

基因治疗产品非临床研究与评价技术指导原则

（试行）

2021年11月

目 录

一、前言	1
(一) 背景	1
(二) 目的	1
(三) 一般原则	2
(四) 范围	3
二、非临床研究	4
(一) 药理学	4
1.动物模型	5
2.概念验证研究	6
3.安全药理学	7
(二) 药代动力学	8
1.暴露量	8
2.生物分布	8
3.脱落	9
(三) 毒理学	9
1.一般毒理学	10
2.免疫原性和免疫毒性	13
3.生殖毒性	14
4.遗传毒性	15

5.致癌性	16
6.复制型病毒风险	16
7.局部耐受性	17
三、支持临床试验的非临床考虑	17
(一) 首次临床试验起始剂量	17
(二) 关键非临床研究	18

基因治疗产品非临床研究与评价技术指导原则

一、前言

（一）背景

随着基因转导和修饰技术、递送载体系统、细胞培养技术等领域在基础研究和技术开发上的快速发展，基因治疗取得了突破性进展，为难治性疾病（尤其是罕见遗传性疾病）提供了全新的治疗理念和思路。自基因治疗技术出现以来，安全性始终是基因治疗研发最为关注的问题之一，关系到整个领域技术研发和产业应用的健康有序发展。基因治疗产品（Gene Therapy Products）应开展系统的非临床研究，评估安全性风险，验证有效性机制，以支持开展相应临床试验及上市。基因治疗产品种类多样，作用机制和起效方式均有别于小分子、大分子药物，非临床试验设计、实施以及研究设计中试验类型、时间安排和灵活性，可能与其它药物的非临床研究不同。

（二）目的

本指导原则为基因治疗产品研发提供建议，以帮助设计合适的非临床研究计划，并作为非临床评价的参考，以支持开展相应的临床试验。

基因治疗产品非临床研究为临床试验提供支持性信息，研究内容一般为药理学、药代动力学、毒理学，用于提供作用机制有效性证据、明确生物分布特点、确定药理作用特征、了解毒理学特征（确定靶器官、暴露量-反应关系和可逆性等）、确定首次人体试验的安全剂量水平、建议临床给药途径和剂量递增计划、支持患者入组标准、确定可指导临床监测的生理参数、提示临床试验风险等。

本指导原则旨在促进基因治疗产品的研发，并保护受试者免受不必要的不良反应，同时遵循“替代、减少、优化”的3R原则(Replacement, Reduction, Refinement, “3Rs”)，以避免不必要的动物及其它资源的使用。

适当情况下，基因治疗产品研发中应考虑其他非临床研究指导原则的建议。本指导原则主要描述了与其他指导原则的非临床试验建议不一致的特殊情况。

（三）一般原则

源于对基因治疗产品多样性、生物体复杂性和科学认知局限性的考虑，基因治疗产品研发应遵循创新药物研发的一般原则，分阶段逐步推进。

基因治疗产品非临床研究应为临床试验风险-获益分析提供充分的信息。由于基因治疗产品种类、作用机制、作用特点、给药途径、安全性风险等方面的差异，应基于风险分析设计并开展非临床研究，综合评估临床试验受试者潜在风险-获益。

由于基因治疗产品的生物学复杂性，基因治疗产品非临床研究和评价均应采取具体问题具体分析的原则，综合考虑产品导入基因（Transgene）特性、载体生物学特征、研究模型的可行性/可获得性、适应症/目标患者群体、给药途径、给药方案等多种因素。

基因治疗产品非临床安全性研究一般应当在经过药物非临床研究质量管理规范（GLP）认证的机构开展，并遵守药物非临床研究质量管理规范。对于某些采用特殊动物模型、药理毒理整合性研究、特殊指标检测等非常规试验内容，可以考虑在非 GLP 条件下进行，但应保证数据的质量和完整性。

（四）范围

基因治疗产品通过转导的遗传物质的转录或翻译而发挥作用，一般包括：核酸（例如质粒、RNA）、表达特定基因的基因修饰微生物（例如病毒、细菌、真菌）、离体基因修饰的人类细胞，以及体内编辑宿主基因组（通过或未通过特定的转录/翻译）的产品和未通过基因修饰表达特定基因的微生物（例如溶瘤病毒产品）。

