幼龄动物毒理学试验的案例分析及考虑要点

单晓蕾，黄芳华*，姜凯迪
（国家药品监督管理局药品审评中心，北京 100022）

摘要：近年来儿童用药成为药物开发热点，儿童人群临床试验逐渐增多。当支持开展儿童临床试验安全性的非临床和临床数据缺乏时，需要考虑开展幼龄动物试验，旨在阐述在其他非临床试验或儿童临床试验中无法得到充分阐述的安全性问题，包括潜在的长期安全性的影响。该文基于2020年发布的ICH S11支持儿童用药开发的非临床安全性指导原则并结合实际案例，阐述了幼龄动物试验的设计和实施的考虑要点，以期为我国儿童用药开发提供参考。

关键词：ICH S11；幼龄动物试验；儿童用药开发
中图分类号：R965.3　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2022)11-1565-06
DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2022.11.006

Cases Analysis and Considerations on Juvenile Toxicology Studies

SHAN Xiaolei, HUANG Fanghua*, JIANG Kaidi
(*Center for Drug Evaluation, National Medical Products Administration, Beijing 100022*)

ABSTRACT: In recent years, paediatric pharmaceutical has become a hotspot of drug development and clinical trials in paediatric population have gradually increased. The conduct of juvenile animal studies (JAS) should be considered only when previous nonclinical and clinical data are insufficient to support paediatric clinical trials. A JAS is designed to address safety concerns that cannot be adequately addressed in other nonclinical studies or paediatric clinical trials, including potential long-term safety effects. The ICH S11 Nonclinical safety testing in support of development of pediatric pharmaceuticals was issued in 2020. This article discusses considerations of JAS, combining with ICH S11 guidance and cases analysis, aiming to provide information for pediatric pharmaceutical development in China.

Key Word: ICH S11; juvenile animal study; paediatric drug development

近年来，我国持续鼓励、促进儿童用药的研发创新，儿童用药的申报、审评数量呈现逐年上升的趋势。拟开发用于儿童人群的药品，包括已经在成年人中使用的产品以及考虑首次用于儿童人群的产品，应根据具体情况考虑开展幼龄动物毒理学试验（简称幼龄动物试验，juvenile animal study，JAS）。JAS的设计、实施具有复杂性和较大难度，本文将结合案例，对JAS的一些考虑要点进行阐述和分析，为儿童用药的研发提供参考。

1 儿科药物开发的非临床安全性评价指导原则

由于儿童处于生长发育阶段，器官系统不成熟或在药物治疗期间系统成熟，对药物的药动学、药效学和脱靶效应可能产生影响，进而引起儿童人群在药物安全性和有效性方面与成人存在差异。因此，需要考虑是否需要进行JAS，用以阐述其他非临床试验或儿童临床试验中无法得到充分阐述的安全性问题[1]。

从21世纪开始，各国陆续发布了支持儿童用药开发的非临床安全性研究指导原则。FDA于2006年发布了《儿科用药的非临床安全性评价指导原则》（Guidance for Industry: Nonclinical Safety

收稿时间：2022-10-20
作者简介：单晓蕾(1983—)，女，硕士，副主任药师，从事新药药理毒理审评工作。
通信作者：黄芳华(1976—)，女，博士，主任药师，从事新药药理毒理审评工作。
E-mail：huangfh@cde.org.cn

