毒疫苗(毕赤酵母)佐剂,规格0.5 mL/瓶。供试品

及佐剂对照均为乳白色混悬液体,冷藏、避光、密封保存,由安徽智飞龙科马生物制药有限公司提供。

1.3 主要仪器

Emka Pack 4G 大动物生理信号遥测系统,法国 Emka 公司;TCS-15 电子秤,梅特勒-托利多公司。

2 试验方法

2.1 剂量设置与观察点的设定

本试验剂量设置与结合开展的重复给药毒性试验相同,即试验分为空白对照组、佐剂对照组、诺如病毒疫苗低、高剂量组,其中空白对照组不给任何受试物,其他3组分别每次im佐剂对照品1 mL(2人份)/猴、四价重组诺如病毒疫苗(毕赤酵母)0.5 mL(1人份)/猴、1 mL(2人份)/猴,每4周给药1次,共给药4次。每组共8只(雌雄各半)。

按照“药物安全药理学研究技术指导原则”的要求,安全药理学试验常规仅观察单次给药是否出现不期望反应即可,但考虑到四价重组诺如病毒疫苗(毕赤酵母)作为生物制品的特殊性,且免疫程序中需要重复给药,可能出现变态反应引起心血管系统的变化,本安全药理学试验的观察点除了首次给药之外,增加了1次重复给药后的观察节点,即设定观察点为伴随在重复给药毒性试验的首次与第3次给药时。

2.2 动物的训练与筛选

正式试验开始前,对40只食蟹猴进行穿着马甲的筛选与适应性训练,马甲穿着完成后猴椅固定1 h,穿着时间24 h,期间添加配重,保持与正式试验一致。训练结束后,综合猴训练期间抓捕、穿马甲、猴椅固定时的依从程度与自由活动时间段内撕咬马甲的行为综合判断,筛选出32只依从性高的猴用于安全药理学研究。

2.3 正式试验

使用EMKA PACK 4G遥测系统记录试验数据,记录给药前后II导联心电图、呼吸波形、无创血压、体温等遥测信号,用于后期数据分析。

试验数据记录期间猴穿着专用马甲并安装呼吸、心电、体温传感器,猴椅保定期间加装无创血压传感器。首次给药前,利用遥测系统在猴椅保定状态下,穿着猴专用马甲采集记录1 h的猴呼吸、血压、心电、体温等相关参数,作为猴受束缚状态下的正常值范围数据。

首次和第3次给药时进行正式试验数据采集记录,记录时间自给药前30 min至给药后24 h,因猴测

量无创血压必须保定在猴椅上在前肢位置进行测量,且考虑到生物制品常见的引起毒副反应的时间,设定每次试验的给药前30 min~给药后2 h、给药后5~6 h、给药后23~24 h作为猴保定状态下获取试验数据时间段,其余为猴自由活动状态下获取试验数据时间段。

2.4 检测指标

本试验主要按照“药物安全药理学研究技术指导原则”的要求,观察猴的呼吸与心血管系统指标,另外体温指标可间接反映动物个体生理变化的特征,用于基础值的判断,本试验选取的观察指标包含呼吸、血压、心电、体温等。

呼吸系统:潮气量(TV)、分钟通气量(MV)、呼吸频率(R-freq)。

心血管系统:RR间期(RR)、心率(HR)、PR间期(PR)、P波时间(Pdur)、QRS时程(QRS)、R波幅度(Ramp)、ST段水平(STlevel)、ST波终点幅度(STe)、QT间期(QT)、校正QT间期(QTcB、QTcF)、平均压、收缩压(SP)、舒张压(DP)。