本指导原则适用于除基因修饰细胞以外的基因治疗产品，不适用于化学合成的寡核苷酸及其类似物、预防性疫苗。基因修饰细胞治疗产品参见《基因修饰细胞治疗产品非临床研究与评价技术指导原则》。

二、非临床研究

基因治疗产品的非临床研究应在相关动物种属中开展。一般认为，基因治疗产品应能在相关动物种属中有效导入/暴露，有效转录/翻译，发挥药理学活性作用。复制型载体的基因治疗产品应可在相关动物种属中复制。相关动物种属选择应综合考虑生物学反应性和疾病特点，可以选择野生型、免疫缺陷型、人源化或其它基因修饰的动物。考虑基因治疗产品特殊性和临床适应症，某些情况下可能需要采用非常规的动物种属和品系开展非临床试验，如基因修饰啮齿类动物（例如转基因或基因敲除）、其它啮齿类动物（例如叙利亚仓鼠、棉鼠等）、以及非啮齿类动物（例如绵羊、猪、山羊、马等）。采用非常规的动物种属和品系需提供科学依据。

基因治疗产品非临床研究中所用受试物应明确其特性，应该能够充分代表临床试验拟用样品，还应考虑生产过程、重要质量特征（例如滴度）、临床拟用剂型等因素。如果基因治疗产品生物学作用具有种属特异性，应考察评估受试物在非临床研究中的活性，科学论证其对临床拟用样品的代表性。当产品药学信息（载体结构、表达元件、生产工艺等）发生重大变更时，需要评估开展桥接研究或新的非临床研究的必要性。

（一）药理学

基因治疗产品药理学研究是为了在体内、体外研究产品与治疗靶点相关的作用机制和效应，明确基因治疗产品的生物学作用特点，

应选择合适的体内或体外模型进行，并以此评价基因治疗产品在人体中潜在治疗作用和效果，有助于后续非临床和临床试验的剂量选择。在某些情况下，相关人用经验可能有助于加深对基因治疗产品生物学作用特征的认识。在开展临床试验之前，基因治疗产品应当完成作用机制、量效关系特点和药效活性的支持性研究。

1. 动物模型

动物疾病/损伤模型可能相对正常健康动物模型更加适于评价“风险-获益”关系，更有机会发现可以用于临床试验监测的活性/毒性生物标志物。

选择动物模型时应考虑以下因素：受试物在动物模型中复制能力和转导（转染、感染）特性；动物模型中与受试物相关的细胞/受体表达和组织分布；受试物中生物调节活性的组分对动物模型转基因的表达水平和组织表达特异性的影响；受试物导入基因产物引起的生物学效应；动物预存免疫学状态对受试物的影响；动物模型内在的与导入基因同源的基因及其产物对药效的影响；转基因动物用于特定受试物药效评价的适用性；动物模型实际可行的安全剂量和体积；受试物在动物模型中的生物分布特征等。在选择动物疾病/损伤模型时需要考虑其局限性，包括模型内在的固有变异、历史/基线数据不足、生理功能和解剖结构的技术性限制、模拟人体疾病/损伤病理过程的可靠性等。

如果没有合适的动物模型满足试验需要，应当依据科学原理开发相应的动物模型或使用更完善的体外试验系统、替代性模型（例如类器官）开展试验。需要科学论证新的动物模型、体外试验系统或替代模型试验对临床试验设计的支持性。

如果单个动物试验模型不足以论证相关问题，则应采用多种动物模型开展相应研究，进行综合分析评价。

2. 概念验证研究

基因治疗产品生物学作用与实验系统、实验动物种属高度相关，在基因治疗产品药理学研究中应关注概念验证（Proof of Concept, POC）研究的重要性。POC 研究为临床试验提供可行性和有效性的非临床证据，并提供可能的生物学作用机制、潜在的安全性问题等信息。

POC 研究的目标包括：1. 确定基因治疗产品的有效剂量范围，包括最低起效剂量，推荐开展量效关系的探索性研究；2. 优化给药途径，以确保治疗产品能到达靶组织、器官或特定细胞类型；3. 优化给药方案，包括相对疾病进展的最优给药时间；4. 验证基因治疗产品的生物学功能及作用机制。

