

ICH 协调指导原则

支持儿科药物开发的非临床安全性评价

S11

草案-Step2
2018 年 9 月 18 日通过
公开征求意见中

在 ICH 进程的第 2 阶段,ICH 相关专家工作组达成共识的草案或指导原则,由 ICH 大会递交给 ICH 区域性监管机构,根据国家或区域程序,征求内部和外部意见。

S11

文件历史

| 编码 | 历史 | 日期 |
|-----|--|-----------------|
| S11 | 在进程 2 由 ICH 大会成员同意, 并公开征求意见 (文件日期 2018 年 7 月 9 日) | 2019 年 9 月 18 日 |

法律注意事项: 本文件受版权保护, 除ICH标识外, 可在公共许可的前提下使用、复制、在其他工作中引用、改写、调整、翻译或传播, 在任何情形下需在文件中承认ICH版权。若对文件进行任何改写、调整或翻译, 必须使用合理步骤, 清晰标识、划出或用其他方式明确对原版文件或基于原版文件所做的更改。任何暗示ICH授权或支持对原版文件的改写、调整或翻译的行为必须避免。

本文件按现有状态提供, 不做任何形式的保证。任何情况下, ICH或原版文件作者不会对任何由使用本文件造成的索赔、伤害或其他责任负责。

上述许可不适用于第三方提供的内容。因此, 对于版权归属第三方的文件, 必须从该版权持有者处获得复制许可。

目录

| | |
|----------------------------|----|
| 1. 前言 | 6 |
| 1.1 指导原则目的 | 6 |
| 1.2 背景 | 6 |
| 1.3 适用范围 | 6 |
| 1.4 总则 | 6 |
| 2. 确定附加的非临床安全性评价的必要性 | 7 |
| 2.1 临床背景 | 7 |
| 2.2 证据权重法 | 7 |
| 2.3 影响证据权重评估的因素 | 8 |
| 2.3.1 临床资料 | 8 |
| 2.3.2 药理学特性 | 9 |
| 2.3.3 药代动力学资料 | 9 |
| 2.3.4 非临床安全性数据 | 10 |
| 2.2.5 可行性 | 11 |
| 2.4 证据权重评估的应用和结果 | 11 |
| 3. 非临床幼龄动物试验的设计 | 11 |
| 3.1 一般考虑/研究目标 | 11 |
| 3.2 初步/剂量范围探索试验 | 11 |
| 3.3 动物试验系统选择 | 12 |
| 3.4 动物年龄、给药期和给药方案 | 13 |
| 3.5 停药期评估 | 14 |
| 3.6 给药途径 | 15 |
| 3.7 剂量选择 | 15 |
| 3.8 终点指标 | 16 |
| 3.8.1 核心终点 | 16 |
| 3.8.1.1 死亡率和临床观察 | 16 |
| 3.8.1.2 生长 | 16 |
| 3.8.1.3 摄食量 | 16 |
| 3.8.1.4 性发育 | 16 |
| 3.8.1.5 临床病理学 | 17 |

| | |
|--------------------------------|----|
| 3.8.1.6 解剖病理学 | 17 |
| 3.8.1.7 毒代动力学 | 17 |
| 3.8.2 为阐述已确定担忧的附加终点 | 17 |
| 3.8.2.1 生长 | 17 |
| 3.8.2.2 骨骼检查 | 17 |
| 3.8.2.3 临床病理学 | 17 |
| 3.8.2.4 解剖病理学 | 18 |
| 3.8.2.5 眼科检查 | 18 |
| 3.8.2.6 CNS 评估 | 18 |
| 3.8.2.7 生殖评估 | 19 |
| 3.8.2.8 免疫评估 | 20 |
| 3.9 试验组物动物分配 | 20 |
| 3.9.1 离乳前分组 | 20 |
| 3.9.2 离乳后分配 | 21 |
| 3.10 动物数量和性别 | 21 |
| 4. 先用于儿科/儿科专用药物的考虑 | 21 |
| 5. 其他考虑 | 23 |
| 5.1 辅料 | 23 |
| 5.2 联合用药产品 | 23 |
| 术语 | 23 |
| 备注 | 24 |
| 参考文献 | 24 |
| 附录 A: 各种属器官系统的年龄依赖性发育的概述 | 25 |
| 附录 B: 证据权重法应用的案例 | 36 |
| 附录 C: 啮齿类动物离乳前窝分配方法的案例 | 40 |

缩写词清单

| 缩写词 | 英文 | 中文 |
|-------|--|-------------|
| ADME | Absorption, Distribution, Metabolism and Excretion | 吸收、分布、代谢和排泄 |
| CNS | Central Nervous System | 中枢神经系统 |
| CT | Computed tomography | 计算机断层扫描 |
| DRF | Dose Range-Finding | 剂量范围探索 |
| ePPND | Enhanced Pre- and Postnatal Development | 增强的围产期发育 |
| FIH | First in Human | 首次用于人 |
| FOB | Functional Observational Battery | 功能观察组合 |
| GI | Gastrointestinal | 胃肠道 |
| ICH | International Council on Harmonisation | 国际协调会 |
| JAS | Juvenile Animal Study | 幼龄动物试验 |
| NHP | Non-Human Primate | 非人灵长类 |
| NOAEL | No-Observed Adverse Effect Level | 无明显不良影响剂量 |
| PND | Postnatal Day | 出生后天数 |
| PPND | Pre-and Postnatal Development | 围产期发育 |
| PK | Pharmacokinetics | 药代动力学 |
| PD | Pharmacodynamics | 药效学 |
| TDAR | T-Cell-Dependent Antibody Response | T 细胞依赖性体反应 |
| TK | Toxicokinetic | 毒代动力学 |
| WoE | Weight of Evidence | 证据权重 |

1. 前言

1.1 指导原则目的

本指导原则的目的是为支持儿科用药开发的非临床安全性评价推荐国际标准和促进达到共识。本非临床试验协调指导原则将确定当前的建议，并减少区域之间存在明显差异的可能性。它应使药物可以及时进入儿科临床试验，并根据3R（减少/优化/替代）原则减少动物的使用。

1.2 背景

不同的监管机构之前已经发布了一些指导原则，但对于幼龄动物试验（JAS）的必要性、时间安排和设计尚未获得共识。

还有其他 ICH 指导原则（如 E11、M3、S5、S6、S9）涉及幼龄动物试验的必要性和/或时间安排；本指导原则旨在补充目前现有的 ICH 指导原则。本指南反映了当前基于监管机构、行业调研和文献所收集案例的考虑。

1.3 适用范围

本指导原则推荐拟用于儿科人群的药物开发的非临床安全性评价的方法，包括已经在成年人中使用的产品，以及考虑首次用于儿科人群的产品（参见第 4 节）。

在 ICH S9 指导原则范围内的药物（即抗肿瘤药）是否进行 JAS 试验，应参考 ICH S9 的推荐意见。在被认为需要进行 JAS 的情况时，试验设计均应参考本 ICH S11 指导原则。

组织工程产品、基因和细胞治疗和疫苗不包含在本指导原则范围内。

1.4 总则

当考虑到一些器官系统的快速生长和出生后发育时，儿科患者代表着一种与成人不同的人群。这些系统的持续发育可影响药物的药代动力学（PK）、药效学（PD）和/或脱靶效应，可能导致儿科年龄组之间以及与成年人相比具有毒性和/或疗效特征的差异。

推荐尽早考虑开展支持儿科药物开发的非临床研究。在这方面，改变传统非临床项目的设计和/或时间安排是阐述儿科患者潜在安全性担忧的一种方法。例如，重复给药毒性试验可在更为幼龄的动物中开始给药，以支持儿科患者相应的发育阶段。另一种方法是比常规情况更早进行围产期发育（PPND）毒性试验，

并改良以具有足够的子代暴露并纳入附加的终点（见 ICH S5）。这些变化可以免除对专门 JAS 的需求或限制其设计。

需要了解整体临床开发计划，以设计适当而有效的非临床计划。在每次儿科试验之前，应做出基于证据权重法（WoE；见第 2 节）的决定，以确定是否需要进行附加的非临床试验。根据儿科年龄和适应症，对于相同的药物，对每一个临床试验，这种 WoE 评估的结果可能不同。

只有当以前的动物和人类数据被认为不足以支持儿科研究时，才应进行附加的非临床试验。JAS 旨在阐述已确定的安全性担忧，这些担忧在其他非临床试验或儿科临床试验中无法得到充分阐述，包括潜在的长期安全性影响。本指南推荐了一个定制的 JAS，其中包括设计核心要素和由特定担忧驱动的潜在的附加要素。

2. 确定附加的非临床安全性评价的必要性

2.1 临床背景

ICH E11 指南中讨论了药物的儿科临床开发计划，在设计适当的非临床计划之前需要对其加以了解。儿科临床开发计划包括适应症/病症、拟用儿科年龄组和给药方案（特别是开发期间的给药期限）。用于儿科患者药物的临床开发通常在初始成人临床试验之后。如果有必要进行，附加非临床研究的设计和时间安排取决于已确定的安全性担忧和拟临床用途。

对于严重衰竭或危及生命的疾病，或者儿科人群中存在明显未满足医疗需求的疾病，申请人和监管机构应考虑产生附加数据以支持患者获得药物的时间影响。这一决定应基于仔细和谨慎的风险-获益评估。如果确定对于进一步的临床开发有安全性担忧，则应考虑适当的非临床试验（例如 JAS），并且可以与临床试验同时进行。

2.2 证据权重法

儿科用药的非临床开发计划取决于基于临床背景，以及药理学、药代动力学（ADME）、非临床体外和体内动物和临床安全性数据的综合评估，即证据权重法（WoE 法）。WoE 方法考虑了一起评估的多个因素，因此，不应单独考虑某单个因素。每个因素的重要性应该进行权衡，以便得出最终结论，现有数据是否足以阐述拟用儿科人群中的安全性担忧，或者是否需要进行附加的非临床试验。

WoE 评估应在设计初始儿科开发计划时进行，但如果年龄范围和/或适应症发生变化，则应重新进行评估。根据儿科人群和拟治疗疾病，每次试验的 WoE 结果可能不同。

下面的图 1 显示了一些关键因素，这些因素应被视为 WoE 评估的一部分，以确定是否需要进一步的非临床试验。下图左侧列出了各因素。最重要的因素是拟用患者的最小年龄以及在儿科试验期间是否已知（或怀疑）对患者的器官系统产生不良影响。其他重要因素在图中未按重要性顺序列出。该列表并未包含所有情况，因为可能需要考虑其他特定因素（例如临床管理）。WoE 因素将在下面的章节进一步描述。