其他指标:体温(T)。

2.5 数据分析与统计

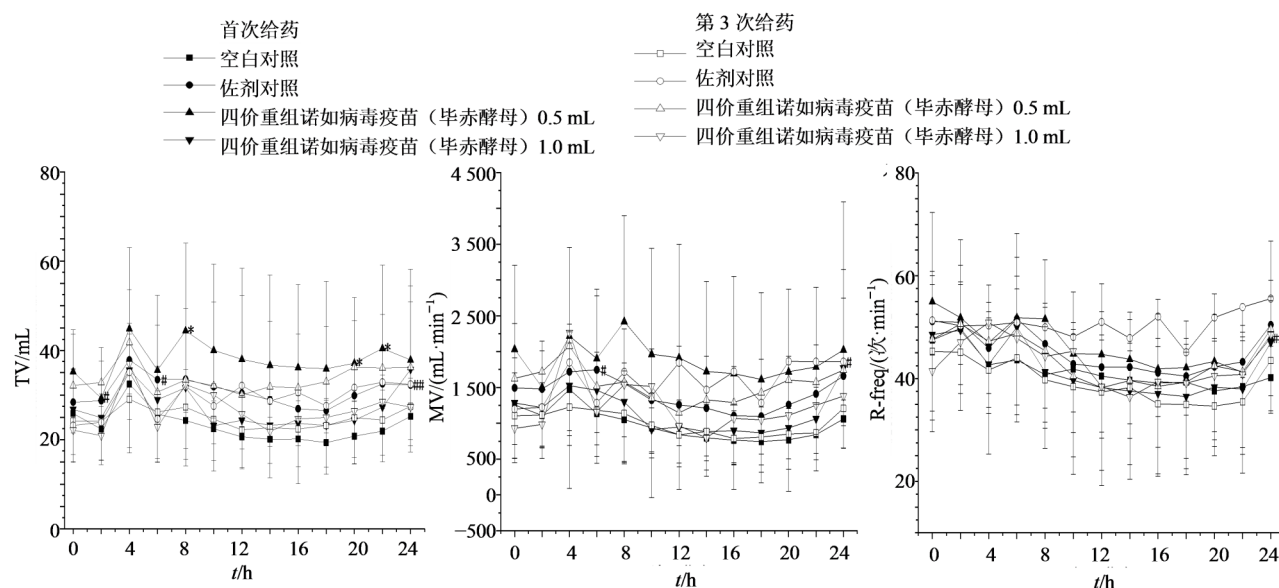
使用遥测系统配套的EcgAuto软件对获取数据进行后期分析,分别取0时,给药后偶数时间段取样分析,共计13个时间段。使用SPSS软件对各项数据进行统计分析,选用单因素方差分析(One-Way ANOVA)进行组间总体差异的显著性分析,采用Dunnett's t检验或Dunnett's T3检验比较两两组间差异;选用配对样本t检验对猴保定状态下2、6、24 h时间段数据与当次给药0时进行给药前后比较。

3 结果

3.1 呼吸系统

如图1所示,给药后各时间段的呼吸指标均与相应时间段的空白对照组相似,除低剂量首次给药时个别时间段TV指标出现偏高波动($P<0.05$)外,其他均无统计学差异;此类变化应与抓捕保定时猴引起的应激反应有关,无毒理学意义。结果表明,单次及3次经im给予食蟹猴佐剂对照和四价重组诺如病毒疫苗(毕赤酵母)低、高剂量,对食蟹猴的TV、MV、R-freq呼吸系统指标均未见明显影响。

各组动物在首次及第3次给药后均有个别时间段呼吸数据与当次给药0时配对比较有统计学差异($P<0.05$ 、 0.01),鉴于这些变化趋势无剂量相关性而有一定的时间相关性(抓捕保定期间上升,且



与同期空白对照组比较: * $P < 0.05$; 与同期0时比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$

* $P < 0.05$ vs blank control group at same time; # $P < 0.05$ ## $P < 0.05$ vs 0:00 in the same period

图1 im四价重组诺如病毒疫苗(毕赤酵母)对食蟹猴呼吸指标的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

Fig. 1 Effect of quadrivalent recombinant norovirus vaccine (pichia pastoris) on respiratory indexes of cynomolgus monkeys by im injection ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

