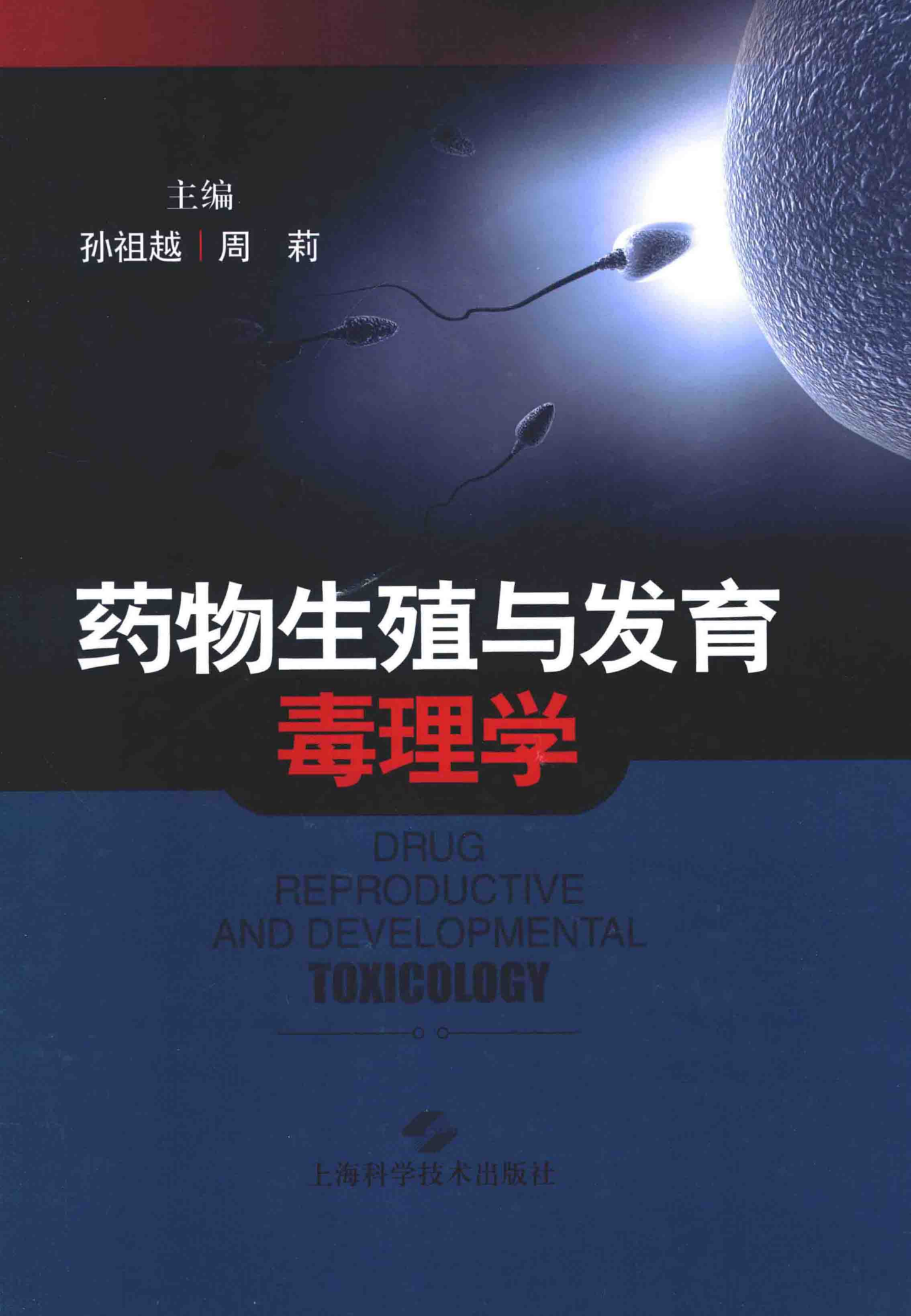




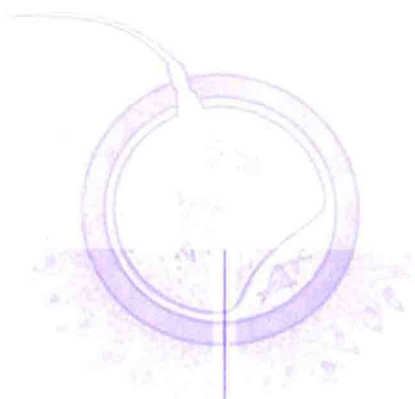
主编
孙祖越 | 周 莉

药物生殖与发育 毒理学

DRUG
REPRODUCTIVE
AND DEVELOPMENTAL
TOXICOLOGY



上海科学技术出版社



药物生殖与发育 毒理学

主编

孙祖越 周 莉



上海科学技术出版社

图书在版编目(CIP)数据

药物生殖与发育毒理学 / 孙祖越,周莉主编. —上海: 上海科学技术出版社, 2015. 1

ISBN 978 - 7 - 5478 - 2476 - 4

I. ①药… II. ①孙… ②周… III. ①生殖器官—毒理学②发育—毒理学 IV. ①R322②R99

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2014)第 274739 号

药物生殖与发育毒理学

主编 孙祖越 周 莉

上海世纪出版股份有限公司 出版
上海科学技术出版社

(上海钦州南路 71 号 邮政编码 200235)

上海世纪出版股份有限公司发行中心发行

200001 上海福建中路 193 号 www. ewen. co

上海中华商务联合印刷有限公司印刷

开本 889×1194 1/16 印张 32 插页 4

字数 790 千字

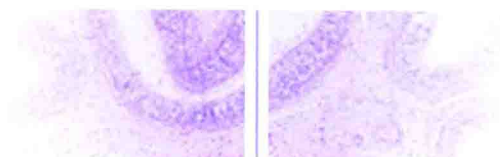
2015 年 1 月第 1 版 2015 年 1 月第 1 次印刷

ISBN 978 - 7 - 5478 - 2476 - 4/R • 836

