

国家“十二五”重点图书出版规划项目  
国家科技重大专项“重大新药创制”资助项目

# 药物安全性评价 关键技术

Key Technologies for  
Drug Safety Evaluation

主编◎彭双清 郝卫东

 军事医学科学出版社

# 药物安全性评价关键技术

Key Technologies for Drug Safety Evaluation

主编 彭双清 郝卫东

军事医学科学出版社

·北京·

## 内 容 提 要

本书主要针对我国当前创新药物研发过程中安全性评价存在的难点与现实需求,结合国际、国内相关领域的研究前沿与发展趋势,系统介绍了以支持临床试验为目的的法规毒理学评价研究的技术要点与评价程序,重点介绍了药物发现毒理学的关键技术、新方法和发展前沿动态。既归纳概述了国内外最新研究进展,也融入了作者自身的科研实践与研究成果,涉及药物安全性评价关键技术点多面广,“科学、实用”、指导性强。所有参编人员均为国内从事药物安全性评价相关研究领域的科技骨干。本书可供药物毒理学研究科技工作者、新药研发人员、药学、药理学、卫生毒理学及其他毒理学领域研究人员、药政管理部门及其他健康产品相关管理部门人员参考。

---

### 图书在版编目(CIP)数据

药物安全性评价关键技术 / 彭双清, 郝卫东主编. — 北京: 军事医学科学出版社, 2013.9  
ISBN 978-7-5163-0332-0

I. ①药… II. ①彭…②郝… III. ①药物-安全性-评价  
IV. ①R965.3

中国版本图书馆CIP数据核字(2013)第228247号

---

策划编辑: 孙 宇                      责任编辑: 李 霞  
出 版 人: 孙 宇  
出 版: 军事医学科学出版社  
地 址: 北京市海淀区太平路 27 号  
邮 编: 100850  
联系电话: 发行部: (010) 66931049  
                    编辑部: (010) 66931127, 66931039, 66931104  
传 真: (010) 63801284  
网 址: <http://www.mmssp.cn>  
印 装: 中煤涿州制图印刷厂北京分厂  
发 行: 新华书店

---

开 本: 787mm × 1092mm 1/16  
印 张: 52.5 (彩 5.5)  
字 数: 1203 千字  
版 次: 2013 年 10 月第 1 版  
印 次: 2013 年 10 月第 1 次  
定 价: 198.00 元

---

本社图书凡缺、损、倒、脱页者,本社发行部负责调换

# 前 言

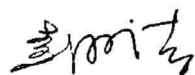
---

药物是用于疾病的诊断、预防或治疗从而给使用者带来有益作用的物质。安全、有效、质量可控是药品的三个基本要素，安全性是决定创新药物研发成败的关键因素。在人类药物研发过程中，由于当时的科学技术水平、药物安评体系的不完善、法规政策的缺失或民众对于药物使用和安全性知识的匮乏等多因素的影响，药物不良反应事件始终伴随着新药研发的进程，人们为药物所致的毒性危害付出了沉重的代价。因此，无论是药物研发机构、还是政府管理部门都对药物安全性予以极大关注。许多国家和地区或组织制定了药物安全性评价的有关法规、条例和技术指导原则，用以规范药物安全性评价程序，保证临床受试者和临床应用患者的用药安全。

药物安全性评价的目的是为了满足临床使用者的安全性和有效性的需要。药物安全性评价活动包括非临床安全性评价、临床安全性评价以及药品上市后的安全性监测与再评价等内容。非临床安全性评价是决定药物能否获得批准上市的必须程序和主要依据之一，也是药物研发过程中资金投入最大、消耗时间最长的研究内容之一。国际药物研发机构已建立了一套行之有效的药物安全性评价策略，将安全性评价贯穿于药物研发的全过程。发现毒理学对新化合物实体进行早期快速毒性筛选，提高候选药物的有效性与选择性。特别是近年发展起来的一系列生物学新技术、新方法、新手段的应用，对药物安全性评价产生了巨大的影响，提高了安全评价的预测性、加快筛选速度、缩短研发周期。以实验动物为主的法规毒理学评价，其研究策略与技术手段也不断得到修正与完善，从而提高药物研发的成功率。我国药物安全性评价工作起步相对较晚，非临床安全性评价主要以实验动物研究为主，药物发现毒理学研究刚刚起步。为此，国家加大了创新药物研发的科技投入，设置了国家科技重大专项“重大新药创制”，扶植建立了一批能依从国际GLP规范的安全性评价技术平台。我们受到国家科技重大专项的资助，承担“药物安全性评价关键技术”项目的研究，其目标是：瞄准国际新药安全性评价发展前沿，着眼安全性评价技术难点与客观需要，开展药物发现毒理学的研究，从早期靶毒性效应的筛选、新模型载体的建立以及毒理“组学”新技术的应用等几个方面着手，建立早期、灵敏、快速、可靠的药物安全性评价的新技术、新方法和新模型，提高药物安全性评价的准确性，从而使我国新药安全性评价技术达到国际先进水平。迄今为止，国内尚没有一本系统介绍药物安全性评价关键技术