Evaluation of Pediatric Drug Products)[2]；EMA 于 2008 年发布了《儿科适应证用药的幼龄动物非临床试验必要性指导原则》(Guideline on the Need for Nonclinical Testing in Juvenile Animals on Human Pharmaceuticals for Pediatric Indications)[3]，日本厚生劳动省 (Ministry of Health Labour and Welfare, MHLW) 于 2012 年发布了《儿科用药幼龄动物非临床安全性研究指导原则》(Guideline on Nonclinical Safety Studies in Juvenile Animals for Pediatric Drug Development)[4]。为了促进区域间的协调一致，国际人用药品注册技术要求理事会 (ICH) 于 2014 年开始组建了 S11 专家工作组，对支持儿童用药开发的非临床安全性研究内容进行国际协调，于 2020 年 4 月 14 日发布了 ICH S11《支持儿科药物开发的非临床安全性评价指导原则》(以下简称 S11)[1]，我国国家药品监督管理局 (National Medical Products Administration，NMPA) 作为 ICH 成员参与了 ICH S11 的议题协调工作，并于 2021 年 1 月 21 日发布 S11 实施公告 (2021 年第 15 号)。

S11 推荐了支持儿童用药开发的非临床安全性评价的国际协调一致的标准，适用于拟开发用于儿童人群的小分子药物和生物制品，提出了 JAS 的必要性及 JAS 设计的具体要求。由于 JAS 的必要性和其试验设计需要具体问题具体分析，具有相当的灵活性，因此，本文结合案例分析，对幼龄动物试验的一些考虑要点进行探讨分析，以期为我国儿童用药开发提供参考。

2　附加 JAS 的考虑

ICH M3 和 S11 提出[1,5]：只有当已有的非临床和临床研究数据被认为不足以支持儿科研究时，才应进行附加的非临床试验。该附加的非临床试验一般是指 JAS。S11 对于是否需要进行附加的非临床安全性研究，提出了证据权重 (weigh of evidence，WoE) 法，WoE 评价需考虑的关键因素包括但不限于拟用患者的最小年龄、对发育中器官的不良影响、已有资料的数量和类型 (包括临床资料和非临床等资料)、药物靶点对器官发育的作用、药物的选择性和特异性，以及临床给药期限等。其中，拟用患者的最小年龄以及对发育中器官系统的不良影响最为重要 (即最高权重)。WoE 法需同时评估多种因素，应考虑每个因素的重要性，以最终确定现有数据是否能充分阐述在所申请儿童人群中的安全性担忧，或者附加的 JAS 能否阐述这些担忧[1]。

拉考沙胺 (Lacosamide，商品名 Vimpat) 是美国 USB 公司开发的一种抗癫痫药物，于 2008 年 10 月首次被 FDA 批准上市，用于 17 岁以上患者人群[6]，并要求上市后开展 1 月龄至 17 岁儿童的临床试验[7]。基于拉考沙胺上市后开展的多项儿童临床试验数据，目前 FDA 批准拉考沙胺用于 1 月龄以上患者癫痫部分性发作的治疗以及 4 岁及以上患者原发性全身性强直阵挛发作的辅助治疗[8]。

拉考沙胺作用于中枢神经系统 (central nervous system，CNS)，临床拟用患者年龄最低为 1 月龄，现有资料尚不足以说明对儿童用药的安全性，且靶点和毒理学试验均提示存在对发育中的 CNS 有潜在影响的担忧。因此，拉考沙胺完成的非临床安全性研究除一般的毒理学数据包 (包括大鼠、犬单次和重复给药毒性试验，遗传毒性、生殖毒性、致癌性试验) 外，为支持儿童人群的临床试验，进行了幼龄大鼠重复给药毒性试验，另外申请上市前还进行了幼龄犬重复给药毒性剂量范围探索试验 (GLP 试验)[9]。此外，该品种还进行了幼龄犬 33 周重复给药毒性试验。

拉考沙胺大鼠 JAS 中，幼龄大鼠从出生后日龄 (postnatal day，PND) 7 开始经口给予拉考沙胺 (每天 30、90、180 mg/kg)，连续给药 42 d，可见哺乳期间体重降低、雌性性成熟延迟、脑绝对和相对重量降低以及长期的神经行为改变 (旷场行为改变、学习和记忆缺陷)[6,9]，且大鼠发育神经毒性的无影响剂量下的暴露量低于人最大推荐剂量每天 400 mg 时的暴露量。另外，体外试验结果显示，拉考沙胺会干扰涉及神经元分化和控制轴突向外生长的脑衰反应调节蛋白 -2 (CRMP-2) 的活性[8]。因此，不能排除拉考沙胺对 CNS 发育的潜在相关不良反应。