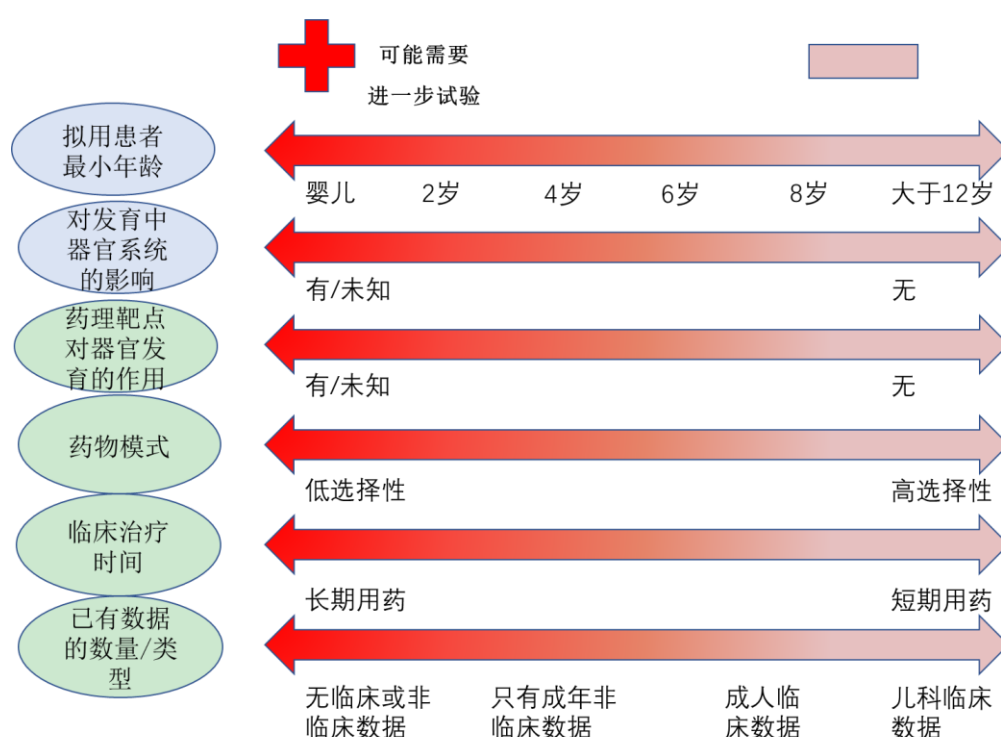


图 1：在确定是否需要进一步非临床试验时需考虑证据权重的关键因素。

最重要的因素是拟用患者的最小年龄以及在儿科试验期间是否已知（或怀疑）对患者发育中器官系统产生不良影响。其他重要因素未按重要性的顺序列出。箭头表示每个因素的权重梯度。

2.3 影响证据权重评估的因素

2.3.1 临床资料

儿科患者最相关的安全性和有效性数据来自于暴露过该药物的其他儿科亚群和成年人。这种已确定的疗效和安全性特征通常是确定是否需要进一步非临

床试验时的首要考虑要点。

拟用患者的最小年龄是最重要的考虑因素之一。使用来自原有亚群的已有临床数据可能不一定足够（参见 ICH E11）。对于人群年龄范围的最低点可能更需要进一步的非临床试验。

临床治疗的持续时间是确定是否需要进行附加非临床试验的另一个因素。长期用药更容易使儿科患者在发育敏感窗口期受到暴露。短期用药不太可能影响发育的某些方面，例如生长，但长期用药比短期用药更有可能需要进一步的非临床试验。

当现有临床数据被认为足以支持儿科使用和/或如果已确定的安全性担忧可以在临床上进行管理时，则无需进行附加的非临床试验。对于确定对于靶器官毒性成人和儿科患者的敏感性是否会有所不同，JAS 不是必要的。靶组织或脱靶组织成熟度的发育差异并不能单独意味着需要 JAS，但这是需要考虑的一个问题。

2.3.2 药理学特性

药物的主要或次要药理学特性可能是造成有害副作用的原因。如果在发育中系统/器官中发生影响和/或如果发育中器官与成熟器官比具有不同的敏感性，可能引起对儿科人群使用的担忧。建议评价关于药物靶标（例如受体、酶、离子通道、蛋白质）的发育表达和个体发育的文献，或靶标在发育过程中的已知/潜在作用。来自转基因动物（例如受体敲除）的现有数据也可以确定对儿科人群的潜在担忧的发育影响，这些可以包含在 WoE 评估中。

如果药物的已知药理学可能影响拟用儿科人群的发育，或者其药理学对发育的作用未知或无法合理预测，则应考虑进一步的非临床试验。对靶标具有高选择性的药物（例如单克隆抗体）的潜在不利影响更可能与放大的药理作用相关，因此比对药理靶点具有较低选择性的药物的影响更可预测。具有较低选择性的药物可能具有次要药效学作用，因此更可能需要进一步的非临床试验。应考虑使用幼龄（即动物）或儿科（即人）组织进行体外或离体研究，以确定分子药理学/毒理学靶标的敏感性、密度和分布的潜在年龄相关性差异。

当基础药理学已经确定了特定的危害时，进一步的非临床试验可能不会增加价值。

2.3.3 药代动力学资料

根据患者和动物年龄的不同，药物的 ADME 可能存在重大差异，导致潜在的疗效和毒性差异。这些差异通常在新生儿和婴儿中最为明显。同样的，胃肠道（GI）、肝脏和肾脏系统的成熟可导致全身暴露快速改变，特别是在幼龄动物中。

使用临床药代建模和模拟系统来预测儿科人群中的 PK/ADME 特征可能比进行 JAS 更相关。如果药代建模和模拟的结果提示成人和儿科患者之间存在显著差异，则非临床试验（如体外研究）可有助于确定这些差异对毒性的潜在影响。

2.3.4 非临床安全性数据

应评估已有的非临床毒性试验数据，以确定可能表明对儿科受试者发育中器官的潜在影响的信号。动物中在类似于儿童受试者中可能达到的暴露时发生的结果具有更高的关注度，特别是如果这些发现发生在拟用儿科年龄中出生后发育明显的器官/组织中（见附录 A）。在一个以上种属的成年动物中发生的安全性信号提高了关注度。根据试验开始时的动物年龄和所包含终点，这些担忧中的一些可能在已有重复给药毒性试验中已得到阐述。

支持成人临床试验通常需要遗传毒性试验和安全药理学试验，因此应在儿科临床试验开始之前获得这些资料。如果安全药理学试验显示对已知在拟用儿科患者人群中正在发育的器官系统产生作用，则应仔细考虑该作用的可能影响。为支持儿科适应症，附加的幼龄动物遗传毒性和安全药理学评价通常是不需要的。

生殖和发育毒性试验数据可能也可获得。如果可获得 PPND 试验数据，并且子代在相关的出生后期间已经显示出临床相关和持续的全身暴露，这些数据可有助于 WoE 评估。对这些数据的评估应包括母体在妊娠和哺乳期间对药物的耐受性，因为这可能会对子代的发现产生影响。对子代不良影响的观察本身并不表明建议进行 JAS。但是，如果确定的安全性担忧可能会对出生后发育产生影响，则应在 WoE 评估中加以考虑。如果证实存在暴露，这些啮齿类动物数据与早产和足月新生儿最相关。

在某些情况下，啮齿类动物 PPND 试验的改良可以免除 JAS 的必要性，如果在试验设计中已经适当地阐述了对儿科人群的潜在担忧（参见 ICH S5）。对于在非人灵长类动物（NHP）中进行的增强的 PPND（ePPND）试验，来自子代的数据可以表征早期出生后发育期的毒性，如果子代确认有相关的暴露和/或 PD 效应。如果可获得，应将 ePPND 资料与一般毒性试验的数据一起评价，以评估附

加非临床试验的价值。

2.2.5 可行性

决定进行附加动物试验时，也应考虑试验设计和试验终点的技术和实际操作可行性（见第 3 节）。如果动物试验不能采用能达到儿科患者预期暴露范围的剂量，即使采用替代的给药途径或给药频率，则进行 JAS 不能提供信息或不必要。

2.4 证据权重评估的应用和结果

在确定是否需要进行附加非临床研究时，应考虑上述所有 WoE 因素。如果对已确定的安全性担忧可以临床监测和/或管理，则不需要进行附加的非临床试验。当有必要进行试验时，所确定的安全性担忧的具体内容将确定非临床研究的目的是，这可以是 JAS 或其他研究（如体外或离体研究）。

附录 B 列出了 WoE 方法应用的案例。

3. 非临床幼龄动物试验的设计

3.1 一般考虑/研究目标

一旦确定需要进行 JAS，应参考第 3 节以设计适当的试验。本节包含了有关试验设计考虑、所有试验中需包含的核心终点指标以及用于阐述特定担忧的附加终点指标的建议。不推荐在没有合理依据的情况下采用包含所有潜在附加终点指标的 JAS 设计。

如果进行试验的原因主要是基于对儿科患者特定的、已确定的安全性担忧，则试验应针对性设计以阐述靶器官或所担忧系统的功能或发育的特定方面。如果进行试验的理由是由于缺乏药理学相关信息而引起对患者安全性的担忧，试验设计通常会更广泛，并包括适当的附加终点指标。

人和动物器官系统的成熟度可以影响对毒性的易感性。了解发育过程中种属之间成熟度和功能的相对水平，不仅是设计合适的 JAS 所需，还有助于将非临床毒性发现转化为特定的人类年龄范围。这种“年龄”或“阶段”绘图对应具有挑战性，并且在不同的器官系统或种属之间不一致，因为出生时的相对成熟度、出生后成熟速度和/或成熟的调节在人类和动物存在明显差异。附录 A 图 A1~A6 提供了不同种属的器官系统年龄依赖性发育的概况，虽然不是很全面。

3.2 初步/剂量范围探索试验

强烈建议采用小组别的相关年龄的幼龄动物进行初步试验，如剂量范围探索

(DRF) 或 PK 试验, 以进行耐受性和 PK/TK (毒代动力学) 评估。这对于确定性 JAS 中离乳前开始给药以避免意外死亡、过度毒性和/或不相关暴露, 尤其有价值。

在确定性 JAS 中, 动物应在计划起始年龄的最小年龄开始给药, 以评估耐受性和暴露差异的最关键时期。DRF 给药期通常持续数周, 例如通常持续到啮齿类动物离乳后不久。如果成年和幼龄动物之间的耐受剂量水平存在重要的年龄相关性差异, 可能需要进行第二次 DRF 试验, 从而为确定性 JAS 选择适当的剂量水平或给药方案。有关使用初步试验为确定性 JAS 过程中给药途径和/或剂量调整的预期变化作准备的更多信息, 参见 3.6 给药途径和 3.7 剂量选择。

在初步或剂量范围探索的 JAS 中, 药物在临床相关的全身暴露时不能耐受可能提示对相应的临床年龄范围的重大关注或关注。如果不了解在相似的全身暴露下幼龄动物和成年动物之间的毒性特征具有更高敏感性或显著差异的原因, 则进一步的研究 (例如蛋白结合率或血脑屏障通透性的评估) 对解释这些差异可能是有用的。

在某些情况下, DRF 试验可以探索特定终点指标、组织或生物标志物的可用性, 从而完善确定性 JAS 的试验设计。

3.3 动物试验系统选择

当需要进行 JAS 时, 在大多数情况下单一种属被认为是足够的。原则上, 大鼠应被视为 JAS 的首选种属。其他种属也被报道用于 JAS (例如小鼠、兔、犬、小型猪、非人灵长类动物)。在所有情况下, 所选择的种属应证明是合理的, 因为非相关种属的非临床试验可能会引起误解, 因此不推荐。

选择合适的种属时应考虑以下因素:

- 了解动物的药理学或毒理学靶标 (例如受体) 的个体发育与拟用儿科人群的比较
- 首选已有成年动物重复给药毒性数据的种属和品系, 使得可比较幼龄动物和成年动物之间的毒性和全身暴露特性。
- 毒理学靶器官
 - 与拟用儿科人群相比, 幼龄动物器官/系统发育的相对阶段 (见第 3.4 节)