的专著。为了推广已有的学术成果，我们联合国内同仁，在作者多年科研工作的基础上，收集归纳国内外最新研究资料，编写了这本《药物安全性评价关键技术》。期待该专著的出版对于推动我国药物安全性评价研究水平起到积极的作用。

全书共二十四章，主要针对我国当前创新药物研发过程中安全性评价存在的难点与现实需求，结合国际、国内相关领域的研究前沿与发展趋势，构建涵盖药物非临床安全性评价全过程的基本要点与关键技术。除了系统介绍以支持临床试验为目的的法规毒理学评价研究的技术要点与评价程序外，重点对药物发现毒理学的关键技术及其发展趋势进行了全面系统介绍。第一章简要概述了药物安全性评价的目的与意义、评价程序与主要内容、规范与技术要求，以及关键技术的研究现状与发展趋势；第二至八章分别介绍了一般毒性、特殊毒性（光安全性、过敏性）、主要靶器官毒性（肝脏）和靶系统毒性（心血管、免疫、生殖发育系统）的评价要点与技术规范；第九章、第十章分别对遗传毒性和致癌性评价进行详述；第十一章至十五章主要涉及多系统、多靶位毒性评价的技术方法与内容，包括毒性病理学技术、毒性生物标志物筛选、线粒体毒性评价、药物相互作用以及安全药理学评价等内容；第十六章至二十三章分别论述了当前发现毒理学的新技术、新方法与发展前沿动态，主要涉及细胞三维培养、分子成像、高通量与高内涵筛选、清醒动物遥测、毒理组学以及计算毒理学技术，同时还包括毒性筛选评价新载体（人胚胎干细胞、模式生物斑马鱼）的应用；第二十四章概述了21世纪毒性测试策略对药物毒理学研究的影响及其远景。本书是编者集体劳动的结晶，所有参编人员均是国内从事药物安全性评价相关研究领域的科技骨干。既归纳概述了国内外最新研究进展，同时也融入了作者自身的科研实践与研究成果。本书主要面向药物毒理学研究科技工作者，可供新药研发人员、药学、药理学、卫生毒理学以及其他毒理学领域研究人员参考；还可供药政管理部门及其他健康产品相关管理部门制定相应政策时参考。药物安全性评价关键技术涉及面十分广泛，同时国内外技术发展迅速，编者虽已尽全力，但因水平与时间所限，难免书中疏漏与缺点所在，恳请读者不吝赐教。



2013年10月于北京

# 目 录

第一章 药物安全性评价概述	1
第一节 概述	3
一、基本概念	3
二、目的与意义	4
第二节 评价程序与内容	5
一、安全性评价的阶段性与内容	5
二、药物发现毒理学	5
三、法规毒理学研究	7
第三节 规范与技术要求	8
一、优良实验室管理规范 (GLP)	8
二、技术指导原则	9
第四节 关键技术与发展趋势	12
一、关键技术与替代模型	12
二、药物毒性测试新策略	14
三、发展趋势	14
第二章 一般毒性评价	17
第一节 概述	19
一、概念	19
二、目的和意义	19
三、评价策略	20
第二节 评价规范与技术要求	22
一、国内规范与技术要求	22
二、国际规范与技术要求	23
第三节 评价要点与原则	26
一、一般原则要求	26
二、动物品种的选择	26
三、剂量选择和给药途径	28
第四节 一般毒理学评价方法	29
一、急性毒性试验 / 重复给药筛选试验	29
二、重复给药毒性试验	30

