檔　　號:
保存年限:

衛生福利部食品藥物管理署 函

地址：115021 臺北市南港區研究院路一段130巷109號
聯絡人：卓良益
聯絡電話：02-2787-8461
傳真：02-2653-2072
電子郵件：allenjuo@fda.gov.tw

受文者：台灣藥物臨床研究協會

發文日期：中華民國113年9月23日
發文字號：FDA藥字第1131411993號
速別：普通件
密等及解密條件或保密期限：
附件：

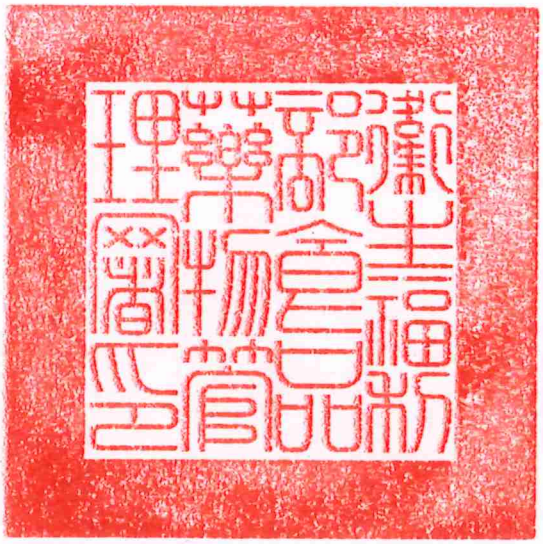
主旨：有關預告「ICH M3(R2)：藥品人體臨床試驗與上市許可申請所需之非臨床安全性試驗指引(草案)」等19部ICH指引草案一案，請至本署網站(http://www.fda.gov.tw/)之「公告資訊」下載。惠請轉知所屬會員及相關單位，對內容如有意見或相關建議者，請自發文日起60日內陳述意見或洽詢承辦窗口。

正本：台灣醫藥品法規學會、中華民國西藥代理商業同業公會、台北市西藥代理商業同業公會、臺灣製藥工業同業公會、中華民國西藥商業同業公會全國聯合會、中華民國製藥發展協會、社團法人中華民國學名藥協會、台灣研發型生技新藥發展協會、中華民國開發性製藥研究協會、台灣藥品行銷暨管理協會、台灣藥物臨床研究協會、台灣藥物基因體學會、台北市西藥商業同業公會、社團法人臺灣臨床藥學會、財團法人國家衛生研究院、財團法人醫藥工業技術發展中心
副本：財團法人醫藥品查驗中心 電子公文交換章 2024/09/23 15:35:46

檔　　號：
保存年限：

衛生福利部食品藥物管理署　公告

發文日期：中華民國113年9月23日
發文字號：FDA藥字第1131411994號
附件：ICH M3(R2)等19部指引(草案)各1份



主旨：預告「ICH M3(R2)：藥品人體臨床試驗與上市許可申請所需之非臨床安全性試驗指引(草案)」等19部ICH指引草案。

依據：行政程序法第165條。

公告事項：

一、主管機關：衛生福利部食品藥物管理署。

二、預告「「ICH M3(R2)：藥品人體臨床試驗與上市許可申請所需之非臨床安全性試驗指引(草案)」等19部ICH指引草案如下，詳如下列表及附件，本案另載於本署網站(網址：http://www.fda.gov.tw/)之「公告資訊」網頁。

(一)ICH M3(R2)：藥品人體臨床試驗與上市許可申請所需之非臨床安全性試驗指引(Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals)(草案)

(二)ICH M3(R2)：藥品人體臨床試驗與上市許可申請所需之非臨床安全性試驗指引問答集(non-clinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorisation for pharmaceuticals - questions and answers)(草

案)

(三)ICH S1A：藥品致癌性試驗之必要性指引(The Need for Carcinogenicity Studies of Pharmaceuticals)(草案)

(四)ICH S1B(R1)：藥品致癌性試驗指引(Testing for Carcinogenicity of Pharmaceuticals)(草案)

(五)ICH S1C(R2)：毒品致癌性試驗之劑量選擇指引(Dose Selection for Carcinogenicity Studies of Pharmaceuticals)(草案)

(六)ICH S2(R1)：人體用藥基因毒性測試與數據判讀指引(Genotoxicity Testing and Data Interpretation for Pharmaceuticals Intended for Human Use)(草案)

(七)ICH S3A：毒理動力學指引：毒性試驗之全身性暴露量評估(Toxicokinetics: The Assessment of Systemic Exposure in Toxicity Studies)(草案)

(八)ICH S3A毒物動力學指引：毒性研究之全身性暴露量評估：以微採樣為核心 問答集(草案)

(九)ICH S3B：藥物動力學：重複劑量組織分布試驗指引(Pharmacokinetics: Guidance for Repeated Dose Tissue Distribution Studies)(草案)

(十)ICH S4：動物慢性毒性測試時程指引(嚙齒類與非嚙齒類毒性測試)(Duration of Chronic Toxicity Testing in Animals(Rodent and Non Rodent Toxicity Testing))(草案)

(十一)ICH S5(R3)：人體藥品之生殖與發育毒性檢測指引(Detection of Reproductive and Developmental Toxicity for Human Pharmaceuticals)(草案)

(十二)ICH S6(R1)：臨床前生物技術藥品安全性評估指引(Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals)(草案)

(十三)ICH S7A：人體用藥之安全藥理學研究指引(Safety Pharmacology Studies for Human Pharmaceuticals)(草案)

(十四)ICH S7B：人體藥品致延遲心室再極化(QT節段延長)可能性之非臨床評估指引(The Non-Clinical Evaluation of The Potential for Delayed Ventricular Repolarization(草案)

(十五)ICH S8：人體用藥免疫毒性試驗指引(Immunotoxicity Studies for Human Pharmaceuticals)(草案)

(十六)ICH S9:抗癌藥品之非臨床評估指引(Nonclinical Evaluation for Anticancer Pharmaceuticals)(草案)

(十七)ICH S9 ：抗癌藥品之非臨床評估指引問答集(ICH S9 Guideline: Nonclinical Evaluation for Anticancer Pharmaceuticals Questions and Answers)(草案)

(十八)ICH S10：藥品光安全性評估指引(Photosafety Evaluation of Pharmaceuticals)(草案)

(十九)ICH S11：支持兒童用藥品開發之非臨床安全性試驗指引(Nonclinical Safety Testing in Support of Development of Pediatric Pharmaceuticals)(草案)

三、對於草案內容如有意見或修正建議者，請於公告次日起60天內陳述意見或洽詢：

(一)承辦單位：本署藥品組。

(二)地址：115台北市南港區研究院路一段130巷109號F棟。

(三)電話：(02)2787-8461。

(四)電子信箱：allenjuo@fda.gov.tw。

署長 莊聲宏

ICH S1B(R1)：藥品致癌性試驗指引

(草案)

(Testing for Carcinogenicity of Pharmaceuticals)

衛生福利部食品藥物管理署

中華民國 113 年 O 月

前言

國際醫藥法規協和會(International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, ICH)於 2022 年發布 ICH S1B(R1)(Testing for Carcinogenicity of Pharmaceuticals)指引，針對需執行致癌性試驗之藥品提供建議，附錄係針對需執行致癌性試驗之藥品提供建議，提供 S1B 指引中未描述之額外綜合分析方法，提供具體的證據權重(weight of evidence, WoE)的考量及建議，以擴展藥品致癌性風險的評估。運用整合方法將依據 3R 原則-減量/完善/取代減少動物使用(reduce/refine/replace)，並將資源轉移至聚焦於產出更多科學作用機轉為基礎(mechanism-based)的致癌性評估，同時繼續推動安全及倫理的新藥開發。

目錄

第一部分、藥品致癌性試驗

一、目的----------1
二、背景----------1
三、指引適用範圍----------2
四、指引----------2
(一)前言----------2
(二)致癌性試驗----------2
1.長期致癌性試驗之物種選擇----------2
2.額外嚙齒類動物之體內致癌試驗----------3
3.選擇短期或中期致癌性試驗之考量----------3
五、作用機轉探討----------3
(一)細胞變化----------4
(二)生物化學量測----------4
(三)額外基因毒性試驗之考量----------4
(四)改良試驗設計----------4
六、針對長期致癌性試驗選擇物種之考量----------4
(一)藥品分析調查之資訊----------5
(二)研究作用機轉的潛力----------5
(三)代謝分布----------5
(四)實用性----------6
(五)針對一種以上的物種進行試驗----------6
(六)例外情況----------6
七、評估潛在致癌性----------6
附註----------7
附錄：引用其他 ICH 指引----------8

第二部分、藥品致癌性試驗之附錄

前言----------9

一、緒論----------9

(一)附錄適用範圍----------9

(二)附錄目的----------9

(三)背景----------9

二、WoE 之致癌性評估----------10

(一)WoE 考量因子----------11

(二)整合 WoE 考量因子以評估人體致癌性風險----------12

(三)小鼠致癌性試驗----------14

三、RasH2.Tg 小鼠致癌性試驗之標準----------14

附註----------15

參考文獻----------16

附錄：WoE 案例研究與範例----------18

ICH S2B(R1)：藥品致癌性試驗

一、 目的

本指引係針對需執行致癌性試驗之藥品提供建議。

二、 背景

在歷史上，歐盟、日本、美國對於藥品的監管要求，規定使用兩種嚙齒類動物(通常為大鼠及小鼠)進行長期致癌性試驗，以利評估藥品潛在致癌性風險。然考慮該試驗的研究成本及對動物大量使用，因此，ICH 在不減損人體安全性的前提下，討論減免在兩種嚙齒類物種中執行長期致癌性試驗之作法。

目前還在審視,試驗物質/藥品於致癌性試驗中取得之結果與評估人體安全性之相關性。自 1970 年代初期至今，許多研究指出，多種實驗步驟均可能導致動物產生腫瘤，其中一些腫瘤與人類潛在致癌性評估的相關性極低或幾乎不存在相關風險。本章節將概述評估致癌性的實驗方法，可能使得需執行人類風險評估之藥品，不必經常性地使用兩種嚙齒類動物進行長期致癌性試驗。目前已有六次針對人類藥品的數據調查分析了，大鼠及小鼠致癌性試驗的個別貢獻，及使用單一物種是否嚴重影響取得與人類相關風險評估的資訊。這些調查是由國際癌症研究機構(International Agency for Research on Cancer, IARC)、美國 FDA、美國醫師指引(Physicians' Desk Reference, PDR)、日本製藥工業協會(Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, JPMA)、歐洲藥品局人用藥品委員會(Committee for Proprietary Medicinal Products, CHMP)、英國醫學研究中心(Centre for Medicines Research, CMR)所進行。這些調查的範圍以及分析的主要結論可以在第三次國際調和會議的議程中找到。若從長期致癌性試驗取得之結果與治療用途無相關性，將對所有相關人員(法規單位審查員、藥品開發端及廣大民眾)都構成困境。因此，若執行一項長期致癌性試驗(而非執行兩項長期致癌性試驗)或可將資源部分地轉向其他方法，以揭露其與人類相關的潛在致癌性。「證據的權重」方法，也就是在評估來自一項長期致癌性研究及其他適當實驗調查的所有數據時使用科學判斷，可以增強對人類致癌風險的評估。

三、 指引適用範圍

本指引涵括了所有根據 S1A 指引規定需要試驗的藥劑，透過生物技術生產的藥品請參見 S6 指引。

四、 指引

(一) 前言

只有在取得某些關鍵資訊之後，方能制定藥品潛在致癌性之試驗策略，這些關鍵資訊包括基因毒性結果(請參見 ICH S2A 及 S2B)、適應症及預期病人族群、臨床用法用量(請參見 ICH S1A)、動物與人類的藥效學資料(包含選擇性、劑量反應)(請參見 ICH S1C)及重劑量毒性試驗。使用任何物種(包括非嚙齒類動物)進行重複劑量毒性試驗，若指出藥品具有免疫抑制性、荷爾蒙活性，或其他被視為人類風險因子的作用，應將這些資訊運用於設計任何評估潛在致癌性進一步試驗〔附註 1〕。

(二) 致癌性試驗

鑒於致癌機轉的複雜性，目前沒有任何單一的實驗方法能夠預測所有藥品對人類的致癌風險，應參考前言中所提到的資訊，適度、靈活且判斷合適的試驗方法選項。

基本原則：

基本的致癌性測試架構包含一個嚙齒類動物之長期致癌性試驗，再加上額外嚙齒類動物之體內致癌性試驗。後者應能補充長期致癌性試驗，並提供長期試驗中不易獲得的額外資訊。

1. 長期致癌性試驗之物種選擇

應當考量下列特性，適當選擇研究物種：

a. 藥理學資訊、
b. 重複劑量毒性試驗、

c. 代謝反應(請參見 ICH S1C 及 S3A)、
d. 毒理動力學(請參見 ICH S1C、S3A 及 S3B)及
e. 投藥途徑(例如：較少見的途徑，如經皮吸收或吸入途徑)等因素，選擇合適之物種。

若缺少明顯的證據可決定以何物種進行長期性致癌性試驗較為恰當，一般建議優先以大鼠執行長期致癌性試驗(根據本指引第 6 節列出之考量)。

2. 額外嚙齒類動物之體內致癌性試驗

此試驗可選用 a 或 b 的試驗方式〔附註 2〕:

a. 嚙齒類動物之短期或中期體內測試系統：

是否採用此一測試系統，應著重於該系統是否能提供更多資訊，有助於瞭解致癌機轉及原理，這類體內測試系統可參考使用嚙齒類起始－促進的動物模型、基因轉殖小鼠模型或新生嚙齒類動物模型〔附註 3〕。

b. 也可以選擇第二種嚙齒類動物進行長期致癌性試驗(相關注意事項，請參見 4.2.1 節)。

3. 選擇短期或中期致癌性試驗之考量

重點在於選擇能夠提供對評估致癌潛力的整體「證據權重(WoE)」有價值資訊的測試方法。選擇試驗方法應基於當時可獲得的藥品相關資訊，例如藥物動力學、與人類的暴露量比較，或任何其他可能相關的資訊，並應將選擇該試驗方法的理由記錄下來，理由還應包括為該藥品選用試驗方法之優點和缺點的科學性討論〔附註 4〕。

