用于软组织再生医疗器械的生物学评价与 试验

Biological evaluation and testing of medical devices for soft tissue regeneration

(点击此处添加与国际标准一致性程度的标识)

(征求意见稿)

(完成时间：2022.7)

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本文件由国家药品监督管理局提出。

本文件由全国医疗器械生物学评价标准化技术委员会（SAC/TC 248）归口。

本文件起草单位：。

本文件主要起草人：

征求意见稿

引 言

软组织再生医疗器械是一类由具有独特的物理、化学和生物学特性的新型生物材料组成的医疗器械（如《医疗器械分类目录》中新添加的子目录“组织诱导性植入器械”（13-11-04），国家药品监督管理局2022年第30号公告）。一般具有可生成对机体无毒且容易代谢的降解产物、与机体组织再生相匹配的降解性能等。组成材料种类包括同种或异种生物源材料及合成材料等，常见的产品有外周神经修复植入物、人工角膜基质、脱细胞结膜基质、疝修补补片、吻合口加固修补片、硬脑脊膜补片和肛瘘修补补片等。鉴于软组织再生医疗器械的自身特点，在对其进行生物学评价与试验时，现行的GB/T(Z) 16886系列标准的方法可能存在尚未涉及的情况。因此，本文件针对软组织再生医疗器械产品自身特点，在风险管理的基础上给出其进行生物学评价与试验的指南。

用于软组织再生医疗器械的生物学评价与试验

1 范围

本文件规定了软组织再生医疗器械生物学评价和试验方法。
本文件适用于基于GB/T(Z) 16886对软组织再生医疗器械进行生物学评价。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 16886.1 医疗器械生物学评价 第1部分：风险管理过程中的评价与试验

3 术语和定义

GB/T 16886.1界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

3.1 软组织 soft tissue

连接、支撑或包围身体其他结构和器官的组织。

注：软组织包括肌腱、韧带、筋膜、皮肤、纤维组织、脂肪和肌膜（即结缔组织）以及肌肉、神经和血管（不是结缔组织）等。

[来源：ASTM F3515-21, 3.1.5, 有修改]

3.2 再生 regeneration

新的功能性组织的合成、更新或生长，用于因衰老或疾病而导致的组织失效，或因损伤或先天性缺陷而导致的组织缺失

3.3 组织再生 tissue regeneration

由能够沉积具有正常结构、功能和外观的细胞，通过迁移、分化和增殖，以取代受损组织完整性的愈合过程。

[来源：ASTM F3163-22, 3.3.7]

3.4 支架 scaffold

一种用作组织修复和再生的基质和引导物的生物材料结构

3.5 脱细胞支架 decellularized scaffold

通过生物、化学和/或物理方法处理，去除细胞外基质中的细胞而形成的无细胞支架。

[来源：ASTM F3163-22, 3.5.18]

3.6 组织诱导性生物材料 Tissue Inducing Biomaterials

一种不添加细胞和（或）生物活性因子，经过设计用于诱导受损或缺失的组织或器官再生的生物材料。

4 总则

宜按照GB/T 16886.1对软组织再生医疗器械及材料进行生物学评价。对GB/T(Z) 16886方法的任何修改都宜在书面的风险评估中予以论证。附录A中给出了软组织再生医疗器械生物学评价的基本考虑。

5 生物学试验的特殊考虑

5.1 样品制备

5.1.1 建议按照 GB/T 16886.12 规定的样品制备方法进行试验。若有证据表明现有浸提方法不适用于软组织再生医疗器械时，宜结合产品临床应用、产品特性制定合理的样品制备方法。如软组织再生医疗器械的组成材料一般具有较高的孔隙率和较高的比表面积，在浸提液制备过程中，溶出物的理化性质可能发生改变，进而对生物学试验的结果产生影响。

对软组织再生医疗器械及其组成材料进行样品制备用于生物学评价时，应充分考虑该器械及其组成材料的理化性能，以更准确的评价其生物安全性。GB/T 16886.12 主要是基于实心惰性和多孔材料（比表面积较低）而设计的样品制备方法。对于高亲水性、高比表面积的软组织再生医疗器械及其组成材料，建议根据材料来源/工艺、理化性能（包括但不限于比表面积、亲水性、孔隙率）、体外细胞评价试验（如细胞毒性、体外遗传毒性）以及体内试验（如全身毒性试验、刺激和皮肤致敏试验）的结果综合确定样品制备方法。因此，在制定生物学试验方案和提供评价报告时，不同产品需要提供试验条件的确定依据。