- 动物模型检测所担忧毒性终点指标的能力
- 在所选种属中进行试验的技术/实际可行性
- ADME 特征的相似性

附录 A 的表 A1 列出了使用不同啮齿类动物或非啮齿类动物种属的优点与缺点。

对于生物制品，在许多情况下 NHP 是药理学相关种属，但由于科学和操作原因，在 NHP 中进行 JAS 具有挑战性。与在一般毒理学试验中使用的 2~4 岁龄 NHP 相比，在更幼龄的 NHP 中进行 JAS 增加的价值有限，因此，鼓励获得必要数据的替代方法。只有在极少数情况下，在 NHP 中进行 JAS 是有价值的。

与 ICH S6 一致，如果可获得同源蛋白，可考虑在啮齿类动物或其他非啮齿类动物种属中使用同源蛋白以进行危害识别。

只有在先用于儿科（见第 4 节），或对出生后发育有多种特殊担忧而单独一种种属无法阐述这些担忧的情况下，才有必要进行两种种属的 JAS。

如果存在儿科 PD 疾病模型（例如酶替代疗法），则可以在这些试验中纳入适当的安全性终点。这些信息可能有助于 WoE 评估和/或可能免除对专门 JAS 的需求。

3.4 动物年龄、给药期和给药方案

动物开始给药的年龄应当在发育上对应于拟用儿科人群的最小年龄，这取决于人与动物的毒理学担忧器官系统发育期的比较。由于种属间的比较器官系统相关性在各种器官间并不一致，因此应优先考虑任何潜在担忧的靶器官或系统，或者是拟用患者人群特别脆弱的发育中的系统。应使用相关信息证明给药开始时的动物年龄的合理性（见附件 A）。

在确定 JAS 的给药持续时间时，重要的是要考虑年龄范围和与人类相比动物的发育期短、拟用儿科人群的治疗持续时间、待评估的安全性，以及相对于毒理学试验所用动物中的拟用儿科人群的靶器官/功能的发育。

JAS 的给药期限不仅取决于儿科年龄阶段（例如 > 2 岁）或临床给药持续时间，还取决于所关注/担忧器官的器官发育的特定阶段（见附录 A）。为了评估对儿科发育阶段的影响，动物中较长的给药期限对于阐述对某个迟发育的器官系统的担忧（例如中枢神经系统[CNS]，与较短发育窗口的系统如肾脏相比，CNS 系

统发育相对迟缓)是合适的。与为支持成人用药开发的非临床试验相比(参见 ICH M3), 儿科患者的短期治疗持续时间可能需要在 JAS 中持续更长给药时间来涵盖拟用儿科人群的发育年龄范围。例如, 为了将 2 至 12 岁的患者纳入治疗持续时间为 14 天的临床儿科试验中, JAS 的给药时间可能超过 14 天, 以保证对应于 2 至 12 岁人类患者的所有发育阶段都有暴露(例如, 在大鼠中, 这将是大约 6 周的给药持续时间, 大约在出生后的 21 至 65 天, 参见附录 A)。

在非啮齿类动物种属如犬、小型猪和兔中, 给药至成年期是可行的, 因为这些种属在几个月内成熟, 并具有相对的一致性。与之相反, NHP 的出生和成熟之间的间隔是几年, 使得在整个发育期间给药不可行。而且, NHP 青春期和成熟开始的时间显示出相当大的个体间差异。

当 DRF 试验表明剂量或给药持续时间预计在 JAS 中不可耐受时, 可以通过将给药期分为不同的亚组来实现该剂量的临床相关暴露(例如, 将所需的 6 周 JAS 给药期分成两个 3 周给药的亚组, 每个亚组从不同的年龄开始给药)。这种方法仅在剂量不能耐受的情况下有必要。这种方法尤其适用于临床给药期与 JAS 亚组的给药期相似或更短的情况; 它也可能有助于确定易感性的关键窗口。考虑这种方法的益处时也应同时考虑到其缺点, 例如大量增加所需动物数量并且难以解释不同年龄的数据。关于剂量调整, 作为在这种情况下要考虑的替代策略, 参见第 3.7 节“剂量选择”。

JAS 中的给药频率可能与临床方案中的给药频率不完全相同。例如, 即使临床方案是每周一次, 也可能需要对幼龄动物每天给药, 并维持相关的全身暴露, 以评估对发育中器官系统的影响和/或在整个关注的发育期维持相关水平的全身暴露。

3.5 停药期评估

在 JAS 中将停药期纳入评估可以帮助阐述两方面问题: 1) 给药期间观察到的任何影响是否可逆、持续或者进展; 2) 生命早期的暴露是否导致迟发性影响(即延迟性变化)。是否需进行停药期评估, 取决于 WoE 评估的结果和试验中要评估的终点指标。

通常, 如果无法通过科学评估预测, 则停药期应纳入考虑, 以了解特定效应的持续、进展或可逆性(注 1)。ICH M3 中的可逆性原则适用于与成年动物重复

给药毒性试验中相似的 JAS 终点（例如组织病理学、临床病理学）。这种停药期的持续时间应足以使该效应可能恢复，并应考虑到药物的清除。证明完全可逆并不重要。可逆性的趋势（发生率和/或严重程度降低）以及对最终将达到完全可逆的科学评估可能就足够了。如果某一特定效应在成年动物已充分表征其可逆性或不可逆性，则通常不必在 JAS 中证实这一点。有些 JAS 的终点指标不适用于可逆性评估的经典方法，例如青春期开始的时间和神经行为评估（例如学习）。另外，应考虑与动物的生命阶段相关的停药期的时间点。

一些改变只有在适当的停药期以使器官系统成熟并表达出改变以后才能确定。因此，一些评估只能在预期达到一定程度的成熟后进行才有意义[例如行为学评估、T 细胞依赖性抗体应答（TDAR）中的免疫应答]。这些可以在给药持续时间涵盖与临床使用相关的所有关键发育窗口后，在停药期进行评估。这在临床人群仅为非常年幼的情况下尤其相关，这种情况下 JAS 给药持续时间将在未成熟年龄时停止，动物将在停药期继续成熟至适合评估的年龄。

在非啮齿类动物中，由于发育期更长，个体间差异性更大，可用于确定发育延迟或改变的评估更少或缺乏良好表征，对于 JAS 增加停药期组可能不太有用。

3.6 给药途径

在可行时应采用拟临床给药途径，但获得足够的全身暴露是至关重要的。

在实际操作困难的情况下应考虑替代的给药途径，也可以考虑在试验过程中改变途径（例如在啮齿类动物中采用皮下给药，直至静脉给药可行）。使用替代给药方法的效力应具有科学合理性（例如，由代表性的幼龄动物中的 TK 数据支持）。

如果药物拟用于两种或两种以上临床给药途径，单一给药途径的 JAS 就足够，但应该在幼龄动物中为所有拟临床给药途径提供足够的暴露。

3.7 剂量选择

期望建立不良影响的剂量-反应关系，并确定幼龄动物中未见不良影响剂量（NOAEL）。剂量的选择应在成年动物的暴露范围内实现一些重叠，以便比较成年动物与幼龄动物之间的影响。然而，高剂量不应导致显著的毒性，因其可能混淆生长和发育终点指标并使评估复杂化。快速生长期期间的体重减轻或不增长可能会使结果混淆，因此在 JAS 中不期望发生。低剂量应优选导致暴露水平类似于

拟用临床人群中的预期暴露。对于小分子，根据 ICH M3 选择高剂量。对于生物制品，适用于 ICH S6 中描述的剂量选择原则。

由于 ADME 系统的成熟，全身暴露可能发生变化，使得满足上述剂量选择目标具有挑战性。在初步试验显示幼龄动物明显比成年动物更敏感，或者随着动物成熟全身暴露发生明显变化的情况下，应考虑剂量调整。在 JAS 期间的剂量调整（剂量增加或减少）可适用于评估终点，否则在整个试验期间无法维持剂量水平之间的暴露分离。在试验期间调整剂量旨在使暴露保持一定程度的一致性；通常，预计在 JAS 期间调整不会超过一次或两次。

3.8 终点指标

除非另有理由，否则每个 JAS 应包括下面第 3.8.1 节中定义的核心终点。每个附加终点（见第 3.8.2 节）应予考虑并证明其合理性，以阐述已确定的安全性担忧（注 2）。

为了阐述 JAS 中的试验结果，在所使用的种属/品系/性别的相关年龄上获得适当的历史对照数据（HCD）是很重要的（注 3）。

3.8.1 核心终点

3.8.1.1 死亡率和临床观察

整个试验期间均应评估死亡率。应进行临床观察，包括体格检查，因为这可以确定给药过程中和停药后的行为影响。

哺乳期的临床观察应包括母体动物的哺育行为，并应尽可能捕捉幼龄动物特有的临床观察。离乳后，应同成年动物试验临床观察一样，记录临床观察。

3.8.1.2 生长

应通过体重和长骨长度来评估生长。因为出生后早期体重迅速增加，个体体重测量应该高频次记录以进行剂量计算。通常，在尸体剖检时测量一根长骨（例如股骨）就足够（注 4）。

3.8.1.3 摄食量

对各种属应评价离乳后的摄食量。

3.8.1.4 性发育

当给药期涵盖相关的发育窗口时，推荐青春期开始的指标（例如，对于啮齿类动物，雌性阴道张开时间和雄性包皮分离时间）。

3.8.1.5 临床病理学

如果计划的评估在预期临床病理范围已知的年龄，并且可以支持组织病理学发现的解释的年龄进行评估，应在尸体解剖检查时进行标准的临床病理学检查（血清化学和血液学），作为末期终点。

3.8.1.6 解剖病理学

在给药期和/或停药期结束时，应对分配至解剖检查的动物进行大体病理学检查、器官重量（注释 5）以及组织的全面收集和保存。应对主要器官（如骨、脑、卵巢、睾丸、心脏、肾、肝）和具有肉眼可见病变的器官进行组织病理学检查。睾丸组织病理学应包括对成年动物的生精进程的定性评估。

3.8.1.7 毒代动力学

毒代采样应在给药期开始和结束附近时进行。如果在离乳前开始给药，则应考虑中期 TK 评估。推荐进行伴随 TK 评估的初步试验或 DRF JAS（见第 3.2 节），这将有助于确定采样日期和时间点。

在设计 JAS 的 TK 组时，从 3R 的角度，强烈鼓励微量采样和稀疏采样（如果合理）（参见 ICH S3）。

对于蛋白治疗产品，如果适当，应采样并评估抗药抗体（ADA）（参见 ICH S6）。

3.8.2 为阐述已确定担忧的附加终点

3.8.2.1 生长

适用于种属的顶臀长、体长（如鼻/尾）和/或体高，可用作生长的指标。除了解剖时的直接测量之外，使用超声波或 X 射线对长骨长度进行连续无创测量可以适用于非啮齿类动物。

3.8.2.2 骨骼检查

当对骨代谢或结构具有确定的担忧时，应考虑骨相关生物标志物的测量和/或扩大的组织病理学（如组织形态学）检查。当合适时还可进行骨矿密度[例如显微光密度测定、双能 X 射线吸收测定、外周定量计算机断层扫描（CT）或骨结构（例如微 CT）]的评估。

