

# 预防用疫苗铝佐剂技术指导原则（征求意见稿）

## 一、前言

为指导含铝佐剂疫苗的研发，加强铝佐剂及含铝佐剂疫苗的生产和质量控制，进一步提升疫苗的安全、有效和质量可控性，特起草本指导原则。

佐剂是指能够辅助抗原应答，调节免疫反应的物质。佐剂的作用包括在制品中提高抗原的免疫原性、改变免疫应答性质、减少成功免疫接种所需的抗原量及免疫次数、提高免疫功能低下的接种人群的免疫应答<sup>[1,2]</sup>。

铝佐剂是迄今为止使用最为广泛的人用疫苗佐剂，在已上市疫苗中显示了普遍的安全、有效性。铝佐剂发挥作用的机理目前尚未完全确定，已有的研究结果认为可能的作用方式主要有<sup>[3]</sup>：抗原仓储作用；增强抗原的递呈；增强 Th2 细胞介导的适应性免疫应答；增强机体固有免疫应答；激活补体作用等。疫苗用铝佐剂包括常用的氢氧化铝佐剂、磷酸铝佐剂，以及无定型羟基磷酸铝硫酸盐等其他铝佐剂；此外，还包括上述铝佐剂的混合系统，以及铝佐剂与其他佐剂成分组成的佐剂系统，如 AS04 佐剂系统等。

含铝佐剂的疫苗是一种较为复杂的制剂体系，其研发和生产控制均有较多特殊性。必须对疫苗添加佐剂的必要性进行严格论证<sup>[2]</sup>。如需添加佐剂，则应保证添加的佐剂不会引

起不可接受的毒性<sup>[4,5]</sup>，且佐剂的使用所带来的增强免疫应答的潜在利益，必须超过其所带来的风险<sup>[2]</sup>。

含佐剂疫苗的质量评价涉及的诸多特殊考虑包括佐剂与疫苗抗原组分的相互作用及相容性、佐剂对于抗原组分检测时产生的影响、整个货架期期间的稳定性等。

含铝佐剂疫苗均需开展必要的临床前研究和临床研究。一般在非临床研究阶段，首先应对铝佐剂或铝佐剂系统的类型、佐剂与抗原的剂量及疫苗安全性和有效性进行全面系统的研究（包括铝佐剂和其他佐剂联合应用的组合）；在临床试验前初步确定拟用于临床试验的制剂处方。如果某些疫苗缺乏可靠的动物模型或者免疫指标来预测免疫效果，应该考虑在早期临床试验中完成相关的探索性研究。在研发联合疫苗时，对于联合疫苗的每种抗原成分均应提供添加或者不添加铝佐剂的充分证据。同类产品已有研究数据可为非临床和临床研究提供重要指导信息<sup>[2,4,5]</sup>。

## 二、 适用范围

本指导原则根据国内外常见铝佐剂和含佐剂疫苗的研究经验和结果，以及相关技术指导原则的科学共识，提出与铝佐剂相关的药学、临床前研究和临床研究及上市后的生产质量控制方面的技术要求。适用于含单一类型铝盐或不同类型铝盐组合的人用预防性疫苗，包括单价疫苗、联合疫苗等。

对于铝佐剂与其他佐剂成分（如，CpG、MPL、脂质体、

QS21 等)形成的佐剂系统<sup>[6]</sup>,需根据产品特点和特定佐剂的性质开展相应研究,在借鉴本指导原则时需谨慎。

对于已上市的含铝佐剂疫苗,应参照本指导原则,继续完善和提升铝佐剂的质控水平。

铝佐剂及铝佐剂疫苗的研发一般应满足现有药典通用要求及相关指导原则要求,如,“联合疫苗临床前和临床研究技术指导原则”等。对于创新疫苗或改良疫苗,选择的佐剂类型及用量需进行充分的临床研究和风险-效益评估。

铝佐剂及含铝佐剂疫苗的生产应符合现行 GMP 的相关要求。

鼓励在铝佐剂研发过程中与监管机构进行适时的沟通。

### 三、 药学研究

目前疫苗中使用的铝佐剂包括外购和自制两种来源,无论何种来源,在佐剂及疫苗研究过程中均应参考本指导原则的对应部分,对佐剂、佐剂-抗原结合物、疫苗成品,从原材料、制备工艺、质量控制、有效性和安全性进行全面的分析。

#### (一) 铝佐剂

##### 1、 铝佐剂描述

应详细描述佐剂的性质和化学组成。若适用,应提供佐剂分子式/化学式。当应用一种或多种佐剂,和/或佐剂含有一种以上的成分时,必须根据已获取的产品知识描述每种佐

剂和/或每种佐剂成分的功能<sup>[2]</sup>。

不同类型的铝佐剂在结构形态、抗原吸附选择性、体内代谢清除时间等方面存在显著差异。同时，铝佐剂的质量特性高度依赖于生产工艺，不同工艺制备出的铝佐剂在粒径大小和分布、等电点等方面的质量属性也不同。应根据充分的研究结果，提供铝佐剂的相关基本信息。