定价: 348.00 元

本书如有缺页、错装或坏损等严重质量问题, 请向工厂联系调换

内 容 提 要



本书是一部原创性专著,是孙祖越研究员及其团队多年来宝贵工作经验和研究成果的积累。

本书系统翔实地介绍了药物生殖与发育毒理学研究的基础知识和理论、常用技术和研究方法、成功技巧和变通原则、规范性要求等,与国外药物生殖与发育毒理学研究全面接轨。同时,针对药物生殖与发育毒理学研究中实验方案的制订、实验过程的实施、相关标准操作规程和总结报告的撰写等做了描述,并创新性地增加了药物生殖与发育毒理学非临床研究评价体系中,各生殖发育阶段伴随毒代动力学实验模型的评价方法和实验报告,其中一些实验系统模型是首次被公开,具有较高的学术价值,填补了我国药物生殖与发育毒理学领域系统性专著缺乏的空白,更是满足了国家“十二五”规划“重大创新药物创制”中“建立符合国际新药研究规范的临床前安全评价技术平台”的需要,可促进我国药物生殖与发育毒理学研究及药物非临床安全性评价水平的整体提高。

本书可作为从事药物开发、生殖与发育毒理学理论研究和药物安全性评价的科技工作者以及药理和毒理学研究人员的指导用书,也可供药品监管部门行政和技术人员借鉴。

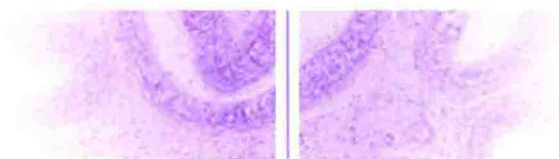
主编
孙祖越



主编
周莉



主编介绍



孙祖越 医学博士,上海市计划生育科学研究所研究员、副总工程师,中国生育调节药物毒理检测中心(世界卫生组织人类生殖研究合作中心)主任,复旦大学药学院博士生导师。荣获中共上海市委组织部、上海市人力资源和社会保障局授予的“上海领军人才”,享受国务院颁发的政府特殊津贴。