3.8.2.3 临床病理学

可以考虑附加的血液学、血清化学和/或生物标志物，以进一步表征对靶器

官/组织的已确定的担忧。在需要时可以增加其他参数，如尿液或凝血评估。

在整个试验中采集不同年龄的样品，和/或在短时间内（例如 24~48 小时）系列采样也是有用的。

由于在幼龄动物（特别是啮齿类）上获得充足样本体积的限制，任何增加的采样可能需要增加动物，因此仅推荐在对于阐述一个担忧很关键时才推荐增加。当存在采样体积限制时，需要基于已知担忧根据优先级别选择检测指标。

3.8.2.4 解剖病理学

为阐述特定的担忧可以评估附加的组织/器官。为解释一些发现，需要采用组织切片的免疫组织化学或其他特殊染色方法、电子显微镜、组织形态学或其他成像技术。

3.8.2.5 眼科检查

如果担忧眼部毒性，包括视网膜和视神经，应考虑评估眼部终点指标。标准的眼科检查（如眼睑反射、眼底镜检查、裂隙灯显微镜检）不是 JAS 的常规终点指标，因为眼睛的结构发育在人类的出生前期间大部分已完成。

3.8.2.6 CNS 评估

CNS 评估包含几类，例如：

- 详细的临床观察
- 行为学试验
- 学习和记忆试验
- 扩大的神经病理学评估

任何附加 CNS 评估的选择应仅基于 WOE 评估中确定的特殊担忧点。此外，这些评估的时间安排应考虑其结果是否用于确定由于药理学延伸、发育神经毒性（即停药后出现或仍然存在的影响）或两方面原因所致的不良反应。

详细的 CNS 相关的临床观察记录与给药相关的临床症状（例如活动过度或活动减退、震颤）的严重性、发作和持续时间。当通过 WoE 评估确定具有 CNS 担忧时，应评估这些参数，并且当合适时应在给药期间和停药后收集这些参数。

行为学试验可以包括改良的 Irwin 试验、功能观察组合（FOB）、自发活动评估、协调和反射评估和/或声学惊吓反应（例如习惯性或前脉冲抑制）。这些试验应适合于所用试验种属，这些评估的时间安排应根据试验种属的成熟度进行确

定。

此外，可以通过多种方法评估学习和记忆。不同的方法评估学习和记忆的不同方面。当基于 WoE 评估将学习和记忆的特定方面确定为担忧的方面时，应选择能够评估这些方面的试验。学习和记忆最应在停药期间进行评估，因为这段时间与评估潜在的持续性或延迟效应最相关。如果在给药期间进行学习和记忆试验，应考虑并避免药理作用（如镇静、运动协调降低）混淆的可能性。

通过 WoE 评估确定为潜在担忧目标的任何 CNS 区域或组成部分（如海马、髓鞘），当适合时应进行附加的神经病理学检查（例如额外水平的切片、免疫组织化学、特殊染色）。这些评估通常在计划解剖时进行，除非是对研究的时间有相关的特殊担忧。成像技术在特定情况下可能适用（如磁共振成像）。

出生后 CNS 评估最常在大鼠中进行和表征。对于那些啮齿类动物为不合适种属的药物，有些行为学试验也可在其他种属（如犬、小型猪）进行。在 NHP 中很少进行学习和记忆评估。在 NHP 中，在 JAS 或 ePPND 试验中的行为观察提供潜在 CNS 效应的主要评估。

3.8.2.7 生殖评估

如果对雌性和/或雄性生殖器官或功能的影响确定有担忧时，组织病理学检查和器官重量可以扩展到包括生殖和/或内分泌组织以及性腺。在成年动物中被鉴定为不可逆的生殖系统影响无需在 JAS 中确认。

在啮齿类动物中，对于与雌性相关的担忧，建议对动情周期进行评估，作为对生殖和内分泌功能的初步评估。对于与雄性啮齿类动物相关的担忧，精子分析（例如计数、运动性、形态学）和/或睾丸免疫组织化学被认为可进一步表征其影响，如果它们可以增加其他检查尚未捕获的关键信息。

在所试验的种属中，与性成熟相关的给药和评估的时间是至关重要的。在试验设计和生殖评估的时间安排时，应考虑卵泡生成和精子生成的时间。生殖器官或功能的评估（如动情周期、精子计数或精子发生的定性组织学评估）只能在性成熟动物中进行。如果临床年龄范围是青春期前，则关注的是给予一个具有生殖毒性潜力的药物是否会对性成熟或成年期的生殖功能造成任何延迟性影响。在这种情况下，试验应设计为，仅在未成熟期间给药，然后让动物在不给药的情况下成熟，并在达到成熟后进行评估。

JAS 通常不建议进行交配评估。在雄性啮齿类动物中，由于睾丸功能储备大，交配评估灵敏度低。在雌性啮齿类动物中，动情周期和卵巢组织学的评估可以确定许多发育性生殖能力。在非啮齿类动物种属中，由于发育时间长和高度的个体差异，交配评估是不实际的。

其他大多数附加生殖评估的可行性大部分是在啮齿类动物中进行的，尽管它们可以被考虑用于在 JAS 实施期间达到成熟的非啮齿类动物种属。在 NHP 中，附加的生殖评估通常不包含在 JAS 中。

仅在其他地方尚未能捕获而评价能增加关键信息时，JAS 才推荐进行激素评估，因为青春期存在相当大的激素变异性。任何激素评估都应证明其合理性，并且评估的时间和特定激素应该在评估发生的年龄得到良好表征。

3.8.2.8 免疫评估

如果药理学类别或动物或人的资料引起对免疫系统发育的担忧，根据 ICH S8 所述应考虑免疫毒性评估。这些担忧可以包括但不限于：淋巴细胞亚型的数量或功能的短暂、延长或持续减少或增加，或免疫球蛋白类的持续增加或减少。功能测定如 TDAR 应在适当的发育时间后（如大鼠 PND 45 后）应进行。

3.8.2.9 其他可能的评估

如果有其他组织或终点指标已确定具有担忧而且无法在临床上进行管理，当非临床试验可增加有用信息时，应计划并实施适当的评估。

3.9 试验组物动物分配

3.9.1 离乳前分组

在大多数种属中，在离乳前阶段开始进行 JAS 时呈现出一种独特的情况，即对同一窝内的子代进行给药。母体动物提供营养和护理，是试验的关键组成部分，但只有子代才是试验系统。试验应设计以减少与遗传、母体护理和同窝仔（即自然和养育混杂因素）相关的子代数据的潜在混杂因素。通常，不应将遗传性同窝和/或同窝幼仔分配至同一终点，特别是试验核心终点。这可以通过构建窝并将它们分配给不同剂量组和不同终点亚组来实现。

建议使用与该种属和品系的天然平均窝大小相当的窝大小和性别比。对于分配剂量组的方法，期望避免对照组中的动物暴露于受试药物，因此优选将一窝中的所有动物分配至相同的给药组。

JAS 可能变得庞大而复杂，因此试验设计时平衡科学严谨性与动物使用之间的关系尤为重要。研究人员应该知道所有计划的终点指标（核心和附加）以有效地设计窝和亚组分配策略。试验设计的效率对于根据 3R 原则减少动物使用至关重要，应该通过提供试验所需的母体动物和窝的数量来衡量。对于具有窝产仔数量少和数量变异大或单个子代的动物种属，采用与一般毒理学试验中相同的组分配设计方法可能是合适的。

试验开始后，每窝大小应尽可能在剂量组内和组间保持可比，因为在离乳前阶段窝仔数量影响幼仔生长速度。试验计划和试验报告应清楚地描述窝处理、剂量组和终点指标亚组分配方法，以及试验模型的细节（例如，子代剔除的年龄、窝大小和性别分布、哺育、为评估的组和亚组的分配）。对于统计分析，对来自于还是窝一部分的子代所收集的数据，不应被视为独立变量，因为个体子代受到母体和同窝因素的影响。

对多胞胎动物离乳前的窝管理有不同的分配方法。附录 C 提供了控制啮齿类动物潜在遗传、母体护理和同窝偏倚的一种方法的实例。如果适当地考虑这些偏倚和试验目标，其他方法也是可以接受的。

3.9.2 离乳后分配

在多种动物种属中，如果可能的话，仍然建议分配窝，以尽量减少遗传偏倚以及母系和同窝变异。特别是当在离乳后早期阶段开始给药时，并且当试验系统中由有限数量的自然母体动物提供子代时，应该考虑与离乳前分配相似的潜在混杂因素来设计试验。

3.10 动物数量和性别

JAS 应使用足够数量的动物来评估所选择的终点指标（如体重、可逆性、行为评估）。为了减少动物的数量，在同一动物中整合终点指标的评估是有效的。建议 JAS 在雌雄两种性别动物中进行。

4. 先用于儿科/儿科专用药物的考虑

在确定试验设计来阐述以下几点时应参阅第 3 节。

非肿瘤儿科专用药/先用于儿科的药品，通常的临床策略是在儿科试验之前，先在健康成年志愿者进行人体首次（FIH）试验。根据 ICH M3，该策略在成人

临床试验开始之前，通常包括有啮齿类动物和非啮齿类动物中适当给药期限的非临床重复给药毒性试验、安全药理学和遗传毒理试验。ICH S6 的原则也可应用。用于支持成人 FIH 的重复给药毒性试验可以以几种方式进行：进行两种种属的成年动物试验，或者一种或两种种属的在幼龄动物开始给药并持续给药至成熟的试验，包括附加的终点（见第 2、3 节）。

另一种情况是，儿科患者在没有任何先前的成年患者或健康志愿者数据时进行给药（例如，仅存在于儿童中的危及生命或衰竭性的疾病，以及当药物不能安全地给予成年志愿者时）。在这些情况下，FIH 试验将在儿科患者中进行，非临床计划将包括一种啮齿类动物 JAS 和一种非啮齿类动物 JAS，如果可行的话。安全药理学和遗传毒性试验与成人用药所需一样进行，体内试验不需要在幼龄动物中进行（参见第 2.3.4 节）。

在初始临床试验之后，基于具体问题具体分析原则，JAS 对于支持儿科患者的持续临床开发可能非常重要，由安全性担忧的原因（见第 2 节）和临床治疗持续时间所驱动。还应考虑 ICH M3 的原则。如果药物用于治疗慢性疾病，则应在一种啮齿类动物和一种非啮齿类动物中进行慢性毒性试验，至少其中一种应在与拟用患者人群最低年龄的发育相匹配的年龄时开始给药。原则上，与拟用儿科患者最小年龄发育相对应的年龄开始给药的一组慢性毒性试验，可以提供足以涵盖儿科发育的所有年龄和持续时间的儿科药物开发直至上市的非临床安全性数据，并可替代成人慢性毒性试验和单独的 JAS。有必要进一步对生殖毒性和致癌性潜力进行非临床评估。

对于生物制品，如 ICH S6，幼龄动物试验应限于相关种属。当 NHP 是唯一相关种属时，NHP 的 JAS 可以支持初始临床应用。无创安全药理学终点可纳入在幼龄或标准 NHP 重复给药毒性试验中。如 ICH S6 所述，应阐述遗传毒性和致癌性潜力。

NHP 中的 JAS 通常在第 10 到 12 个月龄时开始进行，因此限制了最低的儿科年龄范围。在 JAS 无法支持最小的儿科年龄，如果可行且相关的话，应考虑替代方法（如体外试验、遗传修饰动物、替代分子）。