夜间呼吸少/弱于白昼),故认为属猴呼吸系统正常的应激与昼夜生理变化。

3.2 心血管系统

3.2.1 心电 如图2所示,试验期间各时间段各项心电指标与相应时间段的空白对照组基本相似,除个别时间段个别指标波动外($P < 0.05$),其他各时间段各指标均无统计学差异。上述个别波动指标均未显示连续的、变化方向一致的、呈现剂量关系的明显变化,且均属食蟹猴正常值范围内,故考虑为无毒理学意义的个体波动或属猴正常的日间生理波动变化。结果表明,食蟹猴单次及3次im佐剂对照、四价重组诺如病毒疫苗(毕赤酵母)低、高剂量,对猴的RR间期、心率、PR间期、P波时间、QRS时程、R波幅度、ST段水平、ST波终点幅度、QT间期、校正QT间期(QTcB、QTcF)等心电指标均未见明显影响。

3.2.2 血压、体温 如图3所示,首次及第3次给药的平均压、SP、DP、T,除个别时间段显示组间差异或给药前后差异外($P < 0.05$ 、 0.01),在试验期间的各时间段均值与相应时间段的空白对照组基本相似,与当次给药0时也基本相似。上述个别波动的血压指标未显示与剂量相关的变化,可能与食蟹猴被固定在猴椅上的应激有关;T个别时间段的波动可能与猴多次保定操作应激或日间生理波动有关。食蟹猴单次及3次im佐剂对照、四价重组诺如病毒