对于 GB/T 16886.3、GB/T 16886.4、GB/T 16886.5 中体外试验的样品制备，由于软组织再生医疗器械及其组成材料在浸提过程中可能会发生溶解/分解，因此，宜关注浸提液状态和浸提液浓度对试验结果的影响。例如在某些情况下，体外生物学试验样品制备体系的 pH 值和/或渗透压的可能发生变化，适宜时可调整样品制备体系（如 pH 值、渗透压）并予以论证。

5.1.2 导致浸提液的理化性质改变的可能原因一般包括：

- 产生低摩尔质量降解产物；
- 溶出物浓度可能较大，从而影响渗透压和 pH 值；
- 浸提液的部分成分可能吸附于试验材料表面，导致体外试验体系中成分不稳定。

5.1.3 对软组织再生医疗器械及其组成材料，试验结果无效的总风险增加。以下给出了因材料、浸提介质和浸提条件与试验系统的生理相关性分离的情况：

- 当对软组织再生医疗器械及其组成材料浸提时，宜充分考虑浸提过程中材料的降解和其相关中间降解产物的产生；
- 一般浸提后可获得降解产物，而在体内相同时间内，这些降解产物会被缓冲或吸收、代谢。

5.2 体外试验

5.2.1 用于软组织再生的医疗器械及材料，其降解和/或吸收时产生的降解产物（如乳酸、氨基酸等）能被机体吸收或排除体外，一般不会产生毒性风险。但是当降解产物不被充分了解，或者添加潜在有害加工助剂时，用体外试验系统评价该类医疗器械及材料的可沥滤物及体外降解产物可能是必要的，宜参考 GB/T 16886.18 中适用的内容。

5.2.2 如果采用环氧乙烷（EO）进行最终灭菌，产品在体内的降解和/或吸收可能影响残留 EO 释放动力学。在估计产品中残留 EO 平均日暴露量时，除非有其他能被证实的计算方式，否则宜通过试验确定 EO/2-氯乙醇（ECH）日浓度而不是除以某一固定天数。

5.2.3 试验材料、可浸提物和/或降解产物可能在预期的一定时间内被机体吸收或被清除。因此，宜依据 GB/T 16886.17 识别出可沥滤物的日暴露估计量推导和计算出其最大可允许限量。

5.2.4 软组织再生医疗器械及其组成材料在降解过程中可能会产生暂时性颗粒物，因此需了解此降解可能导致的不良影响。化学组成及颗粒大小可影响生物学反应，宜在风险评估中进行讨论。

5.2.5 在评估软组织再生医疗器械的安全性和功效时，对物理化学、形态学和表面特性（PMT）的判定与评价十分重要。宜依据 GB/T 16886.19，结合产品的预期用途进行相应的表征与评价。表 1 给出了部分特征值或特性以及相应的测量方法（见 GB/T 37156）。

表 1 部分 PMT 的特征值或特性以及相应的测量方法

特性	方法	测试指南
表面积和比表面积	BET 分析	比表面积是表面积与质量之比。基于 Brunauer、Emmet 和 Teller 开发的、可由吸附气体量对表面积进行估算的模型。典型气体是氮气或二氧化碳，但氮气或氩气具有高敏感度（单位面积的质量增益显著），可用于材料的测量。见 ISO 9277 和 ISO 18757。
孔隙率	比重法	用比重瓶（已知体积的瓶）测量。将已知质量和体积的样品加入比重瓶中，称重，

特性	方法	测试指南
		然后填充已知密度、不会溶解样品的液体或气体，再次称重。因加入液体或气体的体积已知，样品和液体/气体的总体积之差即为样品的孔体积。见 GB/T 37156。
表面形貌	电子显微镜	扫描电子显微镜和透射电子显微镜可测量表面形貌。静态图像分析方法见 ISO13322-1；图像放大倍率校准见 ISO 16700。
微纳纤维的平均直径和直径分布	拉曼光谱	用拉曼效应研究分子能级的光谱。拉曼效应包括随散基底频率特征改变的光散射，体现了基底在振动、转动或电子能量上的变化。见 GB/T 37156。
	扫描隧道显微镜	可用于测量单根纳米管的直径。见 GB/T 37156。
	扫描电子显微镜	将纤维旋涂到适当的基底上，通过成像测量的长度。图像放大倍率校准见 ISO 16700。
表面化学分析	X 射线光电子能谱法	测量由 X 线照射的样品表面所激发的俄歇电子和光电子能量分布的方法。是一种极为灵敏的非破坏性表面分析技术，能提供除氢、氦之外的全部元素的定性和定量表面化学信息。见 ISO 20903。