学科专业: 药理毒理学;科研方向: 前列腺疾病药理毒理学研究、药物生殖药理毒理学和药物非临床安全性评价。2000—2013 年间,主持并完成科技项目 222 项,其中主持国家和省部级科研项目 15 项。

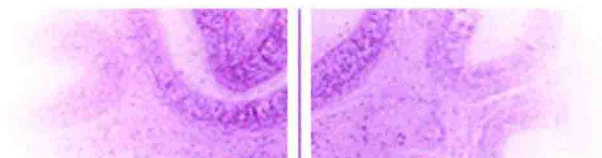
荣获上海市科学技术进步奖二等奖 2 项、三等奖 1 项,中国实验动物学会科学技术奖二等奖 1 项,中国药学会科技进步奖三等奖 1 项,中国高新技术、新产品博览会科技新产品银奖 1 项。申请科技专利 21 项,其中已授权 15 项、发明专利 8 项。发表论文 235 篇;主编学术专著 6 部。

周 莉 医学博士,上海市计划生育科学研究所研究员,中国生育调节药物毒理检测中心(世界卫生组织人类生殖研究合作中心)副主任,药理毒理学研究组副组长,复旦大学药学院硕士生导师。

学科专业: 药理毒理学;科研方向: 前列腺疾病药理毒理学研究、药物生殖药理毒理学和药物非临床安全性评价。主持药理毒理学研究项目 110 余项,其中省部级课题 2 项;作为副组长,主持国家“十二五”规划科技重大专项 1 项;主要参与国家级和部委级课题研究 6 项。

荣获上海市科技进步奖三等奖 1 项,中国实验动物学会科技进步奖二等奖 1 项,中国药学会科技进步奖三等奖 1 项。申请专利 8 项,其中发明专利 3 项、授权 7 项(其中 3 项排名第一)。发表论文 76 篇;出版学术专著 3 部。

作者名单



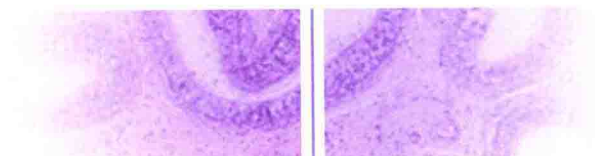
主 编
孙祖越 周 莉

副主编
吴建辉

编写者
(按照姓氏笔画排序)
马爱翠 王 永 刘 絮 刘向云 许 丽
闫 晗 苏 欣 严大为 严建燕 陈 颖
孟 祥 贾玉玲 黄冬妍

绘 图
徐斯翀 崇立明

前言



20 世纪的科技革新一方面造就了工业复兴,延长了人类寿命,提高了人们生活质量;但另一方面也带来了大量化学品,特别是药品,给人类的生殖系统带来了一系列的危害,甚至是灾难。

药物生殖与发育毒理学是一门研究药物对雌性和雄性生殖系统及其功能活动产生毒副作用和作用机制的科学,是毒理学的重要分支之一,属于特殊毒理学研究范畴,是药物进入临床研究或上市销售前不可缺少的重要环节。目前,药物生殖与发育毒理学研究已成为全世界关注的热点。

近 20 年来,我们一直在药物生殖与发育毒理学研究和药物非临床安全性评价等方面不断耕耘,工作中获得了一些心得体会,在不断学习和积累的过程中,也领略了国外药物生殖与发育毒理学的前沿理念和先进技术。因此,我们希望借此机会在本书中全面介绍国内外药物生殖与发育毒理学领域的前沿发展动态、具体研究策略和技术方法,总结我们二十年来的工作经验和科研成果,以促进我国药物生殖与发育毒理学研究和药物非临床安全性评价水平的提高。

本书在遵循国内及国际上药物研发指导原则的基础上,针对从事生殖与发育毒理学研究、新药安全性评价的人员及药物研发者的实际需求,并依从我国 GLP 规范,将药物生殖与发育毒理学研究内容,规范化地展示于各生殖与发育阶段伴随毒代动力学试验的试验方案和总结报告中。在全面介绍药物生殖与发育毒理学发展史、基础知识和理论、常用技术和方法、安全性评价规范性要求、成功技巧和变通原则、研究进展的同时,侧重介绍实验方案的制订、实验过程的实施、标准操作规程执行和总结报告等,以求在突出指导性和可操作性的基础上,体现本书的学术价值。