## 2、铝佐剂生产用原材料的质量控制

铝佐剂制备的原材料为无机盐，原则上应符合《中国药典》“生物制品生产用原材料和辅料质量控制规程”相关规定。

## 3、铝佐剂的生产工艺

应提供铝佐剂生产工艺的详细信息，包括但不限于工艺研究的相关数据、过程控制及工艺验证数据。

严格的质量属性设计和工艺参数设计是工艺开发的重要前提。铝佐剂的工艺开发可参照 ICH Q8<sup>[7]</sup> 等国际通行原则，以铝佐剂和/或疫苗的候选关键质量属性确定工艺路线、工艺参数并明确工艺过程控制策略。

常见的氢氧化铝佐剂制备方法有氢氧化钠法和氨水法。常见的磷酸铝佐剂制备方法为铝盐/磷酸盐混合液与氢氧化钠溶液进行反应。铝佐剂制备大致可分为铝盐的沉淀反应、反应终止、沉淀洗涤、铝佐剂浓度调整、无菌处理等步骤<sup>[8]</sup>。工艺开发阶段，应进行各步工艺参数对铝佐剂质量特性影响的研究。

铝盐沉淀研究需考察的工艺参数包括：反应温度、pH 值、物料的滴加速度和方式、反应时的搅拌速度或气体流量、反应时间、反应罐容积、每批次的生产量等；反应终点研究需考察的工艺参数包括：反应终点 pH 值或其他指标等；铝佐剂沉淀洗涤需考察的工艺参数包括：沉淀洗涤的缓冲液选择、沉淀和洗涤液比例、洗涤次数等；铝佐剂浓度调整需考察的工艺参数包括：稀释剂的选择（如，考虑与成品的相容性等）、铝佐剂目标浓度；在佐剂的无菌处理方面，对于采用灭菌工艺的，需关注灭菌条件、灭菌次数对佐剂质量特性的影响；对于采用无菌工艺制备的，应对佐剂制备、使用过程的无菌保障控制进行全面的风险评估和验证。研发阶段应通过上述工艺参数的研究和优化，确立铝佐剂的生产工艺。

上市前应明确影响铝佐剂制备的关键工艺参数，在此基础上建立充分的生产工艺过程控制策略，包括关键及主要工艺操作参数控制、中间产品性能参数检测。

上市前应参照国内外技术指南，通过连续生产批次关键工艺参数和关键质量属性等指标的评价进行充分的工艺验证，证实铝佐剂生产工艺连续、稳定、可控。工艺验证批次除放行检测项目外，还应包括重要的铝佐剂质量特性研究项目，如零电荷点等。工艺验证中需关注铝佐剂的无菌生产验证，证实拟定的无菌处理工艺可达到预期的无菌保障，并且不会对铝佐剂的质量属性带来不利影响。

#### 4、质量特性研究

应对铝佐剂进行全面特性研究，确定关键质量属性（CQA），以作为质量标准建立的基础。铝佐剂质量研究包括但不限于：1）化学成分，包括定性和定量检测；2）理化特性，如外观、粘度、pH、沉降系数、粒径大小及分布、表面电荷；3）生物化学特性（如，鉴别、吸附率等）；4）纯度，如内毒素含量、生物限度、工艺杂质检测。鼓励使用先进方法增加对铝佐剂的理化特性的了解和研究。

通常认为，氢氧化铝佐剂的质量特性指标包括，但不限于：化学组成、pH、粒径大小及分布、铝含量、吸附率、沉降速度、无菌检查、比表面积、等电点、X射线衍射图谱、最大吸附能力、微环境pH、电镜结构、工艺相关杂质等；磷酸铝佐剂的质量特性指标包括，但不限于：化学组成、磷/铝比值、pH、粒径大小及分布、铝含量、吸附率、无菌检查、等电点、最大吸附能力、微环境pH、电镜结构、工艺相关杂质等。

#### 5、铝佐剂质量标准

铝佐剂质量标准的建立可参照ICH Q6A<sup>[9]</sup>和ICH Q6B<sup>[10]</sup>的相关要求。

氢氧化铝的常规检测项目通常包括：外观、溶解性能、鉴别试验、pH值、氢氧化铝含量、（牛血清白蛋白）吸附率、沉降率、细菌内毒素、等电点、粒径大小及分布、无菌检查

及杂质（如：氯化钠含量或氯化物检测、硫酸盐、硝酸盐、铵盐、砷盐、铁盐、重金属）等。

磷酸铝佐剂的常规检测项目通常包括：铝含量、氯化钠含量、pH值、磷铝摩尔比、粒径大小及分布、等电点、无菌检查、内毒素、性状、鉴别（磷酸盐、铝盐），根据工艺路线考虑是否纳入相关重金属、硫酸盐、过氧化物、砷检测等。

## 6、稳定性研究

通常认为，铝佐剂可以在无菌密闭容器中于 2-8℃或室温保存，不可冷冻。

铝佐剂的贮存时间可能影响佐剂-抗原的相互作用，因此，铝佐剂的稳定性研究条件应充分考虑到贮存、运输及其使用的整个过程。

除常规放行指标外，稳定性研究的考察项目需包含与佐剂结构和抗原吸附/结合特性相关的指标，如 pH 值、粒径大小及分布、抗原吸附力等，鼓励采用新技术如 X-ray 衍射图谱对铝佐剂稳定性进行研究。

