

【 审评规范 】

《罕见病酶替代疗法药物非临床研究指导原则》解读

尹华静, 刘小聪, 戎 恂, 黄芳华*

国家药品监督管理局 药品审评中心, 北京 100076

摘 要: 为科学指导和规范用于罕见病的酶替代疗法 (ERT) 药物的非临床研究与评价, 促进罕见病治疗药物的研发, 中国于 2024 年 2 月 23 日发布了《罕见病酶替代疗法药物非临床研究指导原则》, 对该指导原则进行全面解读, 包括起草背景、起草过程及思路和相关内容, 并结合具体案例重点阐述罕见病 ERT 药物非临床药效学、药动学和毒理学研究的关注要点, 旨在为该类药物的研发提供参考。

关键词: 罕见病; 酶替代疗法; 非临床评价; 指导原则; 非临床研究

中图分类号: R95 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2025)12-3417-11

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2025.12.001

Interpretation of Guidance on Nonclinical Evaluation of Enzyme Replacement Therapy Products for Rare Diseases

YIN Huajing, LIU Xiaocong, RONG Yi, HUANG Fanghua

Center for Drug Evaluation, National Medical Products Administration, Beijing 100076, China

Abstract: To provide scientific guidance and standardize the nonclinical investigation and evaluation of enzyme replacement therapy (ERT) products intended for rare diseases and foster the development of products for rare diseases, China issued *Guidance on Nonclinical Evaluation of Enzyme Replacement Therapy Products for Rare Diseases* on 23 February, 2024. This article presents a comprehensive interpretation of the guidance, covering the drafting background, idea and related content. It highlights the pivotal scientific considerations for the nonclinical pharmacodynamics, pharmacokinetics and toxicology research evaluation of ERT products drawing on concrete case studies, combined with some cases, aiming to provide reference for drug researchers.

Key words: rare diseases; enzyme replacement therapy; nonclinical evaluation; guidance principle; nonclinical research

酶替代疗法 (ERT) 是指通过外源性补充机体缺失或有缺陷的功能性酶治疗遗传性酶缺陷疾病的一种治疗手段。ERT 的概念最早由 Christian de Duve 提出^[1], 自 20 世纪 90 年代首个 ERT 药物获批以来, 该领域经历了显著的技术革新与适应证拓展, 尤其在近 10 年间, 随着基因工程、药物递送技术和临床研究中所用手段和技术的突破, ERT 在罕见病治疗中发挥出更重要的作用。ERT 药物主要用于治疗由遗传性基因缺陷引起的酶或酶功能缺陷所导致的先天性代谢异常疾病, 目标疾病一般为罕见病, 通常为危及生命或严重疾病, 且临床需求远未满足, 因此, 对于用于罕见病的 ERT 药物的非临床研究和评价策略不能简单照搬一般的生物制品

的要求。为科学指导和规范用于罕见病的 ERT 药物的非临床研究与评价, 促进罕见病治疗药物的研发, 结合国外相关技术要求, 国家药品监督管理局药品审评中心 (简称药审中心) 组织起草并于 2024 年 2 月 23 日正式发布《罕见病酶替代疗法药物非临床研究指导原则》^[2]。本文结合该指导原则的起草修订过程中重点讨论问题、具体案例等对指导原则全面解读, 以期该类药物的研发提供参考。

1 起草背景

罕见病是指发病率/患病率极低的一组疾病统称。发病率/患病率低是罕见疾病的重要特征, 但由于中国人口基数庞大, 某些罕见病患者的绝对数量并不少, 且罕见病种类多样, 目前全球估计有 7 000

收稿日期: 2025-10-28

作者简介: 尹华静, 女, 博士, 研究方向为药物非临床评价。E-mail: yinhj@cde.org.cn

*通信作者: 黄芳华, 女, 博士, 主任药师, 从事药物非临床评价研究。E-mail: huangfh@cde.org.cn

余种,大多数罕见病会严重影响患者的生活质量,部分罕见病甚至危及生命,这对社会、经济、医疗等多方面均存在不容忽视的影响,是重要的公共健康问题之一。当前大多数罕见病尚缺乏有效的治疗药物,罕见病患者的治疗需求远未满足。另一方面,由于罕见病发病率极低,可获得的临床研究资源有限;罕见病治疗药物的市场有限,研发者经济获益较低;一些罕见病的病情复杂,目前对其认识相对有限;这些使得罕见病药物研发面临的困难远远超过常见疾病。因此,罕见病药物的非临床研究和评价不能简单照搬生物制品的一般要求,特别是用于治疗危及生命或严重的罕见病的药物,需要密切结合疾病特征和临床需求,在确保有效性和安全性的前提下,采用更为灵活的研发和评价策略。ICH M3 (R2)《支持药物进行临床试验和上市的非临床安全性研究指导原则》中指出对药物拟开发适应证为危及生命或严重疾病(如先天性酶缺乏疾病),且目前尚无有效治疗手段时,为优化和加快药物开发,对其毒理学评价可采取具体情况具体分析的方法,某些试验可以简化、推迟、免做或增加^[3]。

在罕见病中,由遗传性基因缺陷导致的罕见先天性代谢异常疾病种类多样(存在 70 多种),这些

疾病通常在生命早期发病,不同疾病之间甚至同一疾病不同个体间的自然史不同。对于某种特定疾病,可能存在多种分型,可以短时间内快速发展而导致早期死亡或不可逆重症疾病,也可以缓慢发展直至成年,往往最终死于致命性并发症;但是目前能用于临床的药物有限,治疗需求远未满足^[4]。经前期文献调研及梳理近几年罕见病药物获批情况发现,ERT 药物长期以来一直是治疗罕见先天性代谢异常疾病的标准疗法^[5],因 ERT 安全性风险相对较低,且随着基因工程、药物递送技术和临床研究中所用手段和技术的突破,使得 ERT 药物成为目前业界研发的热点之一。截止 2025 年 4 月,全球已批准近 30 个 ERT 药物上市(表 1),适应证主要是溶酶体贮积病(LSD),还涉及部分其他适应证,目前中国仅批准一些 ERT 药物的进口注册,尚无国内企业自主研发的 ERT 药物获批上市。此外,美国食品药品监督管理局(FDA)发布了多项指导原则用于指导 ERT 药物研发,而国内尚无任何相关指导原则可参考,因此将该指导原则列入药审中心指导原则工作计划,以期为该类药物的非临床试验设计及评价提供一般性技术指导和参考,促进国内 ERT 药物的研发。