围产期和离乳前 NHP 的 JAS 应仅在首次和主要是新生儿临床使用，并且非临床安全性评估的替代方法不可行的情况下进行。对子代直接给药的试验可能需

要大量成熟母体动物来填补 NHP 中相对少的幼龄动物。因此，应根据临床担忧来明确证明设计和终点的合理性。设计预期也应该是灵活的，例如，预期性别分布和起始重量的变异性。

5. 其他考虑

5.1 辅料

为使儿科制剂获批通常不需要进行专门的辅料 JAS。为了评估儿科临床制剂的安全性，应评估辅料的已有毒性信息。用于儿科适应症的药物制剂可能偶尔含有新辅料或以前未在相关年龄的儿科人群中使用的辅料。如果没有足够的资料来支持在拟用儿科人群中应用该辅料，需要进行 JAS。虽然主要用于评估活性成分安全性的 JAS 并不总是需要采用临床制剂进行，但如果进行此类试验，则可以在 JAS 中与活性成分一起评估辅料。

5.2 联合用药产品

儿科联合用药产品的开发应符合 ICH M3 (R2) 所述的关于联合用药产品非临床评估的原则，以及本指导原则所述的 WoE 原则。例如，对于两个开发后期分子实体的联合用药，具有共同给药的充分的儿科临床应用经验，通常不推荐进行联合用药的 JAS。但是，对于两个早期阶段的分子实体，如果 WoE 评估建议需要一个 JAS 来阐明确定的担忧，可能需要联合用药的 JAS。如果需要附加的非临床信息，试验设计需考虑哪些评价终点指标可适合于阐述特定联合用药的任何担忧。如果 JAS 被认为是适当的，则临床使用联合用药的评估通常是足够的，并且对各个活性成分进行试验可能不重要。另一种方法是，可以将联合用药作为一个附加组添加到已经使用单个实体之一进行的 JAS 中。这可以消除对联合用药产品进行单独试验的必要性。

术语

增强的围产期发育毒性试验 (ePPND)：该试验设计基于生物制品 NHP 经验，是一项 PPND 试验，其中包含了新生仔和幼仔而非胎仔的胚胎-胎仔发育 (EFD) 试验的要素。

幼龄：在形态和功能方面尚未完全成熟的出生后阶段

先用于儿科：先用于儿科开发是指，当药物开发用于儿科患者之前，对于任何适应症没有任何成人临床资料。

儿科专用：儿科专用开发是指所开发适应症仅用于儿科特有的适应症（例如，新生儿呼吸窘迫综合征）。

证据权重：评估来自若干独立来源的信息综合的方法，以确定是否有足够的证据支持儿科临床试验，或者是否建议进行附加的非临床评估以阐述临床无法管理的安全性担忧。

对已有证据的权重取决于诸如数据质量、结果一致性、影响的性质和严重性以及信息的相关性等因素。证据权重法需要使用科学判断，因此，应考虑不同数据源的稳健性和可靠性。

备注

注 1：如果停药期早于成熟期，恢复的能力和特征可能受到某些器官系统持续生长和发育的影响，应予谨慎解释。

注 2：与成年动物相比，幼龄动物的死亡率通常较高。离乳前和离乳时应尽可能限制与试验相关的程序，因为它们可能导致死亡。

注 3：未成熟动物的评估应参照来自于同期对照动物或其他参考背景数据的年龄匹配的对照数据（例如体重、临床病理学、器官重量、组织学）。这一点对于计划外的评估终点尤为重要。通常在开始给药之前不筛选 JAS 动物，因此，幼龄动物的异常背景率可能与成年动物毒性试验中使用相同年龄动物的不同。

注释 4：由于生长迅速，骨骼长度的频繁评估对于生长的“短暂”影响，对于适当的效力具有挑战性，并且提供的价值有限。对给药结束时的数据进行评估更有用。单纯降低体重增重的影响不一定是对生长的影响。

注 5：器官重量数据应结合生长背景进行评估。例如，如果生长受到限制，那么大多数器官的绝对重量与体重成比例地下降；然而，一些器官对生长影响的敏感性不一样。

参考文献

1. ICH E11 Guideline: Clinical Investigation of Medicinal Products in the

Paediatric Population; 2017

2. ICH M3 Guideline: Guidance on Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals; 2009.

3. ICH S5 Guideline: Detection of Toxicity to Reproduction for Medicinal Products and Toxicity to Male Fertility; 2000

4. ICH S6 Guideline: Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals; 2011

5. ICH S9 Guideline: Nonclinical Evaluation for Anticancer Pharmaceuticals; 2009

附录 A：各种属器官系统的年龄依赖性发育的概述

这些表格反映了不同种属器官系统发育的高度概述，显示了毒理学试验常用种属与人类相比，在发育时间和相对持续时间之间的相似性和差异。特殊的里程碑包括出生、固体食物摄入、离乳、青春期和成年期。这些表格旨在帮助评估已有非临床数据的相关性，以及 JAS 的动物种属选择、起始年龄和给药持续时间。这些汇总表基于对当前知识的总结，但并不全面。文献中的种属特异性和/或器官系统的综述可以提供额外的细节，并且应该针对每种具体情况进行讨论咨询。

图 A.1: 人类器官系统的年龄依赖性发育

| 系统 | 一般考虑 | 新生儿 (<1个月) | 首次固体食物 (约6个月) | 离乳/幼儿 (约2岁) | 青春期 (约11-15岁) | 成年 (18岁以上) |
|-----|---|------------|---------------|-------------|---------------|------------|
| 表皮 | <ul style="list-style-type: none"> 关键的新生儿功能 (屏障、水和体温调节、电导、感觉) 随后体表酸化、局部微环境和免疫功能逐渐完善 | | | | | |
| 心血管 | <ul style="list-style-type: none"> 关键的新生儿生理性过渡 (肺和全身血管阻力) 适应性心肌和血管变化 离子通道逐渐增加 | | | | | |
| 胃肠道 | <ul style="list-style-type: none"> 出生时具有功能, 并适应性变化 (特别是第一年), 以适应饮食/复杂性和微生物定植 | | | | | |
| 肾 | <ul style="list-style-type: none"> 肾发生在出生时完成 第一年GFR和肾脏功能持续完善 | | | | | |
| 肝胆 | <ul style="list-style-type: none"> 在出生时结构已发育完善 代谢功能逐渐增强, 尤其是在6个月以上至1岁时 | | | | | |
| 肺 | <ul style="list-style-type: none"> 第一年肺泡和表面积持续增加 | | | | | |
| 免疫 | <ul style="list-style-type: none"> 随着时间和环境的变化, 继发性免疫组织的逐渐增加和免疫记忆的发展 | | | | | |
| 内分泌 | <ul style="list-style-type: none"> 大多数腺体在出生时已发育良好, 对生长至关重要 肾上腺皮质网状带和性腺在儿童后期/青春期早期扩大 | | | | | |
| 生殖 | <ul style="list-style-type: none"> 睾丸在出生时下降, 由生殖细胞、支持细胞和睾丸间质细胞组成 2-4月龄时“迷你青春期”, 儿童后期肾上腺功能初现 随后青春期开始时出现生殖变化, 并持续至成年 | | | | | |
| 神经 | <ul style="list-style-type: none"> 序贯和逐步发育, 直至成年 出生时最大神经元数和脑/体重比, 出生后细胞凋亡、减少和迁移 出生时具有髓磷脂和神经胶质细胞 神经递质和传导系统以不同速度成熟 (即阿片受体/代谢、GABA、5-羟色胺和去甲肾上腺素不同) | | | | | |
| 骨骼 | <ul style="list-style-type: none"> 生长盘在出生时出现 最快速的出生后生长发生在4岁以前, 缓慢生长至童年, 主要由GH和TH介导 性激素驱动的青春期末生长迅速 生长板在青春期/成年早期闭合 | | | | | |

| | |
|--|-----------------------------------|
| | 功能和结构生长发育的主要时期 |
| | 结构发育完成, 生长和/或功能成熟的活跃期 |
| | 持续生长缓慢或功能完善; 也可反映青春期前的生殖组织的相对静止状态 |
| | 结构和功能完全成熟 |

图 A.2: 大鼠器官系统的年龄依赖性发育

| 系统 | 一般考虑 | 新生仔 (约PND 1-10) | 首次固体食物 (约PND 15) | 离乳 (PND 21-25) | 青春期 (雌性约PND35, 雄性约 PND42) | 成年 (约PND70) |
|-----|--|--------------------|---------------------|-------------------|---------------------------------|----------------|
| 表皮 | <ul style="list-style-type: none"> 关键新生仔功能 (屏障、水液和体温调节、电导、感觉) 前2周龄前表皮较厚 出生后附件和毛发发育 PND 21时结构上类似于成人 PND 35-42出现性别二态性 | | | | | |
| 心血管 | <ul style="list-style-type: none"> 关键的新生仔生理过渡 (肺和全身血管阻力) 适应性心肌和血管变化 心肌细胞和离子通道逐渐增加至PND21天 | | | | | |
| 胃肠道 | <ul style="list-style-type: none"> 出生时不成熟, 缺乏功能性胃酸和胰酶产生, 直至PND14 高度可渗透的近端小肠可完整吸收完蛋白质 出生后第3周适应性变化, 以适应饮食的变化 | | | | | |
| 肾 | <ul style="list-style-type: none"> 出生时肾发生未完成 前3-5周GFR和肾功能逐渐完善 | | | | | |
| 肝胆 | <ul style="list-style-type: none"> 出生时结构不成熟 在前4周组织化肝素和肝板逐渐发育, 并且代谢功能提高 | | | | | |
| 肺 | <ul style="list-style-type: none"> 出生时囊形 前2-3周出现肺泡 | | | | | |
| 免疫 | <ul style="list-style-type: none"> 随着时间和环境的变化, 继发性免疫组织的逐渐增加和免疫记忆的发展 一般于PND45之后评估TDAR | | | | | |
| 内分泌 | <ul style="list-style-type: none"> 大多数腺体在出生时已发育良好, 对生长至关重要 | | | | | |
| 生殖 | <ul style="list-style-type: none"> 出生后第3周间质细胞产生雄激素减少的时期, 其为生殖细胞和支持细胞扩张所必需 保持生殖变化, 青春期开始时 (出生后第5-7周) 出现性别二态性 | | | | | |
| 神经 | <ul style="list-style-type: none"> 嗅球、视网膜/眼、小脑、海马体和大脑皮层的结构成熟发生于出生后 神经元计数和脑重系数在PND7最大, 具有大量的出生后细胞凋亡、修剪和迁移 出生时没有髓磷脂 神经递质和传导系统以不同的速度成熟 (即阿片受体/代谢、GABA、5-羟色胺和去甲肾上腺素不同) | | | | | |
| 骨骼 | <ul style="list-style-type: none"> 出生后至成年期间快速生长 长骨生长板结构不明显, 直至PND 14-21, 并直至成年才闭合 | | | | | |

