

人用药品注册技术要求国际协调会

ICH协调指导原则

基因治疗产品非临床生物分布的考虑

S12

草案

2021年6月3日专家共识

征求意见中

在ICH进程的第二阶段，由ICH专家工作组协商制定的共识草案文件或指导原则，由ICH大会根据国家或地区程序，转交给ICH区域监管机构，供内部和外部征求意见。

S12
文件历史

编码	历史	日期
S12	在第2阶段，由ICH组委会的成员同意，并发布以公开征求意见	2021年6月3日

法律声明: 本文件受版权保护，除ICH标识外，在始终承认ICH版权的前提下，基于公共许可可以使用、复制、整合入其他作品、改编、修改、翻译或传播。如果对本文件进行任何改编、修改或翻译，必须使用合理步骤来清晰标注、界定或以其他方式明确对原始文件或基于原始文件所做的更改。必须避免任何暗示ICH授权或支持对原版文件的改编、修订或翻译的行为。

本文件“按原样”提供，不提供任何形式的担保。在任何情况下，ICH或原始文件的作者都不对因使用本文件造成的任何索赔、损害或其他责任负责。

上述许可不适用于第三方提供的内容。因此，对于版权归属于第三方的文件，必须从该版权持有者处获得复制许可。

ICH协调指导原则

基因治疗产品非临床生物分布的考虑

ICH S12

ICH共识指导原则

目录

1. 前言	1
1.1. ICH S12 指导原则的目的	1
1.2. 背景	1
1.3. 适用范围	1
2. 非临床生物分布的定义	1
3 非临床生物分布评价的时间安排	2
4. 非临床生物分布研究的设计	2
4.1. 一般考虑	2
4.2. 受试物	2
4.3. 动物种属或模型	2
4.4. 动物分组数量和性别	3
4.5. 给药途径和剂量选择	3
4.6. 样本采集	3
5. 特定考虑	4
5.1. 分析方法学	4
5.2. 表达产物的检测	4
5.3. 作为药理学和毒理学研究组成部分的非临床生物分布评价	4
5.4. 免疫原性	4
5.5. 离体基因修饰细胞	5
5.6. 生殖腺组织的生物分布评价	5
5.7. 触发进一步非临床生物分布研究的情况	5
5.8. 可能无需或难以开展非临床生物分布研究的情况	6

6. 非临床生物分布研究的应用.....	6
注释	7
专业术语	7
参考文献	8

1 1. 前言

2 1.1. ICH S12指导原则的目的

3 本指导原则的目的是为基因治疗（GT）产品研发中开展非临床生物分布
4 （BD）研究提供协调一致的建议。本指导原则为非临床BD研究的整体设计提供
5 了建议，也提供了解释和应用BD数据以支持非临床研发计划和临床试验设计的考
6 虑。本指导原则中的建议旨在促进GT产品的研发，同时遵循3R原则（减少/优化/
7 替代），避免不必要的动物使用。

8 1.2. 背景

9 了解GT产品体内给药后的BD特征是非临床研发重要的基本要素。BD数据有
10 助于为支持目标人群早期临床试验而开展的非临床药理学和毒理学研究的解释和
11 设计。虽然多个监管机构已经发布了包含BD研究建议的指导原则，但本指导原则
12 提供了非临床BD协调一致的定义，并提出了GT产品BD评价的整体考虑。

13 1.3. 适用范围

14 本指导原则范围内的GT产品包括通过所转导的遗传物质的转录或翻译而发挥
15 作用的产品。GT产品的举例可包括：纯化的核酸（例如，质粒和RNA）、表达特
16 定基因（包括编辑宿主基因组的产品）的基因修饰微生物（例如，病毒、细菌、
17 真菌）、离体基因修饰的人类细胞。拟在体内改变宿主基因组但无特定转录或翻
18 译（即通过非病毒方法递送核酸酶和向导RNA）的产品也在本指导原则范围之内。
19 虽然溶瘤病毒在某些地区目前不被视为GT，但本品指导原则所提出的基本原则仍
20 适用于未通过基因修饰表达特定基因的溶瘤病毒产品。本指导原则不适用于预防
21 性疫苗。未采用生物工程技术生产的化学合成寡核苷酸及其类似物在本指导原则
22 适用范围之外。GT产品通过排泄（粪便）、分泌（尿液、唾液、鼻咽液等）或通
23 过皮肤（脓疱、疮、伤口）释放出体外称之为“脱落”。GT产品脱落特征的非临
24 床评价在本指导原则的适用范围之外。GT产品基因组整合和生殖系整合的评价也
25 在本指导原则的适用范围之外。