五、 作用機轉探討

作用機轉研究通常對於腫瘤發現時的致癌性解釋很有用，並可以提供其與人類風險評估相關性的觀點。調查性試驗(Investigative study)執行的必要性或其試驗設計，取決於藥品特性和/或致癌性試驗結果。在此調查性試驗中，應評估劑量依賴性和與致癌性相關的試驗條件，包括：

（一） 細胞變化

可藉由形態學、組織化學或功能性標準，來瞭解相關組織在細胞層面上的變化。視情況，可著重於瞭解如細胞凋亡的劑量－反應關係(dose-response relationship)、不正常增生、肝 細胞變化焦點或細胞間交互作用等變化。

（二） 生物化學量測

根據假定的腫瘤生成作用模式，可量測並探討以下項目：

- 血漿中荷爾蒙(hormones)濃度，例如：T3/T4、促甲狀腺素(thyroid-stimulating hormone, TSH)、催乳激素(prolactin)。
- 生長因子(growth factor)
- 與蛋白質之結合，例如：α2μ−球蛋白(α2μ-globulin)
- 組織酵素活性在某些情況下,例如,可以通過另一個荷爾蒙失衡的研究,該研究中荷爾蒙失衡情況至少曾被部分補償，來檢驗荷爾蒙失衡的假設。

（三） 額外基因毒性試驗之考量

若在標準基因毒性試驗群(a standard battery for genotoxicity testing)中呈陰性，但致癌性試驗結果顯示有影響且未有表觀遺傳學機轉的明確證據時，可使用合適模型進行額外的基因毒性試驗。額外試驗可考慮於體外試驗中修改其代謝活化的條件，或者可包括於體內試驗針對產生腫瘤之作用標的器官進行基因毒性損傷之量測(例如：DNA 損傷/修復試驗、^{32}P-postlabeling、轉殖基因誘導突變)。

（四） 改良試驗設計

修改試驗計劃可能有助於釐清試驗物質引發腫瘤的作用機轉。如此的試驗計劃可能包括比較探索中斷投藥後的結果或停止投藥後細胞變化是否可逆的動物組別。

六、 針對長期致癌性試驗選擇物種之考量

在缺乏其他明確提示的情況下，有幾個一般的考慮因素建議優先以大鼠執

行長期致癌性試驗。

（一） 藥品分析調查之資訊

在六項調查分析中，本指引特別關注有關遺傳毒理學、腫瘤發生率、動物品系、投藥途徑和劑量方案、藥理或治療活性、開發和/或法規狀態，以及如果相關的話，終止開發的原因之數據。無可避免地，數據間有相當大的重複，但這並不妨礙得出有效的結論。從這六項分析中得出的主要總體結論是：

a. 從實例中顯示，鼠類的腫瘤發現鮮少是針對藥品採取法規行動的單一原因，但來自這個物種的數據可能有助於做出「證據權重」的決定，並有助於識別在兩種嚙齒動物都引發腫瘤之物質。

b. 在僅對單一嚙齒類物種產生腫瘤的試驗物質中，「僅造成大鼠致癌」的試驗物質數量約為「僅造成小鼠致癌」的兩倍，隱含了大鼠比小鼠更敏感的概念。

c. 從文獻中搜尋藥品相關資訊，可得知嚙齒類動物產生肝臟腫瘤的發病率較高，而小鼠肝臟對非基因毒性化學物(non-genotoxic chemicals)具有高度敏感性已是許多研討會討論的主題，因此這類腫瘤可能造成誤導，且可能並非完全與人類致癌風險相關。

（二） 研究作用機轉的潛力

非基因毒性化合物在嚙齒類動物的致癌活性，存有高度物種/品系/作用標的器官的特異性，且存在劑量-反應關係的閾值。近年來，許多機制研究使我們能夠區分嚙齒動物模型的特異作用及可能與人類相關之作用，這些進展通常與對物種和組織特異性理解的增進有關。例如：受體媒介的致癌性(receptor-mediated carcinogenesis)越來越受重視，且多數進展來自大鼠試驗，只有少部分來自小鼠試驗。

（三） 代謝分布

從代謝學角度，大鼠與小鼠都不是作為長期致癌性試驗物種的首選。然而，目前有許多專注於藥品動力學(pharmacokinetics, PK)及藥效學(pharmacodynamics, PD)關聯性的研究，更深入了解 P450 酵素酶(P450 isozyme)如何介導試驗物質進

行生物轉化，而這些研究大部分都侷限於使用大鼠及人體。因此，至少在近期內，小鼠較難提供 P450 酵素酶所參與之生物轉化的相關資訊。

（四） 實用性

與以上兩個主題相關的是探索性試驗的可行性問題。單從體型考量，當需要連續收集血液樣本、進行顯微手術/使用導管、及測量器官重量時，若以小鼠進行試驗較為不利，且可能需要額外犧牲動物。

（五） 針對一種以上的物種進行試驗

至今多數使用於短期或中期致癌性試驗的物種為小鼠。為能在一種以上的物種測試潛在致癌性，且具有重要性及情況允許情況時，通常多數使用於長期致癌性試驗的物種為大鼠。

（六） 例外情況

除了前述的考量，在某些情況下，基於作用機轉、代謝學或其他依據，小鼠或其他嚙齒類動物可以被認為進行長期致癌性試驗評估人類風險的更合適物種(可與第(四)章第二節做比較)。在此情況下，短期或中期致癌性試驗仍可使用小鼠作為試驗物種。

七、 評估潛在致癌性

應評估藥品在嚙齒類動物產生腫瘤之證據，包括腫瘤發病率及潛伏期、藥品於嚙齒類動物與人類的藥品動力學、及任何有助於了解所觀察到之作用與人類相關之輔助性或機制試驗的數據。

上述任何試驗的結果都應被視為整體「證據的權重」的一部分，並考慮到試驗系統的科學性狀態。

附註

附註 1. 來自體外試驗，例如細胞轉化試驗的數據，可使用於化合物篩選階段。

附註 2. 如果短期或長期致癌性試驗、基因毒性試驗的結果及其他數據指出藥品明顯對人類具有致癌性危害時，通常不會進行第二次致癌性試驗。

附註 3. 目前有幾種試驗方法已被提出，其有用性目前正受到研究，一般而言，要選擇何種方法應依據所推測可能造成人體之致癌機轉。這些試驗需可提供額外的資訊以補長期致癌性試驗之不足。亦應考慮致癌性評估過程使用的動物數量、動物福祉、及整體經濟狀態。以下所列是一些目前已知符合要求的試驗方法，而這些試驗方法仍有可能隨著科學知識的進步而有所修改。

a. 嚙齒類初始化－促進動物模式(initiation-promotion model in rodent)：嚙齒類初始化－促進模型目前多用於研究藥品對於肝臟的致癌作用，其方法為將一種已知的致癌起始物投予動物，之後再投予試驗物質幾週時間，觀察肝臟產生腫瘤的機率是否增加；但也有少數模型用於測試多器官的致癌作用，例如，利用至少 5 種已知的致癌起始物投予動物，之後再投予試驗物質幾個月的時間，觀察於多器官產生腫瘤的情形。

b. 基因轉殖小鼠模型：如 p53+/-缺陷小鼠模型、Tg.AC 小鼠模型、TgHras2 小鼠模型、XPA 小鼠缺陷模型等。

c. 新生嚙齒類致癌動物模型：此模型係利用一般新生鼷鼠進行試驗，用以偵測基因毒性物質之致癌性，其方法為投予試驗物質至新生動物(出生後 1 至 15 天)持續 1 年時間，觀察動物產生腫瘤的情形。

附註 4. 除附註 3 所描述之試驗模型外，其他特定藥品的試驗模型應考慮下列因素：

a. 動物模型能否提供長期致癌性試驗無法取得之新資訊，且有助於鑑定與人類相關危害及評估致癌性風險。

b. 動物模型能否解除已知具相似結構/作用機轉之藥品/試驗物質導致致癌機轉的相關疑慮。這些疑慮包含基因毒性、細胞不正常增生、促進的(promotional)或受體介導(receptor-mediated)的作用等等。

c. 動物模型的藥品/試驗物質代謝能否影響人類致癌性風險的評估。

d. 其全身或局部暴露量有人體暴露量之關聯性。

e. 應評估動物模型針對預期用途之範圍及限制。在使用任何新的體內測試系統作為致癌性試驗之前，可先評估該動物模型是否有助於 WoE 評估人體的潛在致癌風險。1997 年迄今正進行許多研究，用於評估新的短期及中期潛在致癌性試驗，建議可使用對嚙齒類動物具已知作用機轉及已知致癌性機轉、或對人類公認不具有致癌性的藥品，一併用於該動物模型，將有助於瞭解是否與人類致癌性風險評估具有關聯性。

附錄：引用其他 ICH 指引

1. ICH S2A 指引：管制遺傳毒性試驗特殊性指引補充(Notes for Guidance on Specific Aspects of Regulatory Genotoxicity Tests)
2. ICH S2B 指引：標準藥品遺傳毒性試驗組合(A Standard Battery of Genotoxicity Testing of Pharmaceuticals)
3. ICH S3A 指引：毒理動力學指引說明：毒性試驗之全身性暴露量評估
4. ICH S3B 指引：藥物動力學：重複劑量組織分佈試驗指引
5. ICH S6 指引：臨床前生物技術藥品安全性評估

第二部分：藥品致癌性試驗之附錄

前言

附錄應與 ICH S1A 藥品致癌性試驗之必要性、S1B 藥品致癌性試驗及 S1C(R2)藥品致癌性試驗之劑量選擇指引緊密配合使用。此附錄與 S1 指引相輔相成。

一、 緒論

(一) 附錄適用範圍

此附錄適用於所有需要依照 S1A 指引進行致癌性測試的藥品。對於生物技術藥品，請參考 S6(R1)臨床前生物技術藥品安全性評估指引。

(二) 附錄目的

此附錄係針對需執行致癌性試驗之藥品提供建議，提供 S1B 指引中未描述之額外綜合分析方法，提供具體的證據權重(weight of evidence, WoE)的考量及建議，以擴展藥品致癌性風險的評估，以得知大鼠 2 年期致癌性試驗對於人類致癌性風險評估是否具有附加價值。此附錄還新增了一種基於血漿暴露比率的方法，可用於設定 rasH2-Tg 小鼠〔附註 1〕致癌性試驗的最高劑量。

運用這種整合方法將依據 3R 原則－減量/完善/取代減少動物使用(reduce/refine/replace)，並將資源轉移至聚焦於產出更多科學作用機轉為基礎(mechanism-based)的致癌性評估，同時繼續推動安全及倫理的新藥開發。

(三) 背景

雖然本指導原則要求在考慮藥品致癌性試驗策略時應具備靈活彈性方法，但基本模式仍建議進行一嚙齒類動物的長期試驗，通常即大鼠 2 年期試驗，再搭配使用小鼠執行第二個嚙齒類致癌性試驗(2 年期或短期試驗)。至今，致癌性機轉相關研究大幅進展，也瞭解嚙齒類動物模型的侷限性，從數項回溯性試驗中，顯示某些情況下，大鼠 2 年期致癌性試驗對人類致癌性風險可能不具有附加價值，而

可藉由全面性評估現有的藥理學、生物學及毒理學等數據，適當地評估潛在的致癌性風險(2-9)。

為確認數項回溯性分析的結論是否能於真實試驗環境中得到驗證(即在了解大鼠 2 年期致癌性試驗的結果之前)，根據 ICH S1(R1)“提議修改藥品之嚙齒類動物致癌性試驗－法規通知文件”，進行了一項後續的國際性前瞻性研究，該研究的流程及持續更新的報告結果已公開發布於 ICH 網頁(10-14)。由 ICH 專家工作小組中的法規單位成員收集並評估 45 種試驗物質的大鼠 2 年期致癌性試驗的致癌性評估文件(carcinogenicity assessment document, CAD)及相關數據。此前瞻性研究的結論確認，於某些特定藥品，可以使用整合的證據權重(WoE)方法取代大鼠 2 年期致癌性試驗，以進行對人類的致癌性風險充分評估〔附註 2〕。

此外，依據 ICH S1(R2)於嚙齒類動物 2 年期致癌性試驗的建議，可基於動物與人類之血液濃度之比值作為高劑量選擇，然而 rasH2-Tg 小鼠試驗套用此選擇標準尚未全球性地被接受。因此，執行了一全面性資訊分析，以評估現有資訊中可得的 rasH2-Tg 小鼠試驗的暴露量及結果(15)，該分析結果指出，使用 50 倍曲線下面積(area under the curve, AUC)(嚙類動物：人類)可作為選擇高劑量的適當標準。

