

新药生殖毒性试验规范性操作介绍

刘雁, 吴纯启, 施畅, 廖明阳*

军事医学科学院毒物药物研究所, 北京 100850

摘要 生殖毒性试验是毒理学试验中较为复杂和繁琐、技术要求较高的试验。现从实验技术人员资质要求、试验前准备、试验期观察、试验记录、供试品、对照品的配制和给予、亲本动物的剖杀和检查、与专题负责人沟通确认等方面介绍作为技术人员如何做好安全性评价中的生殖毒性试验工作。

关键词 新药; 生殖毒性试验工作; 规范性操作

中图分类号: R965.3 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2010)01-0019-03

Introduction to some good practices in reproductive toxicity tests of new drugs

LIU Yan, WU Chun-qi, SHI Chang, LIAO Ming-yang*

Institute of Toxicology and Pharmacology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China

Abstract The importance and characteristics for the toxicity evaluation to reproduction and the developing fetus during the development of new medicines require a battery of the more complicated, elaborate and the higher technical tests than other toxicological studies. This article reviewed that step by step, attentions could be paid that concerns with the reproductive toxicity test in respects of the requirements of the technician's genius, the preparations for the test, the observation of experimental stage, the records of the experiment, the dispensing and administer, the dissection and checking of the parent animals, and the communication with SD, many of which can play a vital role for the success of the reproductive and developmental study.

Key words new drugs; reproductive toxicity tests; some good practices

生殖过程的复杂性以及生殖毒性表现形式的多样性、延续性和表达的滞后性使得生殖毒性试验成为整体动物毒理学试验中较为复杂和繁琐、技术要求较高的试验^[1]。如何才能做好生殖毒性试验工作,尤其是非临床安全性研究中的生殖毒性试验工作呢?本人从实验技术角度浅谈初步体会。

1 实验技术人员资质要求

工作人员的业务素质、思想素质、科学作风的培养,是正确贯彻药品非临床研究质量管理规范(GLP)和实验室建设的首要任务。生殖毒性试验要求实验技术人员训练有素。实验技术人员除须掌握常规动物给药技术外,还应具备动物同笼、阴栓检查、剖宫产、内脏器官检查乃至胎仔检查等多项实

验技能,且具有严谨的科研作风。

2 试验前准备

2.1 实验技术人员应熟练掌握相关标准操作规程(SOP),并熟读专题负责人(SD)下发的试验方案,做到心中有数。

2.2 进行动物房间、实验动物的预订和请领。

2.3 预约病理检查时间。

2.4 准备试验器材。

2.5 查阅受试药品相关毒性资料,并与做过该受试药品其他毒性试验的同行沟通,了解该受试药品给药后会出现何体征,以指导自己在给药后能准确地做好笼旁观察。

2.6 生殖毒性试验观测指标繁多,表格较多,如最

收稿日期: 2009-10-25

作者简介: 刘雁(1978—),女,四川人,助理实验师,硕士研究生,主要从事药物安全性评价研究工作。联系电话:(010)66930744。E-mail: lysjbsyy@sina.com

* 通讯作者 廖明阳,博士生导师,主要从事药物毒理学与药物安全性评价。E-mail: liaominy@yahoo.com.cn

简单的Ⅱ段研究就有 21 个图表,包括 F0 及 F1 代在 内的Ⅲ段研究的图达到 89 个^[2]。实验人员应提前 准备各种记录表格,以备试验过程中及时、准确记 录。

3 试验期观察

在试验中关爱动物,照顾好接受试验的动物是 实验者应尽的责任。动物实验中实验动物应在愉悦 的环境中接受人们给予的刺激,不能让动物在恐惧、 紧张、害怕等的状态下接受试验,以保证试验结果 的科学性^[3]。