POC 研究包括体外研究和体内研究。体外研究主要用于评价基因治疗产品的生物学功能（如治疗基因的作用、表达产物的活性、特定细胞功能的恢复等）和对作用机制的初步验证。单独的体外研究通常不足以预测基因治疗产品在人体内的药理及毒理学特征，因

此需要选择合适的动物疾病模型进行体内研究，通过对动物表型、导入基因的体内表达及其功能活性相关的生物标志物等进行检测以说明基因治疗产品的有效性和/或安全性。

由于种属和免疫状态的差异，基因治疗产品在人体内的表达、分布和作用与在模型动物中可能有较大不同，可选用替代产品（如治疗基因使用来自模型动物的同源基因，或使用基因修饰的模型动物细胞、组织和类器官等）进行POC研究。应详细说明采用替代产品的试验设计，并科学评估替代产品体内研究数据对临床试验的支持性。

3.安全药理学

基因治疗产品（包括载体和导入基因，以及导入基因的表达产物）安全药理学主要是研究受试物在治疗剂量范围内或治疗范围以上剂量时，对生理功能潜在的非期望作用，一般包括对中枢神经系统、心血管系统、呼吸系统的影响，通常应在临床试验前完成。采用基于风险的评价策略开展基因治疗产品的安全药理学试验，考虑因素一般包括：导入基因作用机制、载体类型、生物分布、给药途径和临床给药方案等。安全药理学试验通常采用单次给药方式，其研究终点也可以纳入到一般毒理学试验中。

（二）药代动力学

1. 暴露量

基因治疗产品应根据产品具体特点考虑非临床研究中的实际暴露情况，对非临床（药理学、药代动力学、毒理学）研究结果进行分析评价。

2. 生物分布

基因治疗产品生物分布是受试物在相关动物种属中给药部位、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。生物分布特征是基因治疗产品非临床研究的关键部分，有助于解释药理学、毒理学的研究发现，也为临床试验设计提供支持信息。基因治疗产品生物分布研究应在临床试验开始前完成。

基因治疗产品生物分布研究应采用足够的剂量，以临床拟用的给药途径，在相关动物种属或动物模型中开展，不仅包括导入基因的检测，还可能包括导入基因表达产物、载体的检测。采样时间点的安排应能体现基因治疗产品体内过程的特点，至少包括在靶组织和非靶组织的峰值和稳态阶段。具有体内复制特征的基因治疗产品，采样点至少包括第一、第二两个峰值和清除阶段。生物分布研究的检测方法应经过方法学验证。

基因治疗产品在分析非临床生物分布研究结果与临床相关性时，应关注给药途径、剂量水平、给药方案和实验动物的免疫反应等因素。

3.脱落

脱落是指基因治疗产品通过排泄物（尿液、粪便）、分泌物（唾液、鼻咽液等）或皮肤（脓疱、疮、伤口）排出体外。根据基因治疗产品的特点（例如复制型基因治疗产品）评估开展脱落分析的必要性。除相关的核酸检测外，脱落分析还应根据具体产品的特点考虑排出体外成分的感染能力。根据基因治疗产品脱落的特点和感染风险，在临床试验中采取相应的风险控制措施。

（三）毒理学

在毒理学研究中，应对基因治疗产品进行全面的安全性分析评价，必要时还应评价导入基因的表达产物的安全性。

由于基因治疗产品的生物学复杂性，毒理学试验设计应综合考虑产品本身的特点（如导入基因结构和作用机理、表达产物的表达水平与活性、载体性质和生物学特征、相关动物种属和疾病模型的可获得性）和临床应用（如适应症、给药途径和给药方案等）。原则上应选择可以代表临床使用的给药途径和方法，采用具备合适的剂量范围，还应注意组别、检测指标和时间节点的合理性。必要时，可考虑增加额外的组别（例如静脉给药，以评价潜在的严重毒性反应）、额外的检测时间点、特殊的毒性生物标志物检测等。

