

**腺相关病毒载体基因治疗产品非临床研究
技术指导原则（征求意见稿）**

国家药品监督管理局药品审评中心

2024年6月

目录

一、概述.....	1
(一) 前言.....	1
(二) 适用范围.....	2
二、总体考虑.....	2
(一) 研究目的.....	2
(二) 基本原则.....	3
1. 具体问题具体分析.....	3
2. GLP 要求.....	3
3. 随机、对照、重复.....	3
(三) 非临床研究的重要关注点.....	3
1. 受试物.....	4
2. 动物种属/模型选择.....	4
3. 给药方式/途径.....	6
4. 组织趋向性和体内存续性.....	6
5. 非临床试验的整合设计.....	7
三、基本内容.....	7
(一) 药理学研究.....	7
(二) 药代动力学研究.....	8
1. 生物分布.....	8
2. 脱落.....	9
(三) 非临床安全性研究.....	9

1. 安全药理学.....	10
2. 一般毒理学.....	10
3. 免疫原性.....	13
4. 遗传毒性.....	13
5. 致癌性.....	14
6. 生殖毒性.....	14
7. 制剂安全性.....	14
8. 其他	15
四、注释.....	15
五、参考文献.....	16

1 **一、概述**

2 **（一）前言**

3 体内基因治疗产品一般选用适当的载体或转染方式将
4 外源基因（或基因编辑工具）导入人体，通过替代、补偿、
5 阻断、修正特定基因以达到治疗疾病的目的。腺相关病毒
6 （**adeno-associated virus, AAV**）载体因其理化性质稳定、致
7 病性弱、整合风险低、外源基因表达持久等结构和生物学方
8 面的优势，已成为体内基因治疗领域研究、应用最为广泛的
9 载体之一。

10 **AAV**载体基因治疗产品(以下简称为“**AAV**载体产品”)
11 的活性成分是**AAV**载体携带的外源目的基因(或核酸片段),
12 通过给药后在体内发生转录、翻译，获得目的蛋白且目的蛋
13 白在体内长期表达来发挥治疗作用。该类产品的潜在风险分
14 析时需考虑终产品本身、其采用的**AAV**载体、其递送的目的
15 基因等，还需关注体内长期存续和/或表达带来的长期安全性
16 风险。

17 为规范和指导**AAV**载体产品的非临床研究和评价，在
18 相关非临床研究指导原则基础上，基于现阶段对于此类产品
19 的科学认知，制定本指导原则，提出对这类产品非临床研究
20 和评价的要求。

21 随着技术的发展、认知程度的深入和相关研究数据的积
22 累，本指导原则将不断完善和适时更新。

23 (二) 适用范围

24 本指导原则中的 AAV 载体是指基于腺相关病毒的结构
25 和理化特性，经设计和重组改造所形成的用于携带外源目的
26 基因（或核酸片段）的病毒载体。本指导原则为 AAV 载体产
27 品的非临床研究提供技术指导和建议。

28 需要说明的是，对于携带基因编辑工具的 AAV 载体产
29 品，由于其作用机制涉及对人体细胞基因组的编辑操作，属
30 于风险相对较高的产品，而现阶段对此类产品的认知较为有
31 限，因此本指导原则不适用于此类产品。但是，此类产品的
32 非临床研究可参考借鉴本指导原则的一些研究思路，并需要
33 开展更多的非临床研究，以全面地阐述其风险。

34 二、总体考虑

35 (一) 研究目的

36 非临床研究是药物开发的重要组成部分。AAV 载体产品
37 非临床研究的主要目的是：（1）对拟定的作用机制进行概念
38 验证，考察有效性潜力，明确其在拟定患者人群中使用的生
39 物学合理性。通常包括：考察其携带的目的基因（或核酸片
40 段）能否进入预期的靶细胞并表达为具有生理学功能的蛋白
41 产物、蛋白产物能否对拟定适应症起到治疗作用等。（2）考
42 察 AAV 载体产品在体内的药代特征，评估其生物分布、存
43 续、脱落特征。（3）根据潜在风险因素，阐明毒性反应特征，
44 预测人体可能出现的不良反应，确定临床监测指标，为制定