图 A.3: Beagle 犬器官系统的年龄依赖性发育

| 系统 | 一般考虑 | 新生仔 (<3周) | 首次固体食物 (约3周) | 离乳 (约8周) | 青春期 (雄性约5-8个月, 雌性约6-12个月) | 成年 (>约12个月) |
|-----|---|-----------|--------------|----------|---------------------------|-------------|
| 心血管 | <ul style="list-style-type: none"> 关键的新生仔生理过渡 (肺和全身血管阻力) 适应性心肌和血管变化 约2-4个月龄心脏神经支配 从1周龄到6月龄时血压显著升高, 心率下降 | | | | | |
| 胃肠道 | <ul style="list-style-type: none"> 与人类的相似; GIT在出生时就完全形成 (功能在出生到断奶期间初步发育) 胃与人类所见相似 出生时胃肠道完全形成 (功能发育主要在出生和离乳之间) | | | | | |
| 肾 | <ul style="list-style-type: none"> 出生时肾脏在结构和功能上不成熟 约2周龄肾发生完成 出生后酸碱平衡发育 出生前浓缩能力发育 | | | | | |
| 肝胆 | <ul style="list-style-type: none"> 约1周龄时肝结构成熟 胆汁分泌功能在出生时未完全成熟 (4-6周龄时为成年值的30-70%) | | | | | |
| 肺 | <ul style="list-style-type: none"> 被认为是儿科人群肺毒性试验的可接受模型 | | | | | |
| 免疫 | <ul style="list-style-type: none"> 免疫组织在出生时或出生后不久大部分结构上成熟 免疫系统的发育与人类非常相似, 但是胎盘转运的IgG很少 来自母体的IgG主要在出生后24h内通过初乳转运 胸腺出生后快速生长, 1-2月龄时达到最大尺寸 | | | | | |
| 生殖 | <ul style="list-style-type: none"> 出生时睾丸下降未完成, 5-6周龄时发生 雄性在约7-8月龄达到性成熟 雌性在约8-12月龄时达到性成熟 | | | | | |
| 神经 | <ul style="list-style-type: none"> 12-16周龄时认知能力快速发育, 18-28日龄为学习能力的的关键发育期 新生 (原始) 反射大约在PND 28消失 出生后功能性运动发育 (约3周龄站立, 第一个月快速发育) | | | | | |
| 骨骼 | <ul style="list-style-type: none"> 长骨骨化 (伴骨化中心出现) 主要发生于出生后1-10周 最快速的长骨生长在5月龄前完成, 并在青春期持续慢速生长 | | | | | |

图 A.4：小型猪器官系统的年龄依赖性发育

| 系统 | 综合考虑要点 | 新生儿 (<1个月) | 首次固体食物 (约2周) | 离乳 (约4周) | 青春期 (雄性约3/4个月, 雌性约4/5个月) | 成年 (>约6个月) |
|-----|---|---------------|-----------------|-------------|--------------------------------|---------------|
| 表皮 | <ul style="list-style-type: none"> 关键新生儿功能 (屏障、水液和体温调节、电导、感觉) 发育与人类相似 | | | | | |
| 心血管 | <ul style="list-style-type: none"> 关键新生儿生理性过渡 (肺和全身血管阻力) 适应性心肌和血管变化 发育与人类相似 | | | | | |
| 胃肠道 | <ul style="list-style-type: none"> 约4周龄达到成熟 人类胃发育的模型 | | | | | |
| 肾 | <ul style="list-style-type: none"> 出生后约3周肾单位形成 约3月龄时功能成熟 | | | | | |
| 肝胆 | <ul style="list-style-type: none"> 出生时结构和功能不成熟 约4周龄时达到成年的外观, 3-4月龄时功能完全 | | | | | |
| 肺 | <ul style="list-style-type: none"> 出生时肺充分发育 1-2周龄时肺泡发生, 并在2周龄内完成 | | | | | |
| 免疫 | <ul style="list-style-type: none"> 出生时几乎无功能 大约4周龄时解剖学完全发育 为人类免疫发育模型 | | | | | |
| 生殖 | <ul style="list-style-type: none"> 性成熟: 雄性约 3-4月龄, 雌性约4-5月龄 | | | | | |
| 神经 | <ul style="list-style-type: none"> 发育主要在妊娠晚期至产后早期 6月龄时神经系统发育完成 新生猪大脑发育与人新生儿类似 出生时神经肌肉系统功能比人类更成熟 | | | | | |
| 骨骼 | <ul style="list-style-type: none"> 出生后至成年快速发育; 18月龄骨髓生长板闭合 约24月龄时完全发育成熟 | | | | | |

图 A.5: 食蟹猴器官系统的年龄依赖性发育

| 系统 | 综合考虑要点 | 新生仔 (<1个月) | 首次固体食物 (约3个月) | 离乳 (约6个月) | 青春期 (约3-4岁) | 成年 (约4岁) |
|-----|---|------------|---------------|-----------|-------------|----------|
| 表皮 | <ul style="list-style-type: none"> 出生时具有功能(屏障、水液和体温调节、电导、感觉)并有毛发和附件 | | | | | |
| 心血管 | <ul style="list-style-type: none"> 关键的新生仔生理性过渡(肺和全身血管阻力) 适应性心肌和血管变化 心肌细胞扩张至3月龄, 然后逐渐生长 | | | | | |
| 胃肠道 | <ul style="list-style-type: none"> 出生时具有功能, 并适应性变化特别是第一年, 以适应饮食/复杂性和微生物定植 | | | | | |
| 肾 | <ul style="list-style-type: none"> 肾发生在出生时完成 前6个月GFR和肾功能逐渐完善 | | | | | |
| 肝胆 | <ul style="list-style-type: none"> 出生时结构已发育完善; 代谢功能逐渐增强, 特别是前3-6个月 | | | | | |
| 肺 | <ul style="list-style-type: none"> 出生时结构成熟, 并逐渐发育 | | | | | |
| 免疫 | <ul style="list-style-type: none"> 随着时间和环境的变化, 继发性免疫组织的逐渐增加和免疫记忆的发展 | | | | | |
| 内分泌 | <ul style="list-style-type: none"> 大多数腺体在出生时已发育良好, 且对生长至关重要 肾上腺皮质网状带在3-6月龄扩张(肾上腺功能初现) 性腺的内分泌功能在青春期增强 | | | | | |
| 生殖 | <ul style="list-style-type: none"> 睾丸在出生时下降, 由生殖细胞、支持细胞和间质细胞组成 卵泡发育和闭锁从3-6月龄开始 随后的生殖变化(初潮和首次遗精)发生在青春期开始, 并持续至成年 | | | | | |
| 神经 | <ul style="list-style-type: none"> 序贯和逐步发育至成年 出生后细胞凋亡、减少和迁移, 在离乳前最突出 出生时具有髓磷脂和神经胶质细胞 神经递质和传导系统以不同的速度(即5-羟色胺和去甲肾上腺素不同) | | | | | |
| 骨骼 | <ul style="list-style-type: none"> 生长板在出生时出现 最快速的出生后生长发生在离乳前, 然后生长缓慢, 直至成年期生长板闭合 | | | | | |

图 A.6: 大鼠和人类个体发育的比较

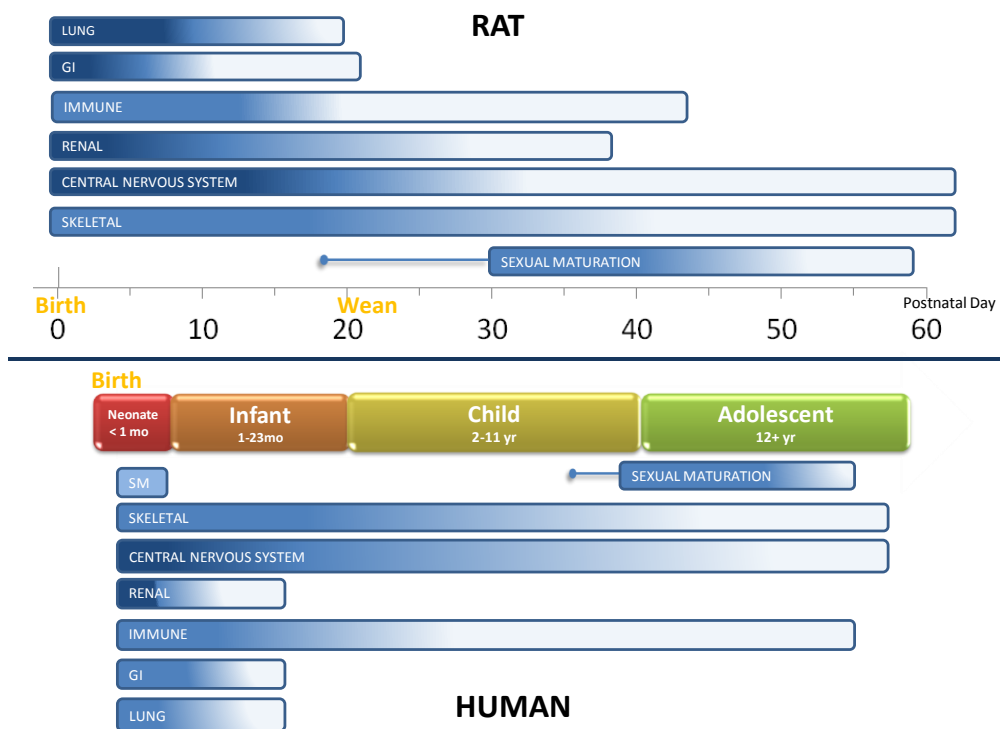


表 A1. 幼龄动物研究中各种哺乳动物的主要优缺点

| 种属 | 优点 | 缺点 |
|----|--|---|
| 大鼠 | <ul style="list-style-type: none"> • 幼龄动物试验经典种属，具有广泛的历史对照资料 • 几个相对一致的发育里程碑（一般生长、包皮分离/阴道张开、青春期） • 常用于一般毒理学试验（成年动物）和生殖毒性试验 • 身体尺寸大小使得可在出生后第 1 周开始进行大多数操作/给药 • 窝大小使得可将幼仔分配至不同的终点 • 发育时间短（约 10 周）使得可在短期内包含大量的终点 • 发育时间短使得可纳入大型动物由于发育时间长而难以观察的终点（如 FOB、发育神经毒性、免疫毒性、生育力/繁殖） • 发育时间短（约 10 周）使得可纳入非标准终点（FOB、发育神经毒性、免疫毒性、生育力/繁殖） • 体型小，所需受试物少 • 运输、饲养和管理相对容易 • 幼仔和母体易于哺育 | <ul style="list-style-type: none"> • 体型小，代谢率高，生长迅速，导致一般状况的快速衰退和死亡 • 一些器官系统与人相比在出生时发育少（特别是 CNS、肺、肾、胃肠道和免疫系统；眼未睁开，直至 PND 12~14） • 由于胃肠道未发育成熟，在离乳前阶段给予口服药物的 ADME 特征往往难以转化至人 • 发育时间短使得难以鉴定不同的脆弱窗口 • 常规血样通常于试验结束时收集，尤其是离乳前 • 很容易成为非常大的试验，因为大多数终点或采样需要专门的幼仔群体 |