当采用临床拟用样品的毒理学试验难以提供有价值的信息时，也可考虑采用替代产品开展毒理学试验，但需提供科学依据，并应注意替代产品和临床拟用样品之间，在生产工艺、杂质/污染物水平、药代动力学以及确切的药理学机制方面都可能存在差异。使用替代物产品的试验可以用于风险识别，以及了解放大的药理作用的潜在不良影响，但是一般不用于定量风险评估。

1. 一般毒理学

一般毒理学试验用以评价基因治疗产品毒性特征、毒性可逆性、剂量-毒性反应关系、生物分布-毒性反应关系等，包括单次给药和重复给药毒性试验。一般毒理学试验设计时应关注动物种属的选择、与基因治疗产品特性相关的检测指标、毒性反应的持续时间和可逆性。

(1) 动物种属选择

毒理学研究中所选动物种属应与基因治疗产品具有良好的生物学相关性，采用相关动物种属开展试验。通常情况下，毒理学试验采用正常健康动物，某些情况下亦可参考药理学试验中使用的疾病动物模型以预测临床试验风险/获益比。如果选择单一性别或特定年龄阶段的动物开展试验，需要提供科学合理性依据。至少采用一种相关动物种属开展一般毒理学试验。必要时，考虑开展更多动物种属的一般毒理学试验。

(2) 剂量设计

通常情况下，一般毒理学试验中的给药剂量应该包括在最合适的非临床药效模型中确定的药效剂量范围或拟推荐的临床剂量范围。最高剂量一般期望获得明显毒性反应的相关信息，通常为药效学最高剂量的一定倍数或拟推荐临床最高剂量的一定倍数。最高剂量的设置可能会受到动物模型、递送靶组织的容量/大小、给药途径、产品的生产能力和高浓度制剂稳定性等限制。如果受载体浓度或给药体积的限制，可选择最大可行剂量作为最高剂量。最大可行剂量一般考虑可配制的产品浓度和可输送至靶组织/器官的体积及其载量。

（3）分组

一般毒理学试验原则上应设低、中、高3个剂量组，以及合适的对照组，例如溶媒、辅料、空载体、含有非功能转基因的载体等对照组。当使用疾病动物模型作为试验系统时，应考虑设计模型对照组、假手术组等。

（4）给药方案

在一般毒理学试验中，基因治疗产品的给药方案应最大程度地模拟临床拟用给药方案，给药途径、给药频率和给药期限应能适当反映临床使用情况。

对于临床研究拟单次给药的基因治疗产品，可开展扩展的单次给药或重复给药毒性试验。基因治疗产品应考虑延长合适时间进行给药后毒性指标的检测。针对具有长期表达特性的基因治疗产品，

毒性观测指标检测时间应延长至暴露量稳态之后，且足以评价毒性反应持续时间和可逆性。如果基因治疗产品拟在人体中长期发挥作用，但实际在动物中作用时间明显短于人体，或者复制型产品在动物体内的复制动力学特征无法反映其在人体中的情况，此时应考虑进行重复给药毒性试验以模拟人体情况。

对于临床研究拟多次给药的基因治疗产品，应进行重复给药毒性试验，给药次数和给药频率一般不应低于临床给药次数和频率。多次给药间隔时间应根据基因治疗产品的作用特点（如载体发挥作用持续性、导入基因表达的相关信息等。这些信息可以来自概念验证试验和/或已有的相关文献资料。）进行设计，以保证能够充分暴露毒性风险。

（5）试验期限

基因治疗产品一般毒理学试验的持续时间通常会长于其它生物制品的标准毒性试验持续时间。在设计一般毒理学试验时，需阐述试验期限的合理性，并根据基因治疗产品的作用特点（如载体发挥作用持续性、导入基因表达的相关信息等），确定恢复期观察时长。一般毒理学试验应包括多个解剖时间点（至少应包括导入基因峰值时间点、稳态时间点等），以便评价基因治疗产品发挥作用的持续性，以及剂量/暴露量与毒性反应、生物分布与毒性反应的关系。

（6）检测指标

除常规观察指标外，一般毒理学试验需结合基因治疗产品特性，考虑增加合适的观察指标，如生物活性细胞因子分泌、异常/异位增生性病变、免疫原性/免疫毒性等。应考察基因治疗产品中载体和导入基因在体内的转录/翻译、分布、存续情况，为毒性试验的结果解释提供支持性数据（必要时设置卫星组）。必要时还应考虑基因治疗产品中脱落的可能性及生殖毒性风险。