综上，拉考沙胺作为一种 CNS 药物，临床拟用患者最小年龄为 1 月龄，根据已有研究结果，不

能排除药物对发育中的 CNS 潜在担忧，在儿童临床试验之前开展了大鼠 JAS，并可见拉考沙胺对大鼠 CNS 发育具有不良影响。值得注意的是，一般认为，在脑发育方面，大鼠出生后早期对应于人类妊娠晚期，因此，FDA 将上述风险提示信息写入说明书“特殊人群用药”项的“妊娠”和“儿科用药”中，为临床使用提供安全性信息 [8]。

3 试验设计要点

3.1 动物种属选择

在已有支持成人临床试验的毒理学数据包基础上，当需要进行 JAS 时，大多数情况下单一动物种属试验是足够的，原则上，在成年动物重复给药毒性试验中所使用的相同种属应是 JAS 首先考虑的种属，首选啮齿类动物。在所有情况下，应证明所选择的种属是合理的，为相关动物种属。只有在先用于儿科或对出生后发育有多种特殊担忧而单一种属无法阐述这些担忧的情况下，才需要进行 2 种种属的 JAS[1]。

大鼠是成年动物重复给药毒性试验的常用种属，具有丰富的历史对照资料，且其发育时间短使得试验中可纳入大量的终点指标，观察出生后多个器官系统的发育，因此大鼠（在其为相关动物种属时）是 JAS 较常使用的动物。对于生物制品，大多数情况下非人灵长类（non-human primate，NHP）为药理学相关种属，但由于科学和实际操作的原因，对离乳前 NHP 进行 JAS 具有很大的挑战性（例如繁殖、运输和母体 / 婴仔对的处理），而离乳后 NHP（大约 6 月龄）器官系统的成熟度通常已超过了许多儿科相关年龄，在离乳后 NHP 中进行 JAS 所增加的价值有限，只有在少数情况下，在离乳前 NHP 中进行 JAS 具有合理的价值，例如在拟用于新生儿和强化的围产期发育（enhanced pre- and postnated developmental，ePPND）试验中的暴露不充分的情况，因此，S11 鼓励采用替代方法（如体外试验、转基因动物、替代分子）[1]。

先用于儿科或儿科专用药物通常的临床策略通常是在儿科试验之前，先在健康成年志愿者进行首次人体（FIH）试验。但是，有一些案例，在没有成年患者或是健康志愿者数据的情况下对患儿给药（例如，仅存在于儿童中的危急生命或衰弱的疾病，或者当药物无法安全地给予成年志愿者时），FIH 试验将在患儿中进行，此时非临床计划通常将包括一种啮齿类动物和一种非啮齿动物的 JAS，以及与成人用药所需相同的安全药理学和遗传毒性试验 [1]。

以下描述一个儿科专用药物采用 2 种幼龄动物种属进行毒理学的案例。

诺西那生钠（nusinersen，商品名 Spinraza）为美国 Biogen Idec 公司开发的一种反义寡核苷酸（ASO）药物，可增加运动神经原存活基因 2（survival motorneuron 2，*SMN2*）的 mRNA 转录本中外显子 7 的纳入以及全长 SMN 蛋白产生，经腰椎穿刺鞘内给药，用于治疗因染色体 5q 突变导致 SMN 蛋白缺乏而引起的脊髓性肌萎缩症（spinal muscular atrophy，SMA），一种造成婴幼儿死亡的严重的常染色体隐性遗传疾病。诺西那生钠于 2016 年 12 月经美国 FDA 批准上市，适用人群包括新生儿至 17 岁少年 [10]。