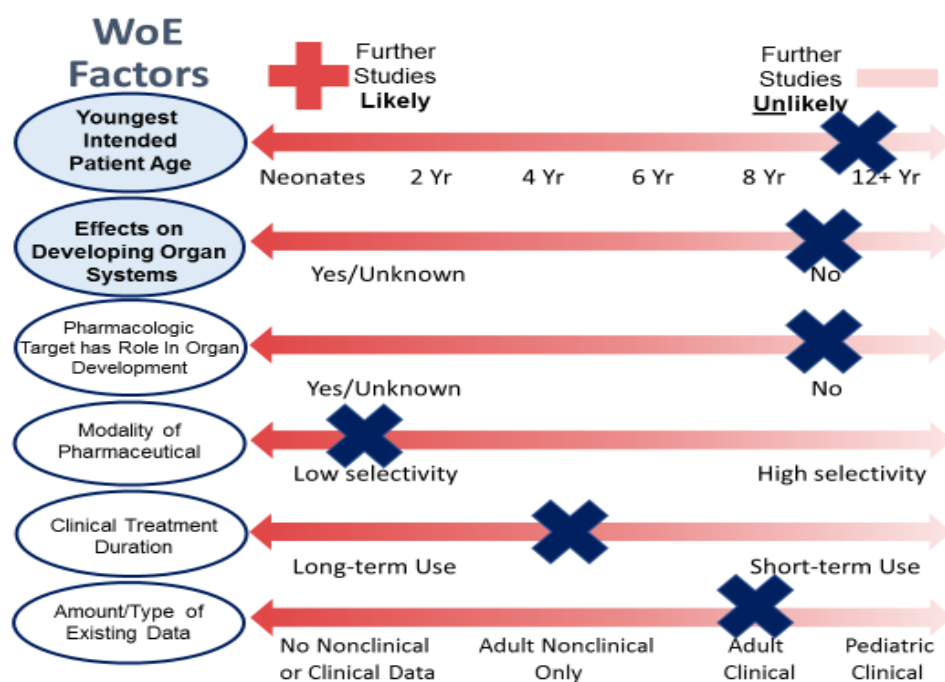
| | | |
|-------|---|--|
| | <ul style="list-style-type: none"> 容易获得相同出生后时间段的大量幼仔 | |
| 小鼠 | <ul style="list-style-type: none"> 总体与大鼠相似，一些差异使得小鼠对于特定器官系统更合适 已有许多遗传修饰模型 | <p>与大鼠相似，另外还有以下缺点：</p> <ul style="list-style-type: none"> 出生后早期可进行的操作或给药比大鼠少 每个终点或采样需要专门的幼仔群体，可能需要样本集合 历史对照信息少于大鼠 |
| 犬 | <ul style="list-style-type: none"> 常用于一般（成年动物）毒理学试验 出生时体型相对较大 相对容易处理 窝大小使得可将幼仔分配至不同的终点 幼仔可以与母体分离数小时 繁殖可提前计划 | <ul style="list-style-type: none"> 发育期长（约 7-14 月达到性成熟，约 18-24 月达到骨骼成熟）并且具有可变的发育里程碑 出生时需要母体照顾（即眼睛直至出生后约 2 周才睁开） 窝大小和性别分布变异大可能使得难以以组间最小偏差进行试验（遗传/窝效应、性别分布） 有限的历史背景数据，特别是非标准终点 生长与发育的个体间变异明显 季节性繁殖（供应和试验开始跨越数周或数月） 不易于哺育 与啮齿类动物相比体型大，需要大量的受试物 |
| 小型猪/猪 | <ul style="list-style-type: none"> 很多发育里程碑与人类相似 出生时相对体型较大 相对容易处理 可以提前计划繁殖 | <ul style="list-style-type: none"> 与犬或 NHP 毒理学种属相比，历史对照数据不完善 在围产期内被动转移母体 Ig 需要初乳 |

| | | |
|---------------------------------|--|--|
| | <ul style="list-style-type: none"> • 窝大小允许将仔猪分配至不同的终点 • 易于交叉哺育 • 窝大小相对大使得可平衡性别分布 • 对于口服药物，新生幼仔的胃肠道类似人 • 所有给药途径均可行（吸入除外）；皮肤试验的最佳模型 • 发育期相对较短（约 6-9 个月） • 与其他大型非啮齿类动物相比，运输和饲养相对容易 | <ul style="list-style-type: none"> • 体型大，需要相当大量的受试物 • 在非常年幼的仔猪中，静脉给药和灌胃给药具有挑战性 |
| <p>非人类灵长类动物（食蟹猴；恒河猴和狨猴，当可行时</p> | <ul style="list-style-type: none"> • 许多发育里程碑与人类相似 • 新生仔/婴仔的胃肠道、免疫系统、心血管、肾脏和特殊感觉（眼睛、耳）发育与人类相似 • 猕猴出生时体型较大 • 从出生开始有大量的参考数据 • 常用于一般毒理学试验（成年动物）和生殖毒性试验（如 ePPND），尤其是生物制品 • 通常是针对高度靶向治疗的药理学最相关动物模型 | <ul style="list-style-type: none"> • 发育期长（猕猴约 3-6 岁性成熟，约 5-8 岁骨骼成熟）使得一个增强的幼龄试验以涵盖所有发育阶段不可行 • 猕猴只有单幼仔，生长和发育个体间变异性高 • 狨通常有双胞胎，并且在离乳前阶段需要其父母的照顾；子代体型相对较小 • 子代在第一个月高度依赖母亲照顾（推荐最小干预措施；离乳前操作和给药具有母体排斥的风险），并且前 3-6 个月与母体共生活；具有运输和检疫要求使得采用 <9 月龄的幼仔开始试验时几乎不可行 |

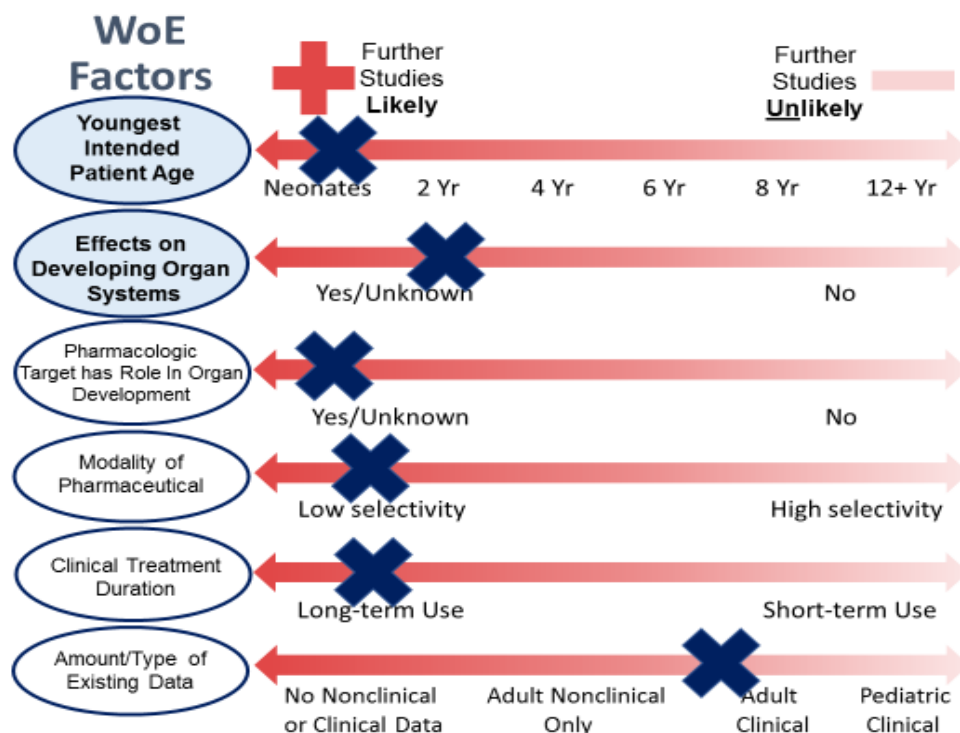
| | | |
|------|---|---|
| | | <ul style="list-style-type: none"> • 新生 NHP 在肌肉骨骼、CNS、内分泌和呼吸系统方面比人类新生儿早熟 • 无法同步繁殖（季节性繁殖者如恒河猴的供应和试验跨越数周或数月） • 伦理保留（需要强有力的理由使用幼龄 NHP 进行毒性试验） |
| 兔 | <ul style="list-style-type: none"> • 发育时间短（约 5-6 个月），体型小，所需的受试物量较少 • 相对容易处理 • 常用于生殖毒性试验；也可用于眼部给药，评估骨骼生长 • 窝大小使得可将幼仔分配至不同的终点 • 相对容易运输和饲养 | <ul style="list-style-type: none"> • 与其他非啮齿类种属相比，发育里程碑了解少 • 一般毒理学试验（成年动物）不常规使用/普通接受 • 经处理的幼仔可能会引起同类相食或母亲遗弃 |
| 其他种属 | <p>基于药理学和毒理学相关的原因可考虑其他种属。替代的哺乳动物试验系统的例子包括仓鼠、豚鼠、树鼩、雪貂、猫、绵羊和山羊。优点往往是种属和方案特异性的，但往往反映在遗传或疾病模型种属的使用中，或者当有数据支持特异性终点的解释和转化性时。</p> <ul style="list-style-type: none"> • 发育里程碑了解不如大鼠、小鼠、犬、小型猪/猪和 NHP • 一般毒理学试验（成年动物）不常规使用/普遍接受 • 有限的历史对照毒理学数据 • 使用有限（特殊适应症模型如心衰） • 许多在围产期需要初乳以被动转移母体 Ig • 有目的繁殖的动物和合适的实验室饲养的可获得性有限 | |

附录 B: 证据权重法应用的案例

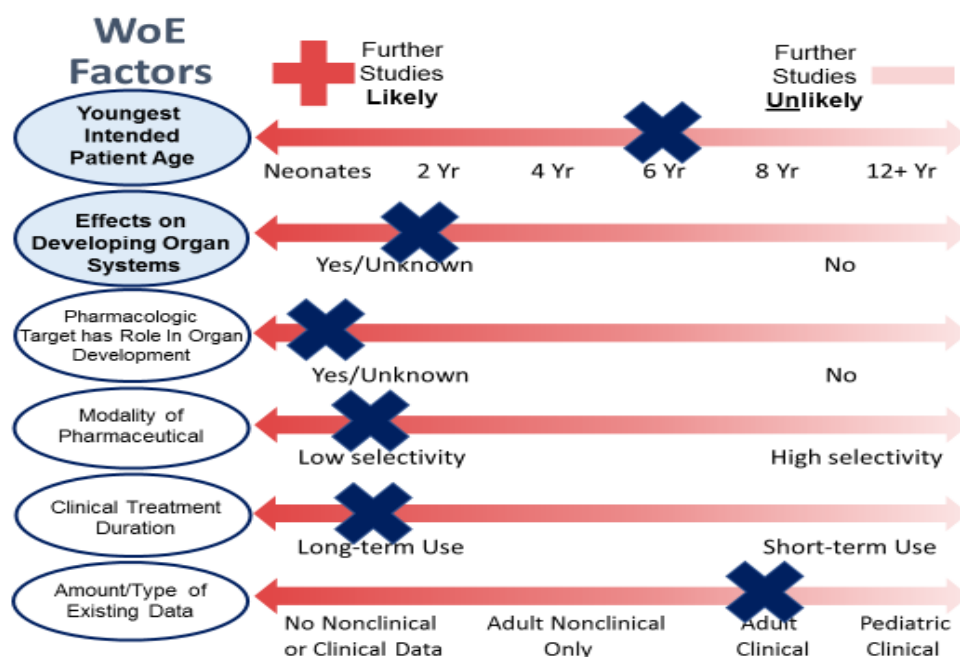
A. 小分子, 药理学已知, 已有成人临床和非临床资料, 包括重复给药毒试验资料。这些资料中未提示对于拟用儿科人群 (12 岁及以上) 一个月的临床治疗期, 对发育中器官具有安全性担忧。WoE 分析提示不需要进行附加的非临床试验。