应在稳定性研究基础上，结合佐剂出厂/制备时间、转移运输情况、佐剂疫苗的整体效期及企业质量要求，制定佐剂母液及稀释液的保存温度、时间和效期。

## 7、铝佐剂变更

铝佐剂的原材料供应商、生产场地、制备工艺或外购铝佐剂供应商发生变更，可能会对疫苗的安全性、有效性产生

不良影响。因此，应对变更进行充分评估，除对变更前后的铝佐剂质量进行评估外，更为重要的是需对佐剂变更对吸附产物、疫苗成品的影响进行可比性研究，以证明铝佐剂的变更未对吸附产物及疫苗成品的安全、有效、质量可控性产生不良影响。在疫苗日常生产时，建议结合铝佐剂质量趋势分析及疫苗质量趋势分析对铝佐剂质量稳定性进行定期分析。

## 8、外购铝佐剂的特殊考虑

外购铝佐剂通常作为关键辅料予以控制，需明确并固定佐剂的生产商，建立全面的质控体系。疫苗生产商需按照GMP对关键辅料审计的要求开展对铝佐剂供应商的外部审计。

除外部审计外，疫苗生产商需结合佐剂生产商提供的质控项目、《中国药典》相关要求及本指导原则制定铝佐剂的内控质量标准并进行批放行检验。

在佐剂首次选用、供应商变更、佐剂生产变更（如生产工艺、生产地点等）时，建议在常规放行检验的基础上，采用适宜方法对铝佐剂进行扩展的结构确证研究，以积累对铝佐剂的特性认知，确保变更对产品质量不会产生负面影响，如X-线晶体衍射、零电荷点测定、核磁分析、比表面积等研究<sup>[13]</sup>。

## （二）佐剂-抗原结合物

### 1、制剂处方开发和吸附工艺研究



含铝佐剂疫苗的制剂处方中含有抗原、佐剂、缓冲液/辅料、防腐剂、稳定剂等，存在多种抗原、佐剂、缓冲液/辅料之间的相互作用。疫苗制剂需要通过抗原配制、缓冲液配制、佐剂配制、抗原-佐剂吸附、最终配制等多步工艺实现。需基于对相关机理的理解、抗原性质和产品需求进行制剂处方开发和吸附工艺研究。

### （1）制剂处方开发：

由于不同抗原特性不同、铝佐剂与抗原作用机理多种、在不同缓冲体系条件下铝佐剂表面微环境存在显著差异，特定抗原吸附至特定佐剂最适制剂处方仍需基于具体问题具体分析。应明确制剂处方中每种组分的作用及含量，提供佐剂、缓冲液、盐浓度、pH 以及其他辅料的选择依据，考察其对佐剂-抗原相互作用、结合效率、免疫原性、疫苗效力及稳定性的影响，分析抗原和佐剂的结合机理。

通常抗原含量、佐剂含量、抗原/佐剂配比的确定包括临床前和临床研究两个阶段，临床前主要考察不同制剂处方对成品吸附率、动物免疫原性、生产工艺可控性等方面的影响，后续通过临床试验以进一步筛选和确定制剂处方。

需要强调的是，吸附率与免疫原性的关系因产品而异。佐剂吸附抗原的免疫原性受多种因素的影响：吸附率、吸附强度、暴露于体内后解吸附速率等<sup>[4]</sup>。因此，应综合工艺验证、临床前/临床研究、稳定性等数据确定吸附率范围。

## (2) 吸附及配制工艺研究:

佐剂-抗原结合可以是半成品配制前的独立工序(如,首先形成单价吸附原液),也可以与半成品配制过程同时进行。

佐剂-抗原吸附生产方式主要采用抗原与制备完成的铝佐剂(预制或外购)进行吸附,需要研究并明确的吸附工艺参数可能包括:抗原浓度、铝浓度、吸附的缓冲体系、盐离子浓度、pH 值、加样顺序、加样速度、吸附时间、温度、搅拌时间、搅拌速度等。佐剂-抗原吸附也可采用原位吸附,由于原位吸附工艺涉及佐剂、佐剂-抗原复合物的同时生成和控制,还需关注更多影响抗原-佐剂结合的工艺操作参数,如,洗涤缓冲液类型、沉淀和洗涤液比例、洗涤次数等。对拟采用的吸附工艺方式,应提供充分的选择依据。

建议在制剂处方研究、吸附工艺研究及吸附工艺验证中开展抗原-佐剂吸附动力学的研究。通过动力学研究确定结合速度及吸附的工艺条件(如,pH、离子强度、缓冲系统、佐剂和抗原配比、吸附时间和吸附温度等)。在工艺验证过程中通过对吸附动力学的研究对工艺性能进行进一步确证。鼓励采用新技术进行相关研究。

在工艺确认的基础上,应识别吸附及配制关键工艺步骤,建立适宜的过程控制策略,确保工艺一致性<sup>[10]</sup>。

抗原和佐剂吸附后的单价吸附原液等产物可作为中间产品在适当条件下保存,后续进行制剂配制和灌装。应对含

铝佐剂疫苗灌装工艺进行充分的研究，如，灌装前中间产物的重悬条件、灌装期间产品均一性的保持条件（包括连续灌装和意外情况下的中断等），建立明确、可控的灌装工艺参数，进行充分验证以保证灌装成品的均一性。