45 临床风险控制措施提供参考信息。

46 应通过开展非临床研究，收集用于获益-风险评估的信息，
47 以确定拟开发产品在目标患者人群中预期具有合理的、可接
48 受的获益-风险比，同时为临床试验的设计和风险控制策略的
49 制定以及产品上市提供支持性依据。

50 (二) 基本原则

51 1. 具体问题具体分析

52 由于 AAV 载体产品的生物学复杂性，其非临床研究和
53 评价应遵循“具体问题具体分析”的原则，综合考虑导入的
54 目的基因特性、AAV 载体生物学特征、研究模型的可行性/可
55 获得性、适应症/目标患者群体、给药途径和给药方案等多种
56 因素。

57 2. GLP 要求

58 AAV 载体产品的非临床安全性研究一般应当在经过药
59 物非临床研究质量管理规范（GLP）认证的机构开展，并遵
60 守 GLP。当某些特殊情况下无法遵守 GLP 时，例如采用非常
61 规动物模型、在概念验证或生物分布试验中整合安全性检测
62 指标、检测某些特殊指标等，应最大限度地按 GLP 原则进行
63 试验，确保试验质量和数据的完整性及可追溯性。

64 3. 随机、对照、重复

65 试验应遵循随机、对照、重复的原则。

66 (三) 非临床研究的重要关注点

67 1. 受试物

68 非临床研究所用受试物应能代表临床拟用样品。应明确
69 受试物质量特性。若后续开发阶段药学方面发生变更，需评
70 估变更带来的影响，必要时开展变更前后样品的非临床桥接
71 研究或开展新的非临床研究。

72 AAV 载体产品的终产品中，除拟发挥疗效的活性成分外，
73 通常还存在多种相关杂质，如空壳病毒、部分包装病毒、游
74 离衣壳蛋白、游离核酸、DNA 错误包装等。活性成分与相关
75 杂质的含量及比例可能影响 AAV 载体产品发挥药效作用或
76 引起安全性风险的剂量水平，因此，整个非临床和临床开发
77 过程中保持产品特性的一致性对于有效性和安全性至关重要。
78 需要对产品的纯度、生产过程中的杂质进行检测和控制。

79 当无法采用临床拟用产品进行动物试验而采用携带动
80 物源基因表达构建体的替代 AAV 载体产品开展试验时，该
81 替代产品应与临床拟用产品采用相似的生产工艺，并对可能
82 影响有效性和安全性的关键质量参数进行对比研究，以评估
83 替代产品与临床拟用产品的相似性及其对非临床数据预测
84 性的影响。

85 2. 动物种属/模型选择

86 应选择相关动物种属/模型进行非临床体内研究。动物种
87 属/模型的选择应该具有科学合理的依据。

88 选择相关动物时需要考虑产品特性和临床拟用情况，包
89 括但不限于以下因素：(1) AAV 载体在动物中的感染敏感性、
90 组织趋向性、转导效率及与人体的相似性；(2) 动物对 AAV
91 载体携带的目的基因的转录和/或表达可行性及其表达产物
92 的生物学效应与预期的人体效应的相似性；(3) 动物对 AAV
93 载体产品的免疫耐受性；(4) 动物的解剖学和病理/生理学特
94 征与拟定适应症人群的相似性；(5) 临床拟用给药途径、给
95 药方式的可行性。

96 由于野生型 AAV 的宿主较为广泛，当实验动物体内存
97 在针对野生型 AAV 的预存抗体时，可能会影响 AAV 载体产
98 品给药后的体内暴露，进而影响对有效性和安全性的评价。
99 因此，在动物筛选及分组时需关注预存抗体及其对体内药物
100 暴露的可能影响，尽量选择预存抗体阴性或滴度低的动物用
101 于试验。

102 采用疾病动物模型开展的研究可以同时提供 AAV 载体
103 产品的药理活性和毒性信息，也可以模拟临床患者的病理生
104 理状态，因此，必要时可考虑采用疾病动物模型进行非临床
105 安全性研究。

106 在某些情况下可以考虑使用动物源性替代产品，例如，
107 当来自目的基因的核酸或蛋白质由于生物活性的种属差异
108 而不能在动物中发挥其预期作用时，可以使用来自动物的同
109 源基因构建的替代产品。需要注意的是，使用替代产品开展