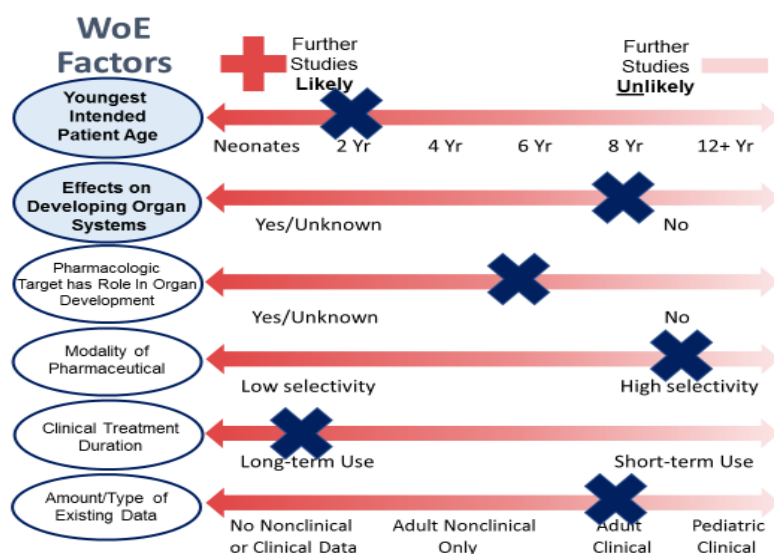
B. 小分子，具有新作用机制，拟从新生儿或婴儿开始长期用药，仅有有限的 1 期临床和非临床安全性数据，这些数据未确定明显的安全性担忧，对发育中的器官系统有潜在的药理作用。WoE 分析表明进一步的非临床试验，例如一个加上基于发育中靶器官的附加终点的核心 JAS，是有用的。



C.小分子, 药理学已知, CNS 发育的关键作用已良好表征, 拟对儿童(6岁及以上)长期用药, 具有非临床和成人临床数据。对发育中 CNS 潜在影响的担忧无法通过临床上的监测和管理进行阐述。现有数据已充分阐述对其他发育中系统的影响。WoE 分析认为, 一个离乳后 JAS 试验, 包含核心终点和限于 CNS 的附加终点(包括详细的临床观察、行为评估、学习和记忆评估以及扩大的神经病理学检查), 是有必要的。



D. 单克隆抗体，靶向可溶性细胞因子，拟用于儿童 (> 2 岁) 风湿病和过敏性疾病，长期应用。唯一的发现是可逆性的血清 Ig 减少和偶尔的注射部位反应（在动物和成人患者中）。在猴 ePPND 试验中，在 PND28 时子代暴露与亲代相当，并且在 PND 28 和 PND56 时检测到降低的药物 Ig 水平。T 细胞依赖性抗体反应 (TDAR) 结果与对照组相似（出生后 3~6 个月）。WoE 分析提示 JAS 不必要。

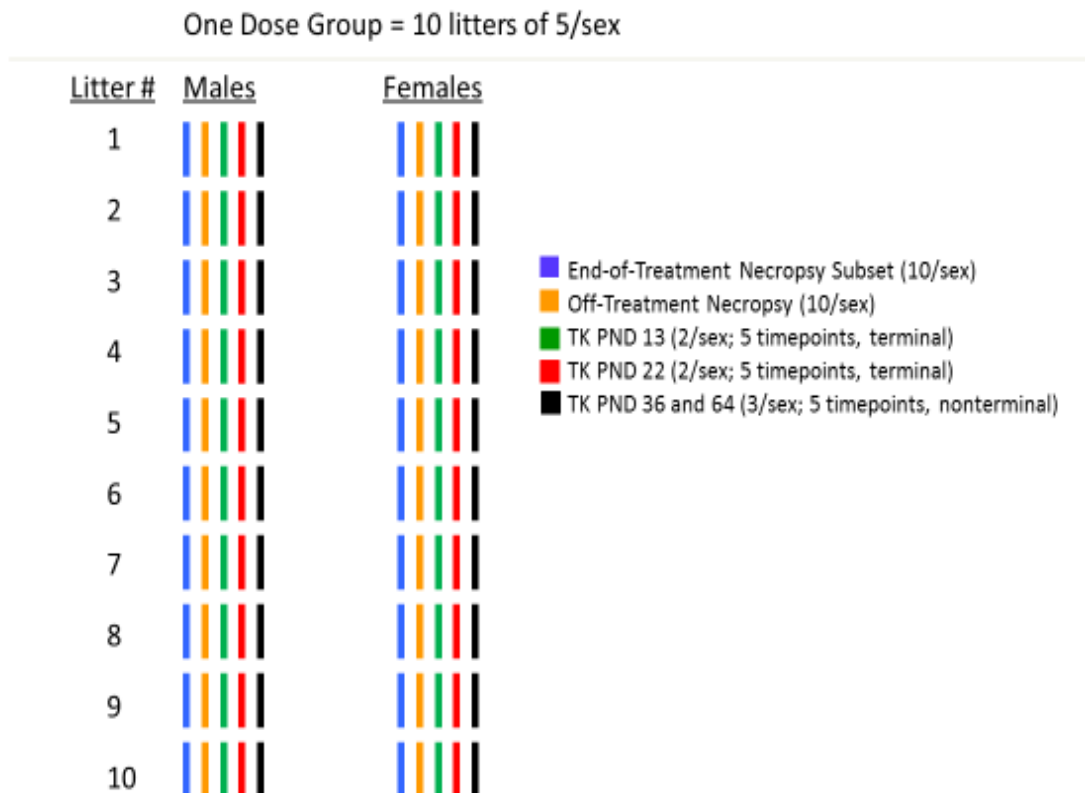


附录 C：啮齿类动物离乳前窝分配方法的案例

自然窝+整窝组别分配+窝内部终点亚组分配

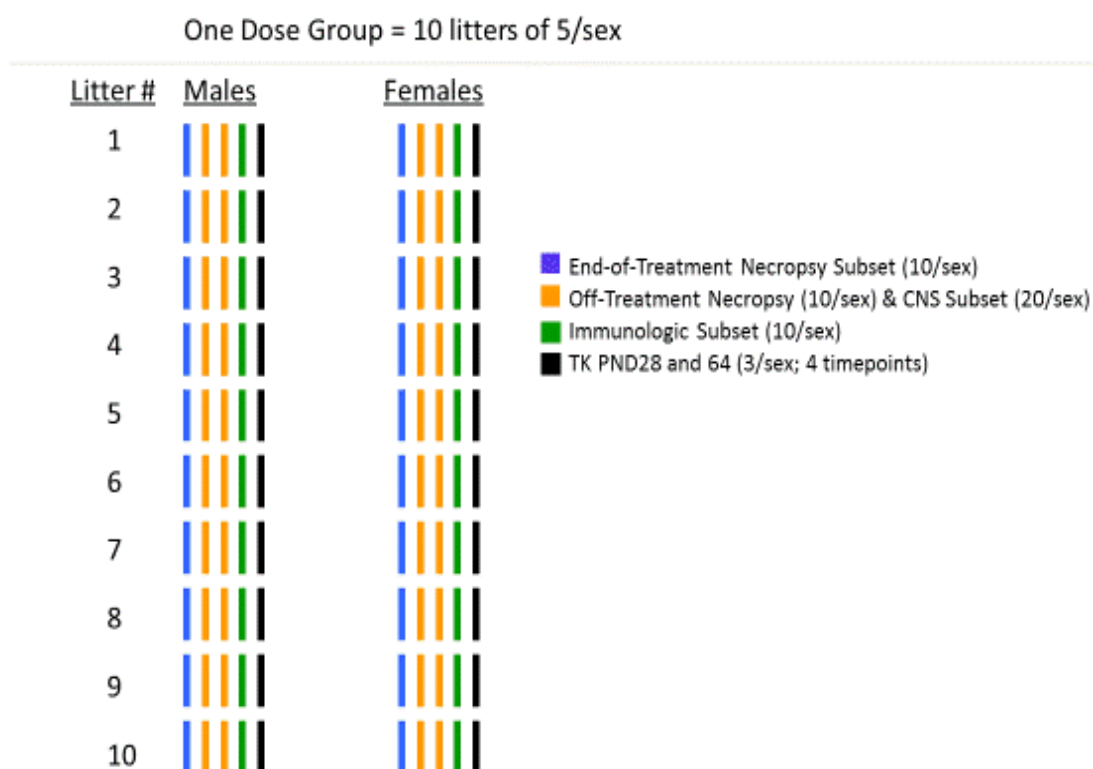
在离乳前阶段开始的 JAS 提出了独特的要求，试验应设计以减少与遗传和母体哺育、同窝幼仔相关的潜在混杂因素。这可以通过如何构建窝以及如何将它们分配至剂量组，然后分配到终点的亚组来实现。在这种方法中，子代与它们的自然母亲放置在一起，并以性别比例均衡的方法剔除至所需的窝仔数。必要时，尽量减少供应试验所需的窝数，只有很小比例的幼仔由其他窝哺育。此处，Wistar Han 大鼠窝剔除至每窝幼仔 10 只，每窝含 5 只雄性和 5 只雌性（平均自然窝大小约为 11 只）。然后将整窝分配到同一剂量组，每个剂量组分配 10 窝。子代以窝内方式任意分配给特定终点的亚组，即每个剂量组中的每窝雌雄各 1 只幼仔分配至特定终点。整窝分配的优点是同窝幼仔接受相同的剂量水平，因此交叉污染的风险较低，并且混合了高剂量和对照组子代争夺哺乳位置和时间的变异。而且，使幼仔与遗传学母亲在一起和以窝内方式分配至终点指标，可确保遗传、母亲护理和同窝效应均匀分布。

示例 A：



对于示例 A，确定性 JAS 设计包括核心评估以及对停药/恢复期尸检的唯一附加评估。对于给药结束时的尸检亚组，幼仔被分配至 1 只/性别/窝，n=10 只/性别/亚组，该亚组也检测性发育、临床病理学、长骨长度。基于剂量范围试验数据进行频繁采集 TK 样本，其中 PND13 和 PND22 天（包含终末期采样）两个亚组 1 只/性别，非终末期的离乳后 TK 采样为 1 只/性别。微量采样可尽可能减少减少动物的使用数量。在这种情况下，从 PND7 时开始给药，首次给药后的第一次 TK 采样将从随机化后可用的单独母亲的窝中收集，因为窝和母体混杂因素与单次给药 TK 评估无关。

示例 B:



对于示例 B，确定性 JAS 设计包括核心评估和停药/恢复期尸检、完整的中枢神经系统（CNS）评估和免疫评估的附加评估，从 PND 9 至 PND 63 给药。尸检（以及扩大神经病理学）和免疫学（TDAR）亚组从每窝中分配 1 只/性别/窝，n=10 只/性别；对于 CNS 检测（临床观察、行为学、学习和记忆）亚组 2 只/性别/窝，其中的一半还用于停药后尸检以避免需要额外动物；1 只/性别/窝用于离乳后 TK（连续取样）。首次给药后的 TK 采样将从随机化后可用的单独母亲和窝中采集，因为混杂因素与单次给药 TK 评估无关。