表 1 国内外已上市 ERT 罕见病治疗药物^[5-6]

Table 1 Marketed ERT drugs for rare diseases in domestic and international^[5-6]

疾病类型	缺乏的酶	活性成分	商品名称	给药途径	适应证	批准情况
LSD 法布雷病 (Fabry disease)	α 半乳糖苷酶 A	agalsidase β	Fabrazyme (法布赞)	iv	2 岁及以上儿童和成人的法布雷病	EMA (2001) /FDA (2003) / NMPA (2019)
		agalsidase α	Replagal (瑞普加)	iv	法布雷病	EMA (2001) /NMPA (2020)
		pegunigalsidase α	Elfabrio	iv	成人法布雷病	EMA (2023) /FDA (2023)
戈谢病 (Gaucher disease)	β 葡萄糖脑苷脂酶	alglucerase	Ceredase	iv	—	FDA (1991 已退市)
		imiglucerase	Cerezyme (思而赞)	iv	儿童和成人患者的 I 型戈谢病	FDA (1994) /EMA (1997) / NMPA (2008)
		velaglucerase α	Vpriv (维葡瑞)	iv	I 型戈谢病	FDA (2010) /EMA (2010) / NMPA (2021)
		taliglucerase α	Elelyso	iv	4 岁及以上儿童和成人的 I 型戈谢病	FDA (2012) /EMA (2012)
		维拉苷酶 β	戈芮宁	iv	12 岁及以上青少年和成人 I 型(慢性非神经病变型)和 III 型(慢性神经病变型)戈谢病的长期酶替代治疗	NMPA (2025)

表 1 (续)

疾病类型	缺乏的酶	活性成分	商品名称	给药途径	适应证	批准情况
LSD 庞贝病 (Pompe Disease)	酸性 α -葡萄糖苷酶(GAA)	alglucosidase α	Myozyme (美而赞)	iv	庞贝病	FDA (2006) /EMA (2006) / NMPA (2015)
庞贝病		alglucosidase α	Lumizyme [®]	iv	庞贝病	FDA (2010) /EMA (2010)
庞贝病		avalglucosidase α -ngpt	Nexviazyme (耐而赞)	iv	1 岁及以上患者的晚发型庞贝病	FDA (2021) /EMA (2022) / NMPA (2023)
1 岁及以上患有晚发型庞贝病		cipaglusidase α	Pombiliti	iv	与 Miglust 联合用于治疗对现有 ERT 无效的体质量超过 40 kg 的成人晚发型庞贝病	FDA (2023) /EMA (2023)
α -甘露糖苷贮积症	α -甘露糖苷酶	velmanase tycv	α - Lamzede	iv	成人及儿童 α 甘露糖苷贮积症的非中枢神经系统表现	EMA (2018) /FDA (2023)
神经元类脂褐质沉着症 II 型 (CLN2)	三肽基肽酶 (TPP1)	I cerliponase α	Brineura	icv	减缓 CLN2 病儿科患者的行走能力丧失	FDA (2017) /EMA (2017)
沃尔曼病 (Wolman disease)	溶酶体酸性脂肪酶 (LAL)	sebelipase α	Kanuma	iv	LAL 缺乏症	FDA (2015) /EMA (2015)
酸性鞘磷脂酶缺乏症 (ASMD) /尼曼-皮克病 (NPD)	酸性鞘磷脂酶 (ASM)	olipudase α -rpcp	Xenpozyme	iv	儿童和成人 ASMD 患者的非中枢神经表现	FDA (2022) /EMA (2022)
黏多糖贮积症 MPS I	α -L-艾杜糖苷酸酶 (IDUA)	laronidase	Aldurazyme (艾而赞)	iv	MPSI 成人和儿童患者的 Hurler- 和 Hurler-Scheie 型以及中度至重度 Scheie 型	FDA (2003) /EMA (2003) / NMPA (2020)
MPS II	艾杜糖醛酸-2-硫酸酯酶 (IDS)	idursulfase β	Elaprased (海芮思)	iv	Hunter 综合征 (MPSII)	FDA (2006) /EMA (2007)
MPS IV	N-乙酰半乳糖胺-6-硫酸酯酶 (GALNS)	elosulfase α	Vimizim (唯铭赞)	iv	莫基奥综合征 A 型 (MPSIVA)	FDA (2014) /EMA (2014) / NMPA (2019)
MPS VI	N-乙酰半乳糖胺-4-硫酸酯酶 (ASB)	galsulfase	Naglazyme	iv	Maroteaux-Lamy 综合征 (MPSVI)	FDA (2005) /EMA (2006)
MPS VII	β -葡萄糖醛酸酶	vestronidase α -vjbk	Mepsevii	iv	Sly 综合征 (MPSVII)	FDA (2017) /EMA (2018)

表 1 (续)