第五节	生物技术药物评价要点	32
第六节	实验方案主要内容	33
第七节	发展趋势与展望	36
<b>第三章</b>	<b>肝脏毒性评价</b>	<b>39</b>
第一节	概述	41
第二节	毒性表现与作用机制	41
一、	肝脏组织结构与功能	41
二、	肝脏对毒物损伤的易感性	42
三、	药物肝毒性的类型	43
四、	药物肝毒性的主要机制	46
第三节	主要评价技术与方法	48
一、	应用整体动物	49
二、	体外评价方法	52
三、	“组学”技术的应用	57
第四节	发展趋势与展望	58
<b>第四章</b>	<b>心血管毒性评价</b>	<b>61</b>
第一节	概述	63
第二节	心血管的生理学基础	63
一、	心脏的结构与功能	63
二、	血管的结构与功能	66
第三节	毒性表现与作用机制	67
一、	心脏的毒性表现与作用机制	67
二、	血管的毒性表现与作用机制	69
第四节	心血管毒性评价方法	73
一、	电生理学技术	73
二、	生物标志物	80
三、	细胞模型	81
四、	动物模型	86
五、	血管毒性评价	89
<b>第五章</b>	<b>光安全性评价</b>	<b>95</b>
第一节	概述	97
一、	概念	97
二、	光安全性评价的意义	97

第二节 评价规范和策略	98
一、考虑因素	98
二、评价策略	99
三、注意事项	101
第三节 光毒性（光刺激性）评价	102
一、动物模型	102
二、眼部光毒性评价	104
三、体外 3T3 细胞中性红摄取光毒性试验	105
四、人皮肤重建模型	106
五、活性氧检测	107
六、光毒性红细胞溶血试验	107
第四节 光变态反应性（光敏性）评价	108
一、豚鼠模型	108
二、光—局部淋巴结试验（photo-local lymph node assay）	108
第五节 光遗传毒性评价	111
一、体外光遗传毒性试验	111
二、体内光遗传毒性试验	113
第六节 光致癌性评价 -SKH1（hr/hr）albino hairless mouse 模型	114
一、原理与意义	114
二、试验步骤	114
第七节 发展趋势与展望	114
<b>第六章 过敏反应评价</b>	<b>119</b>
第一节 概述	121
一、概念	121
二、认识过程	121
第二节 过敏反应类型及生物学基础	122
一、I 型过敏反应	123
二、II 型过敏反应	123
三、III 型过敏反应	123
四、IV 型过敏反应	124
五、类过敏反应	124
六、药物过敏反应的临床特点	125
第三节 过敏反应评价的规范要求	126
第四节 体内动物致敏性试验	127
一、主动全身过敏试验（active systemic anaphylaxis, ASA）	128



二、主动皮肤过敏试验 ( active cutaneous anaphylaxis, ACA )	129
三、被动皮肤过敏试验 ( passive cutaneous anaphylaxis, PCA )	130
四、豚鼠最大化试验 ( guinea pig maximization test, GPMT )	131
五、局部封闭斑贴试验 ( buehler test, BT )	133
六、皮肤划痕试验 ( scratched skin test )	133
七、开放式表皮试验 ( open epicutaneous test )	134
第五节 体内替代皮肤致敏试验	134
一、小鼠耳廓肿胀试验 ( mouse ear swelling test, MEST )	135
二、非侵入性小鼠耳廓肿胀试验 ( non-invasive mouse ear swelling test )	135
三、小鼠局部淋巴结试验 ( local lymph node assay, LLNA )	136
四、改良的小鼠局部淋巴结试验 ( modified local lymph node assay )	136
五、腠窝淋巴结免疫细胞试验 ( popliteal lymph node assay, PLNA )	138
第六节 体外替代致敏性试验	138
一、树突细胞检测法	139
二、朗格汉斯细胞检测法	139
三、人髓样白血病细胞系检测法	140
四、角质形成细胞检测法	140
五、朗格汉斯细胞 / 树突样细胞与 T 细胞的共培养检测法	140
六、朗格汉斯细胞 / 树突样细胞与角质形成细胞共培养检测法	140
七、人工表皮 / 皮肤模型	141
八、肽反应试验	141
九、预测致敏性的 QSAR 技术	142
第七节 发展趋势和展望	143
<b>第七章 免疫毒性评价</b>	<b>149</b>
第一节 概述	151
一、免疫系统概述	151
二、免疫毒性概念	151
第二节 原则与要求	152
一、原则	152
二、免疫毒性评价流程	156
第三节 一般免疫毒性	157
一、血液学和生物化学	157
二、大体病理和器官重量	159
三、组织病理学检查	160
四、应激相关改变的解释	161