疫苗(毕赤酵母)低、高剂量,对猴的血压与体温未见明显影响。

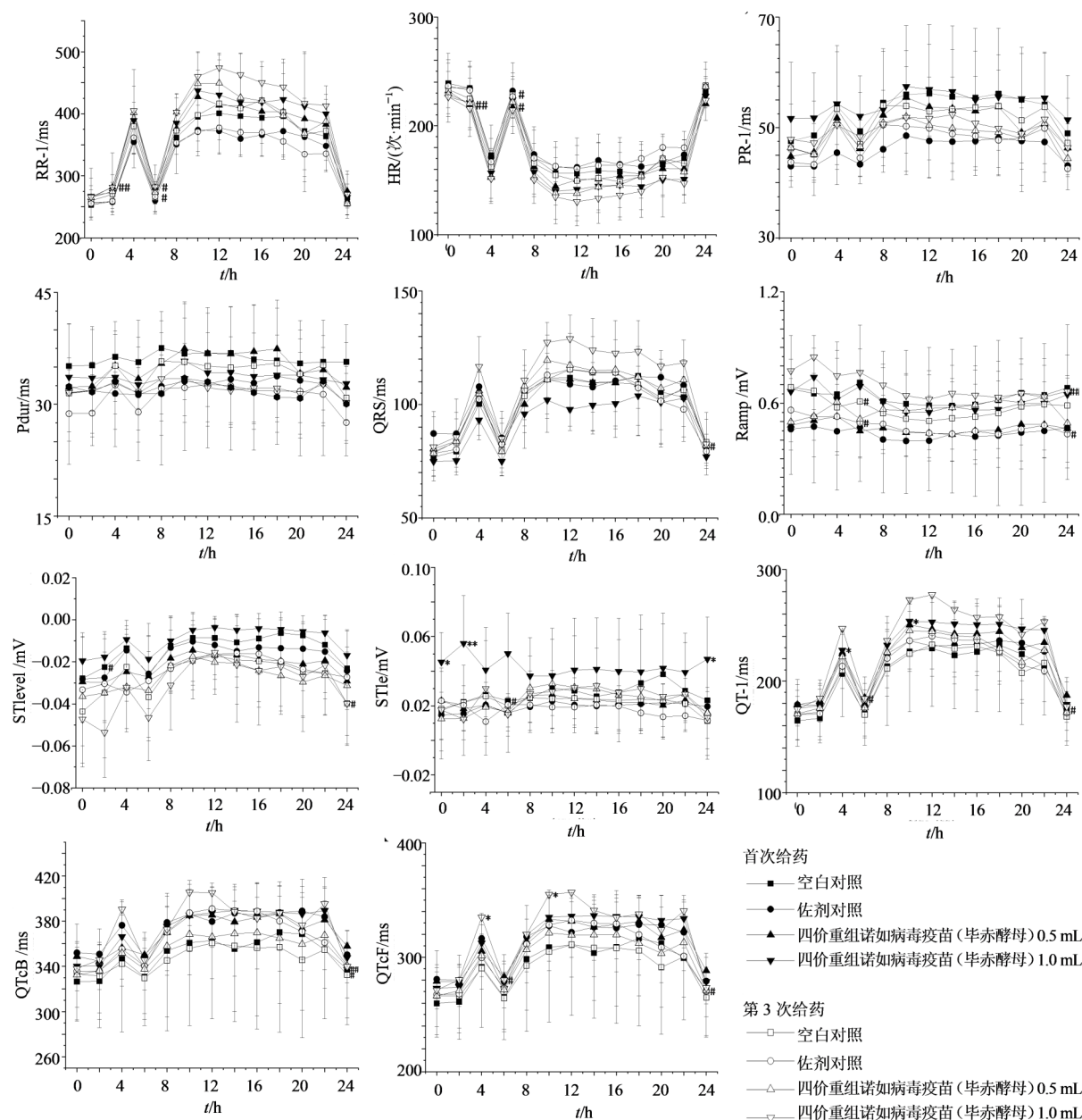
4 讨论

4.1 伴随性安全药理学试验数据采集周期设置思路的探讨

本机构使用的马甲式无创遥测系统最多只能同时记录12只动物的数据,受此条件限制,每次给药期间无法在24 h内完成全部数据采集,所以在首次与第3次给药时,重复给药毒性试验与伴随进行的安全药理学的给药与数据采集,均分3 d依次进行。试验结果及研究开展情况显示,食蟹猴对马甲具有良好的适应能力,穿戴方便,试验期间未观察到任何创伤,除在安全药理学数据采集时需分3 d给药、动物保定时可能产生短暂的应激外,对重复给药毒性试验无明显干扰影响。

4.2 利用无创遥测技术开展伴随安全药理学的可行性探讨

用于安全药理学的生理信号遥测系统主要分为植入式和马甲式2种^[6]。植入式遥测系统需要通过手术将信号采集植入子埋植到动物体内进行指标监测;而马甲式遥测系统则通过对动物穿戴载有不同监测传感器探头的马甲来进行指标监测,其无手术创伤,实现真正的“无创”,仅需对动物进行一定的适应性训练即可对清醒动物的心血管、呼吸、体温等生理指标进行动态测定,因此马甲式无



与同期空白对照组比较: * $P < 0.05$; 与同期0时比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$

* $P < 0.05$ vs blank control group at same time; # $P < 0.05$ ## $P < 0.05$ vs 0:00 in the same period