110 的非临床安全性研究在一定程度上可用于识别风险，但是并
111 不适合用于定量风险评估。

112 对于拟用于儿科人群的 AAV 载体产品，ICH S11 适用范
113 围不包括基因治疗产品，同时指出基因治疗产品可参考该指
114 导原则关于利用现有信息评估安全性的一些思路，但是，由
115 于 AAV 载体产品的特殊性，应充分评估其在儿科人群中的
116 潜在风险。对于首次临床试验拟采用儿科人群（例如适应症
117 仅限于儿科人群），考虑进行幼龄动物毒理学试验。若给药可
118 能对儿科人群发育中的器官系统带来较大的安全性风险时，
119 应进行幼龄动物毒理学试验。

120 3. 给药方式/途径

121 非临床研究中的给药方式/途径应能最大程度模拟临床
122 拟用给药方式/途径。如果在动物试验中采用其他的给药方式
123 /途径，应阐明其科学性和合理性依据。

124 4. 组织趋向性和体内存续性

125 不同血清型 AAV 载体的组织趋向性特征存在差异，然
126 而，这种组织趋向性并不意味着该载体不分布至其他组织器
127 官，因此需通过生物分布研究来考察 AAV 载体产品的靶向
128 和脱靶特征及其风险。另外，AAV 载体的组织趋向性也可能
129 存在种属差异，而 AAV 载体产品在动物与人体之间组织趋
130 向性的差异会影响动物试验对有效性和安全性的预测价值，
131 因此，谨慎将非临床研究中获得的动物数据直接外推至人。

132 AAV 载体产品携带的目的基因及其表达产物在靶器官/
133 组织中的长期存续性，是该类产品起效的关键决定因素，而
134 AAV 载体产品及其表达产物在非靶部位的存续则可能带来
135 安全性风险，因此，AAV 载体产品非临床研究时需充分考虑
136 目的基因及其表达产物的存续性。

137 5. 非临床试验的整合设计

138 基于 AAV 载体产品的特点、相关动物种属/模型的可获
139 得性，某些非临床试验可整合在其他试验中进行。例如，如
140 果可行且科学合理，在疾病动物模型的药效学试验中伴随考
141 察毒理学指标，将药代动力学试验整合至药效学试验和/或毒
142 理学试验中。整合试验设计有助于阐明药代动力学、药效、
143 毒性的相关性。

144 三、基本内容

145 （一）药理学研究

146 应通过药理学试验阐述 AAV 载体产品的生物学作用和
147 作用机制，提示其在拟定患者人群中使用的生物学合理性。

148 AAV 载体产品的药理学试验通常包括体外和体内试验。
149 体外试验主要用于评价 AAV 载体产品的转导效率、导入基
150 因的表达情况、表达产物的活性等。体内试验应在与人类疾
151 病相关的疾病动物模型中研究 AAV 载体产品是否可发挥预
152 期的药理学作用，通过对 AAV 载体产品在预期靶器官/组织
153 的分布特征、其携带的目的基因和/或其表达产物在预期靶器

154 官/组织的表达情况、疾病相关指标的改善情况等，来评价产
155 品的有效性潜力。

156 (二) 药代动力学研究

157 1. 生物分布

158 AAV 载体产品的生物分布研究信息对提示其有效性和
159 安全性至关重要。应参考 ICH S12 对基因治疗产品非临床生
160 物分布研究的一般要求，采用相关动物种属开展生物分布试
161 验，以阐明 AAV 载体产品在体内的命运和行为。根据产品特
162 性，检测与药效和毒性相关的药代动力学行为，如 AAV 载体
163 的生物分布、存续和清除特征，携带的目的基因及其表达产
164 物在体内的分布特征等。疾病动物模型可能对评估 AAV 载
165 体产品的分布特征更有意义，鼓励在药效学试验中伴随生物
166 分布研究。

167 AAV 载体产品生物分布研究应采用合适的剂量，以临床
168 拟用的给药途径，在相关动物种属或动物模型中开展。

169 需要同时检测载体基因组和目的基因水平，由于 AAV 载
170 体产品最终发挥药理作用的物质为目的基因的表达产物，因
171 此，在方法可行的情况，需要检测表达产物。