疾病类型	缺乏的酶	活性成分	商品名称	给药途径	适应证	批准情况
非 LSD 先天性蔗糖酶-异麦芽糖酶缺乏症 (CSID)	蔗糖酶-异麦芽糖酶	sacrosidase	Sucraid	po	5 个月及以上儿童和成人患者的蔗糖酶缺乏症	FDA (1998)
低碱性磷酸酯酶症 (HPP)	组织非特异性碱性磷酸酶 (TNSALP)	asfotase α	Strensiq	sc	围产期/婴儿期和青少年期发病的 HPP	FDA (2015) /EMA (2015)
苯丙酮酸尿症 (PKU)	苯丙氨酸羟化酶 (PAH)	pegvaliase	Palynziq	sc	降低成人 PKU 患者血液苯丙氨酸水平	FDA (2018) /EMA (2019)
先天性血栓性血小板减少性紫癜 (cTTP)	ADAMTS13 酶	apadamtase α	Adzynma	iv	预防和按需治疗成人和儿童 cTTP	FDA (2023)
腺苷脱氨酶重症联合免疫缺陷病 (ADA-SCID)	腺苷脱氨酶 (ADA)	pegademase bovine	Adagen	im	ADA-SCID	FDA (1990 已退市)
		elapegademase-lvlr	Revcovi	im	儿童和成人 ADA-SCID	FDA (2018)
严重先天性蛋白 C 缺乏症	蛋白 C	protein C	Ceprotrin	iv	用于预防和治疗严重先天性 Protein C 缺乏患者的静脉血栓形成和紫癜性暴发	FDA (2007)
α 1-抗胰蛋白酶缺乏症 (AATD)	α 1-抗胰蛋白酶 (AAT)	α 1-proteinase inhibitor	Prolastin-CLiquid	iv	成人与 AATD 相关的肺气肿	FDA (1987)

仅总结美国、欧盟和中国上市情况; &-Myozyme 和 Lumizyme 均为 GENZYME 研发的重组人酸性 α -葡萄糖苷酶, 生产工艺不同。

Only summarize the marketing authorization status in the United States, European Union, and China; &-Myozyme and Lumizyme are both recombinant human acid alpha-glucosidase developed by GENZYME, with different production processes.

2 起草过程及思路

本指导原则于 2022 年 6 月立项, 为了确保指导原则起草过程的规范性和技术要求的科学性, 药审中心在广泛调研了国内外相关指导原则及文献资料后, 于 2023 年 3 月召开开题会议, 确定指导原则定位及目标, 形成起草大纲; 在经多次指导原则核心工作组会议形成正式初稿后, 组织国内研究机构、学界业界专家召开初稿专家研讨会, 就针对此类药物非临床研究设计和评价的关键点及文件中存在的问题进行讨论, 形成征求意见稿, 于 2023 年 9 月 20 日上网征求意见。药审中心在对各条反馈意见进行逐一进行研读梳理、经定稿专家研讨会讨论, 并进行进一步修改和完善后, 形成终稿, 于 2024 年 2 月 23 日正式发布《罕见病酶替代疗法药

物非临床研究指导原则》。

由于国内全新罕见病 ERT 药物研发及评价经验均有限, 本指导原则主要参考国外发布的相关指导原则, 包括美国 FDA 发布的《酶替代治疗药物非临床评价指导原则》^[7]、《罕见病药物开发中的常见问题》^[8]等, 基于罕见病及其药物研发特征和已上市 ERT 药物的具体研究情况起草, 阐述罕见病 ERT 药物特有的非临床研究要求。需要关注的是, 本指导原则仅适用于治疗罕见病的 ERT 药物。目前我国尚无明确的罕见病定义, 本指导原则中的罕见病系指国家卫生健康委、科技部、工业和信息化部、国家药品监督管理局和国家中医药管理局 5 部门联合印发的《罕见病目录》中的疾病以及尚未纳入《罕见病目录》但发病率极低的疾病。此外, 本指导原

则中的 ERT 药物是指活性酶蛋白制剂,在体内表达产生相应酶的 mRNA 及基因治疗等产品不在该指导原则范围内。

3 ERT 药物非临床研究的关注点

3.1 总体考虑

ERT 药物属于大分子生物制品,非临床研究的一般要求可参考 ICH M3 (R2) 及其问答,和 ICH S6 (R1)《生物制品的临床前安全性评价》等。对于罕见病 ERT 药物,特别是治疗危及生命或严重疾病的药物,在确保有效性和安全性的前提下,可最大限度地灵活实施适用的相关法规和技术要求,如简化、推迟或豁免某些试验。另外,在疾病动物模型中进行药效学试验时纳入安全性指标,进行整合式设计,可以观察在正常动物中无法观察到的与药理作用相关的毒性,并减少动物使用,提高研发效率。

ERT 药物的临床适应证多样,疾病自然史及酶产品类型各异,其非临床研究项目设计需要具体问题具体分析。确定非临床研究灵活性策略的评估因素包括受试物的药理和结构特征、拟定临床试验的设计和目標、人体预期风险、已积累的非临床和临床数据等。

应考虑以下可能会影响启动临床试验所需的非临床研究的内容、实施时间和给药期限的因素:(1)拟定适应证和受试人群,例如试验纳入成人还是儿童,以及在该人群中疾病进展至死亡或不可逆重症疾病的速度;(2)药效学数据,包括可提示儿科患者首次临床试验潜在直接获益的已知疾病特异性生物标志物的变化;(3)可获得的受试物相关的非临床或临床安全性和药理学信息;(4)可获得的受试物拟定临床给药装置、给药程序或与其相关的安全性信息;(5)合适动物种属和模型(正常动物或酶缺陷动物)的可及性,用于检测受试物与目标患者人群相关疾病的病理生理学预期生物学反应。

3.2 受试物

非临床研究中所用受试物要求与一般的生物制品相同,应能够代表临床拟用样品。应根据前期制定的标准,对非临床安全性研究中的受试物进行质量表征,并在注册申报时阐述非临床研究所用原料药和制剂与临床试验拟用样品之间的相似性和差异。当受试物发生重大药学变更时,需评估是否需要开展非临床桥接研究或重新开展非临床研究。

Myozyme (Alglucosidase alfa, 中文商品名美而赞) 和 Lumizyme (Alglucosidase alfa) 均为

GENZYME 公司研发的重组人酸性 α -葡萄糖苷酶,分别于 2006、2010 年首次在美国获批上市用于治疗庞贝病。两者均采用重组 DNA 技术在中国仓鼠卵巢细胞 (CHO) 中生产,区别在于规模不同,Myozyme 采用 160 L 生物反应器,Lumizyme 用 2 000 L 生物反应器。由于反应器规模不同,Lumizyme 在生化特性上与 Myozyme 存在差异。申请人在引用 Myozyme 的非临床研究资料的基础上,提供了 Lumizyme 的药效学、药动学以及 1 项小鼠 4 周重复给药毒性试验资料以支持 Lumizyme 开展临床试验^[9]。

