

药物免疫毒性非临床研究技术指导原则

(征求意见稿)

2022年9月

目录

一、概述.....	3
二、一般原则.....	4
三、基本内容.....	4
(一) 证据权重分析评价策略.....	4
(二) 免疫毒性非临床评价关注点.....	6
1、免疫抑制.....	6
2、免疫增强.....	7
3、超敏反应.....	8
4、自身免疫反应.....	9
5、免疫系统发育毒性.....	9
(三) 与临床研究相关的免疫毒性非临床试验的时间安排.....	10
四、附录.....	12
免疫毒性评价方法.....	12

1 一、概述

2 免疫系统由免疫器官/组织、免疫细胞以及免疫活性物质
3 组成，包括固有免疫（非特异性免疫）和适应性免疫（特异
4 性免疫，分为体液免疫和细胞免疫）。药物可能影响固有免疫
5 和适应性免疫的一个或多个方面，影响免疫系统的平衡，如
6 诱导免疫抑制或免疫增强。免疫系统平衡的失调可引起全身
7 或局部的异常免疫反应，如 T 细胞亚型平衡状态紊乱，可影
8 响机体的免疫应答。免疫抑制表现为免疫系统的功能下调或
9 免疫监视功能受到干扰，机体的免疫应答作用下调和宿主对
10 病原体的抵抗力下降，可能导致感染发生率升高或罹患肿瘤
11 的风险增加。免疫增强则表现为机体的免疫应答作用上调，
12 可能引起细胞因子过度释放、超敏反应，诱发或增强自身免
13 疫反应。药物或药物-蛋白结合物可能被机体识别为异物从而
14 诱发抗药反应，后续再次接触该药物也可能导致超敏反应。
15 因此，药物免疫毒性评估应该纳入标准的药物研发进程中。
16 药物和/或代谢产物免疫毒性非临床研究应包括对免疫系统
17 预期和非预期作用的评价，应充分表征药物对免疫系统的影响
18 程度，为药物的风险-获益评估提供支持。

19 本指导原则旨在为药物免疫毒性非临床研究评价策略
20 和所涉及的试验方法提供一般性的技术指导和参考。

21 本指导原则适用于化学药物和治疗用生物制品的免疫

22 毒性非临床评价。预防性疫苗、基因治疗产品、细胞治疗产
23 品及中药等也可参考本指导原则进行评价。

24 二、一般原则

25 药物免疫毒性非临床研究可为临床试验风险-获益分析
26 提供信息，应采用证据权重分析评价策略，遵循创新药物研
27 发的一般原则，分阶段逐步推进。由于免疫毒性研究的复杂
28 性，药物免疫毒性非临床研究应采用具体问题具体分析的原
29 则，充分考虑药物本身的特点和临床应用情况，基于风险分
30 析设计并开展非临床研究，综合评估潜在风险-获益。

31 药物免疫毒性非临床安全性研究一般应在经过药物非
32 临床研究质量管理规范（GLP）认证的机构开展，并遵守药
33 物非临床研究质量管理规范。对于某些采用特殊的病原体、
34 特殊的试验设施（如宿主抵抗力试验等）、特殊指标检测等非
35 常规试验内容，可以在非 GLP 机构进行，但应参照 GLP，以
36 保证数据的真实、完整、可溯源。

37 三、基本内容

38 （一）证据权重分析评价策略

39 药物在研究和开发的过程中，通常采用基于风险、证据
40 权重的策略，分层开展免疫毒性非临床研究。通过全面调研

41 药物的结构、药理作用及机制、适应症、靶点表达模式、药
42 物暴露器官或组织、给药方案、目标用药人群、临床研究信
43 息、同类药物的数据等信息初步评估免疫毒性风险；可在人
44 或动物细胞、组织中进行的体外或离体试验获得靶向和非靶
45 向效应信息；采用相关动物种属进行体内毒性研究。

46 在常规一般毒性研究的基础上，应综合上述药物作用机
47 制、目标用药人群、常规一般毒性研究结果等因素进行证据
48 权重分析，以考虑是否需要开展附加免疫毒性研究。如上述
49 单一因素充分提示药物具有潜在的免疫毒性风险，应进行附
50 加免疫毒性研究。当有两个或多个因素的研究结果提示药物
51 具有免疫毒性风险时，即使其中任何单一因素的结果并不充
52 分，也同样有必要进行附加研究。如果没有进行附加免疫毒
53 性研究，应提供理由。通常对于具有潜在免疫毒性风险的药
54 物，在采用相关动物种属进行常规一般毒性研究时，应尽早
55 基于整合策略尽可能评估免疫器官与相关组织改变、免疫细
56 胞数量和/或功能、免疫活性物质等的改变。