第四节	体液免疫毒性	161
一、	空斑形成细胞试验	162
二、	绵羊红细胞 ELISA 试验	163
三、	钥孔戚血蓝素 ELISA 试验	163
四、	TDAR 试验数据的解释	164
第五节	固有免疫毒性	164
一、	补体活性评价	164
二、	吞噬细胞功能评价	166
三、	自然杀伤细胞活性评价	168
四、	免疫细胞表型检测	170
五、	淋巴细胞增殖试验	171
六、	细胞因子检测	173
第六节	细胞免疫毒性	173
一、	细胞毒性 T 淋巴细胞试验	174
二、	迟发型超敏反应试验	174
第七节	宿主抵抗力	174
第八节	发育免疫毒性	175
一、	针对发育过程的特殊考虑	175
二、	评价策略	176
三、	评价方法	177
四、	研究设计和说明	177
第九节	总结与展望	178
一、	现状总结	178
二、	展望	179
<b>第八章</b>	<b>生殖发育毒性评价</b>	<b>185</b>
第一节	概述	187
一、	概念	187
二、	评价目的及意义	187
三、	基本原则	187
第二节	研究规范与要求	188
一、	我国研究指导原则	188
二、	ICH 研究指导原则	189
三、	美国 FDA 研究指导原则	190
四、	指导原则的应用要求	190
第三节	生育力与早期胚胎发育毒性评价	191
一、	概述	191

二、评价方法·····	191
三、结果分析与评价·····	192
第四节 胚胎-胎仔发育毒性评价·····	194
一、概述·····	194
二、评价方法·····	194
三、结果分析与评价·····	195
第五节 围产期毒性评价·····	196
一、概述·····	196
二、评价方法·····	197
三、结果分析与评价·····	198
第六节 非人灵长类生殖发育毒性评价·····	199
一、物种选择要求·····	199
二、NHPs 发育特点及应用·····	200
三、ICH 指导原则要求·····	200
四、生育力和早期胚胎发育毒性评价·····	201
五、胚胎-胎仔发育毒性评价·····	202
六、围产期发育毒性评价·····	203
第七节 毒性试验的整合策略·····	204
一、整合研究的优点·····	204
二、试验设计要求与可行性分析·····	205
三、整合需要考虑的问题·····	205
第八节 替代评价技术与方法·····	206
一、ECVAM 验证试验·····	207
二、斑马鱼模型·····	209
三、体外雌激素受体转录激活试验·····	209
四、转基因动物模型·····	210
五、其他新技术方法·····	211
第九节 存在问题与发展趋势·····	213
<b>第九章 遗传毒性评价·····</b>	<b>217</b>
第一节 概述·····	219
一、概念·····	219
二、遗传损伤类型及后果·····	219
三、评价目的及意义·····	221
第二节 相关指导原则·····	221
一、国际指导原则·····	221
二、我国指导原则·····	224

第三节 药物杂质遗传毒性评价指导原则	225
一、概述	225
二、ICH 指导原则	226
三、EMA 遗传毒性杂质限度指导原则	228
第四节 评价方法	231
一、细菌回复突变试验	231
二、微核试验	235
三、染色体畸变试验	238
四、小鼠淋巴瘤 (L5178Y) 细胞胸苷激酶位点 ( <i>tk</i> ) 突变试验	242
五、单细胞凝胶电泳试验	245
六、程序外 DNA 合成试验 (UDS)	246
七、果蝇伴性隐性致死试验 (SLRL)	248
八、姐妹染色单体交换 (sister chromatid exchange, SCE) 试验	250
九、DNA 加合物检测	251
十、转基因动物致突变试验	253
第五节 高通量的药物初筛试验	254
一、Green Screen HC Gadd45 $\alpha$ -GFP 遗传毒性试验	254
二、Ames II 试验 (Ames II test)	256
三、微核流式细胞术	257
四、高通量的彗星试验	258
第六节 发展趋势与展望	259
一、分子生物学技术方法应用于遗传毒性的筛选	259
二、高通量技术方法应用于遗传毒物的筛选	259
三、遗传毒性体外替代筛选方法的建立与验证	260
四、试验结果的科学解释和组合试验策略的优化	261
<b>第十章 致癌性评价</b>	<b>265</b>
第一节 概述	267
一、化学致癌机制	267
二、化学致癌物分类	272
三、药物致癌性评价目的及评价方法	275
第二节 ICH 致癌性评价指导原则	277
一、必要性指导原则 S1A	278
二、致癌试验指导原则 S1B	280
三、致癌试验剂量选择指导原则 S1C (R2)	281
第三节 动物致癌试验	284
一、啮齿类动物长期致癌试验	284