纵观本书,概括起来,具有以下特点。

1. 全面、系统。本书针对国外药物生殖与发育毒理学研究的前沿动态,从药物生殖与发育毒理学发展、基础理论和发展趋势入手,全面、系统地介绍国内外药物生殖与发育毒理学研究的新理念、新技术、新方法及相关专业领域的实践操作方法,强调药物非临床生殖与发育毒理评价过程中的真实性、规范性、科学性和创新性。

2. 理论与实际结合。本书注重理论与实际相结合,前沿理念技术与现行最佳实践操作方法相

结合,偏重于与国外药物生殖与发育毒理学研究全面接轨,强调对国外药物生殖与发育毒理学研究的新理念、新技术和新方法的通盘把握,并结合我国实际适当地引用和借鉴,做到具体问题具体对待。

3. 介绍前沿技术。首次在药物生殖与发育毒理学非临床安全性评价过程中纳入了各个阶段伴随毒代动力学试验的方法和报告案例,特别是重点描述了药物透过血睾屏障、胎盘屏障和血乳屏障的现象。

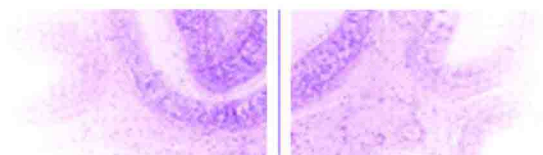
4. 满足国家的需要。本书是对现行新药非临床安全性评价指导原则的补充,力求满足国家“十二五”规划“重大创新药物创制”中“建立符合国际新药研究规范的临床前安全评价技术平台”重大专项的需要,提升我国药物生殖与发育毒理学研究的整体水平。

由于我们的专业水平有限,加上编写时间仓促,书中难免会存在不妥和错误之处,敬请专家和读者不吝批评指正!

孙祖越 周 莉

2014年11月15日

目 录



第一章

药物生殖与发育毒理学发展史 / 1

- 一、药物生殖与发育毒理学学科的萌芽 / 2
- 二、药物生殖与发育毒理学学科的形成 / 2
- 三、药物生殖与发育毒理学学科的发展 / 7
- 四、药物生殖与发育毒性研究的规范 / 8

第二章

药物生殖与发育毒理学研究的基础知识和理论 / 13

- 第一节 生殖系统解剖学 / 14
- 第二节 生殖系统生理与生化学 / 39
- 第三节 生殖系统内分泌学 / 55
- 第四节 生殖系统毒性病理学 / 71
- 第五节 生殖系统的药代动力学和毒代动力学 / 87
- 第六节 生殖系统常见毒性反应及其发生机制 / 99

第三章

药物生殖与发育毒理学研究的常用技术和方法 / 117

- 第一节 主要概念和术语 / 118
- 第二节 常见实验技术和操作方法 / 124

- 一、实验动物的抓取和给药方法 / 124
- 二、实验动物的合笼交配、妊娠判别和动情周期检查 / 129
- 三、亲代动物观察和终末检查 / 132
- 四、剖宫检查、黄体计数 / 135
- 五、胎仔检查 / 138
- 六、内脏和骨骼检查 / 140
- 七、发育、反射、平衡和学习记忆活动检查 / 143
- 八、采集血液和羊水 / 145
- 九、组织病理学检查 / 148

第三节 药物生殖与发育毒性试验方法 / 151

- 一、药物生殖与发育毒性试验指导原则的基本要求 / 151
- 二、制订试验方案 / 161
- 三、试验结果的解释 / 175
- 四、实验报告的要求 / 197