二、 WoE 之致癌性評估

在藥品開發過程中，對於開發者而言，考慮生物學、藥理學及毒理學資訊，制定科學上堅實的致癌性評估策略極為重要。

於 2.1 及 2.2 節所描述的整合性 WoE 評估方法，對於藥品於人類的潛在致癌性，可能支持的結論如下：

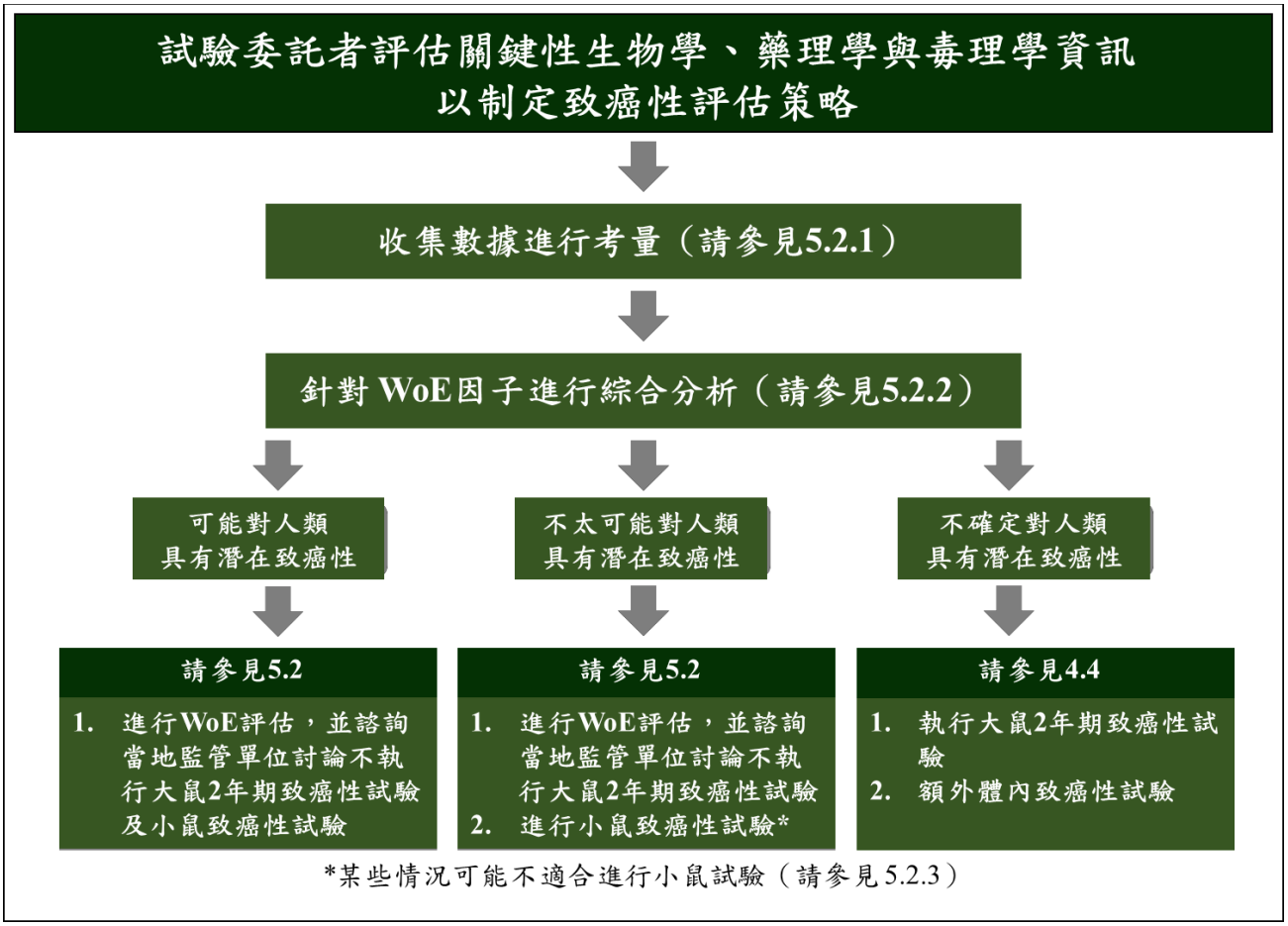
(a) 可能具有潛在致癌性，則大鼠 2 年期致癌性試驗可能不具附加價值。

(b) 不太可能具有潛在致癌性，則大鼠 2 年期致癌性試驗可能不具附加價值〔附註 3〕。

(c) 不確定是否具有潛在致癌性，則大鼠 2 年期致癌性試驗具有附加價值。

當 WoE 評估結論仍不確定是否對人類具有致癌性時，建議參照 SIB 所述，執行長期致癌性試驗及額外的體內致癌性試驗〔請參見圖 1〕。

圖 1. 概述制定致癌性評估之策略及確認大鼠 2 年期試驗是否具有附加價值之步驟



值得注意的是，即使採用 ICH S1B 所述之大鼠 2 年期致癌性試驗方法，仍應評估關鍵的生物學、藥理學與毒理學相關資訊。若決定執行大鼠 2 年期致癌性試驗，並無義務徵求藥品法規單位之同意。詳請參見第 2.1 與 2.2 節。

（一） WoE 考量因子

WoE 為公開資料與相關藥品開發之研究取得之所有數據綜合評估的方法。藥品及主要代謝產物於 WoE 考量因素，包含但不限於以下因素：

(a) 探討作用標的及藥理機轉是否與已知的致癌機轉相關，例如在人體及大鼠中，藥品之作用標的分布(drug target distribution)、藥理活性及效價；基因工程模型相關資訊；人類基因體學相關研究；癌症基因數據資料庫；同類藥品的致癌性相關資訊。

(b) 次藥效學篩選結果可提供選擇性及非預期標的(off-target)潛力的資訊，尤其是提供致癌性風險的相關資訊，例如與核受體(nuclear receptor)之結合能力。

(c) 重複劑量毒性試驗中的組織病理資料〔附註 4〕(尤其是 6 個月大鼠毒理試驗)，包含原型藥和主要代謝物的血漿暴露臨界(exposure margin)的評估。

(d) 干擾荷爾蒙之證據〔附註 5〕：包含作用標的與代償性內分泌反應(compensatory endocrine response)機轉的知識；重複劑量毒性試驗中內分泌系統和生殖器官的重量、解剖學與組織病理變化；生殖毒性試驗的相關結果。

(e) 依 ICH S2(R1)人體用藥基因毒性測試與數據判讀指引，進行基因毒性試驗資料，若是依 ICH S2(R1)無法解決的模擬兩可(equivocal)數據，則會增加潛在致癌性之不確定性。

(f) 依 ICH S8 人體用藥免疫毒性試驗指引的免疫調控證據。若有廣泛性免疫抑制之證據，則可能足以顯示對人類潛在風險，可能無需由標準大鼠及小鼠致癌性試驗組合提供相關資訊(16-17)。

上述的證據權重(WoE)因子可能足以判斷大鼠 2 年期致癌性試驗是否能為評估人類致癌風險增添價值。然而若其中一項或多項 WoE 因子無法得到結論，或顯示有致癌性疑慮時，可以採取其他調查性方法以解決不確定性或告知已識別風險與人體的相關性。可能的方法包含但不限於：

(a) 進行額外的調查試驗或從分析先前試驗中已收集的樣本(例如：組織化學染色、分子生物標誌、血清荷爾蒙濃度變化、免疫細胞功能、體外或體內測試系統、新興技術衍生之數據)以及

(b) 產生臨床數據以分析治療劑量、人體暴露量與人體內作用機轉的相聯性(例如：尿液中藥品濃度和形成晶體的證據、臨床血漿荷爾蒙濃度變化、人體影像數據的研究等等)。

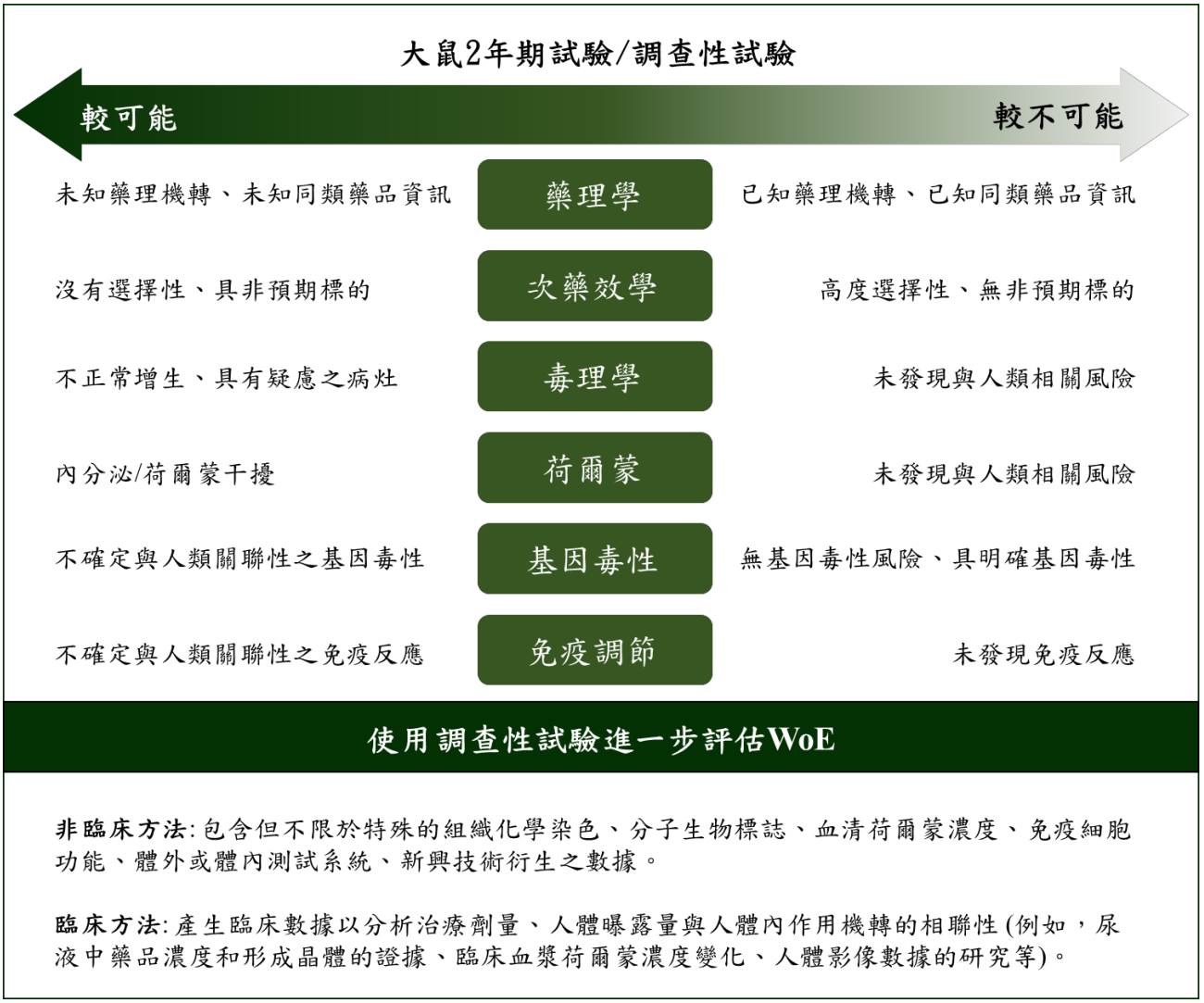
雖不期待完成 RasH2-Tg 小鼠試驗來輔助證據權重(WoE)評估，然而，若已有 RasH2-Tg 小鼠試驗結果，則應將其納入 WoE 評估文件中。

（二） 整合WoE 考量因子以評估人體致癌性風險

應使用上述 WoE 考量因子進行整合性分析，用以確認大鼠 2 年期致癌性試驗是否有助於評估人體致癌性風險。雖所有 WoE 考量因子皆有助於整合性分析，

然各因子的相對重要性會依不同藥品而異〔請參見圖 2〕:

圖 2. 關鍵性 WoE 考量因子進行整合性分析



將關鍵性 WoE 考量因子進行整合性分析，評估大鼠 2 年期致癌性試驗是否具有附加價值。當所有的 WoE 考量因子皆屬於右側結論時，代表大鼠 2 年期致癌性試驗較不可能具有附加價值。值得注意的是，基因毒性考量因子，不論是無基因毒性或是具有明確基因毒性風險的情況下，進行大鼠 2 年期致癌性試驗較不可能具有附加價值。同樣地，對於免疫調節考量因子，不論免疫系統是不被影響或者廣泛性抑制，進行大鼠 2 年期致癌性試驗較不可能具有附加價值。

請參見附錄提供了 WoE 案例研究與範例，透過 ICH S1(R1)提議修改藥品之嚙齒類動物致癌性試驗–監管通知文件，累積許多經驗並歸納出關鍵結果與範例，這些資料提供如何整合 WoE 考量因子，以確認執行大鼠 2 年期致癌性試驗對評估人體致癌性風險的附加價值。

ICH S1 的研究經驗顯示，同類藥品的既定特性對於評估與調節藥理目標相關的人類致癌風險具有實質幫助。然而，針對新穎作用標的之藥品(First-in-class)亦能進行 WoE 評估，對於此類化合物，應著重於證實新作用標的是否有致癌相關風險，以彌補缺乏前例的情況。案例四提供一個新作用標的範例，該範例提供的證據足以彌補缺乏往例的情況，在此範例中並未鑑別出作用標的生物學、藥品選擇性為致癌疑慮的成因，且於大鼠(為藥理相關物種)6 個月的試驗中，在高倍數暴露量下也未觀察到組織病理變化，因此足以決策大鼠 2 年期試驗不具有附加價值。

當 WoE 支持大鼠 2 年期致癌性試驗對於評估人類之致癌性風險可能不具有附加價值的結論時，建議可先向該地區之藥品法規單位進行諮詢。若仍決定執行大鼠 2 年期致癌性試驗，並無義務須徵求藥品法規單位之同意。

（三） 小鼠致癌性試驗

無論是使用標準品系小鼠進行 2 年試驗，或使用基因轉殖小鼠模型進行短期試驗，小鼠致癌性試驗仍然是致癌性評估計畫的建議元件之一，即便是 WoE 已認定大鼠 2 年期致癌性試驗不具有附加價值。除非有科學性的理由，須執行小鼠 2 年期致癌性試驗，否則為符合 3R 精神，建議優先使用基因轉殖小鼠模型。

在某些情況下，可能不適合進行小鼠致癌性試驗，例如：當 WoE 評估強烈指出，藥品對人類不具致癌風險，且已有數據指出，相較於人體，於小鼠體內只能達到低於治療劑量的暴露劑量及不具藥理學活性的藥品濃度時，就可能不適合進行小鼠試驗。另一個例子是當 WoE 評估指出，藥品可能對人體具有致癌風險，亦不適合進行小鼠試驗。