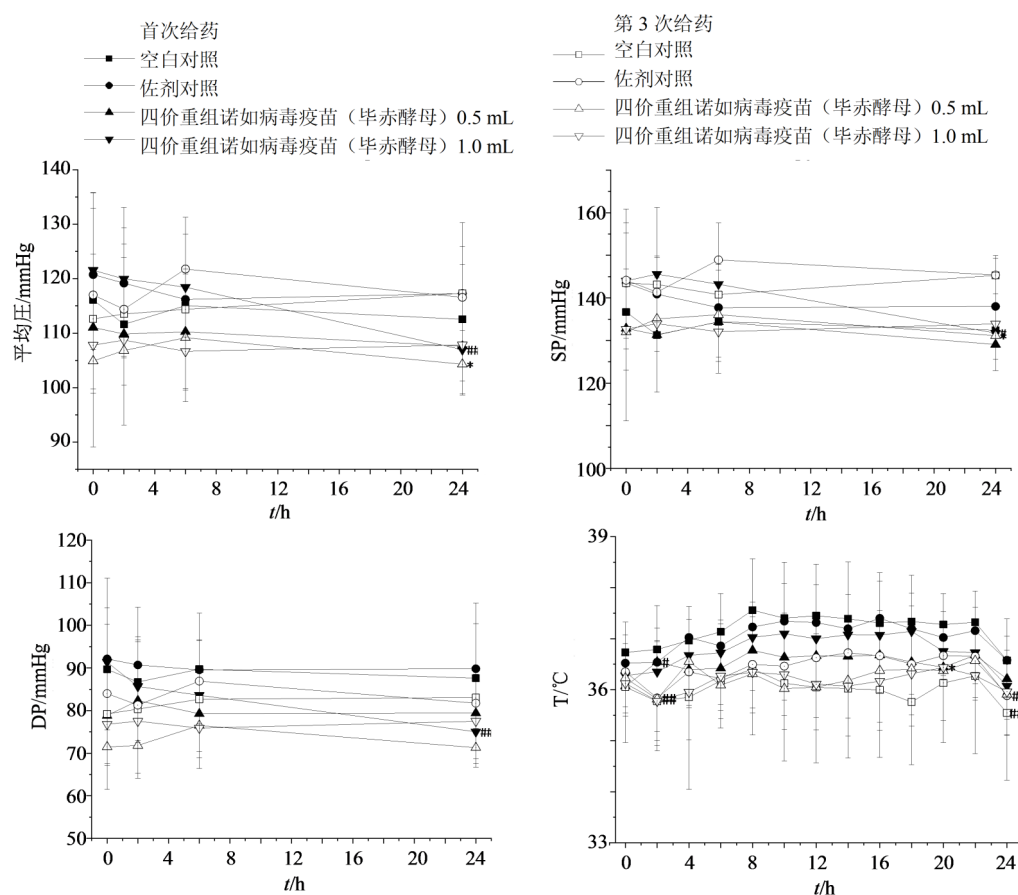
图2 im四价重组诺如病毒疫苗(毕赤酵母)对食蟹猴心电图指标的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

Fig. 2 Effect of quadrivalent recombinant norovirus vaccine (pichia pastoris) on ECG index of cynomolgus monkeys by im injection ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

创遥测系统使得伴随重复给药毒性试验开展安全药理学研究成为现实可能。

应用无创遥测技术将安全药理学研究结合在重复给药毒性试验中进行的方法,可在剂量设置与重复给药毒性试验差别不大,并且高剂量预计不会出现濒死或者死亡等毒副反应时应用,遵循了3R原则,减少了实验动物的使用。在实验条件适合时,还可以观察重复给药后可能对实验动物的心血管、呼吸系统影响,拓展了安全药理学试验的观察范

围,为重复给药毒性试验提供可靠的、具备前瞻性的重点观察指标的提示。现有结合在重复给药毒性试验中开展安全药理学研究常见的方法主要有2类:①在重复给药毒性试验进行之前,使用同一批实验动物进行安全药理学试验,待供试品完全洗脱后,再用于重复给药毒性试验,该方法作者认为适用于毒性轻微、代谢与洗脱速度快、给药操作便捷的供试品,并非真正的“伴随”试验,而可以理解为共用动物;②即在重复给药毒性试验首次给药和/或



与同期空白对照组比较: * $P < 0.05$; 与同期0时比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$

* $P < 0.05$ vs blank control group at same time; # $P < 0.05$ ## $P < 0.05$ vs 0:00 in the same period

图3 肌肉注射四价重组诺如病毒疫苗(毕赤酵母)对食蟹猴血压、体温指标的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