3.1 准确记录同笼开始日期和交配动物号

生殖毒性试验一般要求大鼠交配期为 2 周,因 此只有准确记录交配开始日期,才能得到准确的交 配成功率。

3.2 阴栓检查注意事项

3.2.1 大鼠阴栓检查一般于交配次晨实施,通常大 鼠阴栓在交配后 2~8 h 自行脱落,所以在阴道内不 易查见阴栓,应仔细检查笼底盘内有无脱落的阴栓。

3.2.2 值得注意的是,阴栓有时易与饲料渣混淆, 应仔细辨认。阴栓常为接近透明的白色,若是交配 后不久脱落的,还会带血。

3.2.3 查出阴栓后应及时、准确地做好记录,阴栓 查出日期直接决定了亲本动物的剖杀日期,因此必 须确保检查无误。

3.3 在动物的交配期、人工授精、妊娠、分娩、授 乳时,试验人员接触动物时应谨慎小心、轻轻触摸。

3.4 噪声或照明过程不当,可能影响动情周期等生 殖过程。

3.5 笼养和垫料对母体的繁殖、分娩和授乳异常重 要,试验人员在筑窝期应仔细检查垫料或窝盒,以 防丢失幼仔^[4]。

3.6 在进行母鼠分娩观察的检查时,试验人员应在 工作时间段持续观察动物分娩情况,并做好详尽、 准确的记录,注意产前体征和分娩并发症。

3.7 在进行窝别观察和分拣过程的检查时,实验人 员应确认每次仅观察 1 窝动物,避免各窝间胎仔的 混乱;确定胎仔出生日记录的完整性;在需要分拣 胎仔时,确定胎仔分拣的日期及对象是否正确。

3.8 在进行胎仔行为评价的检查时,应确保观察室 内所有人保持绝对安静,否则会影响实验结果。

4 试验记录

真实、完整的试验记录是确保结论的客观性、

准确性的前提^[5]。生殖毒性试验通常会因母体交配 和分娩时间的异步性产生与实验动物编号、检测时 间确定和所测指标合理分配安排等一系列问题,在 整个试验过程中都应完整、准确、及时、系统地做 好试验记录,防止漏记和随意涂改。

5 供试品、对照品的配制和给予

供试品、对照品都常规存放在固定的供试品保 管室内,并有专人负责保管,所以实验技术人员所 应注意的就是它们的配制与给予。

5.1 药品配制

不同的供试品、对照品有不同的配制方法,配 制前应熟悉委托方提供的基础资料,包括其批号、 纯度、规格、理化性质等,再结合 SD 提供的试验方 案进行配制,并做好自身防护。

5.2 药品给予

生殖毒性试验具有某些特殊性,如:因母体的 体重变化快而需要频繁地调整给药量等,因此要求 实验技术人员在药品给予方面特别注意:

5.2.1 因为动物交配时间不一,各组动物通常交错 给药,剖杀或分娩的日期也不一致,所以必须确保 全部动物的给药开始时间正确。

5.2.2 因为妊娠状态使母体的体重波动较大,所以 必须按给药 2~3 d 前所称量的体重计算确认给药 量。

5.2.3 在给药过程中,须确保未过度挤压已受孕的 动物。

5.2.4 确认在母体的分娩日,终止当日的给药。

5.2.5 在给药过程中,必须注意做好自身防护。

6 亲本动物的剖杀和检查

生殖毒性试验中亲本动物的剖杀和检查与其他 毒性试验不同,实验技术人员需要特别注意以下几 点:

6.1 雌性动物的剖宫产与胎仔的摘除

6.1.1 剖杀前认真核对亲本动物交配表,确认每日 剖宫产的动物是否正确,需使各组动物的剖杀时间 大体均衡。在固定时间剖杀某一剂量组,有可能影 响胎仔数据,所以最好按组别顺序轮流剖杀母鼠(因 动物在临近分娩时快速生长,同日中后剖杀的胎仔 体重更大,故应平衡剖杀顺序以免出现较大偏差)。