第四节 统计学分析 / 202

第四章

药物生殖与发育毒理学研究案例 / 213

第一节 生育力与早期胚胎发育毒性试验伴随毒代动力学研究 / 215

第二节 大鼠胚胎-胎仔发育毒性试验伴随毒代动力学研究 / 238

第三节 兔胚胎-胎仔发育毒性试验伴随毒代动力学研究 / 279

第四节 围产期毒性试验伴随毒代动力学研究 / 305

第五章

药物非临床生殖毒性评价中的规范性要求和行政检查 / 349

- 一、GLP 的概念及其发展概况 / 350
- 二、各国或地区 GLP 规范的形成及比较 / 353
- 三、QA 和 QC / 355
- 四、实验人员和实验环境条件的检查 / 355
- 五、试验方案的检查 / 357

- 六、试验实施的检查 / 357
- 七、原始记录的检查 / 360
- 八、总结报告的检查 / 361
- 九、档案室的建设和管理 / 362

第六章

药物生殖与发育毒理学研究的成功技巧和变通原则 / 367

- 第一节 如何成功开展药物非临床生殖毒性试验 / 368
- 第二节 药物非临床生殖毒性试验中优选阳性对照药的探索 / 375
- 第三节 药物非临床生殖与发育毒性试验中逐案原则 / 382
- 第四节 生育调节药物非临床安全性评价的特殊性 / 389
- 第五节 药物非临床生殖毒性试验中的真实性、规范性、科学性和创新性 / 394

第七章

生殖器官毒理学研究 / 405

- 第一节 雄性生殖毒性靶器官 / 406
 - 一、睾丸和附睾 / 406
 - 二、输精管和射精管 / 415
 - 三、阴茎及其周围肌群 / 416
 - 四、前列腺和附属腺体 / 417
- 第二节 雌性生殖器官毒理学研究 / 422
 - 一、卵巢和输卵管 / 422
 - 二、子宫和胎盘 / 426
 - 三、阴道和外阴 / 436
 - 四、乳腺和附属腺体 / 437

第八章

药物生殖与发育毒理学研究进展 / 447

- 第一节 研究进展概述 / 448

第二节 新理念与新理论的介绍 / 449

一、药物生殖与发育毒性检测中需注意的问题 / 449

二、生殖与发育毒理学的新理念与新理论 / 450

第三节 新技术与新方法的应用 / 456

第四节 新指标与新生物标志 / 470

附录一 药物生殖与发育毒理学研究相关的社团组织 / 478

附录二 主要监管机构发布的生殖与发育毒理学指导原则 / 479

附录三 各规范性指导原则的网址 / 481

附录四 大鼠胚胎子宫内发育过程 / 482

附录五 常用生殖与发育毒理学研究背景数据 / 491

第一章

药物生殖与发育毒理学发展史

药物生殖与发育毒理学的发展史是人类发展进程中一段令人心酸的历史,每一个事件都记载着人类的心痛。纵观这一岁月长河,可分为萌芽、形成、发展和规范四个阶段。

一、药物生殖与发育毒理学学科的萌芽

我们赖以生存的地球是一个绚丽多姿的生物世界。生殖则是这些生物体最基本的特征之一,更是它们得以繁衍的唯一途径,是使种族延续的各种生理现象的总称。

药物生殖与发育毒理学是毒理学的一个重要分支,是生殖医学与毒理学结合而形成的一门交叉学科,是伴随着人们对人类生殖科学原理认知的逐步深入,以及近现代工业化和医学的发展而兴起的一门新兴学科。

生殖毒理学是在畸胎学基础上发展起来的学科。畸胎学(或出生结构缺陷的研究)作为一个描述性的科学在有文字之前就已经存在了。四大文明古国都有畸胎的记载,最早的记载可以追溯到公元前 6500 年,如土耳其南部的联体婴儿石刻以及澳大利亚悉尼的两头联体胎石刻。此外,在墨西哥和中美洲发现的公元前 500 年至公元 800 年间的畸形(怪胎)雕刻;在埃及发现的可追溯至 5 000 年前的唇腭裂和软骨发育不全的壁画等,这些都反映了自石器时代开始,人类就开始了对于先天畸形的观察和描述。