3.3 药效学

ERT 药物需开展非临床药效学研究,包括体外和体内药效学试验,为开展临床试验提供可行性和有效性的支持性证据。尤其是该类药物的大部分受试人群为儿科患者,非临床药效学数据将为是否支持直接开展儿科患者临床试验的风险-获益评估提供关键性依据。

3.3.1 体外药效学 应采用体外方法评价受试物的生物活性,以确定受试物与其治疗目的相关的生物学效应,如体外酶活性、细胞摄取试验等。例如,2023 年 5 月在美国和欧盟获批上市用于治疗法布雷病的 ERT 药物 pegunigalsidase alfa-iwxj (商品名 Elfabrio),一种在植物细胞培养物表达并通过化学修饰稳定的重组人 α -半乳糖苷酶 A,可被细胞摄取并定位于溶酶体,催化底物三己糖酰神经酰胺 (Gb3) 的水解,降低法布雷病患者体内积累的 Gb3,从而缓解器官损伤。目前用于法布雷病的前药 ERT 药物包括上市的注射用阿加糖酶 β (Eplagal agalsidase beta, 商品名 Fabrazyme/法布赞) 和阿加糖酶 α 注射用浓溶液 (agalsidase alfa, 商品名 Replagal/瑞普佳)。Elfabrio 采用植物细胞表达系统,优化了酶稳定性和免疫原性,使给药频率由 Fabrazyme 和 Replagal 的每周 1 次降低至每 2 周 1 次。体外试验结果显示,Elfabrio 对合成底物对硝基苯- α -D-吡喃半乳糖苷的水解活性与 Fabrazyme 和 Replagal 相当,但在血浆 (pH 7, 37 °C) 和溶酶体环境 (pH 4.6, 37 °C) 中的稳定性均优于后两者^[10],以上验证了其治疗目的相关的生物学效应,并初步提示 Elfabrio 在体内稳定性方面存在一定优势。

3.3.2 体内药效学 临床试验前一般应采用合适的动物模型进行体内药效学研究,所选择的疾病动物模型应最大程度上模拟人类疾病的临床表现和

完整病程,酶催化代谢途径和关键中间成分(如配体、同源受体及关键酶结构域)应与人类相似,且失活基因及其生物学功能均应与人类基因一致。常用动物模型有基因敲除、转基因或自然发病动物模型等,申报时需提供所采用的疾病动物模型适用于目标适应证的合理性依据。

对于某些罕见病,可能没有疾病动物模型或现有疾病动物模型不能表现出疾病的某些重要临床症状,在这种情况下,仍鼓励开发相关动物模型用于该类药物的非临床有效性评价。但应全面理解疾病动物模型与人类的生物相关性及其局限性,必要时采用相关体外模型数据作为支持性信息。

酸性鞘磷脂酶缺乏症(ASMD)是一种溶酶体贮积症,其发病原因是鞘磷脂磷酸二酯酶 1 基因的致病性变异导致酸性鞘磷脂酶(ASM)活性降低。ASM 能将鞘磷脂(SPM)分解为神经酰胺和磷酸胆碱,ASM 的缺乏导致 SPM(以及胆固醇和其他细胞膜脂质)在各种组织内的溶酶体内部积聚导致疾病发生。ASM 基因敲除(ASMKO)小鼠模型是一种可用于 ASMD 研究的动物模型,该品系小鼠纯合敲除 ASM 编码区,导致 ASM 酶活性完全缺失,并出现与人类 ASMD 相似的 SPM 蓄积,出生后约 8 周龄开始出现共济失调和轻微震颤表型,4 月龄前出现严重共济失调,通常在 6~8 月龄死亡,与人类常见表型不同的是,ASMKO 小鼠不出现脏器肿大,不能完全复制人类疾病特征^[11]。Xenpozyme(Olipudase alfa-rpcp)是一种重组人酸性鞘磷脂酶,于 2022 年在美国和欧盟上市,为全球首个且唯一获批用于治疗 ASMD 的 ERT 药物。Xenpozyme 的非临床研究中,采用 ASMKO 小鼠模型进行体内药效学评价,可见剂量和给药时间相关的肝脏、肾脏和脾脏中的 SPM 蓄积减少,试验中未能评价 Xenpozyme 对脏器肿大的影响;同时由于模型动物预期寿命较长,Xenpozyme 给药 13~17 周提高生存率的作用不明显,而且未评价对 SPM 蓄积导致模型动物肺功能恶化的作用,美国 FDA 审评认为非临床研究数据表明 Xenpozyme 可减轻 ASMD 的某些病理改变,但鉴于上述局限,尚不能独立作为 Xenpozyme 对 ASMD 有效的确证性证据^[11]。Vimizim(Elosulfase alpha,中文商品名维莫非尼)是一种重组人 N-乙酰半乳糖胺-6-硫酸酯酶(GALNS),用于治疗黏多糖贮积症 IVA 型(MPSIVA),于 2014 年首先在美国获批上市,2019

年进口中国。MPSIVA 是由于 GALNS 基因突变引起 GALNS 活性缺失,从而使硫酸角质素(KS)与软骨素-6-硫酸酯(C6S)无法降解而在多脏器溶酶体贮积所致。MPSIVA 由于缺乏相关的疾病动物模型,研究者采用来自 MPSIVA 患者的原代人软骨细胞评估 Vimizim 的体外药理活性,结果显示,Vimizim 可被细胞摄取并转运至溶酶体,恢复基因表达和酶活性,在不影响胞外 KS 的情况下可清除溶酶体贮积部位的 KS,提供了一定的非临床有效性支持性证据^[12]。

体内药效学试验的检测指标包括但不限于:组织中底物的水平、与酶缺陷相关的组织病理学变化、疾病表现(如对生存率的影响)。建议在动物模型试验中探索疾病特异性生物标志物,从而为临床试验中人类疾病活动的药效学指标甚至替代终点的选择提供支持性信息。此外,疾病动物模型试验中应考虑进行药代动力学/药效动力学(PK/PD)研究,为临床给药剂量设计提供参考。若拟伴随药效学试验在疾病动物模型试验评价 ERT 药物的安全性,应在试验中纳入安全性指标。