6.1.2 摘除胎仔前应确认母鼠已被处死。

6.1.3 确保胎盘和胎仔称重前已去除血污。

6.1.4 确定宫内及胎仔的评价是否正确。

- 6.1.5 确定需做病理检查的脏器均放入相应的固定液内。
- 6.1.6 确定胎仔的性别鉴定是否正确，并做好记录，在进行内脏检查时核实。
- 6.2 雄性动物的剖杀和精子分析
 - 6.2.1 剖杀前应认真核对交配表，确定剖杀日期。
 - 6.2.2 确认睾丸和附睾称重前已去除血污。
 - 6.2.3 剖杀当日实验室应尽量温暖，并准备 37℃ 水浴锅或孵箱，用以精子获能液的预热和精子的孵育，确保精子分析数据的准确可靠。
 - 6.2.4 确定动物体内评价是否正确。
 - 6.2.5 确定需做病理检查的脏器均放入相应的固定液内。
 - 6.2.6 制作精子涂片时，应先对精子悬液充分混匀，涂片应薄厚均匀。一般是 1 只动物制备 3 张精子涂片备用，且每张片子均标明动物号。
 - 6.2.7 进行精子形态学观察时，要特别注意区分 2 条精子部分重叠所造成的假双头/尾精子。头部或全部重叠的精子，无尾精子不进行计数。
- 6.3 在进行胎仔内脏和骨骼评价的检查时，试验人员应确保：①全部标本进行了适当的固定、染色和透明，操作过程中所使用的化学试剂和溶液正确。②制作骨骼标本时一定要小心，避免人为因素导致

的骨骼破损，影响结果判定。③全部标本均进行过细致的检查，检查记录完整。

7 与专题负责人沟通确认

实验技术人员在试验过程中，针对所得实验数据，需及时与专题负责人进行沟通，切实排除实验误差因素，确保结果真实可靠。

总之，生殖毒性试验因其自身特殊性对实验技术人员提出了更加严格的要求，实验技术人员必须拥有强烈的责任感，熟悉试验全程，掌握相关技能，在试验的各个环节始终保持清醒头脑，准确操作，认真细致做好详尽、完整的记录，努力配合专题负责人成功完成试验。

参考文献：

- [1] 韩 铁. 生殖毒性试验的质量保证[J]. 中国新药杂志, 2006, 15(12):941-945.
- [2] Christian M S. Is there any place for nonmammalian *in vitro* tests? [J]. *Reprod Toxicol*, 1992, 7(1):99-104.
- [3] 王红星. 药物非临床研究应关注实验动物福利[J]. 四川生理科学杂志, 2005, 27(3):116-117.
- [4] Anonymous. Symposium IX-science and compliance: study management though total quality [J]. *J Am Coll T Oxicol*, 1991, 10(3):369-375
- [5] 黄芝瑛. 中药新药一般毒理试验及评价[J]. 药品评价, 2004, 1(1):50-52



FDA 发布再普乐(奥氮平)用于青少年患者的药物警戒信息

FDA 与 Lilly 公司近期发布了再普乐 Zyprexa (olanzapine) 治疗青少年 (13-17 岁) 精神分裂症和双向型情感障碍症 (抑郁与躁狂交替发作) 的药物警戒信息，并就该药品说明书进行了修订，涉及内容如下：

第 1 节 [适应症与用途]：当临床医生向青少年开具该药品处方时，需考虑长期使用该药品所存在的潜在风险，因为可能会引起青少年患者体重增加和高血脂 (与用于成年患者时相比)。

第 17. 14 节 [整体治疗方案的需要]：对于儿科精神分裂症和双向型情感障碍症患者的治疗，使用再普乐仅是其整体治疗方案中的一部分，整体治疗方案还应包括其他治疗措施 (如心理的、教育的和社会的)。

目前再普乐用于 13 岁以下儿科患者的有效性和安全性尚未明确。