诺西那生钠在上市前完成的非临床安全性研究包括：大鼠鞘内给药安全药理学试验、遗传毒性试验［细菌回复突变试验、体外中国仓鼠卵巢细胞（Chinese hamster ovary cell，CHO 细胞）染色体畸变试验、小鼠体内骨髓微核试验］、生殖毒性试验（小鼠生育力与胚胎发育试验、兔胚胎 - 胎仔发育毒性试验），以及幼龄猴和小鼠的毒性试验 [11]。FDA 要求上市后完成小鼠皮下给药 2 年致癌性试验以及啮齿类动物的围产期毒性试验 [12]。

重复给药毒性试验方面，诺西那生钠进行了 2 种动物的 JAS，包括幼龄食蟹猴 14 周和 53 周重复给药毒性试验、幼龄小鼠 13 周重复给药毒性试验共 3 个试验，其中食蟹猴在 ASO 的组织分布、细胞摄取、代谢和毒性敏感性方面更具代表性，故食蟹猴试验为核心试验。幼龄食蟹猴鞘内注射给予诺西那生钠每次 0.3、1、3 mg 连续 14 周（猴给药起始年龄为 9 ～ 10 周龄，负荷剂量阶段每周给药 1 次，共 5 次，之后维持阶段每 2 周 1 次或每周给药 1 次）或每次 0.3、1、4 mg 连续 53 周（猴给药起始年龄

为 9 ～ 11 月龄，负荷剂量阶段每周给药 1 次，共 5 次，之后维持阶段为每 6 周给药 1 次）。2 个试验中，高、中剂量组可见脑组织病理学改变（海马神经元空泡化和坏死以及细胞碎片），高剂量组可见急性、短暂的低位脊髓反射缺陷。此外，猴 53 周试验中，高剂量组学习和记忆检测可见可能的神经行为学缺陷。按年计算并校正了不同种属间脑脊液体积差异后，猴神经组织病理学无影响剂量（每次 0.3 mg）大约相当于人用剂量 [10—11]。另外进行了幼龄 CD-1 小鼠 13 周重复给药毒性试验，于出生后 4 ～ 95 d 给药，在最高每次 50 mg/kg 的剂量下耐受性较好，可见寡核苷酸相关的变化 [11]。

综上，作为全球首个批准用于 SMA 治疗的 ASO 药物，诺西那生钠为儿科专用药物，拟用患者最小年龄为新生儿，直接对儿童开展临床试验，非临床安全性研究进行了幼龄小鼠 3 个月毒理学试验、幼龄食蟹猴鞘内给药（临床拟用途径）4 周和 53 周毒理学试验，并附加进行了 CNS 评估，可见对神经系统的不良影响，该风险提示信息纳入说明书。

3.2　动物开始给药年龄

动物开始给药年龄是 JAS 设计的关键性要素，应选择在发育上对应拟用患者的最小年龄，并考虑人与动物的毒理学担忧器官系统发育期的比较。由于不同种属之间不同器官的器官系统相关性并不一致，应优先考虑任何潜在担忧的靶器官 / 系统，或者是拟用患者人群中特别脆弱的正在发育中的系统 [1]。S11 在附录中详细列出不同动物种属器官系统的比较发育的概况，可以帮助选择合适的动物种属和年龄，以充分阐述所申请的儿童人群的安全性担忧。

在 2011 年发表的一项针对来自美国、欧洲和日本的 24 家制药公司的有关儿童药物非临床安全性研究的调查中 [13]，根据该调查中提供的给药开始年龄的有限数量的试验，似乎在 1990 年代末和 2000 年代初存在一种趋势，在最早的可给药年龄开始给药，而不是在代表发育阶段的年龄开始给药。在 118 项大鼠 JAS 试验中，94 项是在离乳前开始给药，但仅有 23 个受试物拟定患者人群为新生儿，其余均用于 2 岁以上儿童。该趋势在 2006 年初开始转变为更具代表性的年龄，这种转变与 FDA 于 2006 年发布的指导原则相对应。国内 JAS 起步较晚，实践经验尚不成熟，采用离乳前动物开展试验存在一定难度，因此常常出现 JAS 试验动物开始给药年龄偏大而不能支持临床试验拟用患者最小年龄的情况。

