

YY/T 1670.2 《医疗器械神经毒性评价 第2部分：神经细胞毒性试验》标准编制说明

一、工作简况

（一）任务来源

根据药监综械注〔2024〕27号文《国家药监局综合司关于印发2024年医疗器械行业标准制修订计划项目的通知》的安排，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、山东省医疗器械和药品包装检验研究院、北京市医疗器械检验研究院（北京市医用生物防护装备检验研究中心）、四川大学（四川医疗器械生物材料和制品检验中心有限公司）负责制定 YY/T 1670.2 《医疗器械神经毒性评价 第2部分：神经细胞毒性试验》方法标准（项目编号：N2024065-T-jn）。

（二）标准体系说明

YY/T 1670 旨在建立医疗器械神经毒性研究的具体试验方法，拟由2个部分构成。

——第1部分：通用要求。目的在于给出医疗器械潜在神经毒性的试验选择指南。

——第2部分：神经细胞毒性试验。目的在于给出医疗器械神经细胞毒性的试验方法。

（三）工作过程

1. 预研阶段

SAC/TC 248 预研发现目前国内外尚无医疗器械神经细胞毒性试验的标准。技术委员会组织人员根据前期预研结果，形成了标准草案稿，并申请将该标准立项为推荐性行业标准，最终获得立项。

2. 起草阶段

技委会秘书处根据前期预研工作，充分调研及时成立了由中国食品药品检定研究院、山东省医疗器械和药品包装检验研究院、北京市医疗器械检验研究院、四川医疗器械生物材料和制品检验中心组成的标准起草工作组。经深入讨论，工作组对前期形成的标准草案进行了进一步的完善并确定了验证方案，并在工作组

内进行了充分的讨论和验证，在分析验证结果和对标准内容进行充分讨论后，于2024年7月提出了标准及标准编制说明征求意见稿，向各有关单位征求意见。

二、标准编制原则和确定标准主要内容的论据。

（一）标准制定的意义

在我国科技重点研发计划和国家自然科学基金的大力支持下，神经组织修复与再生研究得到长足发展，在周围神经和脊髓损伤再生的基础研究和应用研究领域均取得了诸多创新成果。近年来不断有周围神经组织修复与再生植入类产品获证，推进了临床应用，解决了神经组织再生困难的诸多瓶颈问题。然而，目前国内外还没有神经修复与再生植入类产品质量评价相关标准，缺少临床前安全性和有效性评价标准化试验方法，限制了产品研发的进程和产业的高质量发展。

细胞毒性试验作为神经植入物的安全性评价通用方法之一，如果单纯采用常规的评价体系，如L929工具细胞，则不能充分反映神经细胞的毒性反应特点。为了科学地评价神经植入物的材料对神经细胞的潜在毒性风险，亟需开发神经细胞毒性评价专属的标准化方法，通过采用神经细胞及设定神经毒性阳性对照，客观地评价材料对神经细胞的潜在毒性风险。

本标准旨在建立神经修复植入物材料对神经细胞潜在毒性评价试验方法标准，为相关生物材料的研发和质量控制及监管提供参考和支持，是行业发展的迫切需要。

（二）标准编制的原则

标准制定工作组按照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》制定本文件。

（三）标准主要技术内容论据

1. 细胞系的选择

体外细胞模型为快速筛选神经毒物提供有效工具。采用来自神经系统的细胞培养模型已被证实是神经系统发育的细胞和分子机理的强大工具，同时已被用于神经毒性机理研究。其中，来源于大鼠肾上腺嗜铬细胞瘤的PC-12（或PC12）细胞系已被广泛用于化学物质神经毒性及其毒性作用机制的评价与研究。

根据分化程度的不同，PC-12细胞系又分为高分化和未分化两大分支。PC-12高分化细胞株贴壁生长，可用于神经细胞活性评价。PC-12未分化细胞株表达神

经生长因子（NGF）受体，可在 NGF 的诱导下，产生神经元表型（形成神经突起等），可用于神经细胞形态评价。

由于神经毒性不同于一般的细胞毒性，其毒性表现不仅在于细胞活性减低，还在于抑制神经突起形成，因此本标准同时采用高分化 PC-12 和未分化 PC-12 两个细胞株，同时从细胞活性与神经突起两方面来评价待测医疗器械或生物材料的神经毒性。

