

《医疗器械临床前动物研究 第2部分：诱导糖尿病大鼠皮肤缺损模型》标准编制说明

一、工作简况

1、任务来源

根据食药监办械管〔2019〕23号文《国家药监局综合司关于印发2019年医疗器械行业标准制修订项目计划的通知》确定的标准制修订工作计划，由全国医疗器械生物学评价标准化技术委员会归口，中国食品药品检定研究院等单位负责制定《医疗器械临床前动物研究第2部分：诱导糖尿病大鼠皮肤缺损模型》方法标准（项目编号：N2019065-JN）。

2、工作过程

在接到起草任务后，标准起草工作组认真研究，于2019年3月召开首次视频工作组会议，召集共同验证单位确定工作组讨论稿和标准验证方案，在多次实验分析和验证的基础上，于2019年7月份发出征求意见稿，向各有关单位征求意见。

3. 预期构建的医疗器械临床前动物研究标准体系

医疗器械临床前动物研究预期构建的标准体系如下：

YY/T XXXX.1《医疗器械临床前动物研究 第1部分：通用要求》；

YY/T XXXX.2《医疗器械临床前动物研究 第2部分：诱导糖尿病大鼠皮肤缺损模型》。

本部分为YY/T XXXX的第2部分。

二、标准编制原则和确定标准主要内容的依据

标准修订工作组按照GB/T 1.1—2009的规则制定本部分。

（一）概述

近年来由于城市化和老龄化进程加快，同时伴随着生活方式的改变，导致肥胖和超重人口数量增加，我国糖尿病发病率有逐年增高的趋势。糖尿病病人由于微血管和周围神经病变，导致皮肤营养障碍，易受损、易继发感染，且修复能力差，从而引发溃疡、坏疽和皮肤缺损。国内已出现了不少治疗糖尿病引起的皮肤溃疡和缺损的医疗器械产品，但国内外未查阅到适用于糖尿病皮肤缺损的医疗器械产品有效性和安全性评价的标准。本标准旨在建立经济且有效的临床前动物模型，对皮肤修复产品进行临床前有效性评价。

（二）糖尿病大鼠模型的合理性

1. 使用链脲菌素（STZ）诱导糖尿病的合理性

通过化学药物特异性破坏胰岛β细胞诱导糖尿病操作可量化，造模稳定。一般使用 STZ 或四氧嘧啶这两种药物进行诱导。二者比较，STZ 优于四氧嘧啶，其造模稳定，快速，种属选择性不强(豚鼠只能用 STZ 造模)，组织毒性相对较小等。

STZ 是一种广谱抗菌素,具有抗菌、抗肿瘤的性能和致糖尿病的副作用,对实验动物的胰岛β细胞具有高度选择性毒性作用。其诱导糖尿病的机制可能是通过自由基损伤胰岛β细胞,使胰岛β细胞功能受损,胰岛素合成减少,引发糖尿病。可通过一次性大剂量给药 STZ 和小剂量多次给药 STZ 诱导大鼠糖尿病形成。本标准验证采用一次性大剂量给药方式,并在标准中给出了推荐剂量,这也是相对经济简便的方式。

2. 大鼠品系及性别选择依据

SD 大鼠是美国 Sprague 和 Dawley 农场于 1925 年培育而成,生长发育比 Wistar 快,是一种常用作糖尿病研究的动物;大鼠有高度发达的神经系统,有情绪变化,对炎症反应敏感,适用于创伤修复过程的观察,价格便宜易于饲养,抗病能力强。雄鼠对 STZ 更敏感。研究表明,雌激素在一定程度上可以降低 STZ 对胰岛细胞的破坏,雄性大鼠成模率高于雌性(有出处加在此处)

2. 模型建立的过程

通过链脲佐菌素(STZ)诱导糖尿病大鼠模型。使用 STZ 诱导糖尿病的合理性在于通过化学药物特异性破坏胰岛β细胞诱导糖尿病操作可量化,且造模稳定。

采用大剂量一次性注射的给药方法。糖尿病大鼠动物模型成模标准:空腹血糖值 $>11.1\text{mmol/L}$ 或者非空腹血糖值 $>16.7\text{mmol/L}$ 。

本模型选择的实验动物是 SD 雄性大鼠。合理性在于 SD 大鼠是一种常用作糖尿病研究的实验动物;适用于创伤修复过程的观察,价格便宜易于饲养,抗病能力强。另外,STZ 诱导的糖尿病模型有性别上的差异,研究表明,雌激素在一定程度上可以降低 STZ 对胰岛细胞的破坏,导致雌性大鼠成模率低于雄性大鼠,所以本次实验选择雄性 SD 大鼠作为实验动物。