5.3 体内试验

5.3.1 软组织再生医疗器械的预期用途之一是实现自体组织再生。该功效的实现过程目前尚无标准的体外测试方法完全替代体内动物试验。

5.3.2 除了按 GB/T 16886.1 考虑常规的体内生物学评价试验终点外，体内试验的选择还应考虑产品的机械或功能负荷等因素。例如，当医疗器械或材料植入体内后材料降解和/或吸收，同时在机体神经和/或体液等系统的辅助调控下局部组织再生，以实现新生组织结构和功能与原始组织相似的预期目的。而对于 GB/T 16886.6 中推荐的植入试验，只考察了样品植入后的局部组织学反应，不能完整反映软组织再生医疗器械及其组成材料对宿主反应的响应能力。因为相同医疗器械在不同植入部位，其降解时间可能不同，局部组织反应的类型也不同。故而，在评价新的软组织再生医疗器械及其组成材料时，宜选择合适的动物模型，在预期使用部位，模拟其临床使用，才有可能较完整地收集器械植入机体后实现预期目标的局部反应过程以及相应的安全性评价数据。

示例：软组织再生医疗器械植入试验动物（如家兔）背部皮下时，由于受力有限，一般引起的是慢性降解和吸收反应；而植入同品种动物的腹部皮下，则可以观察到组织重塑反应的全过程；韧带或肌腱置换后制动时间的长短，可明显影响组织重塑过程的快慢。

5.3.3 宜选择合适的动物模型，以获得与所声称的预期用途有关的科学证据（例如，生物力学和组织学）支持，确认医疗器械对宿主反应的响应能力，评价时宜考虑以下几个方面。

a) 宜确定预期治疗部位的组织学类型。

示例 1：腹股沟疝主要依靠筋膜组织（致密结缔组织）再生修复；骨骼肌和筋膜再生与腹壁疝（如切口疝和造口旁疝）紧密相关；动脉壁的再生比较复杂，主要涉及平滑肌、弹力纤维、胶原蛋白等；韧带和肌腱的组成成分为纤维母细胞、胶原蛋白和弹力蛋白。

b) 宜分析预期治疗部位的生物力学特征。

示例 2：腹壁受到纵、横向张力以及腹内压的作用；动脉承受周、轴向张力；韧带和肌腱的生物力学性质通过负荷-位移曲线加以测定。

c) 宜确定器械降解—局部组织再生关系曲线。

注 1：器械植入预期治疗部位，早期一般器械降解占优，局部机械强度（如拉伸强度、顶破强度等）降低；在机体调节下，与再生有关的细胞因子和细胞聚集局部，合成分泌新细胞外基质并塑形，局部机械强度将逐步升高；典型的器械降解-局部组织再生关系曲线呈先降低再升高的趋势，其转折点的确定十分重要，理论上不低于该预期部位修复所需的机械强度阈值。

注 2：机体各解剖部位的机械强度阈值，比如腹壁的机械强度阈值在 60 N（顶破强度），前十字交叉韧带的机械强度阈值为该部位最大力（断裂时所承受的机械负荷）的 10 % 以上。

d) 宜提供局部组织再生的证据链。

注 3：组织再生是受损局部从原始细胞/组织逐渐向成熟细胞/组织转变的过程。因此，选用公认的组织学、免疫学、分子生物学、蛋白组学等技术确认各阶段的特征性标志。

e) 宜根据器械结构性能与适用范围，采用适宜的动物种类及模型评价。

注 4：考虑到实验动物数据对临床研究的指导意义，建议选择一定数量的成年动物（如小型猪、比格犬）进行动物试验研究。病理解剖对于评价器械及材料组织再生功效评价非常重要。具体可参考国家药品监督管理局发布的有关动物试验的指导原则：《医疗器械动物试验研究注册审查指导原则 第一部分：决策原则（2021 年修订

版)》及《医疗器械动物试验研究注册审查指导原则 第二部分：试验设计、实施质量保证》(通告 2021 年第 75 号)。

5.3.4 宜按 GB/T 16886.1 中规定的持久接触类医疗器械考虑人体接触时间。

5.3.5 宜提供产品、产品组分或残留于组织内的材料(即可在人体内降解的材料)的降解信息。宜描述和记录影响降解速率的参数,包括化学和力学变化(特别是体内降解试验条件下)。GB/T 16886.9 和 ISO 13781 中给出了有关降解试验总框架。