57 应基于附录中推荐的常规附加免疫毒性研究结果评估
58 开展进一步免疫毒性研究的必要性，如免疫毒性机制研究等。
59 若附加研究提示未发现免疫毒性风险，则不需要进行进一步
60 的研究；若附加研究提示可能存在免疫毒性风险，但无法提
61 供充足的数据进行合理的风险-获益决策，则进一步的试验可
62 能有助于为风险-获益分析提供充分的信息；如果总体风险-

63 获益分析提示免疫毒性的风险可以接受和/或能够通过临床
64 风险管理计划予以控制，则可能无需开展进一步研究。

65 (二) 免疫毒性非临床评价关注点

66 1、免疫抑制

67 具有潜在诱导免疫抑制的药物一般通过直接抑制或杀
68 伤免疫细胞阻断免疫信号通路，或者通过抑制/激活免疫相关
69 调节因子等间接作用抑制免疫系统活性。

70 当药物潜在的免疫抑制来源于药理作用的放大，且药理
71 学试验和/或常规一般毒性试验中观察到的效应/反应可以直
72 接预测其在人体的反应时，则不需要附加的免疫毒性研究。
73 当药物的潜在免疫抑制作用在已有常规一般毒性研究中不
74 能明确免疫系统受影响的特定部分/功能时，应考虑开展附加
75 的免疫毒性研究，评估对整体免疫应答功能的影响，如进行
76 T淋巴细胞依赖性抗体反应(TDAR)检测；评估对关键的免
77 疫细胞(如NK细胞、T淋巴细胞、B淋巴细胞、抗原提呈
78 细胞等)的数量、比例和/或功能的影响。当药物拟在临床中
79 长期用药，应考虑开展宿主抵抗力研究等附加研究。

80 免疫抑制可能引起肿瘤风险增加，应遵循ICH S1、ICH
81 S6、ICH S9等指导原则对致癌性风险进行评估，必要时开展
82 致癌性试验。

83 2、免疫增强

84 具有增强免疫系统活性的药物一般通过直接刺激免疫
85 相关信号通路或通过抑制/激活免疫相关调节因子等间接作
86 用激发免疫系统活性，可能引起免疫毒性。

87 对于此类药物，应在常规一般毒性试验中，伴随评估免
88 疫器官与相关组织、免疫细胞数量和/或功能、免疫活性物质
89 水平等的改变。由于人和非临床试验动物的免疫系统、免疫
90 应答存在差异，非临床动物种属可能无法充分暴露药物的潜
91 在免疫毒性风险。因此，对于预期可能激活免疫反应的药物
92 （例如，导致细胞因子过度释放），在常规动物免疫毒性研究
93 的基础上，通常需要更充分的安全性风险评估和控制。

94 当在实验动物上无法充分暴露免疫毒性风险时，应采用
95 离体组织或系统，如人源免疫细胞，开展相关免疫毒性试验。
96 对于潜在引起细胞因子风暴综合征的治疗性药物，应采用未
97 被刺激的人源细胞，同时使用固相和液相的形式评估细胞因
98 子过度释放的风险。如果一种检测方法结果为阳性，则可能
99 不需要进行其他形式的检测。当药物不直接结合到参与免疫
100 系统激活的表面受体时，通常不需进行额外的细胞因子释放
101 检测。

102 具有免疫增强毒性风险的药物在拟定临床试验起始剂
103 量时，基于毒性耐受终点估算的起始剂量可能过高，从而带
104 来较大的临床试验风险。为确保受试者安全，应基于最小预

105 期生物学效应剂量 (MABEL) 或药理效应剂量 (PEL) 估算
106 起始剂量。

107 采用 MABEL 或 PEL 拟定起始剂量时, 在开始临床试验
108 之前, 应获得一系列药理学数据。包括但不限于: 利用人体
109 细胞在体外评估免疫激活、细胞因子释放和配体-受体相互作用,
110 如效应浓度或受体占位数据等; 对于潜在引起细胞因子
111 风暴综合征的治疗性药物, 应根据 EC 值或范围预测引起细
112 胞因子释放的 C_{max} 值。另外, 还应考虑采用合适的体内药理
113 /疾病动物模型获得的相关终点数据。对于具有潜在诱导细胞
114 因子过度释放潜能的药物, 选择 MABEL 拟定起始剂量可能
115 比 PEL 更为合适, 同时应在早期临床试验期间加强风险监测
116 及控制措施。