Fig. 3 Effect of quadrivalent recombinant norovirus vaccine (pichia pastoris) on blood pressure index & temperature of cynomolgus monkeys by im injection ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

多次给药时伴随进行安全药理学试验,该方法则适用于生物制品、高剂量单次给药后即显示明显毒性、代谢洗脱时间较长的供试品,这是真正的“伴随”试验。

本研究开展的四价重组诺如病毒疫苗(毕赤酵母)安全药理学试验的供试品属于预防用生物制品,重复给药毒性试验方案中给药的间隔时间为1个月,且安全药理学剂量设计与重复给药毒性试验一致。综合考虑,选择了上述第2类方法,利用马甲式无创遥测系统进行伴随在重复给药毒性试验中的安全药理学研究。本研究结果及开展情况表明,此类伴随试验可行性较好,可节省研究成本、人力,节省实验动物(尤其非人灵长类动物),符合动物福利和3R原则的要求,而且为重复给药后的安全药理学研究提供了良好的实现途径,并可以根据重复给药毒性试验的需求灵活增加受试动物心血管和呼吸系统的监控获取时间段。

基于无创遥测系统使用的便捷性,其他类型的药物非临床安全性评价研究(如单次给药毒性试验)有观察心血管、呼吸系统需求的,特别是需要不间断动态监测的,可以使用同样的研究方法伴随进行,以获得详实可靠的试验数据。

但此类伴随安全药理学研究也存在着一定的缺点:①对大部分安评机构来说,很难配齐可以一次性同时采集各组动物数据的马甲式无创遥测系统,受设备数量限制,一般每次给药需分2~3 d进行,所以开展此类伴随试验时重复给药毒性试验的日程安排往往要合理分批进行。而对于给药间隔较长(如本文中的每4周给药1次)的药物,全部动物完成给药操作出现的1~2 d的给药时间差可以忽略不计。②猴安全药理学研究一般每次至少需要采集24 h的数据且有时间段需要将动物在猴椅上保定,这对动物会产生一定的应激影响。但考虑到保定时间较短(每次1~2 h),这种一过性的应激

反应对重复给药毒性试验的结果影响相对较小,且对于心血管、呼吸系统的影响可以通过平行处理的对照组波动情况进行鉴别分析。从本试验结果看,第3次给药时的应激影响少于首次给药,这提示,在给药前可以进行更充分的穿马甲以及猴椅保定训练,以尽可能地减少人为操作对动物的应激影响。

4.3 无创遥测系统观察食蟹猴呼吸、心血管系统指标

药物安全药理学研究核心组合试验主要观察药物对中枢神经系统、呼吸系统、心血管系统3大重要系统的影响,其中呼吸、心血管系统一般采用非啮齿类动物(犬、猴等)。呼吸系统方面,需要测定给药前后动物的各种呼吸功能指标的变化,如R-freq、TV、呼吸深度等。心血管系统方面,需观察给药前后血压(包括SP、DP和平均压等)、心电图和HR等的变化。这些指标均建议采用清醒动物进行测定(如遥测技术等),需要动态观察,并提供全面指标^[1-3]。本研究利用马甲式无创遥测技术全面系统地测定了清醒食蟹猴单次及多次给药0~24 h的动态心电、血压、心率、体温、呼吸等指标。

Authiera等^[7]报道,食蟹猴的TV基线值为12 mL/kg,按食蟹猴体质量范围一般3~5 kg计算,TV的分布范围应在36~60 mL。但本试验中,空白对照组的猴第1次给药TV为19.3~32.4 mL,第3次给药为22.2~29.0 mL,均低于该报道的范围,所以作者在进行呼吸指标的结果评价时,重点作组间、给药前后比较,以及与本试验给药前建立的基线数据范围比较。在本研究中各组(包括空白对照组)均有出现给药后不同时间段的个别呼吸系统数据与当次给药0时比较有统计学差异,鉴于变化趋势无剂量相关性而有一定的时间相关性,考虑属猴正常的昼夜生理波动变化,总体上呈现夜间呼吸少/弱于白昼的规律。这与本实验室先前植入式遥测系统猴安全药理学研究^[8]结果基本一致,其利用植入式遥测技术观察到恒河猴呼吸、血压、心电、体温等生理指标基本均有明显的昼夜节律变化,白昼高于夜晚。

