

# 国际人用药品注册技术协调会 ICH 协调指导原则

## 基因治疗产品非临床生物分布的考虑

**S12**

终版

2023年3月14日采纳

*根据 ICH 进程，本指导原则由相应的 ICH 专家工作组制定，并已向监管机构征求意见。在进程的第 4 阶段，建议 ICH 区域的监管机构采纳最终草案。*

## S12

### 文件历史

编码	历史	日期
S12	在第二阶段，由 ICH 组委会成员批准，并发布以公开征求意见	2021 年 6 月 3 日
S12	在第四阶段，由 ICH 组委会监管成员批准采纳	2023 年 3 月 14 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授权或支持对原始文件的改编、修改或翻译的行为。

本文件“按原样”提供，不作任何形式的担保。在任何情况下，ICH或原始文件的作者均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，对版权归属第三方的文件，必须从版权持有人处获得复制许可。

**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 .....	2
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 .....	3
4.1. 一般考虑 .....	3
4.2. 受试物 .....	3
4.3. 动物种属或模型 .....	4
4.4. 动物分组数量和性别 .....	4
4.5. 给药途径和剂量选择 .....	5
4.6. 样本采集 .....	5
5. 特定考虑 .....	6
5.1. 分析方法学 .....	6
5.2. 表达产物的检测 .....	7
5.3. 免疫学考虑 .....	7
5.4. 离体基因修饰细胞 .....	8
5.5. 生殖腺组织的生物分布评价 .....	8
5.6. 触发进一步非临床生物分布研究的情况 .....	9
5.7. 替代方法的考虑 .....	10
6. 非临床生物分布研究的应用 .....	10
注释 .....	11

专业术语 .....	12
参考文献 .....	13

## 1. 前言

### 1.1. ICH S12指导原则的目的

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 (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/替代), 避免不必要的动物使用。

### 1.2. 背景

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。GT 领域科学持续不断进步, 也鼓励在与合适的监管机构开展 GT 产品非临床研究的早期讨论时纳入这方面内容。

### 1.3. 适用范围

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、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。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也在本指导原则适用范围之外。

GT 产品通过排泄和分泌(粪便、尿液、唾液、鼻咽液等)或通过皮肤(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在本指导原则的适用范围之外。关于非临床研究数据在这些方面的考虑可以在现有的 ICH Consideration 文件中找到(1, 2)。

## 2. 非临床生物分布的定义

BD 是 GT 产品在给药部位、靶组织和非靶组织包括体液(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 评价包括使用分析方法,以检测样本中的 GT 产品和所转导的遗传物质,也可包括用于检测所转导遗传物质的表达产物的方法。

## 3. 非临床生物分布评价的时间安排

在评价和解释非临床药理学和毒理学试验结果时，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供信息（见章节 6）。在临床试验开始前完成非临床 BD 评价非常重要。

## 4. 非临床生物分布研究的设计

### 4.1. 一般考虑

BD 非临床研究可以独立进行，也可以结合非临床药理学和毒理学研究开展。因此，本文中“BD 研究”代表上述任何一种情况。非临床 BD 研究应在生物学相关动物种属或模型（见章节 4.3）中开展，采用代表临床拟用样品的 GT 产品（可能的替代情况见章节 4.2）。重要的是，给药途径（ROA）尽可能反映拟用临床 ROA，且试验的剂量水平应足以反映 BD 特征（见章节 4.5）。

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 研究不遵循 GLP 是可以接受的；但重要的是，当 BD 评价作为 GLP 毒理学研究的一部分时，所有活体动物评估和样本采集过程仍需遵循 GLP。BD 样本分析可以非 GLP 方式进行。

对于离体基因修饰细胞产品的特定考虑见章节 5.5。

### 4.2. 受试物

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、重要的产品特性（如滴度）和最终

的临床制剂。在某些情况下，来自临床拟用相同的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 BD 数据，对支持 BD 特征有帮助（见章节 5.7）。

#### 4.3. 动物种属或模型

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（注释 1）。选择因素可包括 BD 产品组织趋向性的种属差异、基因转导效率和靶组织与非靶组织/细胞中的导入基因表达。如果使用具有复制能力的病毒载体，动物种属或模型中载体可复制是非常重要的。

种属、性别、年龄、生理状况（例如，健康动物 vs. 疾病动物模型）对 BD 特征的影响也很重要。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应的可能性（见章节 5.4）。