26 2. 非临床生物分布的定义

27 BD是GT产品在生物学相关动物中给药部位、靶组织和非靶组织包括体液
28 （例如，血液、脑脊液、玻璃体液）在内的体内分布、存续和清除。非临床BD研
29 究包括分析方法的使用，以检测样本中的GT产品和所转导的遗传物质，也可包括

30 用于检测所转导的遗传物质的表达产物的方法。

31 **3. 非临床生物分布评价的时间安排**

32 在早期非临床研究中获得初步的BD数据可能有助于后续药理学、毒理学研究
33 的动物种属选择（见章节4.3）。此外，在评价和解释非临床药理学和毒理学试验
34 结果时，应已获得BD数据。非临床BD数据也可在首次人体临床试验设计方面提
35 供信息（见章节6），因此，在临床试验开始前完成非临床BD评价至关重要。

36 **4. 非临床生物分布研究的设计**

37 **4.1. 一般考虑**

38 BD研究可以独立进行，也可以结合非临床药理学和毒理学研究开展（见章节
39 5.3）。因此，本文中“BD研究”代表上述两种情况。非临床BD评价应采用代表临
40 床拟用样品的GT产品（可能的替代情况见章节4.2），在生物学相关动物种属
41 （见章节4.3）中开展。重要的是，给药途径（ROA）尽可能反映拟用临床ROA，
42 且试验的剂量水平应足以表现BD特征（见章节4.5）。

43 验证BD评价的数据质量、完整性和可靠性非常重要。原则上，非临床BD研
44 究不遵循GLP是可以接受的；但是，当BD评价作为GLP毒理学研究的一部分时，
45 所有活体动物参数和样本采集过程仍需遵循GLP是非常重要的。

46 **4.2. 受试物**

47 非临床BD研究中所用受试物应该代表临床拟用GT产品，应考虑到生产过程、
48 重要的产品特性（如滴度）和最终的临床制剂（见章节5.7）的因素。在某些情况
49 下，来自临床拟用载体但包含不同治疗性导入基因或表达标签基因的GT产品（例
50 如，相同血清型和启动子的带荧光标签蛋白表达盒的腺相关病毒载体）的非临床
51 BD数据，对支持BD特征有帮助（见章节5.8）。

52 **4.3. 动物种属或模型**

53 BD评价应在遗传物质可导入和表达的生物学相关动物种属或模型中开展。选
54 择因素可包括组织特异性的种属差异、基因转导效率和靶组织与非靶组织/细胞中
55 的导入基因表达。如果使用具有复制能力的载体，动物种属或模型中载体可复制
56 是非常重要的。

57 种属、性别、年龄、生理状况（即健康动物vs.疾病动物模型）对BD特征的
58 影响也很重要。此外，应考虑动物种属对所采用的载体和/或表达产物产生免疫反

59 应的可能性（见章节5.4）。初步研究中来自评估基因导入效率或分析方法学的
60 BD数据，可有助于为在后续研究中开展全面BD评价合理选择合适的动物种属。

61 4.4. 动物分组数量和性别

62 应在每个预设采样时间点评价适当数量的两种性别（如适用）动物，以获得
63 足够的证据支持BD的全面评价（见章节4.6）。关于动物数量的一般建议见注释1。
64 按照3R原则，动物总数可以是多项试验的总和。每个时间点评价的动物数量以及
65 多项试验组合数据的使用（如果需要）应提供科学依据。当仅评价单一性别时，
66 也应提供科学依据。