在 2019 年发表的一篇针对 15 种靶向 CNS 药物的 JAS 研究（均来源于 EMA 儿科委员会的电子文档资料）文献中 [14]，描述了一项动物开始给药年龄偏大的案例。Epi6（代码，出于商业保护原因未列出产品名称）用于癫痫部分发作性的治疗，拟用患者包括了早产新生儿，在关键性 JAS 试验中，大鼠开始给药年龄为 PND28，从 CNS 发育阶段来看，PND28 大于拟用患者的最小年龄，另外，与 PND28 开始给药大鼠相比，从 PND21 开始给药的大鼠毒性严重程度明显升高（基于在年龄更小大鼠中在更低的剂量下发生严重的临床症状而导致终末前安乐死），说明在更小日龄的大鼠中毒性更敏感。因此，大鼠从 PND28 开始给药错过了脑发育的敏感关键窗口期，无法敏感地检测到受试物相关的不良影响。

3.3　剂量探索试验

JAS 试验开展难度大，多种因素可影响其试验成败，因此，在正式试验前应考虑进行剂量范围探索（dose range-finding，DRF）试验，S11 推荐以小组别的幼龄动物进行 DRF 试验，评估与暴露量和年龄相关的耐受性，这对离乳前开始给药的正式 JAS 尤其有价值，可避免大部分由不相关暴露量所致的意外死亡或过度毒性。DRF 应在正式 JAS 中所计划动物起始年龄的最小年龄给药，以评价耐受性和暴露量差异的最关键时期。在正式 JAS 中，给药方案应使在所担忧的发育期间能达到和维持相关暴露量。若动物吸收、分布、代谢和排泄（ADME）系统的成熟导致系统暴露量发生明显变化，应考虑正式 JAS 过程中进行剂量调整（增加或减少），以使暴露量保持在某种程度的一致性和临床相关性。通常在 JAS 期间剂量调整预计不会超过一次 [1]。

POSOBIEC 等描述了一个基于 DRF 结果在正

式JAS中进行剂量调整的一个案例[15]。在该案例中，为支持3月龄至成年患者人群的用药，计划开展一项于PND7～45给药的大鼠JAS。由于在成年大鼠毒性试验中观察到可能与药理学作用相关的卵巢毒性（每天0.02 mg/kg），故将JAS给药期持续至雌性大鼠预期性成熟前，使JAS与成年动物毒性试验的给药期有重合，并在JAS中对性成熟动物评估动情周期。首先进行了一项大鼠PND7～21给药的探索性试验，剂量≥0.1 mg/kg时可见严重毒性；接着，进行了一项大鼠PND7～35给药的初步剂量探索试验，给药剂量为0.01、0.02和0.05 mg/kg，并于PND13、21、35进行毒代检测，可见给药期间药物暴露量出现急剧下降，在终末时间点（PND35）3个剂量下的暴露量接近，并且低于预期的临床暴露量。接下来进行了一项剂量范围试验，大鼠分为2组，于PND7～21均给予0.05 mg/kg，为探索如何在发育后期阶段更好地保持暴露量的一致性，在PND22开始增加剂量，一组增加到0.08 mg/kg，另一组增加到0.17 mg/kg，调整后2组的暴露量呈现明显的区分。最后综合以上剂量探索试验结果，在正式JAS中，大鼠于PND7～21给药剂量为0.012 5、0.025和0.05 mg/kg，从PND22开始将剂量增加为0.08、0.17和0.35 mg/kg。通过这种剂量调整设计，使暴露量与成年动物高剂量（雌性0.08 mg/kg、雄性0.2 mg/kg）有重合，同组大鼠在发育过程中药物具有相对一致的暴露，3个剂量组的暴露量得以区分，从而可观察剂量-反应相关性，并且中、高剂量组暴露水平也涵盖了预期临床暴露量370 $ng \cdot h^{-1} \cdot ml^{-1}$。