3.4 药动学

对于 ERT 药物,应参考 ICH S6(R1)等指导原则的相关要求采用相关动物种属进行受试物的药动学研究,并需要根据产品具体特点评价 ERT 药物的实际暴露情况,并对非临床药理学和毒理学研究结果进行分析评价。

ERT 药物的组织分布研究有助于解释药理学、毒理学的发现,也为临床试验设计提供支持信息,尤其是对靶向递送至某个特定部位(例如大脑等)发挥作用的 ERT 药物。例如,用于黏多糖贮积症 II 型(MPSII,又名 Hunter 综合症)的 ERT 药物 Izcargo(Pabinafusp alfa)是一种重组艾度糖醛酸-2-硫酸酯酶(IDS),于 2021 年 3 月首先在日本获批上市,是全球首款获批能够穿越血脑屏障(BBB)的 ERT 药物。Izcargo 系采用 J-Brain Cargo®技术平台将 IDS 与靶向人类转铁蛋白受体(hTfR)的抗体进行融合,通过与血脑屏障内皮细胞上的转铁蛋白受体结合,利用受体介导的胞吞作用穿过 BBB,从而将药物有效递送至大脑,改善中枢神经系统症状。非临床试验中 Izcargo 可与转铁蛋白受体高亲和力结合,组织分布研究结果提示其能穿过 BBB 入脑发挥作用^[13]。

3.5 毒理学

3.5.1 药品非临床研究质量管理规范(GLP)依从性

ERT 药物的非临床安全性研究应当在经过 GLP 认证的机构开展,并遵守 GLP。对于伴随疾病动物模型试验开展的非临床安全性试验,可能难以完全遵守 GLP。例如,Brineura (Cerliponase alfa) 是一种重组三肽基肽酶 I (TPP1),可被中枢神经系统中的目标细胞摄取后通过阳离子非依赖的甘露糖-6-磷酸受体 (CI-MPR, 也称为 M6P/IGF2 受体) 转运至溶酶体发挥作用,于 2017 年首先在美国获批上市,临床脑室内注射用于减缓神经元类脂褐质沉着症 II 型 (CLN2) 病儿科患者的行走能力丧失。非临床研究中,采用自发 CLN2 疾病模型 TPP1 缺失的腊肠犬开展了 Brineura 的关键性重复给药毒性试验,鉴于 GLP 机构中无该动物模型以及所需的特殊专业技能,在非 GLP 条件下开展这些试验是可以接受的^[14]。但需要强调的是,在此种情况下,应最大限度地按 GLP 原则进行试验,确保试验质量和试验数据的可靠性和完整性。还应关注采用足够的动物数量以确保能充分评估安全性指标。试验报告中也需参照 GLP 要求总结所有偏离研究方案的情况以及其对试验完整性和结果的潜在影响。

3.5.2 安全药理学 在临床试验前应采用合适的动物种属评价受试物在治疗剂量范围内及以上剂量

下对生理功能潜在的非预期作用,一般包括对中枢神经系统、心血管系统、呼吸系统的影响。可以单独开展,也可以结合在其他试验中开展。例如,Kanuma (Sebelipase alfa) 开展了单独的大鼠中枢神经和呼吸系统安全药理学试验和食蟹猴心血管安全药理学试验^[15],Nexviazyme (Avalglucosidase alfa) 的安全药理学试验结合在食蟹猴 26 周重复给药毒性试验中开展^[16],Brineura 的安全药理学试验结合在药效学试验和一般毒理学试验中开展^[14]。若结合进行,需按照安全药理学试验的要求进行设计。根据产品特点,在必要时,可能需要补充和追加安全药理学研究。

3.5.3 一般毒理学试验 (1) 动物种属选择: ERT 药物一般毒理学试验相关动物种属选择时,在遵循生物制品一般原则基础上,需考虑以下因素: ①特定 ERT 药物的特征及临床适应证; ②与人天然酶的代谢途径和关键中间成分的相似性; ③分子属性的可比性,包括酶和介导 ERT 药物摄取的细胞表面受体的种属间同源性; ④天然酶和/或 ERT 药物在人和动物中分布的差异; ⑤临床拟用给药系统或程序的可行性。目前已上市 ERT 药物一般采用 2 种动物种属 (啮齿类和非啮齿类) 开展重复给药毒性试验。见表 2。

表 2 近 15 年上市的 ERT 药物一般毒理学试验动物种属选择
Table 2 Animal species selection for general toxicology testing of ERT drugs marketed in last 15 years

商品名	给药途径	啮齿类动物		非啮齿类动物		疾病动物模型	
		种类	给药周期	种类	给药周期	种类	给药周期
Elfabrio	iv	小鼠	6 个月	食蟹猴	6 个月	—	—
Vpriv	iv	大鼠	3 个月、6 个月	恒河猴	6 个月	—	—
Elelyso	iv	—	—	狨猴	4 周	—	—
				食蟹猴	4 周、39 周		
Nexviadyme (耐而赞)	iv	小鼠	4 周	食蟹猴	26 周	—	—
Pombiliti	iv	大鼠	26 周	食蟹猴	26 周	—	—
Lamzedo	iv	—	—	食蟹猴	13 周	MAN2B1 KO 小鼠	26 周
Brineura	icv	—	—	—	—	TPP1 缺失的腊肠犬	39 周
Kanuma	iv	大鼠	4 周	食蟹猴	4 周、26 周	—	—
Xenpozyme	iv	大鼠	26 周	食蟹猴	26 周	AMS KO 小鼠	13 周
Vimizim (唯铭赞)	iv	大鼠	26 周	幼龄食蟹猴	52 周	—	—
Mepsevii	iv	—	—	幼龄食蟹猴	26 周	—	—
Strensiq	sc	幼龄大鼠	26 周	幼龄食蟹猴	26 周	—	—
Palynziq	sc	大鼠	4 周、26 周	食蟹猴	4 周、39 周	—	—
Adzynma	iv	大鼠	5 天、30 天、26 周	食蟹猴	4 周	—	—
Revcovi	im	大鼠	4 周	犬	4 周	—	—

数据来自 FDA 公开的 drug review.
Data comes from the FDA's publicly available drug review.