应明确中间产品的保存阶段、保存条件和保存时间<sup>【2】</sup>。应对中间产品开展充分的稳定性研究。

## 2、佐剂-抗原结合物质量特性研究

整体上，应评价佐剂和抗原之间、佐剂之间（如使用佐剂系统）的相容性和干扰<sup>【4】</sup>。对于佐剂-抗原结合物质量特性研究一般需关注：

佐剂-抗原结合水平及其一致性，如，吸附后及整个货架期的佐剂-抗原吸附率、吸附强度及其保持状态等。

吸附前后结合物中的抗原完整性，如，吸附前后及解吸附后抗原结构变化，吸附后的抗原聚集，吸附对蛋白抗原和多糖抗原稳定性（降解）的影响，吸附对佐剂-抗原复合物其他的理化特性影响研究，如，粒径等理化参数<sup>【2】</sup>。鼓励采用先进的技术方法研究吸附对抗原结构的影响<sup>【13】</sup>。

佐剂-抗原复合物的生物学活性（采用生物学方法的检测）是最关键的综合性指标，尤其是在无法完全理解佐剂疫苗组分/理化特性与疫苗免疫原性/有效性相关性的情况下，可作为理化特性研究的补充，如进行体内/体外效力研究，总抗原/游离抗原含量、吸附强度对效力的影响等。

如果疫苗是采用与佐剂预混合后共同包装的，应进行成品的效力检测；如果抗原组分、佐剂组分采用了单独包装，除进行吸附后的成品效力检测外，需要进行吸附前抗原中间产物的效力和抗原含量检测。

### 3、佐剂-抗原结合物的稳定性研究

佐剂-抗原结合物、成品的稳定性研究可参照《生物制品稳定性研究指导原则》，并根据产品自身特点结合保存、包装和运输的情况设计合理的研究方案。

货架期抗原解吸附可能会对产品的免疫原性和安全性带来影响。因此，除常规放行指标外，佐剂-抗原结合物的稳定性研究应特别关注抗原从佐剂上解离的程度、抗原降解及完整性（如抗原分子量变化、游离多糖变化）<sup>[2,11]</sup>、效力等方面的考察。

### 4、容器和密闭系统：

应参照《化学药品注射剂与药用玻璃包装容器相容性研究技术指导原则（试行）》对选择的包装容器和密闭系统进行评估和相容性研究。

在联合疫苗的开发过程中，应研究佐剂与其他组分间的相容性及对每一成分的药效和稳定性的影响，从而确定组分的包装形式，如，单一包装还是组合包装。

### 5、联合疫苗

本原则应与《联合疫苗临床前和临床研究技术指导原

则》联合考虑。

联合疫苗可包含多种佐剂-抗原结合物，其制剂研发应综合考虑抗原、佐剂、缓冲体系、辅料的相容性以及检测方法的影响等多个方面。应研究佐剂与其他组分间的相容性及对每种组分的吸附能力。考虑多个组分同时吸附时的吸附效率和动力学<sup>[12]</sup>。若有配制前不进行吸附的抗原组分，需评估佐剂对这种非吸附抗原的影响（如配制后是否会被吸附）、以及这种非吸附抗原对佐剂-抗原复合物的影响（如已吸附的组分在配制后是否有解吸附）<sup>[2,12]</sup>。联合疫苗制剂的研发过程中，需选用对各个抗原-佐剂吸附产物均适用的缓冲体系。建议采用矩阵分析的方法，研究不同制剂处方对于各个抗原的吸附、竞争以及相互作用等方面，可能产生的影响。

联合疫苗生产过程中不同抗原成分的混合策略主要有共同吸附、顺序吸附、平行分别吸附，需根据工艺可控程度和抗原竞争程度选择适宜的混合策略，以保证联合疫苗各抗原较好的免疫原性及生产的可重复性。

## 6、含多种佐剂组分的疫苗

疫苗制剂中可能存在多种佐剂，如，不同抗原组分采用不同佐剂、采用佐剂系统（如已上市的 AS 佐剂系统等）<sup>[6]</sup>、虽采用一种铝佐剂但在制剂处方中实际以几种铝佐剂的形式存在。此类佐剂系统中铝佐剂药学研究部分可参照本指导原则相关内容。对于铝佐剂以外的其他佐剂成分，相关药学

研究可参照国外新佐剂相关技术指南等要求，申报资料可参考药用辅料研究要求。

除上述每种佐剂的单独药学研究外，对于含有佐剂系统的疫苗，还需对佐剂间的相互结合及干扰<sup>[4]</sup>、每种佐剂与每个抗原的相互干扰、佐剂-抗原结合物间的相互干扰情况进行研究，应通过 pH 变化等考察指标证明制剂中佐剂已经达到化学平衡，或后续的平衡不影响产品品质，并保证整个货架期期间上述相互作用处于持续的稳定状态。

## 7、放行质量标准

### 7.1 检测项目

根据疫苗的组分组成、生产工艺等具体情况，佐剂-抗原结合物的质控可能包括吸附前中间产物的控制、吸附单价原液（如有）、半成品和成品的质量控制，上述各个阶段的检测是保证最终疫苗成品质量的必要基础，但具体检测阶段的检测项目可根据各个阶段的检测项目要求、检测方法的可行性、批签发要求综合考虑，一些在成品无法检测的项目（如纯度、杂质残留等）可在早期阶段进行检测。对吸附后产物的质控一般包括以下几个阶段：