巴比伦、罗马和希腊人相信异常的婴儿是天体事件和未来预兆的反映,或者是人和动物之间杂交的结果。古代有关先天畸形的文字记载,最早可见于占星术的发源地——巴比伦王国(Babylonia)的居民记录。在底格里斯河附近发掘的公元前 7 世纪的陶器碎片上,用亚述语(Assyria)记录着当时居民中出现的各种先天畸形。在当时占星术极为发达的巴比伦王国,先天畸形儿的出生也与其他自然现象(如水土、气候、星座等)一样,被当作可以占卜命运和预卜未来的现象和因素,因而这一时期对许多人类和动物的先天畸形都有很详尽的描述。

随着 16 和 17 世纪生物科学的兴旺发展,基于科学事实的出生缺陷因果理论开始出现,1649 年,法国外科医生 Ambrois Paré 报道,子宫或羊膜带的狭窄及脐带扭转可能导致出生缺陷。William Harvey 于 1651 年提出了畸形起因于器官或结构的不完全发育的发育障碍学说,来解释除遗传起源以外的所有畸形。现代实验畸胎学开始于 19 世纪初,许多 19 和 20 世纪的胚胎学家,使用各种不同的物理(震动、倒置、针刺)和化学因素处理鸡蛋,从而产生了畸形小鸡,重要的是,他们注意到作用的时间在决定畸形类型方面比损伤的性质更为重要。因此从现存资料看,从这时起生殖毒理学开始萌芽。

二、药物生殖与发育毒理学学科的形成

药物生殖与发育毒理学研究的推动起源于“反应停事件”。在 1961 年以前很少有药物导致人类畸胎发生的证据。

1953 年瑞士诺华制药(Novartis)的前身 Ciba 药厂首先在研制抗生素的过程中合成了沙利度胺(thalidomide,商品名为反应停),但是药理试验显示,沙利度胺没有任何抗菌活性,Ciba 便放弃了对它的进一步研究。在 Ciba 放弃沙利度胺的同时,联邦德国药厂 Chemie Grünenthal 开始投入人力和物力研究其对中枢神经系统的作用,并且发现该化合物具有一定的镇静催眠作用,还能显著抑制孕妇的妊娠反应。1956 年进行临床试验并以商品名 Grippex 在市场试销。该药物抑制中枢神经系统的临床药理作用非常显著,对妊娠呕吐和流感亦有很好的疗效,无明显毒副作用,1957 年获联邦德国专利,并作为无需处方的药物在联邦德国市场畅销之后,相继在 51 个国家以商品名 Distaval、Kevadon、Contergan 等获准销售。

1959 年 12 月,联邦德国儿科医生 Weidenbach 在一次儿科学术会议上首先报告了一例女婴的罕见缺肢畸形,不久另外两位医生又报道了两例新生儿的类似畸形,但均没能引起足够重视。直到 1961 年 12 月,澳大利亚医生 McBride 和联邦德

国医生 Lenz 分别发表论文,指出这类罕见的短(缺)肢畸形在短时间内大量发生与服用药物沙利度胺有关,各国遂陆续停止生产和销售该药。在前后共 4 年的时间内,30 多个国家和地区共报告了“反应停”畸形儿童 1 万余例,成为世界范围流行的先天畸形灾难性事件。

1950 年 Leroux 首先报道了一例因母亲在妊娠期最后一个月使用链霉素(每日 1 g,总剂量 30 g)而引起的婴儿先天性耳聋。随后又陆续有不少关于链霉素或与链霉素结构类似的同族药物(双氢链霉素、卡那霉素)引起的、对第八对脑神经或听觉及平衡器官损害的耳毒性病例。

1971 年,美国医生 Herbst 首先报道孕妇妊娠期间服用己烯雌酚可引起女性后代发生一种相当罕见的生殖道癌——阴道细胞腺癌。随后美国在芝加哥和波士顿相继建立了孕妇服用己烯雌酚登记报告中心,监测孕妇服用己烯雌酚后对其后代的致畸效应和发育危害,并开展了一系列协作研究。对数千名母亲妊娠期间服用己烯雌酚的子代监测结果和几个较大规模的流行病学调查,不仅肯定了妇女妊娠期间服用己烯雌酚会引起其女性后代发生阴道(或子宫)细胞腺癌,而且证实了那些在母体子宫内曾接触过己烯雌酚的妇女,其生殖道的其他畸形和疾病(如阴道腺病和子宫畸形等)也有明显增加。