传统的毒理学试验通常选用健康动物作为实验动物,对于支持 ERT 药物临床试验的毒理学试验,可考虑在疾病动物模型试验中纳入重要的安全性评价指标,包括组织病理学检查等,以评估受试物的潜在毒性。在疾病动物模型中进行毒性试验可能可以观察药物与疾病相互作用而引起的毒性,而此类毒性无法在健康动物中观察。例如,Brineura 非临床研究所用动物种属(小鼠、犬和食蟹猴)与人 TPP1 氨基酸序列同源性均超过 90%,CI-M6P 受体的同源性超过 80%,仅从 CI-M6P 受体和 TPP1 的序列同源性角度,小鼠(正常小鼠和 TPP1 敲除小鼠模型)、犬(正常犬和 TPP1 缺失腊肠犬)以及食蟹猴均是 Brineura 的相关动物种属。考虑到疾病模型更有助于评估药物的药理相关作用,采用 TPP1 缺失腊肠犬整合试验设计评价 Brineura 脑室内给药的一般毒性特征^[14]。

无论在健康动物还是疾病动物模型中开展的非临床安全性评价,均应确保能够全面识别、表征、量化潜在的全身和局部毒性、毒性的发生(急性或延迟)、产生毒性的剂量水平及毒性的可逆性。

(2) 试验动物:通常应采用 2 种性别的动物。所需动物数量取决于受试物的潜在风险、动物种属、动物模型以及给药系统。若采用疾病动物模型试验获得的安全性数据支持临床试验,应确保采用足够的动物数量以充分评估安全性指标。试验所用动物的年龄和发育状态应与临床试验受试人群相关。

(3) 对照组设计:应设置合适的对照组。对照组应为只给予制剂溶媒/辅料对照的年龄匹配的动物。ERT 药物易引起超敏反应,若试验中需联合抗过敏药物以控制 ERT 药物的超敏反应,对照组除应包括制剂溶媒/辅料对照组外,还应包括制剂溶媒/辅料对照加抗过敏药物组。例如,Xenpozyme 在非临床安全性研究中在给药前先 iv 给予盐酸苯海拉明以控制超敏反应,试验中同时设置了 0.9%氯化钠和盐酸苯海拉明对照组^[11]。如有特殊设计,申报资料中需阐明合理性依据。

(4) 给药方案:给药途径应尽可能模拟临床拟用给药途径。若给药装置会影响毒性试验结果,建议在关键毒性试验中尽可能采用临床试验拟用给药装置进行给药。若无法在动物模型中采用临床给药途径,可采用替代途径或方法,但应提供合理性依据。

应选择合适的给药剂量。体内药效学试验结果

可以指导非临床安全性评价剂量的选择。ICH M3(R2)及其问答文件为一般毒理学试验高剂量的选择提供了建议。一般在没有明显毒性的情况下,最高剂量下的暴露量应比拟定临床给药方案最高剂量下的预期暴露量高出数倍。非临床试验中的最高剂量可能会受限于动物大小、组织体积或大小、给药途径或受试物的生产规模。若设置特殊的给药剂量,需阐明剂量选择的合理性依据。给药方案应最大限度地反映预期临床暴露量。

(5) 给药期限:确定支持 ERT 药物首次人体临床试验的非临床研究的给药期限应考虑 2 个关键点:①先天性代谢异常导致的疾病通常需要长期治疗,首次人体临床试验预计一般是长期用药;②对于快速发展导致死亡或不可逆重症的疾病可能可以接受更大的不确定风险。因此,ERT 药物非临床研究的设计不仅应考虑支持首次人体临床试验中患者的长期用药,还需考虑临床试验入组患者的疾病分型。

对于某种特定疾病,可能存在多种分型,某些分型在短时间内快速发展导致早期死亡或不可逆重症疾病,某些分型则缓慢发展直至成年。①若临床试验入组标准限定的疾病分型为预计将在大约 1 年内疾病迅速发展为不可逆重症或者死亡,则 1 种啮齿类动物和 1 种非啮齿类动物 1 个月重复给药毒性试验可能足以支持开展临床试验;进行充分毒性评估的合适给药周期的疾病动物模型试验也可用于支持该类患者的临床试验。在提交上市申请前,一般需要 1 种动物种属 3 个月的重复给药毒性试验。若啮齿类动物与非啮齿类动物 1 个月重复给药毒性试验的毒性结果不相似,则可能需要 2 种动物种属的 3 个月重复给药毒性试验。3 个月的重复给药毒性试验可与首次人体临床试验同时进行。②若临床试验入组标准限定的疾病分型为缓慢进展型,首次人体临床试验前需提供 1 种啮齿类动物和 1 种非啮齿类动物至少 3 个月的重复给药毒性试验。这是因为,考虑到这类罕见病的慢性特征和未被满足的临床需求,首次人体临床试验可能会长期用药。③若拟开展短期用药(如少于 1 个月)的临床试验且具有合理性,参考 ICH M3 (R2),短期重复给药毒性试验可能是可以接受的。但应完成更长周期的重复给药毒性试验以支持长期用药的临床试验。

参考 FDA 发布的《酶替代治疗药物非临床评价指导原则》^[7],结合 ERT 药物的安全性特征,3

个月重复给药毒性试验一般足以支持 ERT 药物上市。若仍存在安全性担忧,可能需要进行更长周期的重复给药毒性试验。目前已上市 ERT 药物一般在至少 1 种相关动物种属中完成最长周期(至少 6 个月)的重复给药毒性试验(表 2)。