5.3.6 软组织再生医疗器械的风险评估宜包括 GB/T 16886.1 中识别出的所有终点。另外,降解和毒代动力学是通常要求的终点。对任何用于生殖系统或可能在儿科患者或生育年龄患者全身分布的医疗器械,宜考虑进行生殖和发育毒性评价。

5.3.7 软组织再生医疗器械具有可招募和结合与组织再生有关的细胞和细胞因子的特殊位点,从而营造特定的局部微环境,以保证组织特异表型及功能的分化和维持。对于具备特定肽域[如精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(RGD)和精氨酸-谷氨酸-天冬氨酸-结氨酸(REDV)、缬氨酸-丙氨酸-脯氨酸-谷氨酸(VAPG)]的动物源性材料的评价,见 GB/T 16886.20 和 YY/T 0771(所有部分)。

6 研究报告

研究报告应包括下列信息:

- a) 符合相应良好实验室规范和/或检测实验室质量管理体系的陈述;
- b) 生物学试验的选择和相应的理由;
- c) 医疗器械的描述,包括预期用途和人体接触性质;
- d) 医疗器械的物理化学和生物学特征;
- e) 生产工艺条件的描述;
- f) 有关原料、生产过程和最终产品的相关毒理学文献综述;
- g) 预期植入部位的生物力学特征和组织学特征;
- h) 分析方法的描述,包括定量限值和对照品;
- i) 医疗器械降解-局部组织再生关系曲线(如降解-力学性能曲线);
- j) 有关组织再生过程的组织学分析和(或组织免疫化学、分子生物学或蛋白组学)证据;
- k) 结果和讨论;
- l) 生物学评价的最终结论。

附录 A

附录 B (资料性)

附录 C 软组织再生医疗器械生物学评价的基本考虑

软组织再生医疗器械旨在植入体内后,通过重建局部微环境,重塑细胞外基质的组成和结构,恢复其动态代谢功能,促进细胞附着和调节细胞行为,从而实现局部组织再生,恢复缺损或薄弱部位的正常结构和功能的目的。

软组织再生医疗器械植入机体后,一般经过三个阶段而完成缺损组织的再生。第一阶段:材料降解、释放相关信息、激活免疫应答,这是重塑前期反应,主要为植入局部的渗出反应;第二阶段:前体细胞与干细胞的招募与增殖,此时巨噬细胞在局部聚集、吞噬降解产物、募集细胞因子并刺激前体细胞趋化和增殖;第三阶段:巨噬细胞转化为M2巨噬细胞,在局部机械力的作用下,前体细胞逐渐演变为成熟细胞,恢复原始组织结构和功能的完整性。该反应过程往往超过30 d。

其局部组织反应的基本特征是材料在降解和/或吸收的同时,激发再生潜力。因此,医疗器械在设计时,如何确定器械降解-局部组织再生关系曲线(一般为V字形)转折点尤为重要,特别对于受力部位(如腹壁、韧带、肌腱等)更是如此,否则临床研究时可导致不良事件发生。

软组织再生医疗器械可由类似脱细胞基质的可吸收生物支架材料(以下简称支架材料)组成。目前临床应用的此类支架材料主要是两类:1)脱细胞基质:对同种异体组织(如同种异体皮肤等),异种组织(如猪、牛等动物的皮肤、心包、小肠粘膜下组织等)进行脱细胞处理后制得;2)仿生支架材料:以可降解合成或天然高分子材料等为原料,采用静电纺技术、冷冻干燥技术等生产。

材料植入机体缺损或薄弱部位后,受机体调控,材料在降解和/或吸收的同时,激发组织再生潜力(如招募细胞因子和与组织再生有关的炎性细胞、干细胞等),通过组织再生,达到恢复组织结构并重建功能的目的。附表A.1给出了可组织再生的材料和医疗器械产品及其临床应用。

表 A.1 组织再生的材料和医疗器械产品及其临床应用

临床应用	材料来源
外周神经修复	经脱细胞处理的同种异体周围神经
角膜修复	猪脱细胞角膜基质
疝修补	L-丙交酯、己内酯的共聚物与猪源纤维蛋白原的共混物的静电纺材料 猪膀胱基底膜和猪小肠粘膜下层
硬脑脊膜修复	聚乳酸与明胶共混物的静电纺丝材料、 牛跟腱多孔胶原支架
肛瘘修复	猪小肠粘膜下层组织