三、 RasH2.Tg 小鼠致癌性試驗之標準

在沒有劑量限制毒性或 ICH S1C(R2)所述標準的情況下，以血漿暴露(AUC)比值來選擇 rasH2-Tg 小鼠試驗的最高劑量，尚未有全球公認的標準。針對此基因轉殖小鼠模式下的 53 種試驗物質的資料進行數據回溯性分析，確定在這些案例下，只要鼠類對人類的系統暴露比例達到 50 倍(15)，就足以檢測到與化合物相關的腫瘤出現。基於這項分析，可獲得 50 倍血漿暴露比例(鼠類：人類)是此模式選擇最高劑量的合適標準。因此，其餘適用於嚙齒類 2 年期致癌性試驗的高劑量選擇標準(請見 ICH S1C(R2))均適用於 RasH2.Tg 小鼠，惟以血漿暴露比例選擇高劑量組時應使用 50 倍，而不是標準品系嚙齒類動物所使用的 25 倍。

附註

附註 1. rasH2-Tg(亦稱為 TgHras2、CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic)小鼠模型係由日本學者野村達次之實驗室所開發(1)，藉由將 C57BL/6JJic-Tg(HRAS)2Jic 半合子雄鼠與 BALB/cByJJic 雌鼠互交(intercrossing)配種，而子代包含具有 tg/wt 基因型的基因轉殖 rasH2-Tg 小鼠及具有 wt/wt 基因型的野生型 rasH2-Wt 小鼠。建議使用同窩的 rasH2-Tg 小鼠及 rasH2-Wt 小鼠進行劑量探索 (dose range finding, DRF)試驗及收集暴露劑量等數據。在過去 20 年，相較於 rasH2-Tg 小鼠模型，其他動物模型並無顯著使用且開發經驗較為侷限，故其他動物模型選用高劑量時，不適用使用血漿暴露比例(plasma exposure ratio)作為依據。

附註 2. 將於日後的出版品中提供 ICH S1 前瞻性評估試驗的方法、結果及總結。

附註 3. WoE 評估該試驗物質對大鼠具致癌性，若有足夠證據證明其致癌機制與人類無關時，則可能不認為該試驗物質對人類具有致癌性。

附註 4. 可於 6 個月大鼠毒理試驗或其他短期試驗的組織病理學結果，分析細胞肥大、增生、持續性組織損傷、慢性發炎、病灶區的細胞變化、癌前變化與腫瘤等變化，有助於釐清發病機轉及與人類相關風險之關聯性。雖評估大鼠 2 年期致癌性試驗是否具附加價值時，主要依據 6 個月大鼠毒理試驗，但短期大鼠試驗亦可提供許多關鍵性組織病理學資訊。分析非嚙齒類動物與小鼠長期毒性試驗的數據，亦有助於提供額外的資訊(例如：不同的物種特異性機轉)，以探索與人類相關性風險及決策大鼠 2 年期致癌性試驗是否具有附加價值。

附註 5. 大鼠毒性試驗結果顯示，荷爾蒙干擾可能導致內分泌或生殖組織萎縮、肥大與增生的組織病理變化、或生物學上顯著的內分泌與生殖器官重量變化，且此類變化並非繼發於壓力或體重改變等因素。即使未記錄荷爾蒙濃度變化，亦可將上述變化認定為功能性荷爾蒙干擾的證據。除非再針對人類進行相關性調查或以其他方式證明，否則此類變化可能代表潛在致癌風險。

參考文獻

1. Saitoh A, Kimura M, Takahashi R, Yokoyama M, Nomura T, Izawa M et al. Most tumors in transgenic mice with human c-Ha-ras gene contained somatically activated transgenes. Oncogene 1990;5(8):1195-200.

2. Van Oosterhout JPJ, Van der Laan JW, De Waal EJ, Olejniczak K, Hilgenfeld M, Schmidt V et al. The utility of two rodent species in carcinogenic risk assessment of pharmaceuticals in Europe. Reg Toxicol Pharmacol 1997;25:6-17.

3. Contrera JF, Jacobs AC, DeGeorge JJ. Carcinogenicity testing and the evaluation of regulatory requirements for pharmaceuticals. Reg Toxicol Pharmacol 1997;25:130-45.

4. Reddy MV, Sistare FD, Christensen JS, DeLuca JG, Wollenberg GK, DeGeorge JJ. An evaluation of chronic 6- and 12-month rat toxicology studies as predictors of 2-year tumor outcome. Vet Pathol 2010;47:614–29.

5. Sistare FD, Morton D, Alden C, Christensen J, Keller D, De Jonghe S et al. An analysis of pharmaceutical experience with decades of rat carcinogenicity testing: support for a proposal to modify current regulatory guidelines. Toxicol Pathol 2011;39:716-44.

6. Alden CL, Lynn A, Bourdeau A, Morton D, Sistare FD, Kadambi VJ et al. A critical review of the effectiveness of rodent pharmaceutical carcinogenesis testing in predicting for human risk. Vet Pathol 2011;48:772-84.

7. Friedrich A, Olejniczak K. Evaluation of carcinogenicity studies of medicinal products for human use authorised via the European centralised procedure (1995-2009). Reg Toxicol Pharmacol 2011;60:225-48.

8. Van der Laan JW, Kasper P, Lima BS, Jones DR, Pasanen M. Critical analysis of carcinogenicity study outcomes. Relationship with pharmacological properties. Crit Rev Toxicol 2016;46:587-614.

9. Van der Laan JW, Buitenhuis WHW, Wagenaar L, Soffers AEMF, Van Someren EP, Krul CAM et al. Prediction of the carcinogenic potential of human pharmaceuticals using repeated dose toxicity data and their pharmacological properties. Frontiers in Medicine 2016;3:45. doi: 10.3389/fmed2016.00045

10. Proposed Change to Rodent Carcinogenicity Testing of Pharmaceuticals – Regulatory Notice Document. ICH, 2016. (last accessed 31 May 2022)

11. The ICHS1 Regulatory Testing Paradigm of Carcinogenicity in Rats - Status Report Introduction Background: The RND Hypothesis and the Prospective Evaluation

Study. ICH, 2016. (last accessed 31 May 2022)

12. The ICHS1 Regulatory Testing Paradigm of Carcinogenicity in Rats: Status Report December 2017. ICH, 2017. (last accessed 31 May 2022)

13. The ICHS1 Regulatory Testing Paradigm of Carcinogenicity in Rats: Status Report 2019. ICH, 2019. (last accessed 31 May 2022)

14. The ICHS1 Regulatory Testing Paradigm of Carcinogenicity in Rats: Status Report 2021. ICH, 2021. (last accessed 31 May 2022)

15. Hisada S, Tsubota K, Inoue K, Yamada H, Ikeda T, Sistare FD. Survey of tumorigenic sensitivity in 6-month rasH2-Tg mice studies compared with 2-year rodent assays. J Toxicol Pathol 2022;35:53–73.

16. Bugelski PJ, Volk A, Walker MA, Krayer JH, Martin P, Descotes J. Critical review of preclinical approaches to evaluate the potential of immunosuppressive drugs to influence human neoplasia. Int J Toxicol 2010;29:435-66.

17. Lebrec H, Brennan FR, Haggerty H, Herzyk D, Kamperschroer C, Maier CC et al. HESI/FDA workshop on immunomodulators and cancer risk assessment: Building blocks for a weight-of-evidence approach. Reg Toxicol Pharmacol 2016;75: 72-80.

附錄：WoE 案例研究與範例

前言

ICH S1 研究的成果之一是具有以下 WoE 考量因子的評估方案，更有可能支持大鼠 2 年期致癌性試驗對人體致癌性風險評估不具有附加價值的結論。

(a) 作用標的生物學已被詳細研究，並且確認與已知參與人類癌症發展的細胞途徑無關。這種情況通常是該藥品的作用標的是屬非哺乳類動物所有(例如：病毒、微生物)，且可取得同類藥品的致癌性試驗數據。

(b) 於探索藥品前在非預期標的次藥效學試驗中，沒有發現任何疑慮。

(c) 慢性毒性試驗的結果顯示，沒有發現無法適當解釋病理發生或人體相關性的增生、肥大、非典型細胞變異或退化/再生性變化，表示藥品沒有引發致癌疑慮的 on-target 或 off-target 作用。

(d) 沒有發現內分泌或生殖器官受到干擾，或內分泌的發現足與人類的潛在關聯性可被適當地解釋。

(e) 依 ICH S2(R1)的標準整體評估，藥品沒有基因毒性。

(f) 根據作用標的之生物學及重複劑量毒性試驗，沒有證據顯示藥品有免疫調節或免疫毒性的情況。

所提供的案例研究係用來說明 WoE 方法之應用，這些案例僅用於說明，而非指示 WoE 的作法，亦不代表可支持 WoE 評估的數據充足程度。案例一及二的藥品範例是整合關鍵 WoE 考量因子後，得出大鼠 2 年期致癌性試驗不會增加人類致癌性風險評估之附加價值。案例三則描述了整合所有 WoE 考量因子的數據後，認為藥品對人類的潛在致癌性風險是無法確定的，而大鼠 2 年期致癌性試驗將具有附加價值。案例四則描述一藥品，雖無法從同類藥品取得資訊，但透過 WoE 分析確認大鼠 2 年期致癌性試驗可能不具有附加價值。

案例一：病毒複製抑制劑

案例一摘要：

前瞻性證據權重(WoE)評估

- 此化合物不太可能對大鼠及人類具有潛在致癌性，因此大鼠 2 年期致癌性試驗不具有附加價值。
- 此化合物已於足夠高的暴露臨界下進行充足的研究，並未發現任何與證據權重因子相關的疑慮成因。

大鼠 2 年期致癌性試驗結果

- 未觀察到與此化合物相關的致癌性發現。

支持性 WoE 因子：

作用標的之生物學

- 作用標的為非哺乳類動物(病毒)所有，可排除刻意改變哺乳類動物致癌途徑之可能。
- 同類藥品資訊中，大鼠 2 年期試驗沒有發現同類藥品有相關的致癌性風險。

次級藥理

- 藥品濃度最高達 10 μM 時，沒有觀察到與非預期標的產生交互作用，包含未與雌激素、男性荷爾蒙及葡萄糖皮質素受體產生交互作用。

長期試驗的組織病理資料

大鼠試驗

- 一項以 Wistar 大鼠進行的 6 個月重複劑量毒性試驗，劑量達到吸收飽和且達到 31 倍暴露臨界。
- 在標準的組織樣本群中，沒有觀察到與化合物相關的組織病理變化。

非嚙齒類試驗

- 在一項以非人靈長類(Non-Human Primate, NHP)執行的 9 個月重複劑量毒性試驗中，觀察到膽管增生及肝細胞腫大，伴隨反應性嗜中性白血球(reactive neutrophils)及再生性增生，這些發現的無明顯不良反應劑量(No Observed Adverse Effect Level, NOAEL)約為 5 倍暴露臨界。
- 大鼠長期試驗沒有觀察到相似的作用，因此以大鼠做進一步評估也無法提供有用的資訊。

荷爾蒙作用

- 內分泌及生殖器官的重量或組織病理結果中，未觀察到與化合物相關的變化。

基因毒性

- 依 ICH S2(R1)指引標準下，未有證據顯示化合物相關的潛在基因毒性。

免疫調節

- 於臨床病理學或組織病理學結果中，未有化合物相關的免疫組織(例如，淋巴結、脾臟、胸腺、骨髓)變化。

額外調查性試驗

- 無可用數據。

案例二：神經元 GPCR 拮抗劑

案例二摘要：

前瞻性證據權重(WoE)評估

- 該化合物對人類的致癌可能性不高，而對大鼠雖然可能有致癌風險，但此致癌風險係透過已確知與人類無關之機制造成，因此大鼠 2 年期致癌性試驗不具有附加價值。
- 基於大鼠長期試驗所觀察到的毒理作用及同類藥品的腫瘤結果，此化合物具有造成嚙 齒類動物特有之肝癌與甲狀腺癌的潛力。在高倍數的人體暴露量之下，這些大鼠才出現因作用標的藥理學引起的賀爾蒙變化，因此不被認為對人類具有致癌風險。由於該化合物會於大鼠體內釋放氟化物引起氟中毒，而氟中毒為潛在致癌風險，但於人體內並未觀察到該化合物會釋放氟。

大鼠 2 年期致癌性試驗結果

- 大鼠 2 年期試驗結果顯示肝細胞增生，但沒有與該化合物相關的致癌性發現。

支持性 WoE 因子：

<u>作用標的之生物學</u>

- 受體主要表現於大腦，較少表現於周邊組織，這在各物種均相似。
- 受體活化後，促進下視丘產生腎上腺皮質激素釋放激素(adrenocorticotropin-releasing hormone)，進而促進腦下垂體釋放腎上腺皮質激素(adrenocorticotropic hormone, ACTH)。
- 剔除作用標的基因之小鼠模型中，沒有觀察到致癌性相關變化。
- 相似藥品的大鼠 2 年期試驗中，沒有觀察到可明確歸因於作用標的致癌用(請參閱次要級藥理部分了解 off-target 作用)。

次級藥理

- 該化合物會拮抗性結合在一非預期標的之受體，其抑制常數(inhibition constant, Ki)高達 8 倍的最大臨床劑量的最高血中濃度(maximum concentration, C_{max})，且該非預期標的受體之藥理學與腫瘤生成機轉無關。
- 一相似藥品的大鼠 2 年期試驗中，觀察到甲狀腺濾泡腺瘤/癌之現象，此現象與促甲狀腺激素(thyroid stimulating hormone, TSH)升高相關，並且被歸因於一與藥品代謝相關之非預期標的途徑。

長期試驗的組織病理資料

大鼠試驗

- 在人體暴露量的 50~74 倍下，觀察到肝臟肥大及器官重量增加。
- 在人體暴露量的 170~670 倍下，觀察到甲狀腺濾泡肥大。

非嚙齒類試驗

- 在約 230 倍人體暴露量下，觀察到肝臟肥大及器官重量增加。

荷爾蒙作用

- 在大鼠 6 個月試驗中，在超過人體暴露量 74 倍的情況下，觀察到腎上腺重量降低，但沒有伴隨組織病理相關變化，此外亦觀察到 ACTH 濃度降低，這些現象符合該藥品標的受抑制的情況。
- 在大鼠生育力試驗中，60 倍人體暴露量下，可觀察到發情週期不規律、懷孕機率降 低；而在>500 倍人體暴露量下，可觀察到黃體、著床及存活胚胎的數量皆減少，這些現象與黃體激素(luteinizing hormone, LH)及性腺激素(gonadotropin)受抑制的情況一致，而且與抑制該藥品作用標的相關。
- 在 6 個月大鼠試驗中，沒有觀察到生殖器官重量改變或組織病理相關變化。