特殊情况下结合其他安全性信息,也可能可采用更短期限的重复给药毒性试验支持上市。例如, Revcovi (Elapegademase-lvlr) 是一种通过琥珀酰亚胺碳酸酯(SC)连接子将基于牛氨基酸序列的重组腺苷脱氨酶(rADA)与 mPEG 共价偶联,形成甲氧基聚乙二醇重组腺苷脱氨酶(SC-PEG-rADA),于 2018 年在美国上市,临床用于治疗儿童和成人患者的腺苷脱氨酶严重联合免疫缺陷病(ADA-SCID)。此前唯一获批用于治疗 ADA-SCID 的 ERT 药物是同一企业研发的 Adagen (Pegademase bovine),于 1990 年获得批准,目前已退市。基于 Adagen 25 年的成功临床史、Adagen 和 Revcovi 的结构和药理学相似性,以及 PEG-SC 接头已在其他 FDA 批准的生物制品中使用,非临床方面采用桥接思路,结合药动学对比试验数据,开展了大鼠和犬 4 周重复给药毒性试验^[17]。

(6) 检测指标: ERT 药物一般毒理学试验的检测指标与其他大分子药物相似,应为能暴露潜在毒性的安全性终点。评估的标准参数应包括死亡率(如有可能,确定死亡原因)、临床观察、体质量、摄食量、体温和心电图检测(非啮齿动物)、眼科检查、临床病理学(血液学、血生化、凝血指标、尿液分析)、免疫学指标(如必要)、脏器质量、大体解剖和组织病理学检查等,并伴随毒代指标检测。若开展幼龄动物毒性试验,需纳入发育终点。

ERT 药物一般在动物中具有免疫原性,试验中应检测抗药抗体(ADA)和/或中和抗体的产生情况,并评估免疫原性对 ERT 药物暴露量以及药物反应的影响,以帮助解释毒性试验结果。

3.5.4 生殖毒性试验 一般情况下,建议参考 ICH S5 (R3)《人用药物生殖与发育毒性检测》开展生殖毒性试验,具体实施时间可参考 ICH M3 (R2)。在某些情况下,如有充分理由,生殖毒性试验的时间安排和研究内容可灵活处理,特别是对危及生命或严重的疾病。基于拟用受试人群,可能会豁免某些试验或推迟到上市后开展。例如, Brineura 的目标儿科患者群体预计不会存活至生育年龄,故豁免了生殖毒性试验^[14]。Hunter 综合征(MPSII)为 X 染

色体遗传病,基本为男性患者,用于治疗 Hunter 综合征的 Elaprase 上市申请时仅开展了雄性动物 I 段生殖毒性试验,在上市后研究中补充开展了 III 段生殖毒性试验^[18-19]。2023 年 FDA 附条件批准 Elfabrio 用于成人法布雷病,上市前开展了 I 段和 II 段生殖毒性试验,III 段生殖毒性试验要求在上市后完成^[10]。

3.5.5 遗传毒性和致癌性试验 遗传毒性试验不适用于 ERT 药物。ERT 药物上市时通常不需要进行潜在致癌性评价。但是对于化学修饰的 ERT 药物(例如与化学连接子偶联的重组人酶产品)可能需要进行潜在遗传毒性和/或致癌性评估。Nexviazyme (Avalglucosidase alfa-ngpt) 系一种与多个合成的双甘露糖-6-磷酸(bis-M6P)四甘露糖聚糖结合的重组人 α -葡萄糖苷酶,具有化学修饰,其进行了致癌性风险评估,经评估认为其致癌性风险很小,因此未进行致癌性试验^[16]。

若某些酶水平的改变在作用机制上可能与致癌性相关,这种情况下,需考虑评估 ERT 药物的致癌性潜力。 α -甘露糖苷贮积症是一种由甘露糖苷酶 α 2B 类成员(MAN2B1)基因变异引起的 α -甘露糖苷酶活性降低引起。根据癌症体细胞突变目录,在许多肿瘤中观察到了 MAN2B1 的失调(突变和/或过度表达),包括肾上腺、乳腺、中枢神经系统、宫颈、子宫内膜、造血/淋巴系统、肾脏、肠道、肝脏、肺、食道、胰腺、甲状旁腺、前列腺、皮肤、胃、甲状腺和泌尿道肿瘤,文献报告 MAN2B1 的过表达也被确定为某些肿瘤的预后生物标志物。Lamzedo (Velmanase alfa-tycv) 系重组人溶酶体 α -甘露糖苷酶,于 2018、2023 年先后在欧盟、美国获批上市,用于 MAN2B1 基因突变导致的成人及儿童 α 甘露糖苷贮积症的非中枢神经系统表现。该品种上市时未开展遗传毒性或致癌性试验,大鼠 III 段生殖毒性试验中高剂量组 1 只动物可见卵巢恶性组织细胞瘤发生率升高,不能排除该肿瘤与 α -甘露糖苷酶水平升高之间的机制相关性。FDA 要求上市后评估 α -甘露糖苷酶暴露增加(以及 MAN2B1 表达增加)对肿瘤形成的潜在影响^[20]。

3.5.6 幼龄动物毒性试验 若 ERT 药物首次人体临床试验需入组儿科患者,在临床试验开始前应采用幼龄动物进行毒性试验,以提示可能对儿科患者发育中的器官系统(如中枢神经系统、生殖系统、免疫系统和骨骼系统)的潜在不良反应。Strensiq

(Asfotase alpha) 系一种重组人组织非特异性碱性磷酸酶, 用于治疗围产期/婴儿型和青少年期发作的 HPP, 非临床研究中直接采用幼龄大鼠和幼龄食蟹猴重复给药毒性试验支持其开展儿科人群临床试验^[21]。Nexviazyme 系一种重组酸性 α -葡萄糖苷酶, 用于 1 岁及以上患者的晚发型庞贝病, 非临床研究中开展了幼龄小鼠毒性试验用于支持 ≤ 6 岁儿科人群临床试验^[16]。

幼龄动物毒性试验的必要性及试验设计可参考 ICH M3 (R2) 和 ICH S11《支持儿科用药开发的非临床安全性评价》。当满足以下条件时, 幼年动物毒性试验可能会被豁免: ①临床开发从成年患者开始; ②成年动物或成年患者的研究中未见特殊的安全性问题; 以及③已确认的存在毒性担忧的靶器官在治疗时并未处于发育阶段^[8]。