参 考 文 献

- [1] GB/T 16886(所有部分) 医疗器械生物学评价
- [2] GB/T 37156—2018 纳米技术 材料规范 纳米物体特性指南
- [3] YY/T 0771(所有部分) 动物源医疗器械
- [4] YY/T 1775.1—2021 可吸收医疗器械生物学评价 第1部分: 可吸收植入物指南
- [5] ISO 9277:2010 Determination of the specific surface area of solids by gas adsorption — BET method
- [6] ISO 13322-1:2014 Particle Size Analysis—Image Analysis Methods—Part 1: Static Image Analysis Methods
- [7] ISO 13781-2017 Implants for surgery—Homopolymers, copolymers and blends on poly(lactide)—In vitro degradation testing
- [8] ISO 16700:2016 Microbeam analysis—Scanning electron microscopy—Guidelines for calibrating image magnification
- [9] ISO 18757:2003 Fine ceramics (advanced ceramics, advanced technical ceramics)—Determination of specific surface area of ceramic powders by gas adsorption using the BET method
- [10] ISO 20903:2019 Surface chemical analysis—Auger electron spectroscopy and X-ray photoelectron spectroscopy—Methods used to determine peak intensities and information required when reporting results
- [11] Gaharwar AK., Singh I., Khademhosseini A. Engineered biomaterials for in situ tissue regeneration. *Nature Reviews Materials*(2020)5:686–705.
- [12] Hussey GS., Dziki JL., Badylak SF. Extracellular matrix- based materials for regenerative medicine *Nature Reviews Materials* (2018)3:159 - 173.
- [13] Engler AJ., Sen S., Sweeney HL., Discher DE. Matrix Elasticity Directs Stem Cell Lineage Specification. *Cell.* (2006) 126(4):677–89.
- [14] Hu X., Cebe P., Weiss AS., Omenetto F. Kaplan DL. Protein-based composite materials. *Materials today* (2012) 15(5):208–215.
- [15] Uhler C., Shivashankar GV. Regulation of genome organization and gene expression by nuclear mechanotransduction. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol*(2017) 18:717–727.
- [16] Humphrey JD., Dufresne ER., Schwartz MA. Mechanotransduction and extracellular matrix homeostasis. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* (2014) 15:802–812.
- [17] Li SJ., Su L., Tang JX., He HB et al .Reconstruction of abdominal wall with scaffolds of electrospun poly (l-lactide-co caprolactone) and porcine fibrinogen: An experimental study in the canine. *Materials Science and Engineering: C.* (2020) C Volume 110, May 2020,
- [18] Dopirak, R., Bond, J. L. & Snyder, S. J. Arthroscopic total rotator cuff replacement with an acellular human dermal allograft matrix. *Int. J. Shoulder Surg.* 1,7.
- [19] Corey R Decken et al:Physicomechanical evaluation of polypropylene polyester and polytetrafluoroethylene Meshes for inguinal hernia repair *J Am Coll Surg* (2011), Jan;212(1):68–79
- [20] 刘玉杰, 敖英芳, 陈世益. 膝关节韧带损伤修复与重建. 人民卫生出版社 (2008) p74–75.
- [21] Safa B, Jain S, Desai MJ, et al. Peripheral nerve repair throughout the body with processed nerve allografts: Results from a large multicenter study. *Microsurgery.* 2020;40:527 - 537.
- [22] Li SJ., Xiao HB., He HB., Tang JX., et al. Electrospun nanoscale P(LLA-CL)/fibrinogen patch versus porcine small intestine submucosa graft repair of inguinal hernia in adults: a randomized,
- [23] Single-blind, controlled, multicenter, non-inferiority trial. *J. Am. Coll. Surg*(2019) 229(6):541–551.

- [24] O' Connor L., Champagne B J, Ferguson M A, Orangio G R, Schertzer M E, Armstrong D N.. Efficacy of anal fistula plug in closure of Crohn' s anorectal fistulas. *Dis. Colon Rectum.* (2006) 49(10):1569 - 1573.
- [25] A ba-bai-ke-re M M., Wen H., Huang H G., Chu H., Lu M., Chang Z S., Ai E H., Fan K. Randomized controlled trial of minimally invasive surgery using acellular dermal matrix for complex anorectal fistula. *World J. Gastroenterol.* (2010) 16(26):3279-3286.
- [26] 张兴栋, 大卫. 威廉姆斯主编, 赵晚露译. 二十一世纪生物材料定义. 科学出版社 (2021) p295-308.
-

征求意见稿