117 3、超敏反应

118 除了上述靶向或药理作用相关的免疫激发/免疫增强外,
119 非靶向的免疫刺激可能会激发超敏反应, 如由 IgE 介导的 I
120 型超敏反应、由 IgG/IgM 介导的 II、III 型超敏反应、T 细胞
121 介导的 IV 型超敏反应等, 可通过多种方法评估此种免疫刺
122 激作用。对于可明显增强二次或记忆应答且具有潜在长期作
123 用的药物, 可通过抗原诱导模型 (如 TDAR) 评价其对 IgM/G
124 等抗体产生的诱导作用。药物也可通过非 IgE 依赖途径诱导
125 肥大细胞脱颗粒, 引起类过敏反应。虽然目前尚无公认的能

126 可靠预测上述反应的非临床模型，但仍有必要综合各项安全
127 性研究数据，采用证据权重的方法对其风险进行评估。抗药
128 抗体有时也可介导免疫刺激反应，具体评价方法可参考《药
129 物免疫原性研究技术指导原则》。

130 4、自身免疫反应

131 药物可能诱发机体攻击自身的健康细胞和/或组织，从而
132 引起自身免疫反应，包括皮肤反应、自身免疫疾病（如狼疮
133 和重症肌无力）、药物引起的伴嗜酸性粒细胞增多和系统症
134 状的药疹（DRESS）等。当治疗性蛋白药物对应的内源蛋白
135 具有不可替代的生理功能时，抗药抗体可能结合内源蛋白从
136 而引起毒性反应。目前尚无可靠的非临床模型来预测这类反
137 应，但仍需基于药物作用机制、内源蛋白的功能、常规一般
138 毒性研究中获得的相关数据、用药人群等因素对潜在自身免
139 疫反应进行评估。

140 5、免疫系统发育毒性

141 药物具有潜在免疫毒性风险，引起对免疫系统发育的担
142 忧，且现有数据不足以为目标用药人群的风险-获益评估提供
143 支持时，应在药物生殖和发育毒性研究或幼龄动物研究中对
144 免疫系统发育毒性进行评价。应考虑采用合适的动物种属，
145 并关注不同种属发育时间的差异，试验设计应与动物种属和

146 年龄相适应，根据所采用动物种属灵活调整给药方案。具体
147 可参考 ICH S5 和 ICH S11。在发育毒性研究或者非人灵长类
148 动物增强的围产期发育（ePPND）毒性试验中，应科学合理
149 选择免疫指征，考察时间点应设置在发育的最早节点。应关
150 注药物对子代固有免疫和/或适应性免疫系统的影响，可考虑
151 开展以下免疫毒性试验：TDAR、免疫表型分析、NK 细胞活
152 性、巨噬细胞/中性粒细胞功能、T 淋巴细胞增殖等。

153 当围产期发育毒性研究可充分暴露免疫系统发育毒性
154 时，一般无需在幼龄动物中单独开展免疫毒性研究。当药物
155 根据临床用药人群等因素需要开展幼龄动物研究时，应关注
156 药物对免疫系统发育和/或成熟的影响。应设计合理的给药方
157 案，以涵盖免疫系统的重要发育期以及入组儿科患者的预期
158 年龄。应根据药物的药理作用或在成年动物中观察到的免疫
159 毒性来选择检测方法。应考虑在适当发育期进行功能性分析，
160 例如 TDAR。

161 （三）与临床研究相关的免疫毒性非临床试验的时间安排

162 建议采用整合策略，在早期临床试验开展前，尽早在
163 常规一般毒性研究中增加免疫相关检测，以获得初步的免
164 疫相关风险评估信息。对于免疫增强/激发类药物，通常应
165 在早期临床试验开展前进行体外细胞因子释放等研究，有
166 助于临床起始剂量拟定以及设计更为严谨的临床风险管理