基因毒性

- 依據 ICH S2(R1)指引的標準，沒有證據顯示藥品及其代謝物具有基因毒性潛力。

免疫調節

- 於臨床病理學、淋巴細胞子集(lymphocyte subsets)、免疫組織(例如：淋巴結、脾臟、胸腺、骨髓)組織病理學的結果中，未有藥品相關之變化。

額外調查性試驗

- 該化合物會誘導 CYP1A2 及 CYP3A1。
- 該藥品會於大鼠體內釋放氟化物，導致氟骨症及氟牙症，但已證實不會發生於人體。

案例三：絲氨酸/蘇氨酸激酶(serine/threonine kinase)抑制劑(新作用標的)

案例三摘要：

前瞻性證據權重(WoE)評估

- 該化合物是否具有潛在致癌性尚無法確定，因此大鼠 2 年期致癌性試驗對於評估其人體致癌風險有幫助。
- 致癌風險的不確定性與下列因素有關：複雜的作用標的藥理學(例如：抑制細胞凋亡)；缺乏藥品作用標的之前例；大鼠 6 個月試驗組織病理學變化引發之疑慮，這些變化缺少可用以解釋的合適機制，且於食蟹猴亦有可支持的類似發現。雖然猴子的免疫毒理學發現(即 T 細胞依賴性抗原反應受到抑制)對評估人體致癌風險有所幫助，但大鼠的致癌性研究不預期能提供此發現的更進一步資訊。

大鼠 2 年期致癌性試驗結果

- 兩種性別皆觀察到藥品相關之腦下垂體腫瘤增加、致死率增高、潛伏期縮短，這些現象可能歸因於作用標的之藥理學。大鼠 2 年期試驗結果有助於人類致癌風險的整體評估。

支持性 WoE 因子：

作用標的之生物學

- 發炎介導氧化壓力(inflammation-related oxidative stress)會活化該藥品之作用標的，進而促進細胞凋亡，此現象與細胞增生的調控有關聯。抑制該作用標的，會抑制細胞凋亡的訊息傳遞並影響細胞增生，理論上會促進致癌風險。
- 在癌症發展過程中，藥品作用標的呈現出組織依賴性的角色，在各動物模式中有觀察到促進作用，也有觀察到抑制作用。
- 缺少轉殖基因小鼠 6 個月試驗及嚙齒類動物 2 年期試驗有關作用標的被抑制之腫瘤結果數據。

長期試驗的組織病理資料

大鼠試驗

- 從人體暴露量的 14 倍開始，在腎臟皮質觀察到嗜鹼性腎小管、嗜酸性小滴(eosinophilic droplets)與棕色色素的發生率和嚴重程度增加，這些現象與人類的關聯性未被釐清。
- 給予 39 倍暴露臨界下，對非腺體的胃臟之限制脊(limiting ridge)造成慢性刺激，此現象與人類的關聯性未被釐清。
- 肝臟重量增加，但沒有伴隨組織病理變化。

非嚙齒類試驗

- 於 12 倍人體暴露量的劑量下，觀察到猴子腸胃道上皮細胞有變性、壞死、反應性增生、擴張、發炎及潰瘍
- 於 12 倍人體暴露量的劑量下，觀察到猴子腎小管有變性、壞死、擴張及空泡形成的發生率增加

荷爾蒙作用

- 於 17 倍人體暴露量下，觀察到大鼠的腎上腺重量變重及腎皮質肥大，此現象與人類的關聯性未被釐清。

基因毒性

- 依據 ICH S2(R1)指引的標準，沒有證據顯示藥品及其代謝物具有基因毒性潛力。

免疫調節

- 在猴子中，觀察到抑制 T 細胞依賴抗原反應，但未影響自然殺手細胞的細胞毒性及顆粒性白血球細胞的功能。
- 於 12 倍人體暴露量下，觀察到脾臟、胸腺、淋巴結的淋巴細胞減少。

額外調查性試驗

- 肝臟酵素CYPs 1A、3A、2B 增加。

案例四：前列腺素受體(prostaglandin receptor)拮抗劑(新作用標的)

案例四摘要：

前瞻性證據權重(WoE)評估

- 該化合物不太可能對大鼠及人類具有潛在致癌性，因此大鼠 2 年期試驗對於評估人體致癌風險並無增值效果。
- 藥品作用標的與癌症發展的角色無關。在超過人體暴露量 50 倍的情況下，大鼠 6 個月試驗並未觀察到組織病理學上的發現。次級藥理學也表明該化合物具有高度的目標選擇性。

大鼠 2 年期致癌性試驗結果

- 未有與化合物相關之致癌性發現。

支持性 WoE 因子：

作用標的之生物學

- 先天免疫細胞上的受體活化與過敏性發炎反應相關，而現有資料並未顯示其於致癌過程中有扮演任何角色。
- 於一年的觀察期中，剔除該作用標的之小鼠未出現組織病理變化或對免疫功能的影響。

次級藥理

- 相較於其他同類受體及其他涉及發炎反應之受體，該化合物對其作用標的之選擇性至少高出 300 倍。
- 於各種受體/離子通道/通道蛋白/酵素的普篩中，該化合物對其作用標的之選擇性至少高出 2000 倍。

長期試驗的組織病理資料

大鼠試驗

- 在最高測試劑量下(約 54 倍人體暴露量)，未觀察到任何組織器官中有增生性變化。

非嚙齒類試驗

- 在非嚙齒類動物達 39 週的重複劑量毒性試驗中，在最高測試劑量下(約 45 倍人體暴露量)，未觀察到任何組織器官中有增生性變化。

荷爾蒙作用

- 於內分泌及生殖器官的重量或組織病理結果中，未有化合物相關之發現。

基因毒性

- 依據 ICH S2(R1)指引的標準，沒有證據顯示具有基因毒性潛力。

免疫調節

- 在大鼠 6 個月重複劑量毒性試驗中，於最高測試劑量下(約 54 倍人體暴露量)，未有免疫功能變化(例如：T 細胞依賴性抗體反應)及對於淋巴細胞子集的不良作用。

額外調查性試驗

- 無可用數據。

ICH S1C(R2)：

藥品致癌性試驗之劑量選擇

(草案)

(Dose Selection for Carcinogenicity Studies of Pharmaceuticals)

衛生福利部食品藥物管理署

中華民國 113 年 O 月

前言

國際醫藥法規協和會(International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, ICH)於 2008 年發布 ICH S1C(R2) (Dose Selection for Carcinogenicity Studies of Pharmaceuticals)指引，為了實現藥品致癌性試驗高劑量選擇標準的國際協合化，並對高劑量選擇建立合理的基礎，制定具有共識並基於科學的高劑量選擇標準。提供藥品致癌性試驗高劑量選擇標準給予指引。

目錄

一、緒論----------1
(一)進行劑量範圍探索試驗之一般考量----------2
(二)高劑量選擇之毒性指標----------2
(三)高劑量選擇之藥物動力學指標----------3
(四)用於高劑量選擇之動物與人類 AUC 比較標準----------3
(五)高劑量選擇之吸收飽和度----------4
(六)高劑量選擇之藥效學指標----------4
(七)最高可投予劑量----------4
(八)劑量限值----------4
(九)額外指標----------5
(十)致癌性試驗之中低劑量選擇----------5
二、總結----------5
三、附註----------5

ICH S1C(R2)：藥品致癌性試驗之劑量選擇

一、 緒論

傳統上,化學物質通常依據 3 個月毒性試驗之數據選出最大耐受劑量(maximally tolerated dose, MTD)作為致癌性試驗的高劑量選擇之標準方法〔附註1〕。

在過去的國際法規單位當中，對於人用藥品之致癌性試驗的高劑量選擇尚未訂立一致的標準。在歐洲及日本已接受基於毒性指標或高達＞10 倍的每日最大人體建議劑量(maximum recommended human dose, MRHD、以 mg/kg 為單位)來選擇劑量。但於美國，傳統上認為依據 MTD 來選擇劑量是唯一合適的方法。所有地區皆使用最高可投予劑量(maximum feasible dose, MFD)作為合適的指標。

對於嚙齒類動物具低毒性的藥品，使用 MTD 可能導致於致癌性試驗投予極高的劑量，劑量通常會比臨床劑量高出許多，即這些嚙齒類動物的暴露劑量大幅超過預期人體暴露劑量下的結果,可能與人類風險無關。這種情況容易產生疑慮，因為極高劑量可能會嚴重改變試驗動物的生理機能，導致試驗結果可能無法反應人類暴露於藥品之後的後果。

理想情況下，在選擇嚙齒類動物試驗的劑量時，所產生的暴露量應(1)具有足夠安全臨界(safety margin)可涵蓋臨床治療暴露劑量、(2)具有耐受性且不造成顯著慢性生理功能不全、具有良好存活率、(3)依據全面性的動物及人類相關資訊，且著重於藥品特性及試驗動物的合適性、(4)允許於臨床使用環境的數據解讀。

為了實現藥品致癌性試驗高劑量選擇標準的國際協合化，並對高劑量選擇建立合理的基礎，ICH 安全性專家工作小組已著手制定具有共識並基於科學的高劑量選擇標準。藥劑物質的特性來使得藥品與其它環境化合物不同，且可說明在某些層面，本指導原則可能與其他指引有所不同。這應增強致癌性試驗與藥品的相關性。因此，除了需要大量與人體相關的藥理學、藥物動力學、代謝體學等資訊外，通常亦須考慮適應症及病人族群、預期用法用量、暴露範圍、人體無法耐受之毒性或副作用等資訊。開發藥品時，試驗物質具有多樣的化學、藥理學性質及致癌機轉，需要靈活的策略來選擇劑量。此章節提供的任一種方法可用於劑量選擇，且應可為藥品致癌性試驗的劑量選擇提供更合理的方法，這些方法包含(1)基於毒性之指標、(2)藥物動力學指標、(3)吸收飽和度、(4)藥效學指標、(5)最高可投予劑量、(6)劑量限值、(7)額外的指標。

在決定最合適的指標來選擇致癌性試驗的高劑量時，考量所有相關的動物數據與整合可用的人體經驗是非常重要的。選擇致癌性試驗的劑量時，無論最終使用何種指標選擇高劑量，皆應考慮藥物動力學、藥效學及毒性等相關數據。

在定義這些靈活彈性策略的過程中，可認知到目前對於致癌機轉不甚瞭解，此外，也可認知到使用嚙齒類動物評估人體致癌性風險的侷限性，但其仍是當下最好的選擇。因此，雖然已嘗試使用藥品衍生物質的血漿濃度，試圖進行嚙齒類動物試驗設計的改良，但這塊領域仍須繼續探討，以找出評估人類致癌性風險的最佳方法。本指導原則目的在於提供此複雜、困難領域給予指引，若隨後出現任何可用之新數據時，將持續更新指導原則之內容。

（一） 進行劑量範圍探索試驗之一般考量

無論最終使用何項指標，為了選擇致癌性試驗的高劑量而進行劑量範圍探索試驗時，所涉及的考量因素都是相同的，包含：

(a) 在實務面上，致癌性試驗能使用大鼠及小鼠的品系是有限的，必須使用能取得完整原發性腫瘤的發生率數據的品系。此外，在理想狀況下，應採用代謝特性盡可能與人相似的物種或品系〔附註 2〕。

(b) 劑量範圍探索試驗應針使用擬於致癌性試驗中的所有品系/物種的雄性/雌性進行。

(c) 通常會依據預期的投藥途徑與方法的90 天試驗來選擇劑量。

(d) 應基於臨床使用、暴露方式、藥品動力學及實際面考量，選擇合適的投藥計畫與方案。

(e) 理想情況下，應針對毒性輪廓(toxicity profile)以及劑量限制毒性(Dose-Limiting Toxicity, DLT)進行特性分析，亦須考量一般毒性、癌前病變、組織特異性增生作用以及干擾內分泌的證據等。

(f) 應瞭解代謝體輪廓(metabolite profile)或代謝酵素活性(誘導及抑制作用)與時間相關變化，以利判讀試驗結果。

（二） 高劑量選擇之毒性指標

ICH S1 同意於致癌性試驗選擇高劑量時，可評估 MTD 以外的指標。但必須基於試驗物質的藥理學特性及毒性輪廓。目前對於 MTD 以外的指標，尚未有科學性共識，因此，ICH 安全性專家工作小組同意於致癌性試驗的高劑量選擇中，繼續使用 MTD 作為有效的毒性指標。

下列 MTD 的定義符合其他國際法規單位曾發布的定義〔附註 1〕，最高劑量或最高耐受劑量為預期在致癌性試驗中產生輕微毒性反應的劑量，這些反應可從觀察到最小毒性的 90 天劑量範圍探索試驗來預測。需要考量的是預期會改變動物正常壽命長度或干擾試驗判讀的生理功能變化，這些因素包含:與對照組相比，

動物體重增幅不可下降 10%以上、作用標的器官毒性、臨床病理參數的顯著變化等。

（三） 高劑量選擇之藥品動力學指標

藥品若在人類與嚙齒類動物具有相似的代謝體輪廓，且對嚙齒類動物的器官毒性較低(即嚙齒類動物對高劑量具有良好耐受性)，這類藥品在決定致癌性試驗劑量選擇的合適指標時，可使用高達數倍曲線下面積(Area Under Curve, AUC)(於MRHD)之全身性暴露劑量。

為確保能充分評估藥品致癌性試驗的合適性，動物的全身性暴露劑量應足以超過臨床暴露劑量。不同物種可能會因為具有不同代謝、排泄模式，投藥劑量未必能反應其組織濃度。相較於投藥劑量，透過血液中藥品及其代謝物的濃度能更好的評估全身暴露劑量的可比性。血漿中非結合態藥品(unbound drug)之量測，被認為是最具關連性的藥品組織濃度間接測定法。目前 AUC 被認為是較全面性的藥品動力學指標，不僅涵蓋化合物的血漿濃度，亦考慮到化合物於體內停留的時間。