#### 4.4. 动物分组数量和性别

应在每个预设采样时间点评价每种性别（如适用）适当数量的动物，以获得足够的证据支持 BD 的全面评价（见注释 2）。按照 3R 原则，动物总数量可以是来自多项试验的总和。每个时间点评价的动物数量以及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，也应提供科学依据。

#### 4.5. 给药途径和剂量选择

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，如可行，GT 产品应采用临床拟用 ROA 给药（见注释 3）。所选择的 GT 产品剂量水平应反映足够的 BD 特征，以辅助解释药理学和毒理学评价。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（通常受动物大小、ROA/靶器官解剖学、GT 产品浓度的限制）。重要的是，BD 评价的剂量水平应等于或超过预期的最大临床剂量水平。不过，BD 评价的剂量水平不应超过毒理学研究的最高剂量水平。

#### 4.6. 样本采集

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。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保存（溶媒对照和 GT 产品给药组），以及记录样本采集的顺序。非临床 BD 研究中样本采集时间点的选择应足以反映 GT 产品水平随时间发生改变的特征。如需要，可以包括更多的时间点，以更全面地获取稳态期长度的信息或评估持续性。当需要时，应考虑包括可在重复给药后评估 GT 产品水平的时间点。

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达峰和后续清除阶段的相关样本的检测。

样本采集的主要组织/体液应包括以下组合：注射部位、生殖腺、肾上腺、大脑、脊髓（颈椎、胸椎和腰椎）、肝脏、肾脏、肺、心脏、脾脏和血液。这些组合可以根据其他考虑因素扩展，如载体类型/组织趋向性、表达产物、ROA、疾病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、背根神经节、脑脊液、玻璃体液、引流淋巴结、骨髓或眼睛和视神经。确定最终的样本采集组合应基于对 GT 产品、目标临床人群和已有非临床数据的理解。

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。

## 5. 特定考虑

### 5.1. 分析方法学

BD 特征的评价需要对组织/体液中 GT 产品的遗传物质（DNA/RNA）和表达产物（如果需要）进行定量。目前，基于核酸扩增方法（例如，qPCR、数字 PCR 等）对载体基因组和/或导入基因 DNA/RNA 相对于样本基因组 DNA 的定量，被认为是检测组织/体液中 GT 产品水平随时间推移的标准方法。当样本的细胞成分显著改变时（例如，体液），可以采用 DNA/RNA 浓度单位（例如，拷贝数/mL）。作为分析方法开发的一部分，应开展加标和回收率试验，以确证在不同组织/体液中检测目标序列的能力。

其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于：酶联免疫吸附试验(ELISA)、免疫组织化学(IHC)、蛋白质印迹、原位杂交(ISH)、流式细胞术、各种体内和离体成像技术、以及其他不断发展的技术。

重要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（例如，灵敏度和重现性）。

## 5.2. 表达产物的检测

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，但确定载体基因组阳性组织/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。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，采用基于风险的方法来确定。这种方法的考虑因素包括组织/体液中 GT 产品水平和存续情况、临床目标人群、与载体和/或表达产物相关的潜在安全担忧。

## 5.3. 免疫学考虑

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。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。

给予 GT 产品后，可能产生针对 GT 产品的细胞介导的免疫应答或体液免疫应答。这种免疫反应可能导致获得的 BD 特征不能提供有用的信息。因此，申请人可以考虑为可能的免疫原性分析收集样本，以支持对 BD 数据的解释。

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下需要免疫抑制，应提供科学依据。

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介导的免疫应答或体液免疫应答。如果发生这种情况，可考虑采用种属特异的直系同源导入基因规避免疫反应的影响。

#### 5.4. 离体基因修饰细胞

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**、表达产物或基因修饰对细胞体内预期分布的潜在影响（例如，新的或改变的细胞粘附分子表达）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，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/组织分布，则应在合适的动物种属/模型中考虑进行特定组织的 **BD** 评价。

#### 5.5. 生殖腺组织的生物分布评价

在两个性别的生殖系统中开展 **GT** 产品的 **BD** 评价非常重要，除非临床适应症的目标人群仅限于一种性别（例如，用于前列腺癌或子宫癌的治疗）。如果适当的分析方法（见章节 4.6 和 5.1）提示，**GT** 产品或它的遗传物质没有持续存在，