172 采样时间点的选择应足以反映 AAV 载体产品随时间发
173 生改变的特征，至少包括在靶组织和非靶组织的峰值和稳态
174 阶段，并考虑评估长期持续性。

175 应在每个预设采样时间点评价每种性别（如适用）适当

176 数量的动物，以产生足够的数据来支持全面的生物分布评价。
177 一般情况下，建议每个性别/组/时间点至少评估 5 只啮齿类
178 动物或 3 只非啮齿类动物。应提供动物数量的科学依据。

179 生物分布研究的检测方法应经过方法学验证。

180 AAV 载体产品生物分布研究的组织应该至少包括给药
181 部位、血液、脑、脊髓（颈、胸、腰椎）、生殖系统、淋巴系
182 统、肾上腺、心脏、肾脏、肝脏、肺脏、脾脏。另外，需要
183 根据产品特征增加特定的组织器官，例如：AAV 载体的组织
184 趋向性、目的基因的表达产物可能发挥作用的组织，根据给
185 药途径和同类品种信息所提示的潜在毒性靶器官增加其他
186 相关的组织，包括引流淋巴结（如中枢神经系统给药的颈部
187 淋巴结）、给药部位附近的组织（如鞘内注射的脊神经根和脑
188 脊液）、外周神经、视神经等。

189 此外，免疫原性可能对生物分布产生影响，因此，在生
190 物分布研究时，建议采集样本以备必要时进行免疫原性检测，
191 以支持对生物分布数据的解释。

192 2. 脱落

193 脱落是指 AAV 载体通过排泄物（尿液、粪便）、分泌物
194 （唾液等）或其他方式排出体外。应开展 AAV 载体产品的脱
195 落研究。脱落研究可整合至生物分布研究或其他非临床研究
196 中。

197 （三）非临床安全性研究

198 在制定非临床安全性研究策略时，应根据 AAV 载体产
199 品本身的特点以及每个产品的特点，按照基于风险的原则具
200 体问题具体分析，总体目的是充分提示产品潜在的安全性风
201 险。

202 1. 安全药理学

203 在首次临床试验前，应采用合适的动物种属开展 AAV 载
204 体产品的安全药理学试验，一般包括中枢神经系统、心血管
205 系统、呼吸系统安全药理学试验。这些试验可整合在一般毒
206 理学试验中进行，若整合进行，需满足安全药理学评价要求，
207 同时检测时间点应符合 AAV 载体产品的特点。若无法进行
208 或不进行，应提供充分的理由。在必要时，可能需要开展补
209 充和追加的安全药理学试验。

210 对于脑内给药的 AAV 载体产品，需重点关注对神经系
211 统功能的影响，结合药物在脑内不同区域的分布及存续特征，
212 分析对具体神经功能影响的可能性，可单独开展试验评价，
213 也可结合在药效学试验或毒理学试验中设置相应的检测指
214 标。

215 2. 一般毒理学

216 一般毒理学试验主要用于评价 AAV 载体产品的全身毒
217 性和局部毒性、急性毒性和长期毒性或延迟毒性、剂量和效
218 应关系等。应基于 AAV 载体产品的生物学特性、可能的风险
219 因素和安全性担忧，采用基于风险、科学导向的灵活设计方

220 案。

221 2.1 动物种属选择

222 关于毒理学试验动物种属的选择，应基于动物种属的药
223 理学相关性、相关动物种属/模型的可获得性等因素综合考虑，
224 总体目标是尽可能最大程度地阐明 AAV 载体产品的安全性
225 特征，为人体安全性提供有价值的预测信息。在可行的情况
226 下，应获得两种相关动物种属（通常包括啮齿类动物和非啮
227 齿类动物）的非临床安全性信息。若仅采用一种相关动物，
228 应提供科学合理的依据。动物种属选择的考虑因素参考本指
229 导原则“二、总体考虑”项下“2.动物种属/模型选择”的建
230 议。