3.4 终点指标选择

JAS终点指标包括核心终点指标和附加终点指标。核心终点指标中，除一般毒理学指标外还包含了生长（体重和长骨长度）和性发育（例如，啮齿类雌性动物阴道张开时间和雄性包皮分离时间）等指标。另外，为了阐述已确定的担忧，应基于WoE评价中所确定的担忧类型和强度来确定纳入附加终点指标，附加终点指标包括其他生长终点、骨骼评估、临床病理学、解剖病理学、眼科检查、CNS评估、生殖评估和免疫评估等。由于神经发育毒性（DNT）安全性风险高，在临床试验或上市后监测中难以检测到，CNS评估是JAS研究中经常附加的终点指标，尤其是对于具有CNS活性的药品。

一项研究对2009年～2014年间FDA审查的NDA申请中具有CNS活性的32种药物共44项JAS试验进行了总结分析[16]，大多数药物（20/32）进行了一项大鼠JAS，部分药物（11/32）进行了大鼠和犬2种种属的JAS，仅一种药物（1/32）进行了一项犬JAS。在所有的JAS中都包括标准的一般毒理学参数和生长发育指标，通常还进行了扩展的神经组织病理学评估、骨密度测量、生殖评估、神经行为学/CNS功能评估。由于是具有CNS活性的药物，超过一半的试验（25/44）包含了扩展的神经病理学评估，而其余试验（19/44）进行了常规的CNS组织病理学检查。由于药物暴露发生在儿童患者骨形成和生长的动态时期，骨发育也是JAS的重点。有23项试验设置了特定的骨发育终点（除组织病理学外），其中，14项试验（包括8项大鼠和6项犬试验）评估了骨长度和骨密度（双能X射线骨密度测定法），9项试验（大鼠试验）仅包括骨长度。生殖评估方面，所有大鼠试验（32项）中评估了交配和妊娠结局指标，所有大鼠和犬试验（44项）都进行了生殖器官组织病理学评估，在16项大鼠和犬试验中进行了精子分析。

在神经行为学/CNS功能评估方面，采用了多种神经学和神经行为学测试，其检测指标因种属而异，主要包括犬的神经系统检查或功能观察组合（FOB），以及大鼠中更特异性和定量的评估，例如运动活动、听觉惊吓行为以及学习和记忆的检测。所有32项大鼠试验均使用自动化系统进行了一项或多项学习和记忆测试，且大多数试验测定了运动活动和听觉惊吓行为。在大部分的大鼠JAS中，使用复杂的水迷宫评估了是否导致长期认知障碍，包括Morris水迷宫（11项）、Biel水迷宫（8项）和Cincinnati水迷宫（8项）。

这些JAS为儿童用药提供了安全性信息，并纳入了说明书中（78%）以提示风险，其中较常见的CNS影响是神经行为学异常，包括运动活动、听觉

惊吓反射以及学习和记忆的变化。在纳入说明书中的神经行为学影响中，54%的试验发现这些影响是持久的，提示具有神经发育毒性。

4 总结

为支持儿童用药开发的非临床安全性评价对申请人、试验研究者都存在挑战，一方面是由于儿童药物开发中非临床 / 临床试验设计、实施具有难度，另一方面是对已有研究信息的综合评估能力的要求。JAS 可为儿童人群的风险识别和表征提供重要的参考信息，且能阐述与特定发育时期药物暴露风险相关的安全性担忧，是儿童用药开发的非临床安全性评价重要方法。在证据权重分析（WoE）基础上，具体问题具体分析，根据前期所获得的各方面信息进行整体地、科学合理地设计 JAS，并且保证试验过程的良好实施，才能够获得有价值的毒理学数据，以支持儿童临床试验的开展，保障儿童受试者的安全。

参考文献：

[1] ICH. S11, Nonclinical safety testing in support of development of paediatric medicines [S/OL]. [2022-08-04]. https://database. ich. org/sites/default/files/S11_Step4_FinalGuideline_2020_0310. pdf.