#### （1）单价吸附原液

单价吸附原液质控指标通常包括抗原含量、蛋白含量、吸附率、佐剂含量、pH 值、细菌内毒素、无菌等检定项目。

#### （2）半成品

半成品检定一般应至少包括无菌试验，对于佐剂含量、吸附率、防腐剂含量等检定项目，可在成品中予以检定。

### （3）成品

成品质控指标通常包括体内效价、体外效价、吸附完全性试验及药典要求的其他必要项目。

## 7.2 检测方法

铝佐剂吸附对于抗原组分检测将产生特定的影响，应研究配制后这种非吸附抗原相关的检测方法和检测结果是否会受到影响<sup>[12]</sup>，一些特殊的关注点列举如下：

铝吸附后成品无法准确的进行一些工艺相关杂质的检测，如，残留 DNA、宿主细胞蛋白等。应在适宜的敏感步骤予以检测。

铝吸附后成品的一些检测项目（如，体外效价检测等）往往需要进行解吸附的处理，需要进行相应的方法学研究和方法学验证。解吸附方法建立在对抗原佐剂吸附机制的理解基础之上。应选用适宜、可行的解吸附方法，方法学验证应包括解吸附过程对抗原构象的影响、解吸附后的抗原回收率等研究。

对于含铝佐剂的疫苗，成品体外效力试验主要反映抗原对成品效力的影响，因此，通常成品应进行佐剂含量检测、吸附率检测及体内效力检测。上市后通过足够批次的体内和体外效力数据对比分析，评价体外效力代替体内效力的可行

性。

#### 四、 非临床研究

整体上，需采用适宜的试验系统研究佐剂/抗原的适宜比例、免疫程序、免疫途径等影响疫苗有效性、安全性的因素。非临床有效性关注疫苗的免疫原性、效价及保护力等方面的作用。非临床安全性评价对于确定合适的佐剂/抗原比例和安全剂量、免疫程序与途径，以及确定临床试验初期需检测的未知或潜在不良反应非常重要，由于抗原、佐剂和佐剂疫苗的最终制剂均有可能导致安全问题，佐剂疫苗的安全性评价应包括单独佐剂的毒性研究和佐剂疫苗的毒性作用。

一般不需进行药代动力学研究。但对于创新佐剂，如果生物分布与体内药代动力学研究有助于理解佐剂作用模式时，需考虑进行相关研究<sup>[2]</sup>。

##### （一）、佐剂

对于传统铝佐剂一般不再要求单独的临床前药效和毒理研究。

对新的佐剂成分，应研究佐剂发挥预期作用的机理，能够在相关的动物模型中显示佐剂/抗原结合物增强的免疫应答反应。研究佐剂是否触发先天/适应性免疫系统、佐剂与抗原结合后对体液和细胞免疫激活的程度<sup>[2]</sup>。

理想的相关动物模型应能对病原体（感染性疾病）的致命性攻击表现出保护作用。如果不存在这样的模型，可选择



一种可以诱导与预期的人类免疫反应类似的动物<sup>[2]</sup>。

新的佐剂应进行单独的安全性研究，一般应在两种动物上进行佐剂的重复给药毒性试验，其研究参考《药物重复给药毒性试验技术指导原则》，重点考察免疫器官的组织病理学、免疫学指标以及与免疫途径一致的局部耐受性<sup>[2,15]</sup>。佐剂本身可能具有免疫原性，需在合适的模型中观察过敏反应（如被动皮肤过敏试验 PCA 和主动全身过敏试验 ASA）。如疫苗接种计划可能包括育龄妇女，或通过孕妇免疫预防婴儿的传染性疾病，该类疫苗应进行佐剂的生殖毒性研究，试验方案应反映免疫接种程序。由于对加强接种的免疫应答可能不同于初次免疫应答，考虑在动物交配前进行初免，在怀孕期间进行加强免疫。新佐剂可能是生物制品或化合物的属性，对于生物制品属性的佐剂，可不进行遗传毒性研究；对于化合物属性新佐剂，需进行遗传毒性试验<sup>[2,11]</sup>。如果对心血管、呼吸及神经系统存在潜在的毒性风险时，还需进行相应的安全药理学研究。

## （二）、佐剂与目标抗原组合的研究

佐剂与目标抗原组合的非临床研究应符合疫苗药理学和安全性研究的相关指导原则。对于新疫苗（含新佐剂+新抗原、新佐剂+已有抗原、已有佐剂+新抗原），应进行系统的非临床安全性与有效性研究，包括免疫原性、效价及保护力、免疫毒性、安全药理学、单次与重复给药毒性、局部耐

受性、过敏性及特异性毒性研究等。根据疫苗的适应人群，考虑进行相应的生殖毒性试验及遗传毒性研究。

重点关注以下研究<sup>[2]</sup>:

局部耐受性：研究抗原-佐剂结合物潜在的局部反应，必要时与单独佐剂进行比较研究。在风险效益方面探讨佐剂和抗原的最佳剂量比。

重复给药毒性研究：动物给药方案应参考拟定的人体免疫程序与途径，采用适宜的敏感动物，动物给药次数一般高于人体拟免疫的次数。疫苗接种间隔应该有足够的时间。

免疫效应的研究：研究不同佐剂/抗原配比的剂量效应关系，通过对比单独抗原或已上市疫苗以评价疫苗的效应。建立免疫学指标分析检测方法，全面评估疫苗的免疫原性。

### (三)、含铝佐剂疫苗的临床前研究

为了降低临床中人群使用的风险，根据铝佐剂与抗原的特性，基于“具体情况具体分析”的原则，科学评价铝佐剂的安全性和有效性，包括与同类制品的效价比较、保护力试验、一般毒性、免疫原性、免疫毒性、局部耐受性、过敏性及特异性毒性等。

(1) 对于不改变已上市疫苗所含铝佐剂与抗原的种类：如铝佐剂与抗原含量与上市疫苗相同，可进行局部耐受性、过敏性等安全性研究，并与已上市疫苗进行对比。必要时，还需设计单独的铝佐剂对照组以判断铝佐剂的作用。当铝佐

剂或抗原含量发现改变时，应进行免疫原性、效价及保护力的研究；如果这些变化可能增加安全性风险，则应考虑进行重复给药毒性试验。

（2）对于已上市铝佐剂与新抗原结合的疫苗：应进行免疫原性、效价及保护力等有效性研究。开展免疫毒性、一种敏感动物种属的单次与重复给药毒性、局部耐受性、过敏性及特异性毒性研究。根据抗原作用机制与适应人群，判断开展生殖毒性试验的必要性。如果已上市铝佐剂或上市抗原存在心血管、呼吸及神经系统的安全性风险时，需进行相关安全药理学研究。

（3）对于未上市含铝佐剂系统与已上市抗原结合的疫苗：应进行免疫原性、效价及保护力等有效性研究。开展免疫毒性、单次给药与重复给药毒性、局部耐受性、过敏性及特异性毒性研究。如果新铝佐剂已进行单独的系统毒性研究，可考虑进行一种敏感动物种属的重复给药毒性试验。拟用于育龄妇女的疫苗，应考虑进行生殖毒性试验；如存在心血管、呼吸及神经系统的毒性风险，还需进行安全药理学研究。需确认佐剂对疫苗安全性的影响，关注抗原和佐剂作用机理的相互作用可能造成的叠加毒性，使用佐剂的必要性。

（4）对于未上市含铝佐剂系统与未上市新抗原结合的疫苗：应进行系统的非临床安全性与有效性研究，包括免疫原性、效价及保护力、免疫毒性、安全药理学、单次与重复

给药毒性、局部耐受性、过敏性及特异性毒性研究等。根据疫苗的适应人群，考虑进行相应的生殖毒性试验。

## 五、 临床研究

对于含铝佐剂疫苗的临床试验应能证明，在加入铝佐剂后可以提高免疫应答；同时不会明显增加局部和全身的不良反应。即佐剂的使用所带来的增强免疫应答的潜在获益，必须超过其所带来的风险；且安全性风险对于临床可以接受。如果使用了一种以上的佐剂（包括铝佐剂和其他佐剂联合应用的组合），应研究评估对免疫应答的联合作用。另外，每一佐剂对抗原的作用也应阐明，为临床试验评价提供依据。

在研发含铝佐剂联合疫苗时，对不含佐剂的联合疫苗与分别加有每种佐剂的联合疫苗应充分进行比较研究。

对于含铝佐剂疫苗应基于充分的临床前研究结果验证开展临床试验。以下情形均需根据情况进行必要的临床试验：

- 已上市疫苗所含佐剂与新抗原组合；
- 已上市抗原与新佐剂组合；
- 佐剂种类和/或添加量的增加、删减、替换，包括已上市疫苗在药典要求范围内铝含量的变更等。

### （一）、早期临床研究

早期的铝佐剂疫苗临床研究，在进行初步安全性观察的同时，还要研究佐剂对与之结合抗原的免疫应答性质的影

响。需要考虑不同类型的铝佐剂（如氢氧化铝、磷酸铝）及其缓冲体系对铝佐剂疫苗安全性的影响。

对于含铝的佐剂系统，无论抗原是否已批准上市，如临床前研究不能充分预测人体的免疫效果，临床研发计划在设计时应包含必要的对比性临床研究，如是否添加佐剂、不同抗原-佐剂配比含量、不同佐剂类型组合等，以证实加入铝佐剂系统的必要性和适宜的佐剂-抗原配比的合理性。

早期临床研究应提供一些尽管有限、但非常重要的安全性方面的研究数据。已报道的含铝佐剂疫苗的不良反应通常是局部反应，包括无菌性脓肿、红斑、皮下结节、肉芽肿炎症和接触性超敏反应，应关注这些不良反应的发生情况。上臂三角肌肌肉接种含铝佐剂疫苗，还应关注巨噬细胞肌筋膜炎(MMF)<sup>[16]</sup>的发生情况。

早期临床试验主要在健康成人以及有限例数的特定目标人群中进行。如果疫苗计划全部或者主要用于婴幼儿/儿童/老年人，在完成健康成人的研究后，要尽可能获得一定数量的整体目标人群的研究数据。