231 通常采用雌雄两种性别动物进行试验。若采用单性别进
232 行试验，应提供合理性依据。

233 2.2 分组和剂量设计

234 通常情况下，一般毒理学试验中的给药剂量应包括多个
235 剂量。合适的剂量间距，有助于评估毒性反应-剂量关系的陡
236 峭程度和 I 期临床剂量递增方案的设计。低剂量一般对应于
237 预期的有效剂量。高剂量一般为了产生毒性反应或提供足够
238 的安全窗，高剂量的设置可能会受到动物模型、给药部位容
239 量/大小、给药途径和制剂最高浓度等限制，可选择最大可行
240 剂量作为高剂量。

241 需结合处方组成和生产工艺，设置合适的对照组（例如

242 溶媒、辅料、空载体、含有非功能基因的载体等对照组), 以
243 帮助确定试验中发现的不良结果是否与受试物相关。当使用
244 疾病动物模型作为实验系统时, 应考虑设计模型对照组。

245 2.3 给药方案和观察期限

246 试验中的给药方案应最大程度地模拟临床拟用给药方
247 案, 给药途径应能反映临床使用情况。

248 毒理学试验的给药次数一般基于拟定的临床给药次数
249 而设计。AAV 载体产品临床上通常为单次给药, 在体内长期
250 存续发挥作用, 因此, 一般毒理学试验通常采用单次给药,
251 根据产品的作用特点(如载体在体内存续时间、目的基因及
252 其表达产物表达的相关信息等), 确定总观察期限。需阐述观
253 察期限设计的合理性。通常一般毒理学试验的总观察期限不
254 短于 6 个月, 更长的观察期限更有利于观察长期毒性或延迟
255 毒性(注释 1)。

256 一般毒理学试验应包括多个解剖时间点(注释 2), 以评
257 估可能的急性毒性及其恢复情况、长期存续导致的长期毒性
258 或延迟毒性, 并评价产品发挥作用的持续性, 以及剂量/暴露
259 量与毒性反应、生物分布与毒性反应的关系。

260 2.4 检测指标

261 除一般毒理学试验的常规观察指标外, 需结合 AAV 载
262 体产品特性, 增加合适的观察指标, 如免疫原性、免疫毒性、
263 脑内给药的神经毒性、眼内给药的眼毒性, 以及基于同类品

264 种发现的值得关注的的安全性信号，在一般毒理学试验中设置
265 特异性的毒性检测指标，并采用敏感的检测方法。应设置合
266 适的时间点以能敏感地检测到对相关指标的影响。

267 在一般毒理学试验中需伴随进行毒代研究，考察 AAV 载
268 体产品中载体和目的基因在体内的转录/翻译、分布、存续情
269 况，为毒性试验的结果解释提供支持性数据（必要时设置卫
270 星组），还可伴随开展脱落研究。

271 3. 免疫原性

272 影响药物免疫原性的因素复杂，对于 AAV 载体产品，机
273 体可能存在对于野生型 AAV 的免疫记忆、AAV 载体诱导的
274 先天性免疫和适应性免疫、基因转导或基因编辑产物诱导的
275 免疫反应，因此，AAV 载体产品更容易引起免疫原性，应采
276 用合适的方法开展免疫原性研究，包括对 AAV 载体和表达
277 产物的免疫原性。

278 4. 遗传毒性

279 通常标准的遗传毒性组合试验不适用于 AAV 载体产品
280 的遗传毒性评价。

281 通常认为野生型 AAV 不会主动整合至宿主基因组中，
282 但是与野生型 AAV 相比，AAV 载体产品的基因组整合特性
283 可能会发生改变。若 AAV 载体产品整合至宿主基因组中，可
284 能会导致宿主遗传物质改变和后续不良生物学效应。因此，
285 应进行基因组整合分析，当存在整合至宿主基因组中的可能

286 性时，需分析基因组整合位点，评估对宿主细胞基因组完整
287 性的影响，以及是否带来安全性风险。

288 5. 致癌性

289 标准的啮齿类动物致癌性试验一般不适用于评价 AAV
290 载体产品。可采用证据权重（Weight of Evidence, WoE）方
291 法来评估致癌性风险，必要时进行致癌性研究。WoE 评估因
292 素一般包括但不限于：（1）导入的目的基因和药理作用通路
293 与肿瘤发生发展的相关性；（2）潜在的基因组整合风险；（3）
294 一般毒理学试验中癌前病变或肿瘤发生相关的组织病理学
295 发现；（4）生产体系中可能存在的潜在致癌成分；（5）其他
296 可能与人体内肿瘤发生相关的因素。