167 计划。在临床试验研究期间，应基于前期研究结果、免疫
168 毒性风险以及临床试验类型考虑开展更多的免疫毒性研
169 究，充分提示药物潜在毒性风险，为临床试验提供免疫系
170 统监测指标。一般应在药物应用于大规模人群（通常为III
171 期临床试验）之前完成常规的附加免疫毒性研究。如果常
172 规附加免疫毒性研究结果为阳性，若需开展进一步免疫毒
173 性研究，应根据药物作用性质和临床试验类型确定进一步
174 免疫毒性研究的时间安排。如果目标用药人群是处于免疫
175 低下状态的患者，免疫毒性研究也应在药物开发的早期进
176 行。

177 **四、附录**

178 **免疫毒性评价方法**

179 **1、常规一般毒性研究**

180 常规一般毒性研究中需包括下表中所列的免疫毒性评
181 估指标。

指标	特定评价参数
血液学	白细胞总数和白细胞分类计数
血液生化	球蛋白水平 ¹ 和白蛋白/球蛋白比值
大体病理学	淋巴器官/组织
脏器重量	胸腺、脾脏（可选：淋巴结）
组织病理学	胸腺、脾脏、引流淋巴结和至少一个额外的淋巴 结、骨髓 ² 、Peyer's 结 ³ 、支气管相关的淋巴组 织和鼻相关的淋巴组织 ⁴

182 ¹ 当出现无法解释的球蛋白水平变化时，需检测免疫球蛋白。

183 ² 无法解释的外周血细胞变化或造血相关的组织病理学改变提示可能
184 需要对骨髓细胞进行评价，如骨髓涂片检查等。

185 ³ 仅限于经口给药。

186 ⁴ 仅限于吸入剂或鼻腔给药。

187 **1.1 血液学和血液生化**

188 推荐将白细胞总数和绝对白细胞分类计数用于免疫毒
189 性评价。在特定情况下，检测免疫球蛋白有助于更好地了解

190 药物的靶细胞或作用机制。当评价球蛋白变化时，应考虑到
191 其他因素的影响（如肝肾毒性）。

192 1.2 大体病理学观察和脏器重量

193 剖检时应尽可能评价所有淋巴组织的大体病理学改变。
194 啮齿类动物的 Peyer's 结很小，通常难以进行大体评价。应记
195 录脾脏和胸腺的重量。为尽量减少非啮齿类动物脾脏重量的
196 误差，动物解剖时应放血完全。胸腺随着年龄的增长而萎缩
197 会对胸腺重量的评估造成影响。

198 1.3 组织病理学检查

199 脾脏和胸腺的组织病理学改变应被视为系统免疫毒性的
200 的指征。应对引流淋巴组织或接触给药部位（暴露于最高浓
201 度药物）的淋巴组织进行检查。经口给药时这些淋巴组织包
202 括 Peyer's 结和肠系膜淋巴结；吸入给药时包括支气管相关
203 淋巴组织（BALT）；吸入或鼻腔给药（如果可能）时包括鼻
204 相关淋巴组织（NALT）；经皮、肌肉、皮内、鞘内或皮下给
205 药时包括邻近部位的引流淋巴结。应根据经验选择应进行检
206 查的特定淋巴结和额外的淋巴结。对于静脉给药的药物，脾
207 脏可被视为引流淋巴组织。

208 在记录淋巴组织的改变和报告药物相关的改变时，推荐
209 对淋巴组织不同区室的改变进行病理学分区室半定量描述。

210 1.4 应激相关改变的解释

211 在常规一般毒性研究中，最大耐受剂量或接近最大耐受

212 剂量能够导致与应激相关的免疫系统的改变（如放大的药理
213 学作用）。这些对免疫系统的作用可能由皮质酮或皮质醇释
214 放增加或其他介质引起。通常观察到的应激相关的免疫学改
215 变包括外周血中性粒细胞增加、淋巴细胞减少、胸腺重量减
216 轻、胸腺皮质细胞减少和相关的组织病理学改变，以及脾脏
217 和淋巴结的细胞构成的改变。此外，还可能观察到肾上腺重
218 量增加和/或肾上腺皮质增生的组织学变化。伴有临床症状
219 （如体重减轻和活动减少）的胸腺重量减轻也常可归因于应
220 激所致。上述指标的单独改变并不能充分证明出现应激相关
221 的免疫毒性。有充分证据说明出现的免疫学改变与应激相关
222 时，才可以不进行附加免疫毒性研究。