2. 细胞活性评价

准确评价待测样品对细胞活性的抑制作用是本标准的关键。本标准采用 CCK-8 细胞计数试剂评价神经细胞活性。CCK-8 试剂中含有 2-(2-甲氧基-4-硝基苯基)-3-(4-硝基苯基)-5-(2,4-二磺酸苯)-2H-四唑单钠盐（WST-8），在电子载体 1-甲氧基-5-甲基吩嗪硫酸二甲酯（1-Methoxy PMS）的作用下被细胞线粒体中的脱氢酶还原为具有高度水溶性的黄色甲臞产物，生成的甲臞产物的数量与活细胞的数量成正比。与传统的细胞毒性 MTT 法相比，CCK-8 法具有以下三方面的显著优势：

（1）WST-8 本身比 MTT 要稳定，CCK-8 在室温下至少稳定 6 个月，0-5℃ 可稳定一年，使用方便；

（2）CCK-8 本身没有细胞毒性，且形成的黄色甲臞产物是水溶性的，可直接进行检测，无需额外溶解，操作简便；

（3）MTT 参与的还原反应只涉及线粒体脱氢酶，因此 MTT 取决于线粒体活性而非细胞本身，而 CCK-8 涉及细胞中的大部分脱氢酶，因此灵敏度也更高。

3. 神经突起评价

准确评价待测样品对神经突起的抑制作用是本标准的难点。已有文献报道，神经毒物对神经细胞形态的抑制作用可通过多方面指标进行评价，整体可分为定性、半定量、定量三种类型。定性指标一般用得比较少，半定量评价指标包括：

（1）生出突起的细胞数/细胞比例，（2）每个细胞突起的数目，以上两个指标实际为细胞分化率。定量评价指标则主要包括：（1）单个细胞最长突起长度，（2）单个细胞突起总长度，（3）平均突起长度，（4）突起分叉数，以上 4 项指标反映突起复杂度，可反应细胞分化程度。

本标准选择最具代表性且可量化的神经突起指标：平均突起长度，为次要评价指标，相对简单又可准确评价待测物对神经突起的抑制作用。

4. 结果评价

本标准以神经细胞活性为主要评价指标，将试验组样品与空白对照组细胞活性做对比，评价试验样品对神经细胞活性的影响，并参考GB/T 16886.5-2017，以相对细胞活性低于70%为有神经细胞毒性潜能。同时，以各试验组平均神经细胞突起长度为次要评价指标，进行结果比较并评价。

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。

基于目前的研究水平，本次验证选择硬脑（脊）膜补片与颅脑引流导管进行试验，验证试验方法的可行性、可靠性。由中国食品药品检定研究院、山东省医疗器械和药品包装检验研究院、北京市医疗器械检验研究院、四川医疗器械生物材料和制品检验中心4家验证单位完成。中国食品药品检定研究院与山东省医疗器械和药品包装检验研究院统一提供验证样品，4家验证单位对标准中的试验方法进行验证。验证单位验证表明，本文件所列试验方法是可靠的、可行的。

四、采用国际标准和国外先进标准的程度，以及与国内、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。

迄今为止，经检索标准信息网（山东标准馆）、ISO官网、CEN官网、美国ASTM等官网，国内外无其他用于医疗器械神经细胞毒性试验的国际标准、其他先进标准和国家或行业标准。

五、与有关的现行法律法规和强制性国家标准的关系。

本文件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。

无重大分歧。

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。

该标准为方法标准，供使用者选择参考，建议作为推荐性行业标准。

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、实施日期等内容）

标准发布后，秘书处挂靠单位将在标准实施日期前采用在网页上开辟该标准宣贯专栏、召开标准宣贯会等形式对该标准的技术内容进行宣贯。通过这些措施，

该标准在发布之日后12个月的过渡期内，足以完成其贯彻和实施。建议标准发布后12个月实施。

九、废止现行有关标准的建议。

无。

十、其他需要说明的事项。

无。

全国医疗器械生物学评价标准化技术委员会

2024 年 7 月

征求意见稿