迄今，藉由比較動物體及人體的血漿藥品濃度來評估人體致癌性風險的方法，尚未經科學性驗證。然而，就目前及依據MTD 進行致癌性試驗數據庫的分析中，在選擇致癌性試驗的高劑量時，當鼠類對人類的藥品及其代謝物血漿暴露比例為 25 比 1 時，此模式被認為是合適標準〔附註 3〕。

（四） 用於高劑量選擇之動物與人類 AUC 比較標準

以下標準特別適用於其高劑量的選擇是基於藥品動力學所定義的暴露量：

(a) 藥品動力學試驗與致癌性試驗應使用相同的嚙齒類動物品系、臨床預期投藥途徑及劑量範圍〔附註 4〕〔附註 5〕〔附註 6〕。

(b) 於劑量範圍探索試驗的藥品動力學數據，應觀察足夠的試驗期間，以取得時間依賴性(time-dependent)藥物動力學相關參數。

(c) 應提供人類及嚙齒類動物具有相似代謝情況之相關證據〔附註 7〕。

(d) 在評估暴露量時，要藉由科學性判斷其 AUC 數值比較是基於試驗物質本身、試驗物質與其代謝物、或其代謝物的數據，並說明其判斷依據。

(e) 在估計相對暴露量時，應考慮物種之間藥品對蛋白質結合能力的差異性〔附註 8〕。

(f) 藥物動力學數據應涵蓋每日最大人體建議劑量〔附註 9〕。

（五） 高劑量選擇之吸收飽和度

可考慮依據藥品相關物質的生體可用率來測量藥品的吸收飽和程度，來進行高劑量的選擇。選擇致癌性試驗的中低劑量時，亦應考量代謝及排泄途徑的飽和程度。

（六） 高劑量選擇之藥效學指標

許多藥品的實用性及安全性皆取決於其藥效學的受體選擇性。使用藥效學指標來選擇高劑量時，應將具有高度化合物特異性，且可依據其科學價值考慮用於個別研究設計中。所選擇的高劑量投藥於動物體內產生的藥效反應，其幅度應足以避免進一步提升劑量。然而，此高劑量不應干擾生理或恆定狀態，而影響試驗結果的有效性，範例包含低血壓及抑制血液凝固(因為有自發性出血風險)。

（七） 最高可投予劑量

目前，飲食投藥(dietary administration)的最高可投予劑量為飲食量的 5%，但國際法規單位正重新評估該標準。依照本指導原則所討論，使用藥物動力學指標(即 AUC 比例)來選擇較低毒性之藥品的劑量，應該會顯著減少使用最高可投予劑量的情況。

若有飲食投藥以外的合適投藥途徑，可基於考量包含實用性及局部耐受性，用於限制高劑量。

（八） 劑量限值

使用本指導原則所列出的方法以決定致癌性試驗的高劑量時，可將 mg/kg/day 視為合適的劑量限值〔附註 10〕，此劑量限值適用於每日最大人體建議劑量不超過 500 mg/day 的情況〔附註 11〕。

應提供嚙齒類動物與人類對藥品及其代謝物暴露量互相比較的數據，主要用於支持及解釋致癌性試驗的劑量選擇。依據此類訊息，可能有限值 1500 mg/kg/day 不適用的情況，因為無法保證動物於 1500 mg/kg/day 時的暴露量足夠高於人體暴露量。嚙齒類動物在 1500 mg/kg/day 的全身性暴露量，相較於預期人體治療劑量所測得的人體暴露量，應至少高出一個數量級(an order of magnitude)。(若不能達到此條件，應嘗試增加嚙齒類動物的暴露劑量，或視個案情況，重新考慮動物模式。)如果人體劑量會超過 500 mg/day，則高劑量應增加至最高可投予劑量。

（九） 額外指標

使用本指導原則中未具體定義的替代指標，也可能有助於選擇嚙齒類動物致癌性試驗的高劑量。在個別研究設計中選擇使用這些額外指標，應基於科學性原理。此設計應依據各別優勢進行評估〔附註 12〕。

（十） 致癌性試驗之中低劑量選擇

無論以何種方法選擇高劑量，在選擇致癌性試驗的中低劑量時，應提供有助於評估試驗結果與人類相關性的資訊。應根據嚙齒類動物與人類的藥物動力學、藥效學、毒性數據整合來選擇劑量，並提供選擇此劑量的理由。雖然無法包羅萬象，但在選擇致癌性試驗的中低劑量時，應考慮下列幾點：

(a) 藥物動力學之線性參數與代謝途徑的飽和程度。

(b) 人體暴露劑量與治療劑量。

(c) 嚙齒類動物的藥效學反應。

(d) 正常嚙齒類動物之生理狀態的改變。

(e) 作用機轉資訊及潛在的閾值效應(threshold effects)。

(f) 在短期試驗所觀察到毒性進展之不可預測性。

二、 總結

本指導原則概述藥品於致癌性試驗選擇高劑量的六個標準：最大耐受劑量、25 倍 AUC 比例(鼠類：人類)、劑量限制藥效學反應、吸收飽和度、最大可利用劑量與劑量限值。若試驗設計考慮使用其他的藥效學、藥物動力學或基於毒性之指標時，應基於科學性原理及個別優勢。在任何情況下，都應先執行合適的劑量範圍探索試驗。應考慮所有相關資訊，用以選擇致癌性試驗的合適劑量與物種/品系，相關資訊包括用於人體用途的資訊、暴露模式與代謝學等資訊。可使用多種指標來選擇劑量，提供良好的靈活彈性，以優化治療藥品之致癌性試驗的設計。

三、 附註

附註 1. 下列說明 MTD 相當於毒性指標之定義：

美國致癌物質跨部門人員小組(US Interagency Staff Group on Carcinogens)定義 MTD 如下：“目前建議的最高劑量是，在慢性試驗

(chronic study)投藥劑量時，該劑量僅造成最小毒性症狀，且除致癌性作用之外，不會影響動物正常壽命，該劑量有時稱為 MTD，主要在亞慢性試驗(通常持續 90 天)中，依據死亡率、毒性與病理學標準來確認。MTD 的毒性程度不應產生嚴重干擾判讀的形態學變化。也不應占飲食很大部分，以防改變飲食的營養成分導致營養失衡。”

“MTD 最初是基於亞慢性試驗中觀察到體重增加的數值降低；意即，導致體重增加的數值下降至不超過 10%的最高劑量。而近期的研究與對生物測定的評估指出，應基於更廣泛的生物學資訊，用於優化 MTD 的選擇。體重及器官重量的變化，以及血液學、尿液和臨床生化測量的臨床顯著變化，通常可與更明確的毒性、病理學或組織病理學指標結合使用。”(環境健康視角(Environmental Health Perspectives)，第 67 卷、第 201 至 281 頁，1986 年)

日本厚生勞動省說明如下：“初步致癌性試驗中，使用劑量與對照組相比，抑制體重增加須小於 10%，且動物不因毒性反應造成死亡，亦不顯著影響臨床徵象及實驗結果，作為最高劑量用於全面的致癌性試驗。”(Toxicity test guideline for pharmaceuticals，第五章，第 127 頁，1985 年)

歐盟醫藥品委員會(Committee for Medicinal Products for Human Use, CHMP)的規定如下：“最高劑量應產生最小的毒性作用，例如，10%的體重減輕、阻止生長、或最小的作用標的之器官毒性。作用標的之器官毒性可透過生理功能障礙及最終病理學變化來證實。” (Rules Governing Medicinal Products in the European Community，第 III 卷，1987 年)

附註 2. 這並不代表應調查所有嚙齒類動物品系的代謝體輪廓，而是應針對欲使用於致癌性試驗中的動物品系進行調查。

附註 3. 為了選用多個人類 AUC 作為致癌性試驗之劑量選擇可使用的指標，對使用 MTD 執行致癌性試驗的藥品其數據進行回溯性分析，該分析具有足夠的藥物動力學數據可用於人類與嚙齒類動物之 AUC 數值比較。

使用 MTD 進行 35 種藥品致癌性試驗中，具有充足的大鼠及人類之藥物動力學數據，約有 1/3 種藥品的相對全身性暴露量(relative systemic exposure ratio)比例小於或等於 1，而另有 1/3 種藥品的暴露比例落於 1 至 10 之間。

合併前述之數據庫，針對相對全身性暴露量比例、相對劑量比例(relative dose ratio、大鼠 mg/kg：人類 mg/kg MRHD)、及依據體表面積調整之劑量比例(dose ratio adjusted for body surface area、大鼠 mg/m^2 MTD：人類

mg/m^2 MRHD)，比較三者之間的相關性，結果指出，相對全身性暴露量與以體表面積依據的劑量更具相關性，而非以體重表示的劑量。當採用這種方法分析擴展後 FDA 資料庫中 123 種化合物時，觀察到相對全身性暴露量出現類似的分佈。在選擇使用相對全身性暴露比例(AUC 比例)作為高劑量的選擇時，應考慮該比例能夠涵蓋充足的安全臨界、能偵測已知或潛在的人類致癌物質，且可從合理比例的化合物中取得比例。

為能有效檢測已知或潛在人體致癌性藥品，針對國際癌症研究署(International Agency for Research on Cancer, IARC)分類 1 級及 2A 級致癌藥品於陽性反應的大鼠體內，分析其暴露量及劑量比例，對於非那西丁(Phenacetin)，可取得足夠的大鼠和人類知藥物動力學數據，已估計在大鼠致癌性試驗中，發現相對全身性暴露量比例至少為 15 倍時，會產生陽性結果。對於其他 14 種 IARC 1 級及 2A 級致癌藥品具陽性致癌性結果的大鼠試驗，大多數缺乏足夠的藥物動力學數據進行分析，對於這些化合物，依據體表面積調整之劑量比例替代相對全身性暴露比例進行分析，其分析結果顯示在嚙齒類動物使用體表面積比例對應為 10 倍或更高的劑量時，觀察到藥品的潛在致癌性。

依照前述評估的結果，可將最小全身性暴露比例為 25 倍，視為可使用的高劑量選擇之藥物動力學指標，此數值取自於 FDA 數據庫中，約 25%的化合物進行的測試結果〔請參見附註 10〕，是足以檢測已知或潛在(IARC 1 級及 2A 級)人體致癌性藥品，且涵蓋足夠的安全臨界。而使用 25 倍或更高 AUC 比例進行高劑量測試的藥品，其暴露比例大於 75%先前使用 MTD 作為高劑量進行致癌性試驗的藥品。

附註 4. 作為亞慢性毒性試驗或劑量範圍試驗的一部分，可透過單獨的穩定狀態(steady-state)動力學研究取得嚙齒類動物的 AUC 與代謝體輪廓。

附註 5. 通常可使用少量動物即可取得嚙齒類動物的 AUC 數值，但具體仍取決於投藥途徑 與試驗化合物之藥物動力學特性及其數據之可用性。

附註 6. 應使用具有足夠靈敏性與準確度的等效分析方法，用以確認藥品於嚙齒類動物與人體內的血漿濃度。

附註 7. 若可得，建議分析人類及嚙齒類動物體內代謝反應的特性。然而，在缺乏合適體內數據時，可使用體外代謝數據(例如：肝臟切片、未經誘導的代謝酵素)作為相似的跨物種代謝反應，提供適當的支持。

附註 8. 雖然於體內測定非結合態藥品(unbound drug)為最佳方法，但仍可視情況，於體外測定藥品及其代謝物之蛋白質結合(protein binding)狀況(在嚙齒類動物及人體內所達到之濃度範圍內)，以利評估非結合態藥品之AUC。當人類及嚙齒類動物的蛋白質結合率都較低、或蛋白質結合率高且嚙齒類動物的非結合態藥品的比例大於人類時，可以比較藥品的總血漿濃度(total plasma concentration)。當蛋白質結合率高但人類的非結合態藥品的比例大於嚙齒類動物時，則應該要比較非結合態藥品濃度的比例。

附註 9. 人類的全身性暴露數據可從志願受試者和/或病患受試者監測其藥物動力學中取得。應考慮各種個體間存在廣泛性暴露量差異的可能性。在未知人體最大建議每日劑量的情況下，至少應使用能夠於人體中產生所需藥效學的劑量，以取得藥物動力學數據。

附註 10. 在 FDA 致癌性數據庫中，針對近 900 項致癌性試驗進行回顧，約 20 項試驗使用 1000 mg/kg 或更高的劑量作為最高劑量。這些試驗中約 10 項試驗被認為已證明具有致癌性，而其中 7 項僅在 1000 mg/kg 或更高劑量時，才呈現陽性。其中一些案例 導致了監管行動。基於前述結果，致癌性試驗的劑量限值應為 1500 mg/kg 而非 1000 mg/kg，以避免採用 1000 mg/kg 的劑量限值無法識別致癌物質的風險。

附註 11. 目前已有共識，如果某種藥品僅於嚙齒類動物劑量高於人體暴露量 25 倍時，才呈現陽性反應，即認為該發現可能不會反映對人體具有相關風險。目前已知，相較使用 mg/kg，使用 mg/m^2 能更好的預估嚙齒類動物與人體之間相對全身性暴露量比例〔附註 3〕，因此，人體使用劑量應基於 mg/m^2 換算，且相較致癌性試驗使用的高劑量低 25 倍。將大鼠劑量自 mg/kg 換算成 mg/m^2 時，需乘以 6-7(6.5)，而將人類劑量自 mg/kg 換算成 mg/m^2 時，應乘以 40，因此，預估嚙齒類動物與人類的相對全身性暴露量比例為25 倍時，即等於約 25 倍的 mg/m^2 比例，或 150 倍 mg/kg 比 ($150 \approx 25 \times 40 / 6.5$)。所以，若人體使用劑量低於 10 mg/kg/day(約 500 mg/day 或更低)，可於大鼠中使用 1500 mg/kg 作為高劑量。

附註 12. 目前仍在討論哪些額外的藥品特異性指標可用於選擇合適的高劑量(例如：額外的藥效學、藥物動力學、毒性指標及最高可投予劑量的替代方法)。

ICH S2(R1)：

人體用藥基因毒性測試與數據判讀指引

(草案)