二、哺乳动物短期致癌试验·····	287
三、啮齿类致癌试验结果的外推·····	288
第四节 转基因动物的应用·····	292
一、基因工程小鼠模型·····	293
二、基因工程小鼠致癌试验设计·····	297
第五节 致癌性体外评价方法·····	298
一、细胞转化试验·····	298
二、缝隙连接细胞间通讯的测定·····	301
三、细胞增殖试验·····	305
四、细胞周期分析·····	307
五、DNA 甲基化的检测·····	308
第六节 毒物基因组学的应用·····	310
一、非遗传毒性致癌物及相关致癌机制研究·····	310
二、动物短期实验预测致癌性·····	310
三、不同致癌机制与致癌性预测·····	311
<b>第十一章 安全药理学·····</b>	<b>315</b>
第一节 概述·····	317
一、概念·····	317
二、发展概况·····	318
第二节 相关指导原则·····	319
一、国际相关指导原则·····	319
二、我国相关指导原则·····	321
第三节 试验原则与设计·····	322
一、基本原则·····	322
二、实验设计的基本要求·····	323
三、主要研究内容·····	325
四、数据处理与结果评价·····	326
第四节 中枢神经系统·····	326
一、FOB 及 Irwin 试验·····	326
二、自发活动·····	329
三、抓力测定试验·····	331
四、协调平衡运动试验·····	331
五、小鼠睡眠协同试验·····	332
第五节 心血管系统·····	332
一、离子通道与 hERG·····	333
二、在体心电图·····	334

三、离体心室楔形模型 (perfused ventricular wedge) .....	335
第六节 呼吸系统 .....	336
一、体积描记法 .....	336
二、呼吸感应体积描记法 .....	336
第七节 其他系统 .....	337
一、泌尿 / 肾脏系统 .....	337
二、自主神经系统 .....	337
三、胃肠系统 .....	337
四、其他系统 .....	337
<b>第十二章 药物相互作用 .....</b>	<b>341</b>
第一节 概述 .....	343
一、概念 .....	343
二、基于药物代谢酶的药物相互作用 .....	344
第二节 药物代谢与处置 .....	345
一、ADME 性质研究 .....	345
二、药物代谢酶 .....	352
三、孕烷 X 受体 .....	355
四、PXR 对 CYP3A 转录调控 .....	356
第三节 评价规范与要求 .....	368
一、一般策略 .....	368
二、体内实验设计 .....	369
三、研究人群 .....	370
四、底物和药物的选择 .....	370
五、给药途径 .....	371
六、给药剂量 .....	372
七、药物代谢酶的确认 .....	372
八、CYP 酶抑制作用的体外评价 .....	372
九、CYP 酶诱导作用的体外评价 .....	373
十、P-gp 底物和抑制剂的体外实验 .....	374
十一、双向转运实验确定药物是否是 P-gp 的底物 .....	374
十二、潜在 P-gp 诱导药物的确定 .....	374
第四节 药物相互作用评价技术 .....	375
一、体外评价技术 .....	375
二、体内评价技术 .....	375
三、预测方法 .....	377
第五节 发展趋势与展望 .....	378