2.免疫原性和免疫毒性

基因治疗产品可能导致的免疫反应包括先天性免疫反应和适应性免疫反应。多种因素可显著影响基因治疗产品的先天性和适应性免疫反应，如宿主因素（前期接触过相关病毒血清型和/或导入基因产物、免疫系统状态）、基因递送方式（递送系统种类、给药途径和靶组织）、载体（载体种类、血清型、剂量和导入基因的调控元件类型等）、导入基因的产物、异位表达基因产物（特别是针对免疫豁免器官和/或部位特异表达的基因产物）。

基因治疗产品的免疫原性可能来源于产品中的非人源化组分、导入基因的表达产物、载体、基因编辑产生的非预期的肽/蛋白质等。病毒载体类基因治疗产品相对更容易产生免疫原性。此外，还应考虑实验动物预存免疫对试验的影响。

根据基因治疗产品的质量研究，如果预计会产生异常基因产物，或基因治疗产品表达的蛋白质与天然产物相比结构发生了改

变，则应进一步评估表达产物的免疫原性。如果基因治疗产品可导致补体激活，则应考察血清中补体激活标志物。

已知对免疫系统有影响的基因治疗产品，如编码生长因子、细胞因子等的产品，通常需要开展免疫毒性研究，应包括体液和/或细胞免疫终点评价。

对于某些特定的基因治疗产品，动物模型可能无法代表临床实际情况，因此可能无法提供可解释的免疫毒性数据。在这些特定情况下，建议采用动物模型的同源基因序列开展试验，以提供相关支持性信息。

3. 生殖毒性

基因治疗产品应根据受试物的产品类型、作用机制、一般毒理发现、生物分布特征以及患者人群来评估潜在的生殖/发育毒性风险。生殖毒性试验的研究策略和风险评估可参考 ICH S5 (R3) 的建议和 ICH M3 (R2)、S6 及 S9 中的相关内容。

通常需要开展胚胎-胎仔发育毒性和围产期毒性研究，除非有基于具体产品类型的特殊考虑并具有科学合理性。如果基因治疗产品拟用于有生育可能或妊娠人群，应研究产品对胎儿的影响（例如细胞因子局部生成后通过胎盘转运），开展胚胎-胎仔发育和围产期毒性试验。如果在一般毒理学试验中发现有潜在的生殖器官毒性反应，应开展生育力和早期胚胎发育毒性试验。

当基因治疗产品在生殖器官持续存在时，需要进一步研究确定其在生殖细胞（例如卵母细胞、精子）的暴露水平。根据载体类型、复制能力、基因组整合特性、剂量水平、给药途径等因素，分析评估基因治疗产品生殖系整合风险。

4.遗传毒性

基因治疗产品将遗传物质转移到宿主细胞内或整合到宿主基因组中或对宿主基因组进行编辑，存在潜在的遗传毒性风险。目前对于判断细胞基因组插入/修饰是否会产生遗传毒性、是否最终会发生癌变依然还缺乏系统的认知，因此，需要分析基因组改变（载体或遗传物质整合进基因组、对基因组编辑等）的特征，并评估相关潜在风险。

通常不需要进行标准的遗传毒性组合试验，但应根据基因治疗产品的特点、产品的具体适应症、载体的已有信息、导入基因序列结构等，评估基因治疗产品整合进基因组的可能性，判断是否需要开展另外的遗传毒性研究，如研究基因组修饰的发生情况，并检测随后可能发生的异常细胞行为；评估插入突变（插入位点、插入拷贝数等）引起的遗传毒性风险。当基因治疗产品采用基因编辑或转座子技术时，需要关注脱靶编辑、转座子转座印迹引起的遗传毒性问题；鉴定/表征基因组整合位点。

遗传毒性需要考虑最终产品的形式、给药途径（全身或局部）以及靶向的具体组织/器官/细胞的生物学状态等。如果目标细胞是未分化细胞，插入突变产生遗传毒性的风险相对较高。