(Genotoxicity Testing and Data Interpretation for Pharmaceuticals Intended for Human Use)

衛生福利部食品藥物管理署

中華民國 113 年 O 月

前言

國際醫藥法規協和會(International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, ICH)於 2020 年發布 ICH S2(R1)(Guidance on Genotoxicity Testing and Data Interpretation for Pharmaceuticals Intended for Human Use)指引，其優化標準基因毒理試驗群，以預測潛在的人體風險性，並提供對結果解讀，最終目標為對因基因物質改變產生的致癌效應，改進其風險特性評估，並敘述國際上所公認，在標準基因毒理試驗群所呈現體外和體內陽性結果，其後續追蹤測試和解讀的基準，包括非關聯性發現的評估。本指引僅適用於人體用藥的產品開發。

目錄

一、緒論----1
(一)目的----1
(二)背景說明----1
(三)適用範圍----1
(四)通則----1
二、基因毒性標準測試群----2
(一)理論基礎----2
(二)說明標準測試群的兩種選項----3
(三)對測試群作修改----4
1.探索性臨床試驗----4
2.測試對細菌具毒性之化合物----5
3.帶有基因毒性活性警示結構之化合物----5
4.體內測試在應用上的限制----5
(四)生殖細胞致突變劑的檢測----5
三、體外測試之建議----6
(一)重複測試與判讀----6
(二)細菌突變試驗之建議----6
1.高劑量與最大劑量的選擇----6
2.試驗設計/測試計畫----7
(三)哺乳類細胞試驗之建議----7
1.最高濃度之選擇----7
2.試驗設計/測試計畫----8
3.陽性對照----8
四、體內試驗之建議----9
(一)體內染色體損傷之檢測----9
(二)其他體內基因毒性測試----9
(三)體內測試之劑量選擇----9

1.短期試驗----------10
2.多重投予試驗----------10
3.對血液或骨髓具毒性之化合物的檢測----------11
(四)體內測試結果證明標靶組織為陰性----------11
1.當體外基因毒性試驗呈陽性結果(或未進行)----------12
2.當體外基因毒性試驗呈陰性結果----------13
(五)體內試驗之採樣時機----------13
(六)用於分析之動物數量----------13
(七)使用嚙齒類動物雄性/雌性進行體內基因毒性測試----------13
(八)給藥途徑----------14
(九)使用陽性對照於體內之試驗----------14
五、測試結果評估與追蹤測試策略之指引----------14
(一)生物學相關性評估----------14
(二)體外測試結果之評估----------15
1.體外細菌突變試驗陽性結果之評估----------15
2.體外哺乳類細胞試驗陽性結果之評估----------15
3.體外試驗陰性結果之評估----------16
(三)體內測試結果之評估----------16
(四)對陽性結果的追蹤策略----------17
1.體外哺乳類細胞測試結果之追蹤----------17
2.體內微核試驗陽性結果之追蹤----------18
(五)致癌物試驗發現腫瘤之基因毒性測試追蹤----------18
六、註釋----------19
七、詞彙表----------25
八、參考文獻----------29

S2(R1)：人體用藥基因毒性測試與數據判讀

一、 緒論

(一) 目的

本指引取代並結合 ICH S2A 和 S2B 指引。本次修訂之目的是優化標準基因毒理試驗群，以預測潛在的人體風險性，並提供對結果解讀的指引，最終目標為對因基因物質改變產生的致癌效應，改進其風險特性評估。修訂後的指引敘述國際上所公認，在標準基因毒理試驗群所呈現體外和體內陽性結果，其後續追蹤測試和解讀的基準，包括非關聯性發現的評估。本指引僅適用於人體用藥的產品開發。

(二) 背景說明

本指引將最新版的經濟合作與發展組織(Organization for Economic Co-operation and Development, OECD)指引，與國際基因毒性測試工作坊(International Workshops on Genotoxicity Testing, IWGT)報告的建議納入考量。對於某些情況與 OECD 或 IWGT 的建議有所不同，已在文中註明。本指引的注意事項應與其他 ICH 指引一起應用。

(三) 適用範圍

本指引的焦點在於對新的「小分子」藥品的測試，並不適用於生物製劑。關於與臨床發展相關試驗時機的建議，可參考 ICH M3(R2)指引。

(四) 通則

基因毒性測試被定義為檢測透過不同機制誘發基因損傷化合物的體外和體內測試。這些測試可識別與 DNA 及其固定形式中的損傷有關的危害。對於遺傳效應和惡性腫瘤的多階段形成過程來說，DNA 損傷如基因突變、大規模染色體損傷或重組的固定通常被認為是必需的。遺傳性變化可能只是惡性腫瘤多階段成型過程的一部分。數值性染色體變化也與腫瘤形成有關，並可能表示生殖細胞產生異倍體的潛力。在可檢測此類損傷的測試中呈陽性反應的化合物可能具

有致癌和/或致突變作用。考慮到特定化學物質與癌症之間的關係已經被建立起來，而類似關係在遺傳疾病方面難以證明，因此基因毒性試驗主要用於預測致癌性。然而，由於生殖細胞突變與人類疾病明顯有關，因此誘發遺傳效應之化合物的懷疑程度與誘發癌症之懷疑程度同樣嚴重。此外，基因毒性試驗的結果對於判讀致癌性研究具有價值。

二、 基因毒性標準測試群

(一) 理論基礎

藥品註冊需要全面評估其基因毒性。經過深入的研究，已經證明許多在細菌回復突變(Ames)試驗中呈突變原性的化合物，也是嚙齒動物致癌物質。加入哺乳動物體外試驗可以提高對嚙齒動物致癌物質的檢測靈敏度，與擴大基因事件的檢測範圍，但也會降低預測的準確性，亦即增加了與嚙齒動物致癌性不一致的陽性結果發生率。無論如何，使用一整套試驗仍然是合理的，因為沒有單一的測試能夠檢測所有與腫瘤形成相關的基因毒性機制。

標準測試群的一般特徵如下：

i. 以一個細菌逆轉基因突變測試評估致突變性。此測試已顯示可檢測相關的基因變化，與大部分嚙齒動物和人類的基因毒性致癌物。

ii. 還應以下列方式在哺乳動物細胞體外和/或體內評估基因毒性：

一些體外哺乳動物細胞系統已被廣泛應用，並經過充分的驗證：體外中期染色體異常試驗(metaphase chromosome aberration assay)、體外微核試驗(註 1)，與小鼠淋巴瘤 L5178Y 細胞 TK(thymidine kinase)基因突變試驗(MLA)。目前認為這三個試驗對於檢測染色體損傷同等適合，因此如果使用本指引推薦的測試方案，與標準組合中的其他遺傳毒性試驗一起應用時，這幾個試驗可互換。

測試群包含體內試驗，係因一些藥品在體內中具有致突變性，但在體外則否(註 2)，並且體內試驗可以把吸收、分佈、代謝和排泄等因素納入考量。基於此原因，目前選擇將紅血球的微核(血液或骨髓中)或骨髓中期細胞染色體異常的分析測試納入(註 3)。雖然應用還不廣泛，從處理的動物中培養的淋巴細胞，也可以用於細胞遺傳學分析。

在體外和體內測量中期細胞內染色體異常的試驗，可以檢測到染色體完整性方面的各種變化。染色單體或染色體的斷裂，如果產生無著絲粒片斷，可導

致微核形成；因此，無論是檢測染色體畸變或是檢測微核的試驗，均可用於檢測染色體斷裂原。微核也可產生于細胞分裂後期時一個或多個染色體遲滯，因此微核試驗也具有檢測某些非整倍體誘導劑的能力。MLA 可以檢測到 TK 基因突變和染色體損傷所致的 TK 基因突變。有一些證據顯示 MLA 還可以檢測染色體丟失。

測試群中還有一些額外的體內試驗，可以用作測試群或後續試驗，來評估體外或體內測試結果的權重證據(詳見下文)。適當的體內試驗(通常有兩項)結果為陰性，其測量指標有足夠的正當理由，並且證實有足夠的藥品暴露(見第四章第(四)節)，一般認為足以證明不存在顯著的基因毒性風險。

(二) 說明標準測試群的兩種選項

下列兩個選項對標準測試群具同等的適用性(註 4)：

選項 1

i. 一項細菌基因突變測試。

ii. 一項染色體損傷的細胞遺傳學檢測(體外中期染色體異常試驗，或體外微核試驗)，或一項體外小鼠淋巴瘤 TK 基因突變試驗。

iii. 一項體內基因毒性試驗，通常採用嚙齒動物造血細胞進行的染色體損傷，用於檢測微核或中期細胞染色體異常。

選項 2

i. 一項細菌基因突變測試。

ii. 對兩種不同組織進行體內基因毒性評估，通常是一項嚙齒動物造血幹細胞微核試驗和第二項體內試驗。典型的試驗是在肝臟組織中進行 DNA 單股斷裂試驗，除非有其他正當理由(見下文，以及第四章第(二)節和註 12)。

選項 1 有較多的歷史經驗，部分原因是基於 S2A 和 S2B 指引的推薦。然而，同等認可選項 1 和選項 2 的原因如下所述：當哺乳動物體外測試呈陽性結果時，在採用合適的組織和顯示有充分的暴露下，兩項執行良好的體內試驗呈現明確陰性結果，即足以證明該試驗在體內不具有基因毒性的風險(見第五章第(四)節)。因此，進行兩項體內試驗的策略，和追蹤在體外試驗呈現陽性結果所採用的策略相同(註 4)。

在兩個標準測試群選項中，可以使用急性或重複劑量的體內研究設計。如果有多次給藥，在科學上有正當理由，應嘗試將基因毒性終點指標納入毒性研究中。如果在體內進行多個終點指標的評估，最好將其整合至單一試驗中。通常在開始進行研究之前，就有足夠有關所使用劑量對於重複劑量毒性研究合適性的資訊，可用於確定是採急性或是整合性的測試。

對於得到陰性結果的化合物，完成任何一種標準測試群中的選項，且符合當前建議的執行和評估，通常足以證明其不具有基因毒性風險，而無需進一步的測試。對於在標準測試群中呈陽性結果的化合物，可能需要根據其治療用途進行更詳盡的試驗(見第(五)節)。

目前有數種體內試驗可作為選項 2 第二部分的體內評估(詳第四章第(二)節)，其中有些可以整合在重複劑量毒性試驗。考量暴露量與代謝能力，試驗一般以肝臟組織為優先選擇，但挑選體內試驗用的組織與試驗時，應將諸多因素納入考量，例如任何關於化合物的可能機轉、體內代謝，或具相關性組織的暴露量等知識。

染色體數量改變的資訊，可透過哺乳類細胞體外試驗取得，亦可透過細胞微核體外或體內試驗取得。標準試驗的計畫中能提示出這方面可能性的部分是有絲分裂指數升高、多倍體誘導與微核評估等。亦有試驗證據指出在 MLA 中可檢測出紡錘體損害。選項2之細胞遺傳學體內試驗，以微核試驗為首選，而非染色體畸變試驗，以提高直接測得染色體丟失(產生非整倍體之可能性)的能力。

建議採用標準試驗組合並不意味將其他基因毒性試驗均視為不充分或不適當。額外的測試可作為標準測試群所得之基因毒性結果的進一步研究(見第四章第(二)與(五)節)。包括非嚙齒動物在內的其他動物物種，如果需要且已充分證明合適，亦可在試驗中替代使用。

若因為技術上的因素，使得標準測試群中有一或數項測試不能進行，如果能提供充分的科學合理性，經過驗證的其他試驗可用作替代試驗。

(三) 對測試群作修改

以下說明可以對標準測試群進行修改的情況。

1. 探索性臨床試驗

對於某些探索性臨床研究，可能僅需較少的基因毒性試驗，或對體內試驗最高劑量的合理性，可以有不同的標準(見 ICH M3(R2)指引)。

2. 測試對細菌具毒性之化合物

在化合物對細菌具有高毒性的情況下(例如某些抗生素)，仍然應進行細菌回復突變(Ames)測試，如同在哺乳類細胞測試細胞毒性化合物，因為其致突性可發生於較低或較小毒性的濃度。在這種情況下，還應進行任一種體外哺乳動物細胞試驗，即採用選項 1。

3. 帶有基因毒性活性警示結構之化合物

通常情況下，具有警示結構的化合物(註 5)可經由標準測試群檢測其基因毒性，因為大多數的「警示結構」被定義為與細菌致突變性有關。然而，已知少數化學類別在哺乳動物細胞染色體損傷試驗，比在細菌致突變性試驗更容易檢測出來。因此，對於具有警示結構的化合物，若在任一測試群中呈現陰性結果，通常足以認定其不具有基因毒性。然而，對於具有某些特定警示結構的化合物，可能需要針對標準測試計畫進行調整(註 5)。額外測試的選擇或計畫的調整，要視該警示結構化合物的化學性質、已知活性和任何代謝數據而定。

4. 體內測試在應用上的限制

對有些化合物，許多體內測試(通常為針對骨髓、血液或肝臟的試驗)並無法提供額外有用的資訊。這些化合物的毒理動力學或藥品動力學資料顯示其無法全身吸收，因此無法到達標靶組織。這類化合物例如某些放射性顯影劑、含鋁制酸劑、某些吸入給藥化合物，與皮膚或其他局部用藥。如果改變給藥途徑仍無法提供足夠的標靶組織曝露量，以及對暴露量最高的組織沒有合適的基因毒性試驗，可考慮僅以體外試驗結果進行評估。有些情況下，可以在接觸部位評估基因毒性作用，儘管此類試驗尚未被廣泛應用(註 6)。

（四） 生殖細胞致突變劑的檢測

比較研究結果顯示，就定性觀點而言，大多數生殖細胞致突變劑，很可能在體細胞(somatic cell)試驗中檢測出具有基因毒性。因此體內體細胞基因毒性試驗的陰性結果，通常表示其對生殖細胞無影響。