19 世纪 70 年代初, Jones 等描述了胎儿酒精综合征(FAS),包括面部畸形、宫内和产后生长迟缓、精神运动和智力发育障碍以及其他重大的或轻微的出生缺陷,使人们对乙醇(酒精)的发育毒性有了进一步的了解。此外,孕期吸烟可能引起自然流产、围生期死亡、婴儿猝死综合征危险性增加、学习和行为及注意力障碍、低出生体重等。

2009 年美国疾病控制中心的数据显示,美国每年出生缺陷婴儿大约有 12 万例(与正常婴儿的比例为 1:33),出生缺陷是导致婴儿在出生后第一年死亡的主要原因。这与临床长期使用某些药物(如改善血压、治疗糖尿病和高胆固醇及胃食管反流等的药物)、增加暴露量密切相关。因此,仍需高度重视适龄生育人群用药过程中对

生殖毒性的识别和描述,主要包括生殖毒性风险和发育毒性风险。生殖毒性与药物干扰或影响生殖能力和过程如生育力(男性或女性)、分娩和哺乳等有关。发育毒性则与胎儿有关,包括死亡率、畸形发生(身体结构改变)、生长改变和功能缺陷等。

过去半个多世纪震惊全球的系列中毒或灾难事件,引起了政府、学术界、民众及媒体的高度关注。一次又一次的事件,极其惨痛,在世界范围内提高了人们用药的安全意识,此外,对工作场所职业性生殖危害的了解亦已引起人们对制定企业相关政策和法规的关注,进而推出了一个又一个的规范化实验法规和指导原则。回顾生殖毒理学研究领域中的一系列里程碑事件(图 1-1)和指南的建立,会使我们对药物生殖毒性有更深入的认识。

“反应停”等一系列事件促进了化学致畸的研究以及管理法规的建立。许多国家的管理机构开始研究动物测试方法,并将之与慢性毒性研究分开,以评估药物对妊娠的影响。1966 年美国食品和药品管理局(FDA)提出了三段生殖毒性试验指南,包括对致畸等发育毒性的评价。尽管早就提出了生殖与发育毒性的四大表现,但实际研究中仍将注意力放在了致畸作用上,而忽略了对其他发育毒性的评价。直到 20 世纪 80 年代后期,美国国家环境保护局(EPA)提出可疑发育毒物危险度评价指南,第一次明确提出了对生殖与发育毒性的评价。

大量资料表明,许多生殖系统疾病与工业化学物质有关。高度关注新的化学物质对生殖系统或妊娠结局的不良影响,促进了与生殖、内分泌系统安全相关法律法规的产生和研究方法指南的问世。

伴随着 20 世纪工业复兴,有 5 万~6 万种化学物质在日常生活中被使用,每年约有 600 多种新的化学物质被投入市场。迄今在美国《化学文摘》中登记的化学物质已逾 2 000 万种。表 1-1 和表 1-2 总结了常见药物、化学试剂和感染源等引起的孕期相关的母胎风险。