<b>第十三章 线粒体毒性评价</b> .....	<b>383</b>
第一节 概述.....	385
一、研究概况.....	385
二、线粒体毒性评价的意义.....	385
三、国内外相关指导原则.....	386
第二节 线粒体生物学特性.....	390
一、形态与结构.....	390
二、主要功能.....	391
三、线粒体 DNA .....	393
第三节 线粒体损伤与靶器官毒性.....	395
一、线粒体损伤的特征.....	395
二、线粒体功能紊乱与细胞死亡.....	397
三、靶器官线粒体毒性.....	398
第四节 线粒体毒性作用机制.....	403
一、脂肪酸 $\beta$ 氧化障碍 .....	404
二、ATP 合成障碍 .....	405
三、膜电位丧失.....	407
四、氧化应激.....	409
五、细胞凋亡或坏死.....	410
六、离子稳态紊乱.....	412
第五节 评价内容与方法.....	413
一、线粒体的分离和提取.....	413
二、线粒体形态与结构观察.....	414
三、线粒体氧化应激.....	414
四、线粒体呼吸功能.....	415
五、线粒体能量代谢.....	417
六、线粒体膜功能.....	417
七、线粒体 DNA 损伤 .....	418
八、线粒体生物合成.....	419
九、相关细胞与动物模型.....	419
十、实时高通量评价方法.....	421
第六节 结语与展望.....	422
<b>第十四章 毒性病理学技术</b> .....	<b>425</b>
第一节 概述.....	427
第二节 临床病理学技术.....	427
一、核心内容与规范要求.....	428

二、技术手段·····	431
三、靶器官毒性指标·····	439
四、数据分析与毒理学意义·····	447
第三节 组织病理学·····	448
一、检查程序及技术要求·····	449
二、常见病理损伤与自发性病变·····	454
三、病理学数据解释与报告撰写·····	464
第四节 分子病理学技术·····	465
一、核酸原位杂交技术·····	466
二、原位 PCR 技术·····	466
三、免疫组化技术·····	467
四、显微切割技术·····	468
五、新型显微成像技术·····	469
六、组织芯片技术·····	470
七、组织交叉反应试验·····	471
八、数字病理成像·····	472
第五节 发展趋势与展望·····	473
一、病理诊断的规范化与标准化·····	473
二、建立实验动物毒性病理诊断数据库·····	473
三、组织病理学与分子病理学相互交叉融合·····	473
四、毒性分子标志物的发现与病理学的交叉与融合·····	474
五、动物替代模型的确立与病理学的发展·····	474
<b>第十五章 毒性生物标志物·····</b>	<b>477</b>
第一节 概述·····	479
一、概念·····	479
二、分类·····	479
三、作用与意义·····	480
第二节 生物标志物的发掘技术·····	481
一、“组学”技术·····	481
二、荧光标记物·····	482
三、分子成像·····	483
四、核磁共振·····	483
五、纳米技术·····	484
六、生物信息学·····	484
第三节 毒性生物标志物研究现状·····	485
一、基因组学生物标志物·····	485



二、蛋白质组学生物标志物·····	487
三、代谢组学生物标志物·····	487
四、药物安全性生物标志物研究联盟·····	488
第四节 靶器官毒性生物标志物·····	490
一、心脏毒性·····	491
二、肝脏毒性·····	494
三、肾脏毒性·····	496
四、神经毒性·····	499
五、其他靶器官·····	501
第五节 发展趋势与展望·····	504
一、新毒性生物标志物的发现·····	504
二、新毒性标志物发掘技术的研究·····	505
三、新毒性生物标志物的验证·····	505
四、毒性生物标志物的联合应用·····	506
五、展望·····	506
<b>第十六章 细胞三维培养技术·····</b>	<b>509</b>
第一节 概述·····	511
一、概念·····	512
二、细胞 3D 培养的优点·····	512
三、细胞 3D 培养的分类·····	512
第二节 细胞 3D 培养技术内容·····	513
一、细胞 3D 培养体系的构成·····	513
二、3D 组织模型的构建·····	514
三、细胞 3D 培养系统·····	514
四、细胞 3D 培养的支架材料·····	515
五、细胞 3D 培养生物反应器·····	516
六、3D 细胞加载装置·····	518
第三节 基本要求及影响因素·····	519
一、基本要求·····	519
二、影响因素·····	520
三、存在的问题·····	522
第四节 常用细胞 3D 培养模型·····	522
一、自发性细胞聚集·····	522
二、基质覆盖培养·····	523
三、旋转烧瓶培养·····	523
四、微载体培养·····	523