Moscardo等^[9]报道,对食蟹猴的功能观察组合会导致对心血管系统的影响,该影响应属应激反应。本试验中0~2 h、给药后6、24 h时间段均有抓捕和保定等试验操作,此时段的心血管与呼吸系统有一定的应激变化,虽操作的性质及影响时间不同,但总体上看,本文食蟹猴的应激后心血管指标反应表现基本与文献报告一致。

Ando等^[10]报道,空白对照组的食蟹猴在24 h的试验周期内的HR范围为107~138次/min,QT间期为196.8~271.4 ms,QTcB为314.3~354.1 ms;但齐卫红等^[11]报道的雌雄食蟹猴猴椅保定状态下的心率分别为(249±22)与(252±20)次/min,QT间期分别为(150±14)与(145±14) ms。本试验中,空白对照组第1次给药HR为155.6~239.0次/min,第3次给药HR为148.7~237.1次/min,全部受试猴24 h心率为130.3~239.0次/min,全部受试猴无干扰时间段(8~22 h)心率为130.3~180.0次/min;空白对照组第1次给药QT间期为164.5~232.3 ms,第3次给药为168.1~232.5 ms,全部受试猴24 h QT间期为164.5~277.3 ms,全部受试猴无干扰时间段(8~22 h)QT间期为207.5~277.3 ms;空白对照组第1次给药QTcB为326.6~370.2 ms,第3次给药QTcB为329.8~360.6 ms,全部受试猴24 h QTcB为326.6~405.5 ms,全部受试猴无干扰时间段(8~22 h)QTcB为345.3~405.5 ms。从以上数据可见,本试验使用的食蟹猴HR的波动范围符合文献报道值,QTcB分布范围偏高于文献报道值但其上下限提高的幅度接近。QT间期在安全药理学试验中属重点关注的电心指标^[12],本试验中的QT间期上限与Ando^[10]报道相似,但下限略高于齐卫红^[11]报道值,作者认为是由于猴在应激阶段的HR整体偏高,心搏周期缩短,导致应激时间段内QT间期整体偏短引起的。

综上所述,在本试验剂量条件下,单次及多次im给予预防用生物制品四价重组诺如病毒疫苗(毕赤酵母),对食蟹猴呼吸系统、心血管系统均未见明显影响。本实例研究表明,利用马甲式无创遥测系统结合重复给药毒性试验进行伴随性的安全药理学(心血管、呼吸系统)研究具有良好的可行性,该结合型研究方法应用简便,为新药研发阶段观察受试物可能出现的心血管、呼吸系统毒性提供可靠的评价手段,除了节省研究成本、人力,遵循3R原则减少了动物使用量,并满足安全药理学研究自身数据采集需要之外,还可以根据重复给药毒性试验的需求灵活增加受试动物心血管和呼吸系统的数据监控获取时间段,并对重复给药毒性试验无明显干扰影响。本研究将为今后国内外具备无创遥测系统的机构开展类似研究提供了很好的科学依据与经验参考。

参考文献

- [1] 黄芳华. 中药新药安全药理学研究关注要点[J]. 中南药学, 2015, 13(9): 901-904.