### 1、剂量探索研究

一般在临床试验前应初步确定拟用于临床试验的含铝佐剂疫苗制剂处方范围。拟选用的佐剂和抗原的合理目标用量，应代表免疫应答和不良反应风险之间权衡的一个最佳配比。对于大多数佐剂-抗原结合物，要用尽可能低的佐剂量和

/或抗原达到所需的免疫应答反应和产生最小的不良反应。

对于含铝佐剂与已上市的抗原结合物，通常在临床研究期间不需要单独对铝佐剂进行剂量探索，剂量范围参考已上市同类产品。例如，如果在已上市抗原或多种抗原的联合疫苗中，加入某一含量的铝佐剂或改变铝佐剂的使用类型，则应将重点集中在佐剂的用量上；但是，对于铝佐剂与新抗原的结合物，既要探索铝佐剂的用量，还要注意选择新抗原的最佳剂量；必要时在临床早期进行充分剂量探索研究。如在临床研究过程中需要对铝佐剂含量进行调整或改变铝佐剂系统，应根据实际变化大小情况,在可接受范围内考虑在早期临床研究中进行探索研究；否则，有必要首先重新对铝佐剂单独进行相应的非临床剂量探索及佐剂-抗原结合物配比研究，基于风险评估结果再考虑重新进入临床试验。

应尽可能在疫苗的目标人群中进行研究；但在实施困难时，会考虑选择的剂量是根据不同目标人群的受试者中进行。并且，如果剂量探索研究未能得出唯一确认的抗原-佐剂剂量，在后续的确证性试验中，将有可能还会对多个剂量进行评估。此时，期望在入选的受试者中，至少对所包含的亚组，评估拟所选择的剂量的抗原-佐剂结合物产生免疫应答。

## 2、观察指标的选择

对于铝佐剂与其他佐剂组成的佐剂系统，应关注铝佐剂对体液免疫和细胞免疫两个方面的作用：①体液免疫应答的

评价，除进行符合国际标准的功能性抗体(中和、调理吞噬或杀菌抗体)的检测和滴定外，还应对免疫球蛋白的亚类进行研究；对抗体的其他特性，如对亲和力进行评估也是有益的。

②细胞免疫功能评价，对于使用铝佐剂系统的疫苗，建议检测抗原特异性 T 细胞反应，包括 Th2 和 T 调节因子细胞，和/或有关的细胞因子等，对采用的检测方法学及合理性，均应在申请注册时阐明。

### 3、其他

在早期临床研究中，未强制要求对铝佐剂或含铝的佐剂系统进行单独给药的研究。如果研发含铝新型佐剂系统，或已上市的铝佐剂改变用量或给药途径，通常也首先需要充分的临床前安全性资料支持。如果有研究证据显示铝佐剂系统的组分可能会在体内蓄积，应考虑进行必要的人体药物动力学评价。如果有必要在临床试验中对铝佐剂系统单独进行研究，建议咨询审评部门或相关专家。

## (二)、确证性临床试验

### 1、基本考虑

铝佐剂疫苗的临床试验应遵循随机、盲法、对照的原则；应根据抗原和佐剂成分的特性进行设计。对于大多数临床试验，尤其是对于已上市疫苗抗原量变更时，需要重点评价与保护有关的有效性免疫原性指标。如果缺少免疫原性替代指标，就需对铝佐剂疫苗的临床保护效力进行评价。还应在目

标人群中进行有效性免疫指标测定与保护效力之间的相关性评价。如果年龄组的跨度较大，在研究设计时，应事先进行分层或者计划进行多个独立的临床试验。

## 2、对照的选择

在进行铝佐剂新疫苗临床研究时，选择对照在符合疫苗临床试验技术指导原则的同时，应基于疫苗特性进行个性化考虑。

对于已上市抗原添加铝佐剂或含铝佐剂系统的疫苗，应选择该上市抗原疫苗作为对照，并且有效性应做出优效的结果；而同时不会增加安全性风险。如果使用铝佐剂的目的是为了在特定条件下减少抗原的需要量，如，大流行流感疫苗(以备在大流行时、使用有限的疫苗剂量接种尽可能多的人群，使之达到免疫保护)，也可以考虑进行非劣效性设计。

对于铝佐剂或含铝佐剂系统加上新抗原疫苗，设计中还应采用预防同样疾病的上市疫苗作为对照。如果没有预防同样疾病的上市疫苗，也可采用目标人群可用的、其他不相关疫苗作为安慰剂/空白/铝佐剂对照。必要时，还应设立多组对照进行研究。

在进行含铝佐剂或含铝佐剂系统联合疫苗临床研发时，基于非临床研究结果必要时对不含佐剂的联合疫苗抗原成分与分别加有每种佐剂的联合疫苗抗原成分进行充分比较研究。



### 3、统计学要求<sup>[17]</sup>

在临床试验统计分析计划中，应明确说明需要验证的假设和分析所用的统计学方法。样本量应保证临床试验满足统计学要求。对非劣效试验，必须事先设定非劣效的界值，并提供设定的依据。在设计临床试验使用的分析方法和样本量大小小时，还应适当考虑多重因素影响的问题。