67 4.5. 给药途径和剂量选择

68 GT产品的ROA会影响BD特征，包括转导的细胞类型和免疫反应。因此，如
69 可行，GT产品应采用临床拟用ROA给药（见注释2）。

70 所选择的GT产品剂量水平应足以反映BD特征，以辅助解释药理学和毒理学
71 评价。给予的最高剂量水平应是毒理学研究中预期的最大剂量水平（通常受动物
72 大小、ROA/靶器官解剖学、GT产品浓度的限制）。然而，经适当的科学论证，
73 预期的最大临床剂量水平也可以作为BD评估的最高剂量水平。

74 4.6. 样本采集

75 靶组织和非靶组织及体液的样本采集设计应最大限度地减少污染的可能性。
76 遵循预先制定的流程非常重要，包括对从每只动物获得的样本进行恰当的归档
77 （溶媒对照和GT产品给药组），以及记录样本采集的顺序。样本采集时间点应反
78 映GT产品给药后靶组织和非靶组织/体液中GT产品的达峰、稳态（即平台期）以
79 及消除（如果可行）的预期时间。如适用，可以包括更多的时间点，以更全面地
80 获取稳态期长度的信息来评估持续性。如适用，应考虑包括可以在重复给药后评
81 估GT产品水平的时间点。

82 对于有复制能力的载体，样本采集时间点还应涵盖因载体复制而产生的二次
83 达峰和后续清除阶段的检测。

84 样本采集的主要组织/体液应包括：血液、注射部位、生殖腺、肾上腺、大脑、
85 脊髓（颈椎、胸椎和腰椎）、肝脏、肾脏、肺、心脏和脾脏。采集的主要组织/体
86 液可以根据其他考虑因素扩展，如载体类型/组织特异性、表达产物、ROA、疾病
87 的病理生理以及动物性别和年龄。例如，更多的组织/体液可以包括外周神经、背
88 根神经节、脑脊液、玻璃体液、引流淋巴结、骨髓和/或眼睛和视神经。确定最终

89 采集的样本应基于对GT产品、目标临床人群和已有非临床数据的理解。

90 在确定没有预期全身暴露（如视网膜下给药）或不会从给药部位渗漏时，可
91 通过科学论证选择特定组织/体液。

92 收集的样本还可分析表达产物的存在情况。这方面评价的考虑见章节5.2。

93 **5. 特定考虑**

94 **5.1. 分析方法学**

95 BD特征的评价需要对组织/体液中GT产品的遗传物质（DNA/RNA）和表达
96 产物（如果需要）进行定量。目前，实时定量聚合酶链反应（qPCR）被认为是检
97 测组织/体液中特定DNA（或加上逆转录步骤检测RNA）的“金标准”。定量核酸序
98 列对于评估GT产品中遗传物质的相对数量和确定其蓄积或衰减的动力学是非常重
99 要的。应建立并证实定量方法的灵敏度限度和重现性。作为分析方法开发的一部
100 分，应开展加标和回收试验，以确证在不同组织/体液中检测目标序列的能力。其
101 他技术可用于非临床研究以监测载体和/或表达产物的BD。这些技术包括但不限
102 于：酶联免疫吸附试验（ELISA）、免疫组织化学、蛋白质印迹、原位杂交、数
103 字PCR、流式细胞术、各种体内离体成像技术、以及其他不断发展的技术。重要
104 的是提供方法学的全面描述和所用技术的科学理由，包括方法的性能参数。

105 **5.2. 表达产物的检测**

106 虽然GT产品遗传物质的定量（见第5.1节）是BD评价的主要部分，但确定不
107 同组织/体液中表达产物水平可有助于描述GT产品给药后的安全性和活性特征。
108 是否开展此类评价应取决于GT产品所需非临床BD分析的程度，采用基于风险的
109 方法来确定。这种方法考虑因素包括组织/体液中GT产品水平和存续情况、临床
110 目标人群、与载体和/或表达产物相关的潜在安全担忧。