[2] FDA. Guidance for industry: nonclinical safety evaluation of pediatric drug products [EB/OL]. [2022-08-04]. https://www. fda. gov/media/119658/download.

[3] EMA. Guideline on the need for nonclinical testing in juvenile animals on human pharmaceuticals for pediatric indications [EB/OL]. [2022-08-04]. https://www. ema. europa. eu/documents/scientific-guideline/guideline-need-non-clinical-testing-juvenile-animals-pharmaceuticals-paediatric-indications_en. pdf.

[4] JP MHLW. Guideline on nonclinical safety studies in juvenile animals for pediatric drug development [EB/OL]. [2022-08-04]. https://www. pref. kagawa. lg. jp/documents/7476/161_241015. pdf.

[5] ICH. M3, Guidance on nonclinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorization for pharmaceuticals [S/OL]. [2022-08-04]. https://database. ich. org/sites/default/files/M3_R2__Guideline. pdf.

[6] FDA. Label: vimpat [EB/OB]. (2008-10-08) [2022-08-04]. https://www. accessdata. fda. gov/drugsatfda_docs/label/2008/022253lbl. pdf.

[7] FDA. NDA 022253 approval letter [EB/OB]. (2008-10-28) [2022-08-04]. https://www. accessdata. fda. gov/drugsatfda_docs/appletter/2008/022253s000,%20022254s000ltr. pdf.

[8] FDA. Label: vimpat [EB/OB]. (2022-05-19) [2022-08-04]. https://www. accessdata. fda. gov/drugsatfda_docs/label/2022/022254Orig1s044,022253Orig1s054,022255Orig1s036lbl. pdf.

[9] FDA. NDA 022253 pharmacology review [EB/OB]. (2007-09-28) [2022-08-04]. https://www. accessdata. fda. gov/drugsatfda_docs/nda/2008/022253s000_022254s000TOC. cfm.

[10] FDA. Label: spinraza [EB/OB]. (2016) [2022-08-04]. https://www. accessdata. fda. gov/drugsatfda_docs/label/2016/209531lbl. pdf.

[11] FDA. NDA 209531 pharmacology review [EB/OB]. (2016-9-23) [2022-08-04]. https://www. accessdata. fda. gov/drugsatfda_docs/nda/2016/209531Orig1s000TOC. cfm.

[12] FDA. NDA 209531 approval letter [EB/OB]. (2016-12-23) [2022-08-04]. https://www. accessdata. fda. gov/drugsatfda_docs/appletter/2016/209531Orig1s000ltr. pdf.

[13] BAILEY G P, MARIËN D. The value of juvenile animal studies “What have we learned from preclinical juvenile toxicity studies? Ⅱ” [J]. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol*, 2011, **92**(4): 273-291.

[14] VAN DER LAAN J W, VAN MALDEREN K, DE JAGER N, *et al*. Evaluation of juvenile animal studies for pediatric CNS-targeted compounds: a regulatory perspective [J]. *Int J Toxicol*, 2019, **38**(6): 456-475.

[15] POSOBIEC L M, LAFFAN S B. Dose range finding approach for rodent preweaning juvenile animal studies [J]. *Birth Defects Res*, 2021, **113**(5): 409-426.

[16] FISHER J E Jr, RAVINDRAN A, ELAYAN I. CDER experience with juvenile animal studies for CNS drugs [J]. *Int J Toxicol*, 2019, **38**(2): 88-95.