- [2] 药物安全药理学研究技术指导原则 [S]. 2014.
- [3] ICH. ICH Harmonised Tripartite Guideline S7A: Safety Pharmacology Studies for Human Pharmaceuticals [EB/OL]. (2000-11)[2018-09-01]. <http://www.ich.org>.
- [4] 岑小波. 重复给药毒性试验伴随安全药理学研究 [A]// 第二届(2016年)中国安全药理学学术年会暨第五届安全药理学国际学术研讨会论文集 [C]. 济南: 2016.
- [5] 李 凯, 朱星熠, 张雪峰, 等. DT1437对清醒食蟹猴心血管系统和呼吸系统的影响 [A]. 中国药理学会安全药理学专业委员会成立大会暨第四届安全药理学国际学术研讨会论文集 [C]. 成都: 2015.
- [6] 黄远铿, 杨 威, 肖百全, 等. 浅谈利用马甲式实验动物生理遥测设备结合重复给药毒性试验 [A]. 2016年第六届全国药物毒理学会年论文集 [C]. 重庆: 2016.
- [7] Authier S, Legaspi M, Breault C, et al. Respiratory safety pharmacology: Comparison of conscious beagle dogs and cynomolgus monkey models [J]. J Pharmacol Toxicol Meth, 2008, 58(2): 157.
- [8] 卢祺炯, 陈敏华, 徐 聪, 等. 应用植入遥测技术对恒河猴部分生理指标的观测 [J]. 中国比较医学杂志, 2018, 28(1): 100-107.
- [9] Moscardo E, McPhie G, Fasdelli N, et al. An integrated cardiovascular and neurobehavioural functional assessment in the conscious telemetered cynomolgus monkey [J]. J Pharmacol Toxicol Methods, 2010, 62(2): 95-106.
- [10] Ando K, Hombo T, Kanno A, et al. QT product: *in vivo* QT assay with a conscious monkey for assessment of the potential for drug-induced QT interval prolongation [J]. J Pharmacol Sci, 2005, 99(5): 487-500.
- [11] 齐卫红, 李 伟, 李 欣, 等. 食蟹猴心电图研究 [J]. 中国药事, 2012, 26(5): 449-452.
- [12] ICH. ICH Harmonised Tripartite Guideline S7B: The Non - Clinical Evaluation of the Potential for Delayed Ventricular Repolarization (QT Interval Prolongation) by Human Pharmaceuticals [EB/OL]. (2005-05)[2018-09-01]. <http://www.ich.org>.

.....

(上接第1091页)

- [6] 周 杰, 商雪莹, 佟 玲, 等. 西黄丸 HPLC-ELSD 指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2017, 48(11): 2219-2224.
- [7] 马 杰, 王一尧, 杨 伟, 等. 西黄丸抗肿瘤作用及其免疫清除功能的实验研究 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(8): 1499-1501.
- [8] 金 娟, 李志鸿. 西黄丸联合化疗治疗乳腺癌 30 例 [J]. 中华中医药杂志, 2010, 25(5): 715-716.
- [9] 吴 超. 西黄丸抗肿瘤活性组分筛选及与西黄滴丸药效学和化学成分的比较研究 [D]. 济南: 山东中医药大学, 2014.
- [10] 马 杰, 杨 伟, 关 硕, 等. 西黄丸乙醇提取物抗肿瘤作用及其免疫学机制实验研究 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2014, 16(4): 43-45.
- [11] 王海燕, 田 菲. 西黄丸联合介入化疗治疗中晚期恶性肿瘤 26 例近期疗效观察 [J]. 云南中医中药杂志, 2012, 33(3): 27-28.
- [12] 沈雁鸣. 西黄丸联合西医治疗乳腺癌随机平行对照研究 [J]. 实用中医内科杂志, 2014, 28(3): 127-128.
- [13] Zimmer A, Gespach C. Bile acids and derivatives, their nuclear receptors FXR, PXR and ligands: role in health and disease and their therapeutic potential [J]. Anticancer Agents Med Chem, 2008, 8(5): 540-563.
- [14] Swales K E, Korbonits M, Carpenter R, et al. The farnesoid X receptor is expressed in breast cancer and regulates apoptosis and aromatase expression [J]. Cancer Res, 2006, 66(20): 10120-10126.