3.5.7 临床起始剂量拟定 ERT 药物的临床起始剂量拟定方法与其他大分子药物相似。非临床研究数据有助于指导首次人体试验起始剂量的选择, 如毒理学试验的未见不良反应剂量 (NOAEL)、相关疾病动物模型预测的最小起效剂量 (MED) 等。

3.5.8 非临床桥接试验 ERT 药物在后续临床试验开发中, 可能需要开展进一步的非临床研究以解决出现的重大问题。例如后续临床试验用样品生产工艺或制剂处方发生变更, 且与早期临床试验样品可比性不确定时, 可能需开展进一步的体外和/或体内非临床研究, 以桥接早期样品已获得的相关数据用于支持药物的后期开发和上市。

若相较于早期临床试验, 给药途径或入组患者人群发生明显变化, 则可能需要开展进一步的非临床研究。

4 结语

药品的安全、有效、质量可控是药品必须满足的基本原则。基于 ERT 药物的特殊性以及对罕见病的特殊考虑, 《罕见病酶替代疗法药物非临床研究指导原则》在常规的生物制品一般技术要求的基础上重点阐述 ERT 药物的非临床评价关注要点, 旨在为 ERT 药物非临床研究的设计和开展提供一般性技术建议, 以期促进该类药物的研发。鉴于国内目前对罕见病药物的研发要求尚处于探索和发展阶段, 且全新罕见病 ERT 药物研发和评价经验少, 相关技术指南仍有待进一步讨论和完善, 以推动罕见病 ERT 药物的研发, 满足临床需求。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Winchester B A, Young V E. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease* [M]. Newyork: McGraw-Hill, 2000: 1-10.
- [2] 国家药品监督管理局药品审评中心. 罕见病酶替代疗法药物非临床研究指导原则 (试行) [EB/OL]. (2024-02-21) [2025-08-20]. <https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCommon/ae3f90280fab5c58f928728816ede70c>. Center for Drug Evaluation, National Medical Products Administration, Guidance on Nonclinical Evaluation of Enzyme Replacement Therapy Products for Rare Diseases (Trial) [EB/OL]. (2024-02-21) [2025-08-20]. <https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCommon/ae3f90280fab5c58f928728816ede70c>.
- [3] ICH. ICH M3 (R2) Maintenance of the ICH Guideline on Non-Clinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials for Pharmaceuticals [EB/OL]. (2009-09-09) [2025-08-20]. https://database.ich.org/sites/default/files/M3_R2_Concept_Paper.pdf.
- [4] Puhl A C, Ekins S. Advancing the research and development of enzyme replacement therapies for lysosomal storage diseases [J]. GEN Biotechnol, 1(2): 156-162.
- [5] de la Fuente M, Lombardero L, Gómez-González A, et al. Enzyme therapy: Current challenges and future perspectives [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(17): 9181.
- [6] 戎恻, 刘小聪, 尹华静. 罕见病酶替代疗法药物研究进展及非临床评价思考 [J]. 医药导报, 2024, 43(6): 895-903.
Rong Y, Liu X C, Yin H J. Research progress of enzyme replacement therapy for rare diseases products and their non-clinical evaluation [J]. Her Med, 2024, 43(6): 895-903.
- [7] FDA. Rare Diseases: Considerations for the Development of Drugs and Biological Products [EB/OL]. (2023-12-23) [2025-08-20]. <https://www.fda.gov/media/119757/download>.
- [8] FDA. Investigational Enzyme Replacement Therapy Products: Nonclinical Assessment [EB/OL]. (2019-10-01) [2025-08-20]. <https://www.fda.gov/media/131295/download>.
- [9] FDA. Lumizyme Pharmacology Review(s) [EB/OL]. (2010-05-24) [2025-08-20]. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2010/125291s000PharmR.pdf.
- [10] FDA. Elfabrio Multi-discipline Review [EB/OL]. (2023-05-09)[2025-08-20]. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2023/761161Orig1s000Multidiscipli neR.pdf.

- [11] FDA. Xenpozyme Integrated Review [EB/OL]. (2022-08-31)[2025-08-20]. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2022/761261Orig1s000IntegratedR.pdf.
- [12] FDA. Vimizim Pharmacology Review(s) [EB/OL]. (2014-02-14)[2025-08-20]. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2014/125460Orig1s000PharmR.pdf.
- [13] Sonoda H, Morimoto H, Yoden E, et al. A blood-brain-barrier-penetrating anti-human transferrin receptor antibody fusion protein for neuronopathic mucopolysaccharidosis II [J]. Mol Ther, 2018, 26(5): 1366-1374.
- [14] FDA. Brineura Pharmacology Review(s) [EB/OL]. (2017-04-27) [2025-08-20]. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2017/761052Orig1s000PharmR.pdf.
- [15] FDA. Kanuma Pharmacology Review [EB/OL]. (2015-12-08) [2025-08-20]. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2015/125561Orig1s000PharmR.pdf.
- [16] FDA. Nexvazyme Integrated Review [EB/OL]. (2021-08-06) [2025-08-20]. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2021/761194Orig1s000IntegratedR.pdf.
- [17] FDA. Revcovi Pharmacology Review [EB/OL]. (2018-10-05) [2025-08-20]. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2018/761092Orig1s000PharmR.pdf.
- [18] FDA. Elaprase Pharmacology Review [EB/OL]. (2006-09-26) [2025-08-20]. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2006/125151s0000_Elaprase_PharmR.pdf.
- [19] FDA. Elaprase Approval Letter [EB/OL]. (2006-09-26) [2025-08-20]. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/appletter/2006/125151s0000_Ltr.pdf.
- [20] FDA. Lamzede Integrated Review [EB/OL]. (2023-02-16) [2025-08-20]. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2023/761278Orig1s000IntegratedR.pdf.
- [21] FDA. Strensiq Pharmacology Review [EB/OL]. (2015-10-23) [2025-08-20]. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2015/125513Orig1s000PharmR.pdf.

[责任编辑 刘东博]