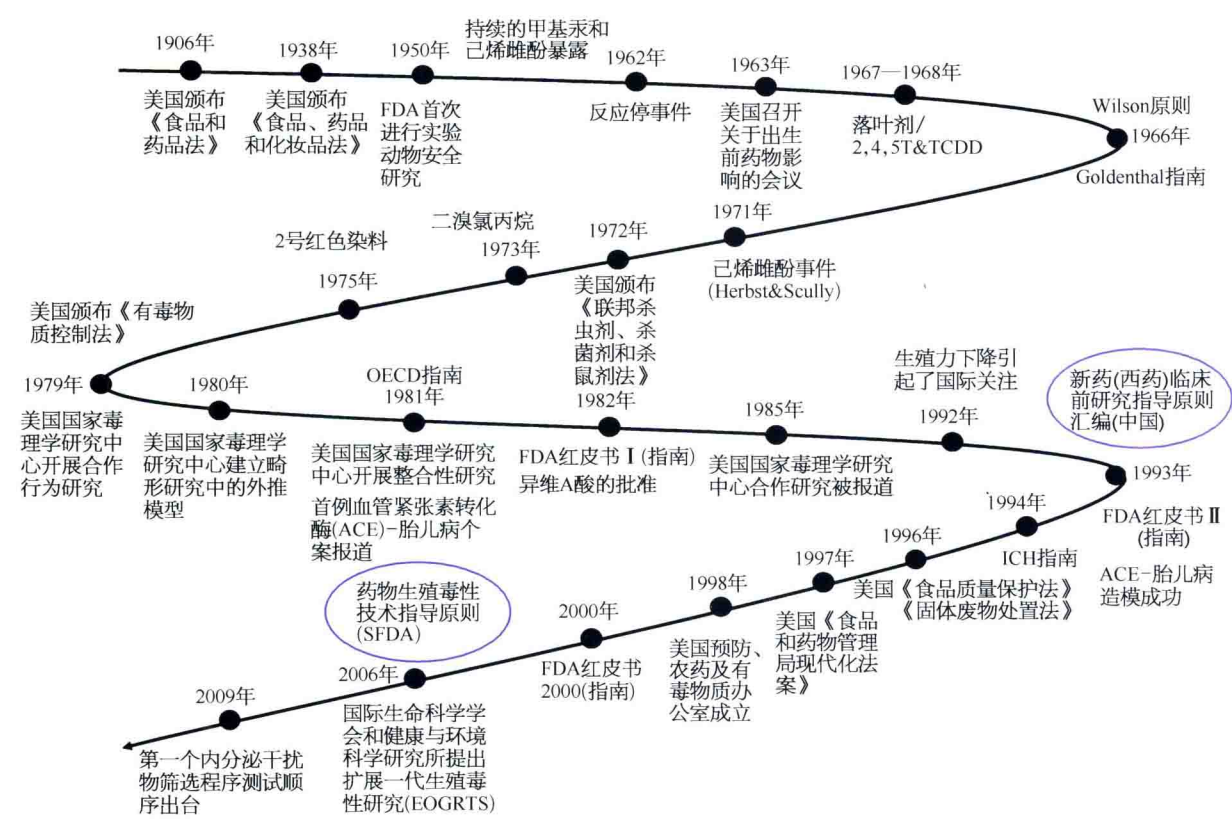


图 1-1 生殖毒理学研究发展过程中一系列里程碑事件及其指导原则产生的纪事

表 1-1 药物和(或)化学制剂引起的母胎风险

药剂、药物、化学制剂	风险等级	胎 儿 影 响	胎 儿 风 险	孕妇风险
处方或非处方药物				
乙醇(酒精)	D/X	胎儿酒精综合征：胎儿宫内发育迟缓(IUGR)，智力障碍(MR)，小头畸形，特殊面容，先天性心脏病(CHD)，关节、骨骼、皮肤缺陷	每日6瓶酒精型饮料有40%的风险发生胎儿酒精综合征	
可卡因	C/X	IUGR，脑梗死，肠闭锁，心脏、四肢、面部、生殖和泌尿系统血管损害	胎儿死亡	胎盘早剥
甲苯	X	甲苯所引起的胚胎病与胎儿酒精综合征相似	孕妇摄入量为常规接触量的10~100倍时发生风险	
抗生素				
四环素类	D	牙釉质发育不全，乳牙着色	风险发生于妊娠中晚期	
链霉素	Dm	听力丧失(在少数病例中存在长时期高剂量的接触)	风险主要发生于妊娠中晚期	
卡那霉素	D			
庆大霉素	C			
万古霉素	Bm			
氟康唑	Cm	短头畸形，腭裂，关节僵硬，CHD	风险发生于妊娠早期	大剂量治疗球孢子菌病
依法韦仑	Cm/D	无脑畸形，脊柱裂	风险发生于妊娠早期	
甲硝唑		没有证据证实使用后存在异常情况		