基因修饰噬菌体、细菌和真菌相关的产品可以不进行遗传毒性研究，一般认为这些产品通常不会直接与宿主细胞基因组发生相互作用。

5. 致癌性

标准的啮齿类动物致癌性试验一般不适用于评价基因治疗产品。可采用证据权重（**Weight of Evident, WoE**）方法来评估致癌性风险，必要时进行致癌性研究。**WoE**关注因素一般包括但不限于：药物靶点和药理作用通路已知与致癌性相关（例如导入基因产物是生长因子）；靶点和信号通路的药理作用特征预测与肿瘤发生发展有一定相关性；插入突变研究的相关结果提示有致癌性风险；载体设计中有潜在致癌风险；生产体系中存在引入致癌成分；一般毒理学试验组织病理学发现，包括弥漫性和/或局灶性细胞增生、持续的组织损伤和/或慢性炎症、癌前病变和肿瘤发生；激素紊乱；免疫抑制；其他技术方法研究发现与动物和/或人体内肿瘤发生相关。

6. 复制型病毒风险

采用复制缺陷病毒载体的基因治疗产品，需要评估在生产的过程中是否有可能产生复制型病毒。如果基因治疗产品可能含有翻译

病毒结构或非结构蛋白的元件，应充分评估该产品在体内产生活性完整病毒颗粒的风险。应根据基因治疗产品具体特点，评估分析因基因突变和内源性病毒片段重组产生复制型病毒的可能性。

检测复制型病毒的技术方法应通过方法学验证。如果基因治疗产品有可能产生复制型病毒，应采用动物/细胞模型对复制型病毒风险进行评估。

在评估复制型病毒风险时，应考虑到该病毒在不同物种之间的流行性以及传播性。针对动物/细胞试验的结果是否能够反映在人类传播的流行病学原理需要进行慎重评估。

7.局部耐受性

根据产品类型、给药途径和临床试验方案，某些基因治疗产品（例如眼内给药、肌肉注射、瘤内给药等）应开展局部耐受性试验，适当时可以结合在一般毒理学试验中进行。

三、支持临床试验的非临床考虑

（一）首次临床试验起始剂量

确保受试者安全是考虑和确定基因治疗产品首次临床试验起始剂量的出发点。首次临床试验起始剂量应根据非临床研究所提示的安全有效性特征，采用所有已有的非临床数据（药代动力学、药理学和毒理学）进行科学论证，并且基于多种方法进行选择。

如果未见经典的量效关系，那么最低起效剂量（Minimal Effective Dose）和最高耐受剂量（Maximum Tolerable Dose）可能可以为剂量/暴露量与活性/毒性的关系提供有用的信息。

应根据具体基因治疗产品生物学作用特点，选择合适的方式进行动物剂量与人体等效剂量的种属间换算。体表面积标准化、体重等比放大、靶器官体积或重量比例放大等可能是合适的方式。此外，还考虑基因治疗产品在不同种属靶器官的生物分布差异。不同类型的基因治疗产品，可能需要采用不同的策略来拟定首次临床试验起始剂量。

（二）关键非临床研究

非临床研究信息应能充分支持临床试验剂量、方案并确定潜在的毒性。应科学论证基因治疗产品非临床研究对临床试验的支持性，综合评价具体临床试验方案的风险-获益。一般情况下，基因治疗产品非临床研究项目和阶段性评价策略可参考 ICH M3

（R2），但应根据基因治疗产品的具体特点、适应症、用药人群，具体问题具体分析，综合评价非临床研究对临床试验方案的支持性。对于拟用于晚期肿瘤患者的基因治疗产品，非临床研究项目和阶段性评价策略可参考 ICH S9。

基因治疗产品应尽早完成生物分布研究，以了解基因治疗产品在体内分布、存续和清除的特点，选择合适的动物种属，开展合适的药理学、毒理学研究，并设计合理的临床试验方案。在临床试验

开始前，应在作用机制、有效剂量范围、量效关系、耐受剂量、毒性反应特征、种属差异、给药途径/方案等方面完成科学论证。考虑到基因治疗产品的特殊性，在合适的情况下，其药理学、药代动力学、毒理学试验也可考虑联合开展。