111 **5.3. 作为药理学和毒理学研究组成部分的非临床生物分布评价**

112 除独立研究外，BD评价也可以作为非临床药理学和毒理学研究的一部分来开
113 展。在这种情况下，BD评价应遵循章节4中所明确的建议。当某些建议不能在单
114 个试验中满足时（例如，每组动物的数量或预先确定的每只动物要收集的组织/体
115 液），可以从多个试验中获取BD数据（见章节4.4）。

116 **5.4. 免疫原性**

117 动物（尤其是非人灵长类和其他非啮齿类动物）对GT载体的预存免疫可能影
118 响BD特征。在纳入非临床研究之前，应考虑进行动物针对载体的预存免疫筛查。

119 理想情况下，选择的动物经适当方法检测预存免疫最好呈阴性，但可能不容易实
120 现。此时，考虑到这方面的影响，采用无偏差方法将动物随机分组是非常重要的。

121 在某些情况下，由于表达产物的种属特异性，动物可能对表达产物产生细胞
122 介导的免疫应答或体液免疫应答。给予GT产物后也可能发生细胞介导的对载体的
123 免疫反应。这种免疫反应可能导致产生不能提供有用的信息BD特征。如果预计有
124 这种情况，申请人可以考虑收集和存档适当的样本，以便进行可能的免疫原性分
125 析，以支持对BD数据的解释。

126 不建议仅为评估BD特征而对动物进行免疫抑制。但如产品或种属特定的情况
127 下需要免疫抑制，应提供科学依据。在某些情况下，也可考虑采用种属特异的导
128 入基因替代物规避免疫反应的影响。

129 **5.5. 离体基因修饰细胞**

130 对于离体基因修饰细胞（即离体细胞经转导/转染方法进行基因修饰后用于动
131 物/人受试者）组成的GT产品，BD评价的考虑因素应包括细胞类型、ROA、表达
132 产物或基因修饰对细胞体内预期分布的潜在影响（例如，细胞粘附分子表达的改
133 变或产生新的表达）等。此外，动物体内可能出现移植物抗宿主病，会使基因修
134 饰人T细胞的BD分析评价复杂化。一般来说，由于系统给药后预期的广泛分布，
135 造血来源的离体基因修饰细胞的BD评价并不是关键的。如果预计有靶向器官/组
136 织分布，则应考虑进行BD评价。

137 **5.6. 生殖腺组织的生物分布评价**

138 在两个性别的生殖系统中开展GT产品的BD评价非常重要，除非临床适应症
139 的目标人群仅限于一种性别（例如，用于前列腺癌的治疗）。如果经适当的分析
140 方法（见章节4.6和5.1）提示，载体或导入的遗传物质信号没有持续存在，则可
141 能不需要进一步评估。GT产品在生殖腺中持续存在则需要进一步的研究，以确定
142 动物生殖细胞（例如，卵母细胞、精子）中的GT产品水平。这些数据以及其他因
143 素（载体类型、复制能力、整合潜力、剂量水平、ROA等）可以为非预期的生殖
144 整合风险提供信息。有关此问题的更全面讨论，请参阅ICH考虑文件（1）。在非
145 生殖细胞（例如，淋巴细胞、支持细胞、睾丸间质细胞）中检测到GT产品，则有
146 必要进一步考虑受影响的非生殖细胞的功能，特别是对成功繁殖有重要作用的细
147 胞类型。

148 **5.7. 触发进一步非临床生物分布研究的情况**

149 尽管GT产品非临床BD评价应在首次人体临床试验之前完成，但多种情况可
150 能需要开展进一步的BD评价研究。下面提供了可能情况的示例：

151 ●临床开发计划的重大变化，例如：ROA改变；GT产品剂量水平升高，明显
152 超过评价过的最大非临床剂量水平；给药方案改变；临床适应症扩展，其中包括
153 两种性别替代最初提出的单一性别的情况。