具体的模型建立过程如下:造模前动物禁食不禁水 16h。实验组动物分别按照 25mg/kg、50mg/kg、75mg/kg 和 100mg/kg 的剂量腹腔注射 STZ 溶液;空白对照组动物注射柠檬酸钠缓冲溶液。于注射 STZ 后第 7、14、21 和 28 天测量各组大鼠的非空腹血糖值;观察各组大鼠的一般情况,并称量体重;并于第 7 天取成模动物的胰腺进行标本固定、包埋、HE 染色,观察胰腺病理学的改变。结果发现,75mg/kg 组动物非空腹平均血糖值高于 16.7mmol/L,而且成模率达到 100%;在 21 天内体重增长速度明显缓于对照组,在 28 天时间点体重不升反

降；动物胰腺中胰岛数量明显减少，且轮廓十分模糊，胰岛细胞排列十分松散，且细胞密度降低，提示胰岛正常结构被破坏，造成血糖不可逆性升高。

3. 糖尿病大鼠皮肤损伤手术操作

在上述模型成功建立的基础上，建立皮肤损伤模型。本部分的要点是确定一个合适的皮肤损伤面积。通过查阅文献，在前期预研过程中采用了三个不同的面积，分别是A组：1cm×1cm；B：2cm×2cm；C：3cm×3cm。将实验动物随机分成三组，分别于动物背部去除相应面积大小的正方形全层皮肤，深至筋膜。术后每天观察动物的一般情况，以及创面愈合的程度。术后A组和B组所有动物均未死亡，活动正常，伤口未出现感染情况；术后第一天，C组动物死亡一只，术后第三天、第四天各死亡两只动物。A组和B组动物皮肤创面随着时间的变化，逐渐愈合。术后第5天，A组和B组之间动物创面愈合程度无肉眼可见的区别；术后第12天，A组动物大部分创面已被表皮覆盖，创面基本愈合，B组动物仍有大部分创面未被表皮覆盖；术后第21天，A组动物创面已基本完全愈合，创面附近毛发生长良好，B组动物仍有小部分未愈合。实验结果提示，3cm×3cm的皮肤损伤面积过大，导致实验动物全部死亡；1cm×1cm的皮肤损伤面积过小，导致皮肤创面在12天即可基本愈合；2cm×2cm的损伤面积适中，符合皮肤损伤模型的要求。

（三）评价指标的选择依据

1 血糖值：通过血糖值，可以直观的体现大鼠的血糖情况，从而判断糖尿病模型是否成功建立。

2 创面大体恢复情况：通过对大鼠创面渗出、黏连以及创口回缩等情况，可以大体判断创面的恢复情况。

3 创面愈合率：通过愈合率的计算，可以定量分析各组间大鼠皮肤愈合的情况。

4 组织学观察：

一般认为，创伤或伤口愈合的基本过程大致可区分为3个相互区别而又联系的时期（阶段）：先是炎症反应，溶解、清除坏死组织；后为结缔组织细胞和血管内皮细胞游动、增殖，形成肉芽组织；最后是新生结缔组织基质沉积和新生组织改造、改建，而这一过程往往是重叠进行的。所以通过炎症反应程度、新生血管、肉芽组织生长情况等可以从组织学的角度分析创伤愈合效果。

（四）模型的应用

建立科学而稳定的动物模型是科学评价的重要基础。诱导糖尿病大鼠皮肤缺损模型有助于深入研究皮肤损伤修复的效果及发生发展机制，为科学评价提供技术依据。

三、主要实验（或验证）的分析、综述报告、技术经济论证，预期的经济效果。

本次验证主要采用了不同的皮肤创面修复材料，覆盖糖尿病大鼠模型背部全皮缺损部位，观察缺损修复的有效性，具体见验证工作总结报告。

四、采用国际标准和国外先进标准的程度，以及与国际、国外同类标准水平的对比情况，或与测试的国外样品、样机的有关数据对比情况。

无。

五、与有关的现行法律、法规和强制性国家标准的关系。

本部分与有关的现行法律、法规和强制性国家标准无冲突和交叉。

六、重大分歧意见的处理经过和依据。

无。

七、行业标准作为强制性行业标准或推荐性行业标准的建议。

因本方法是评价皮肤修复产品有效性的可选择方法之一，企业也可以根据产品情况设计食欲产品临床预期用途的其他模型，所以建议作为推荐性行业标准上报。

八、贯彻行业标准的要求和措施建议（包括组织措施、技术措施、过渡办法等内容）

本部分旨在建立经济且有效的临床前动物模型，为预期用于糖尿病皮肤缺损病人的皮肤创面修复材料及产品的临床前有效性评价提供参考。因为标准中规定的检测方法经国内多家机构验证，并可以开展该标准中试验，建议自发布之日后12个月开始实施。标准发布后，秘书处挂靠单位-济南中心将在标准实施日期前采用在网页上开辟该标准宣贯专栏、公布标准宣贯资料、召开标准宣贯会等形式对该标准的技术内容进行宣贯。

九、废止现行有关标准的建议。

无。

十、其他应予说明的事项。

无。

标准起草工作组

2019年7月