223 2、附加免疫毒性研究

224 基于风险、证据权重的策略，分层、选择性开展附加的
225 免疫毒性非临床研究。

226 2.1 免疫细胞数量和比例检测

227 对免疫细胞亚型的鉴定和计数即免疫表型分析，通常采
228 用流式细胞术、免疫组织化学（IHC）或免疫荧光（IF）方法。
229 流式细胞术为常用的对全血、外周血单个核细胞（PBMC）或
230 从淋巴组织分离的免疫细胞进行免疫表征的方法，可对单核
231 细胞、树突状细胞、巨噬细胞、中性粒细胞、NK 细胞、T 淋
232 巴细胞、B 淋巴细胞等进行计数，还可检测免疫细胞表面标
233 志物的改变，评估免疫器官如脾脏、胸腺和/或淋巴结 CD4+

234 和 CD8+ T 淋巴细胞或其它亚群的数量及比值。免疫表型分
235 析可整合到常规一般毒性试验或 TADR 试验中，可设计不同
236 的检测时间点监测其动态变化。

237 2.2 免疫细胞功能和免疫活性物质检测

238 通常采用离体组织或细胞模型、体外人源细胞等模型评
239 估药物对各种免疫细胞的功能影响，包括评估细胞毒 T 淋巴
240 细胞（CTL）活性、自然杀伤细胞（NK）活性，抗体依赖的
241 细胞毒性（ADCC）和补体依赖的细胞毒性（CDC），体外淋
242 巴细胞激活和增殖、巨噬细胞/中性粒细胞功能，血小板功能
243 等。

244 可考虑选择体内、体外多种水平进行免疫活性物质的检
245 测以辅助评估药物的免疫毒性，如检测 IL-2、IL-4、IL-6、IL-
246 8、IL-10、IFN- γ 、TNF- α 等细胞因子的含量、分泌、活性乃
247 至转录水平的改变等。体外细胞因子释放的具体评价方法可
248 参考《药物免疫原性研究技术指导原则》。

249 根据具体情况，可考虑监测血清中的 C3/C3a、C4/C4a、
250 C5a 等补体水平，检测免疫球蛋白 IgG、IgM 和 IgA 水平以
251 及其他免疫活性物质，例如趋化因子等。

252 2.3 免疫系统整体功能检测

253 T 细胞依赖性抗体反应（TDAR）评价药物对巨噬细胞/
254 树突状细胞和/或 B 细胞的抗原递呈功能、辅助 T 淋巴细胞
255 激活、B 淋巴细胞抗体产生等一系列 T 细胞依赖抗体反应的

256 整体影响，是检测免疫抑制作用的重要标准之一，也可用于
257 检测免疫增强作用。可单独开展 TDAR 试验，但从遵循 3R
258 原则的角度，鼓励将 TDAR 试验整合于常规的毒性试验中进
259 行。可采用酶联免疫吸附试验（ELISA）、电化学发光分析法
260 （ECLA）或其他方法测定血液中的抗体来评价 T 细胞依赖
261 抗体的反应性。

262 宿主抵抗力研究是评价机体对病原体（细菌、真菌、病
263 毒和寄生虫）或肿瘤细胞的抵抗能力的重要方法，可对免疫
264 抑制类药物的免疫毒性（天然免疫、适应性免疫和免疫系统
265 内环境稳态）进行整体评估。常用宿主抵抗力动物模型包括：
266 单核细胞增多性李斯特菌、肺炎链球菌、白色念珠菌、流感
267 病毒、巨细胞病毒、约氏疟原虫和旋毛虫等，小鼠肿瘤宿主
268 抵抗力模型常用 B16F10 黑色素瘤和 PYB6 肉瘤细胞系。

269 3、免疫毒性研究方法的选择

270 一般而言，应选择已经广泛使用且已被证明对已知免疫
271 反应（增强或抑制）有足够敏感性和特异性的免疫毒性研究
272 方法。研究方法除进行常规方法学验证外，还应确认其对已
273 知免疫调节剂的敏感性。对于体外试验，建议在检测受试物
274 的同时设立阳性对照或定期对阳性对照进行检测，以证明试
275 验的有效性。对于体内试验，如果方法经过了适当的验证，
276 无需在每个试验中设置阳性对照，但需提供方法验证的文献，
277 否则需提供相应的理由。在某些情况下，所选择的试验方法

278 可能尚未完成充分验证和/或尚未被广泛使用, 在此种情况下,
279 需要提供使用该方法的科学性和作用机制方面的依据, 如果
280 有可能, 试验中需设置合适的阳性对照。