154 ●载体结构或血清型的显著变化，以及可能导致组织特异性改变的所有其他
155 修饰。

156 ●生产过程中可能影响最终GT产品处方（例如，添加可能改变载体组织特异
157 性的辅料）或GT产品的相关质量属性（例如，空壳率、体外的基因转导活性、产
158 品滴度）的变化。关于生产工艺变化考虑的其他因素包括载体粒度、聚合状态、
159 抗原性、以及与其他宿主成分（例如，血清因子）的潜在相互作用。

160 **5.8. 可能无需或难以开展非临床生物分布研究的情况**

161 从同一GT产品的非临床研究中获得的BD数据用于支持不同的临床适应症，
162 可能可以满足新的临床人群的要求。然而，评估时应将诸如剂量水平、给药方案、
163 ROA和启动子变化等因素考虑在内。已评价过的GT产品（具有相同的载体结构和
164 其他决定其组织/细胞特异性的特征，但转录/翻译的产物不同）的BD数据，也可
165 能支持免除进一步的非临床BD研究。但应该进行科学论证。

166 在某些情况下，不存在可提供临床人群BD特征信息的生物学相关动物种属。
167 例如，当载体与人类细胞上的靶标分子结合但动物细胞上不存在该靶标时。在这
168 种情况下，应对该问题进行全面讨论和科学论证，以支持采用替代方法进行非临
169 床BD评价。

170 **6. 非临床生物分布研究的应用**

171 动物给予GT产品后，对BD特征的描述是非临床开发计划的关键组成部分。
172 非临床BD数据有助于对研究结果的整体解释，更好地理解各种试验发现（预期的
173 和非预期的）与给药GT产品的关系。给药动物中观察到的来自遗传物质
174 （DNA/RNA）和/或表达产物的试验结果，有助于在人体应用之前明确潜在的获
175 益/风险。重要的是，需基于ROA、剂量水平、给药方案和动物免疫反应等因素，
176 考虑BD数据与临床人群的相关性。这些数据还可以为首次人体试验和后续的临床
177 试验提供信息，如给药步骤（即受试者之间的给药间隔）、监测计划和长期随访
178 评估。

179

180 **注释**

181 1. 一般情况下，建议每个性别/组/时间点至少评价5只啮齿类动物或3只非啮
182 齿类动物；但每个性别包括相同的数目可能并不关键。应提供上述决定的科学依
183 据。

184 2. 对于所使用的每个递送装置系统，重要的是提供数据来验证所用GT产品
185 在动物中的给药体积和剂量水平。此信息会影响对随之产生的BD特征的解释。
186 如果计划在临床试验中使用新的递送装置系统，请考虑与使用该装置系统或其等
187 效装置开展的药理学和/或毒理学研究结合起来收集 BD 数据。

188

189 **专业术语**190 **BD:**

191 生物分布。

192 **表达产物:**

193 转导的遗传物质在细胞中产生的分子，例如RNA和蛋白质。

194 **基因治疗产品:**

195 通过转导的遗传物质的表达（转录/翻译）或通过特异性改变人类细胞目的基
196 因组来发挥作用的治疗产品。此定义用于本指导原则。

197 **基因转导:**

198 利用载体将治疗性遗传物质递送至细胞中（例如，病毒载体转导和质粒转
199 染）。

200 **ROA:**

201 给药途径。

202 **导入基因:**

203 以治疗目的拟递送至细胞中的具有转录或翻译活性的遗传物质。不包括载体
204 或化学合成的寡核苷酸。

205 **载体:**

206 基因治疗递送工具，用于将含有转录/翻译活性的治疗用遗传物质或改变宿主
207 细胞基因组的遗传物质递送至细胞。包括基因修饰病毒如腺病毒或腺相关病毒，
208 以及非病毒载体如质粒和基因修饰微生物，也包括可将遗传物质或基因编辑成分

209 转导至细胞的靶向纳米粒子。

210

211 **参考文献**

212 (1) ICH Considerations: General Principles to Address the Risk of Inadvertent

213 Germline Integration of Gene Therapy Vectors, Oct 2006.