297 6. 生殖毒性

298 AAV 载体产品应根据产品特性、作用机制、临床适应症
299 和拟用人群、一般毒理学试验中的发现、生物分布和脱落特
300 征等信息评估潜在的生殖和发育毒性风险。生殖毒性试验的
301 研究策略和风险评估可参考相关指导原则。

302 AAV 载体产品需关注生殖系传递风险。当 AAV 载体产
303 品在生殖系统持续存在时，需要进一步研究确定其在生殖细
304 胞（例如卵母细胞、精子）的暴露水平。

305 7. 制剂安全性

306 应根据 AAV 载体产品的特点和临床应用情况考虑开展
307 终产品制剂的刺激性、溶血性试验。

308 8. 其他

309 应基于产品特性及风险，考虑开展必要的其他试验。

310 四、注释

311 注释 1: AAV 载体产品一般毒理学试验的观察期限如何
312 设置，尚需不断积累经验。基于产品设计原理，此类产品通
313 常在体内长期存续发挥作用，一般毒理学试验需要考察长期
314 毒性或延迟毒性，因此，建议根据产品的作用特点（如载体
315 在体内存续时间、目的基因及其表达产物表达的相关信息
316 等），确定总观察期限。基于当前认知，建议一般毒理学试验
317 的总观察期限不短于 6 个月，但是在可行的情况下或者是为
318 了考察特殊的毒性特征，更长的观察期限更有利于观察长期
319 毒性或延迟毒性。

320 另外，基于同类产品的毒理学信息或受试物前期已有的
321 毒理学试验结果提示具有特殊的毒性风险，而需要考察受试
322 物的该毒性风险是否进展或是否能逐渐恢复时，需考虑进行
323 更长期限的观察。

324 注释 2: 关于 AAV 载体产品一般毒理学试验的解剖时
325 间点的设计，考虑到该类产品通常在体内长期存续发挥作用，
326 需要通过多个解剖时间点来考察药物引起的毒性反应特征
327 （例如急性毒性、长期毒性或延迟毒性、毒性可逆性等），但
328 是，在一项试验中不一定需要或能够包括所有解剖时间点，
329 可以在不同观察期限试验中涵盖这些时间点。

330 对其具体时间点的设置，尚需不断积累经验。通常应根据
331 据 AAV 载体及其表达产物的生物分布特征，选取解剖时间
332 点，例如包括导入目的基因及其表达产物峰值时间点、稳态
333 时间点，更长观察期限的一般毒理学试验中还应包括评估长
334 期持续性及长期毒性或延迟毒性的时间点。

335 此外，某些情况下，药物在组织或器官的暴露量高低与
336 导致该组织或器官出现明显毒性反应的时间点可能不一致，
337 因此需基于所要考察的预期毒性反应的特点设置合适的解
338 剖时间点。

339 五、参考文献

340 [1] NMPA. 基因治疗产品非临床研究与评价技术指导原则(试
341 行). 2021.

342 [2] NMPA. 重组腺相关病毒载体类体内基因治疗产品临床试
343 验申请药学研究与评价技术指导原则. 2024.

344 [3] FDA. Preclinical assessment of investigational cellular and
345 gene therapy products. 2013.

346 [4] FDA. Design and analysis of shedding studies for virus or
347 bacteria-Based gene therapy and oncolytic products. 2015.

348 [5] FDA. Recommendations for microbial vectors used for gene
349 therapy. 2016.

350 [6] EMA. Guideline on non-clinical testing inadvertent germline
351 transmission gene transfer vectors. 2007.

352 [7] EMA. Guideline on the quality, non-clinical and clinical

353 aspects of gene therapy medicinal products. 2018.

354 [8] ICH S12: Nonclinical biodistribution considerations for gene
355 therapy products.2023.

356 [9] ICH S11: Nonclinical safety testing in support of development
357 of paediatric medicines.2020.