## 六、 名词解释

佐剂：是指能够辅助抗原应答，调节免疫反应的物质。

佐剂系统：是指由多种免疫调控分子和递呈系统组合形成的特定组合，通过有效调整先天免疫或/和获得性免疫反应，获得针对特定病原体及目标人群更好、更广的疫苗保护效力。

铝佐剂：指铝盐或者铝盐混合物，如，氢氧化铝、磷酸铝、无定型羟基磷酸铝上述铝佐剂的混合系统等。

含铝佐剂系统：是指以铝佐剂为基础，与其他佐剂成分或递呈系统（如，CpG、MPL、脂质体、QS21 等）共同形成的复合佐剂系统，如，AS04 佐剂系统。

含铝佐剂疫苗：是指铝佐剂以吸附、结合或混合等方式与抗原一起配制形成的疫苗。疫苗中除铝佐剂外，可能同时包括佐剂系统。

联合疫苗：本指南所述的联合疫苗系指包括两种或两种以上抗原组分的疫苗，这种抗原组分组合可以是生产过程中

混合制备的，也可以是注射前即时混合的。联合疫苗包括用于预防多种疾病的联合疫苗以及预防由不同株或血清型的同种微生物引起一种疾病的多价疫苗。

共同吸附：多种抗原与佐剂共同混合进行吸附。这种方法优点是生产步骤简单，不足是因不同抗原间的吸附竞争会导致有的抗原吸附率较低。

顺序吸附：在铝佐剂及缓冲液中顺序加入各种抗原。抗原加入顺序可能对各抗原的吸附率和终产品的保护效力产生影响。

平行分别吸附：一个或几个单一抗原分别与佐剂吸附，然后混合或与不需事先吸附的抗原混合。这种方法可以较好控制单价抗原的吸附程度，减少吸附率的批间差异；单独吸附的佐剂-抗原结合物可以存储并按需使用。但需要大量的处方开发和优化研究，且生产成本低。

巨噬细胞肌筋膜炎(MMF)：是一种新出现的组织病理性损伤。最先由法国肌病研究学会下属的获得性和免疫消失相关的肌肉疾病研究组(GERMMAD)报道。其特征是肌外膜、肌束膜和围筋膜肌内膜通过巨噬细胞系的非过碘酸-雪夫(PAS)阳性细胞而产生的向心性浸润，伴有嗜铁性晶体包涵体，并有病灶型慢性炎症反应。MMF主要通过三角肌活检在成人患者中发现，组织病理学损伤局限在此。未见坏死(上皮样细胞和巨细胞)和细胞有丝分裂，也未见不明显的

肌肉纤维损害。

## 七、 参考文献

- [1] 《疫苗的质量控制与评价》王军志，2013，P166-175
- [2] GUIDELINE ON ADJUVANTS IN VACCINES FOR HUMAN USE, EMA, 2005
- [3] He P, Zou Y, Hu Z. Hum Vaccin Immunother. Advances in aluminum hydroxide-based adjuvant research and its mechanism. 2015;11(2):477-88.
- [4] Guidelines on the nonclinical evaluation of vaccine adjuvants and adjuvanted vaccines。 WHO,2013
- [5] FDA-Regulatory Considerations in the Safety Assessment of Adjuvants and Adjuvanted Preventive Vaccines, FDA,
- [6] STANLEY A.PLOTKIN, WALTER A.ORENSTEIN,PAUL A.OFFIT 《Vaccines》 Sixth Edition, Page: 84-85.
- [7] Pharmaceutical Development, ICH Q8, 2009
- [8] Gupta, R. K., Rost, B. E. Aluminum compounds as vaccine adjuvants, in (O'Hagan D. T., ed.), Vaccine Adjuvants, Preparation Methods and Research Protocols. Humana Press, Totowa, NJ, 2000, pp 65–89.
- [9] Specification test procedures and acceptance criteria for new drug substances and new drug products chemical substance, ICH Q6A, 1999

- [10] Specification test procedures and acceptance criteria for biotechnological biological products, ICH Q6B, 1999
- [11] WHO GUIDELINES ON NONCLINICAL EVALUATION OF VACCINES, WHO,
- [12] GUIDANCE FOR INDUSTRY FOR THE EVALUATION OF COMBINATION VACCINES FOR PREVENTABLE DISEASES: PRODUCTION, TESTING AND CLINICAL STUDIES, FDA, 1997
- [13] Dey AK, Malyala P, Singh M. Physicochemical and functional characterization of vaccine antigens and adjuvants. *Expert Rev Vaccines*. 2014;13(5):671-85.
- [14] Hansen B, Sokolovska A, HogenEsch H, Hem SL. Relationship between the strength of antigen adsorption to an aluminum-containing adjuvant and the immune response. *Vaccine*. 2007;25(36):6618-24.
- [15] CDE. 药物重复给药毒性试验技术指导原则 [EB/OL]( 2014-05-13) [2018-08-14]. <http://www.cde.org.cn/zdyz.do?method=largePage&id=192>
- [16] 疫苗中的铝佐剂专题讨论会, 国外医学:预防、诊断、治疗用生物制品分册, 2003;26(1):27 -30.
- [17] 白玉, 杨焕, 新佐剂疫苗临床研究的基本考虑。中国临床药理学杂志, 2007,23(4),319-320.