则可能不需要进一步评价。

GT 产品在生殖腺中持续存在则需要进一步的研究，以确定动物生殖细胞（例如，卵母细胞、精子）或非生殖细胞的 GT 产品水平。这些数据以及其他因素（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系整合或生殖细胞基因组修饰风险提供信息。有关此问题的更全面讨论，请参阅 2006 年 ICH 关于 GT 载体非预期生殖系整合的 Consideration 文件（2）。

在生殖腺中非生殖细胞（例如，白细胞、睾丸支持细胞、睾丸间质细胞）中检测到 GT 产品，则有必要进一步考虑对受影响的非生殖细胞功能的潜在作用，特别是对成功繁殖有重要作用的细胞类型。

#### 5.6. 触发进一步非临床生物分布研究的情况

在产品研发期间，多种情况需要开展进一步的 BD 评价研究。下面提供了可能情况的示例：

- 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，其中包括两种性别替代最初提出的单一性别的情况。增加的 BD 研究可以与增加的药理学和或毒理学研究联合开展。

- 载体结构或血清型的显著变化，以及可能导致生物分布或导入基因表达改变的所有其他修饰。

- 生产过程中可能影响最终 GT 产品制剂（例如，添加可能改变载体组织趋向性的辅料）或 GT 产品的相关质量属性（例如，基因转导活性、产品滴度）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、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。

### 5.7. 替代方法的考虑

从同一 GT 产品的非临床研究中获得的 BD 数据，可能足以用于支持不同的临床适应症。然而，评估时应将诸如剂量水平、给药方案、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其他决定其组织/细胞趋向性的特征，但导入基因不同）的 BD 数据，也可能支持免除进一步的非临床 BD 研究。这种替代方法应该进行科学论证。

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。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床 BD 评价。

## 6. 非临床生物分布研究的应用

获得动物给予 GT 产品后的 BD 特征，是非临床开发计划的关键组成部分。非临床 BD 数据有助于对研究结果的整体解释，更好地理解各种研究发现（预期的和非预期的）与

GT 产品给药的关系。给药动物中观察到的来自遗传物质（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 GT 产品潜在的获益/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，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评估。

## 注释

1. 对于 BD 评价，生物学相关种属或模型应可预期反映 GT 产品与人体相似的剂量依赖性组织分布和基因表达特征。支持性数据可以来自前期相同载体结构（包括相同的决定组织趋向性的元件，例如载体衣壳，和相同的导入基因启动子）GT 产品非临床 BD 研究、临床试验数据或发表的同行评议文献。支持性数据的研究中，GT 产品应采用相似的生产工艺，剂量水平和 ROA 应与申请人拟申请的临床试验相似。对于年龄的特定考虑，ICH 指导原则 S11 的附录 A 提供了种属间器官成熟的比较信息（3）。

2. 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 只非啮齿类动物。动物数量应提供科学依据，包括各性别的动物数量。

3. 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 GT 产品在动物中给药的体积和剂量水平。此信息会影响对相应 BD 特征的解释。如果计划在临床试验中使用新的递送装置系统，应考虑与使用该装置系统或其等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。

## 专业术语

### **BD:**

生物分布。

### **表达产物:**

转导的遗传物质在细胞中产生的分子，例如 RNA 和蛋白质。

### **基因治疗产品:**

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因组来发挥作用的治疗产品。此定义用于本指导原则。

### **基因转导:**

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染）。

### **存续**

GT 产品急性暴露后，由于遗传序列整合进宿主基因组、删除、插入或基因组编辑后的其它改变，或由于携带导入基

因的病毒载体的潜伏感染，或由于转导遗传物质的染色体外游离形式，转导或修饰的遗传序列在宿主中持续存在。

**ROA:**

给药途径。

**组织趋向性:**

对于基因治疗产品而言，所用载体转导或转染不同组织（或细胞）的倾向性。

**导入基因:**

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。不包括载体或化学合成的寡核苷酸。

**载体:**

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细胞基因组的遗传物质递送至细胞。既包括基因修饰病毒如腺病毒或腺相关病毒，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转导至细胞的靶向纳米颗粒。

**参考文献**

1. ICH Considerations: General Principles to Address Virus and Vector Shedding, Jun 2009.
2. ICH Considerations: General Principles to Address the Risk of Inadvertent Germline Integration of Gene Therapy Vectors, Oct

2006.

3. ICH Guideline S11: Nonclinical Safety Testing in Support of Development of Paediatric Pharmaceuticals, Apr 2020.