三、 體外測試之建議

(一) 重複測試與判讀

試驗結果的再現性，是試驗研究包含有新穎方法或獲得非預期結果的基本組成。然而，採用標準化和廣泛使用的基因毒性測試進行藥品的常規檢測，通常不需要進行重複試驗。這些試驗因已經充分確定並具備足夠的內部控制，通常不需要針對明確的陽性或陰性試驗重複進行。理想情況下，測試結果應當能夠明確界定為陰性或陽性，但有時因試驗結果達不到預先設定的陽性或陰性結果的判定標準，而被認定為"可疑"。統計方法的應用有助於資料的解讀，但適當的生物學解釋分析至關重要。對可疑結果進行重複試驗，可得到：(i)明確的陽性結果，因此結論是陽性；(ii)陰性的結果，可疑結果缺乏再現性，結論是陰性；(iii)另一個可疑的結果，最終結論仍是可疑。

(二) 細菌突變試驗之建議

OECD 的指引(1997)與 IWGT 報告(Gatehouse 等，1994)均對試驗計畫提出建議。

1. 高劑量與最大劑量的選擇

當不受溶解度或細胞毒性限制時，建議最高劑量為 5000 μg/plate(液態測試物質為 5 μL/plate)。

溶解度之限制

對於細菌培養，如果沉澱不干擾評分、不受細胞毒性限制，應對產生沉澱的劑量進行評分，且最高劑量不超過 5000 μg/plate(液態測試物質為 5 μL/plate)。若未觀察到細胞毒性，應以最低沉澱劑量作為評分的最高劑量。若注意到劑量相關之細胞毒性或致突變性，則不管溶解度，評分之最高劑量應依如下所述之細胞毒性標準。

細胞毒性之限制

在 Ames 測試，所選擇評分的劑量應具有明顯之毒性，但最高劑量不應超過 5000 μg/plate。毒性可藉由減少逆轉變菌群之數量，與/或減弱背景菌群之方法來判斷。

2. 試驗設計/測試計畫

建議使用 OECD 推薦，能夠檢測鹼基置換和框移突變的細菌菌株組合，包括：

- 鼠傷寒沙門氏菌(salmonella typhimurium)TA98；
- 鼠傷寒沙門氏菌 TA100；
- 鼠傷寒沙門氏菌 TA1535；
- 鼠傷寒沙門氏菌 TA1537 或 TA97 或 TA97a 三選一；
- 鼠傷寒沙門氏菌 TA102 或大腸桿菌 WP2 uvrA 或大腸桿菌 WP2 uvrA (pKM101)三選一。

和 OECD 和 IWGT 建議的一個不同點在於，依據測試藥品的經驗，若測試結果是明確的陰性或陽性，且試驗完全依照適當的試驗計畫進行，包括所有菌株有代謝活化和無代謝活化、符合最高劑量選擇標準的合適劑量範圍，與適當的陽性和陰性對照，則一個單獨的 Ames 測試已足夠。此外，在測試藥品時，該單一實驗可使用紙皿法或預培養法(註 7)。如果結果可疑或弱陽性，則可能需要重複測試，也可能需要調整試驗計畫，例如：適當的間隔劑量範圍。

（三） 哺乳類細胞試驗之建議

OECD 指南(1997)和 IWGT 出版物(Kirsch-Volders 等，2003; Moore 等，2006)提供對於試驗計畫的建議。(Moore 等，2006)也提供對於解讀 MLA 結果的建議，包括採用全球評估因子。以下列出針對藥品測試與上述建議的一些不同點，特別是最高濃度的選擇(詳見下文)。

1. 最高濃度之選擇

<u>最大濃度</u>

當不受溶媒或培養液中的溶解度或細胞毒性限制時，建議的最高濃度 1 mM 或 0.5 mg/mL，以其中較低者為準(註 8)。

<u>溶解度之限制</u>

當有溶解度的限制，若沒有細胞毒性的限制時，最高濃度應在評分不受干擾下，在培養液中可見最少沉澱的最低濃度。評估沉澱可以肉眼或以光學顯微鏡等方法來進行，說明在培養過程中沉澱物持續存在或出現(至給藥結束)。

細胞毒性

進行中期染色體畸變或微核的體外細胞遺傳學試驗時，細胞毒性不應超過將細胞生長減少約 50%(註 9、註 10)。對於 MLA，以相對總生長率(RTG)測量數值為 20-10%，最高劑量應有 80-90%的細胞毒性(註 9)。

2. 試驗設計/測試計畫

對於體外進行染色體中期細胞染色體損傷的細胞遺傳學評估，測試計畫應包括有與無代謝活化的測試，以及適當的陽性和陰性對照。測試物質的給藥處理時間應為 3 至 6 小時，採樣時間為給藥處理開始後的約 1.5 個正常細胞週期。在有和無代謝活化兩種情況下短期處理結果為陰性或可疑時，應進行無代謝活化情況下，持續給藥處理到約 1.5 個正常細胞週期採樣時間的測試。同樣的原則也適用於體外微核試驗，除了採樣時間為從給藥處理後的 1.5~2 個正常細胞週期，以讓細胞完成有絲分裂並進入下一個分裂間期。對於這兩種體外細胞遺傳學試驗，某些類型的化合物可能需調整試驗計畫，因為其在更長給藥處理時間、延長採樣時間或恢復期後更易檢測到，如某些核苷類似物或亞硝胺類。對於中期畸變試驗，需要記錄中期多倍體(包括核內複製)占中期細胞的百分比率，來獲得倍數狀態資訊。對於 MLA，測試計畫應該包含有和無代謝活化的測試，以及適當的陽性和陰性對照，測試物質給藥處理時間為 3 至 4 小時。在有和無活化代謝兩種條件下短期給藥處理都是陰性或可疑結果時，還應進行無活化代謝條件下持續給藥處理約 24 小時的測試。標準 MLA 應包括：(i)包含主要誘導小集落的陽性對照，(ii)陽性對照，溶劑對照和至少一種陽性結果測試化合物濃度(如有)的菌落大小，包括出現最高突變率的培養基，進行突變集落大小的測定。

對於哺體外乳動物細胞試驗，應採用如上所述的固定已確證的元素(例如：不同處理時間，有和沒有代謝活化的測試)。在出現明確的陰性或陽性結果時，通常不需要進一步的確認性測試。可疑或弱陽性結果可能需要重複測試，並可能需要對計畫進行修改，例如調整測試濃度的間距。

3. 陽性對照

雖然進行同步的陽性對照很重要，但因體外哺乳動物細胞基因毒性測試已足夠標準化，陽性對照的使用通常只需一個代謝活化的陽性對照(當同時有進行非活化測試時)，以證明代謝活化系統的活性和測試系統的反應能力。

四、 體內試驗之建議

（一） 體內染色體損傷之檢測

採用體內骨髓細胞分析染色體畸變，或檢測含微核的嗜多色性紅血球(polychromatic erythrocytes)，均可用於檢測染色體斷裂劑。大鼠和小鼠均被認為可用於骨髓微核測試。微核也可採用小鼠外周邊血中未成熟(如嗜多色性)紅血球或大鼠血液中新生網織紅細胞的測量(註 3)。同樣，對骨髓或末梢血液中斷裂原/非整倍體誘導劑的檢測敏感的其他物種，其未成熟紅血球亦可使用(註 3)。如果經過適當驗證，可以使用自動化分析系統(影像分析和流式細胞分析)(OECD，1997；Hayashi 等，2000;2007)。染色體畸變也可以使用給藥處理齧齒動物的周邊淋巴細胞培養來進行檢測分析(註 11)。

（二） 其他體內基因毒性測試

與標準測試群選項二中第二個測試相同的體內試驗，可作為後續試驗來確定體外或體內測試結果的證據權重(註 11 和註 12)。儘管體外觀察到的效果類型以及任何機制的資訊，有助於指導體內測試的選擇，但在大多數組織中使用標準方法，進行染色體畸變或內源基因的基因突變檢查是不可行的。儘管突變可以在轉殖基因齧齒動物中測量，但這需要延長處理時間(例如：28 天)以允許突變的表現、固定和累積，特別是在細胞分裂較少的組織中(註 12)。因此，第二個體內測試通常將評估 DNA 損傷終點指標作為替代。經驗最豐富並且具有計畫建議的測試，包括 DNA 斷裂試驗，如單細胞凝膠電泳(Comet)試驗，和鹼性熔解試驗，體內轉基因小鼠突變試驗和 DNA 共價結合試驗(所有這些測試可應用於許多組織，註 12)，以及肝臟非程序式 DNA 合成(unscheduled DNA synthesis, UDS)測試。

（三） 體內測試之劑量選擇

一般選擇有代表性的三種劑量進行分析(Hayashi 等，2005)。

1. 短期試驗

對於短期試驗(通常為給藥 1 至 3 次)，建議基因毒性試驗的最高劑量為限定劑量 2000 毫克/千克(若可耐受)，或已確認最大耐受劑量(例如：微核試驗(OECD))，最大耐受劑量的定義為產生毒性表現的劑量，而基於同樣的劑量範圍，稍高一些劑量即預期會產生死亡。類似的建議也適用於 Comet 試驗(Hartmann 等，2003)和轉殖基因突變試驗(Heddle 等，2000)。在劑量的選擇中還應考慮骨髓紅血球的生成壓抑效應。最高劑量之下的較低劑量，一般的劑量間距為約 2~3 倍。

2. 多重投予試驗

選項 1 測試群

當體內基因毒性測試與多次給藥毒性試驗整合時，若該毒性試驗的劑量符合支持進行人體臨床試驗的的標準，則通常認為對於基因毒性評估也是合適的；然而這種選擇可能與 OECD 體內微核試驗指引中的劑量選擇標準有所不同。此可適用體外哺乳細胞測試為陰性(或為"無相關陽性"，見第(五)節)時。

追蹤試驗或選項 2 測試群

當進行追蹤試驗以闡明任何基因毒性指徵，或採用選項二且未進行體外哺乳細胞試驗時，需要評估幾個因素以確定最大劑量是否適合。毒性試驗(通常是大鼠)的高劑量如以下任一標準，足以證明適合進行微核分析和其他基因毒性評估：

i. 最大可行劑量(MFD)，依據藥品在載體中的物理化學特性所決定(前提是該載體中的 MFD 與急性施藥時可達到的劑量相近，見註釋 13)。

ii. 在 14 天或更長時間試驗，如果能耐受，極限劑量為 1000 mg/kg。

iii. 最大可能的暴露量，以達到高原/飽和的暴露水準或化合物累積來證實。相反地，隨著時間的推移，母體化合物暴露量的大幅下降(例如：減少初始暴露量 50%以上)，可能會使試驗不符合規範(除非在最初幾天內取得血液樣本)。如果這種現象只出現在一種性別中，一般在試驗終期不會對此性別進行評分，除非該性別中令人關注的代謝物的暴露量增加。

iv. 高劑量是急性給藥使用劑量的 50%以上，即接近最低致死劑量，如果有其他理由可以得到這方面的數據(當前的 OECD 指引中所述，急性給藥微

核試驗的高劑量為：高於該劑量預期將有死亡；對於其他體內試驗也有相似的指導建議(Hartmann 等，2003)。

僅基於無毒性的暴露範圍(高於臨床暴露量的若干倍)來選擇高劑量，被認為是不充分合理的。

3. 對血液或骨髓具毒性之化合物的檢測

許多誘發非整倍體的化合物，例如強效的紡錘體抑制劑，只有在接近毒性劑量的狹窄範圍內，才能在體內骨髓或血液中的微核試驗檢測到。某些斷裂劑也是如此。若毒理學資料顯示對紅血球系統有嚴重毒性(例如多染性紅血球或網狀紅血球明顯受到抑制)，則進行評估的劑量應在該具有毒性的高劑量之下，間距不超過約 2 倍。若多週給藥的試驗中未含適當的劑量，則可以從以下任一方法，取得能幫助檢測誘發非整倍體，和有毒性斷裂劑的額外資料：

i. 當隨著給藥時間延長毒性明顯升高時，建議進行早期的血液採樣(在 3-4 天時)。當在多周給藥試驗(如 28 天)中採用血或骨髓進行微核測定，以及進行網織紅細胞計數時，明顯的血液毒性會影響檢測微核的能力，即在急性給藥後誘導可檢測到的微核升高的劑量，在多次給藥後可能毒性太大了以至於無法進行分析(Hamada 等，2001)。採用早期的樣本來確保能檢測到斷裂劑和潛在的非整倍體誘發劑(參考註 14、15)。

ii. 一項體外哺乳細胞微核試驗。

iii. 一項急性骨髓微核試驗。

（四） 體內測試結果證明標靶組織為陰性

體內試驗在基因毒性測試中扮演重要角色。體內試驗結果的價值，直接關聯到標靶組織是否充分地暴露測試化合物，尤其是當體外試驗已經顯示出基因毒性的有力證據，或者並未進行體外哺乳動物細胞測試時，此對體內試驗陰性結果尤為重要。充分暴露的證據可能包括該組織的毒性反應，或根據下一節所述的毒理動力學數據得出。

1. 當體外基因毒性試驗呈陽性結果(或未進行)

應使用與基因毒性試驗相同的動物物種、品系和給藥途徑，在最高劑量或其他相關劑量下，進行體內曝露的評估。若以毒理學試驗測量基因毒性，因為暴露量數據屬於毒理學分析的一環，通常可以取得。

應採用以下任一種方式來證明體內曝露量：

i. 細胞毒性：

a. 細胞遺傳學試驗：於骨髓或血液組織中，在微量核試驗所用的劑量及採樣時間點下，未成熟紅血球佔總紅血球數之比例發生明顯變化，或於染色體異常試驗中測量有絲分裂指數的明顯減少。

b. 其他體內基因毒性試驗：利用組織病理學評估或血液生化毒性指標等，來觀察肝臟或其他所需評估組織的毒性反應。

ii. 暴露量：

a. 測量血液或血漿中與試驗藥品相關的物質。骨髓是一種高灌流組織，血液或血漿中的藥品相關物質濃度通常與骨髓中相似。對於有全身曝露情況的藥品，無論給藥途徑如何，都會暴露到肝臟。

b. 直接測量標靶組織中與藥品相關的物質，或利用放射性顯影來分析組織暴露量。

如果全身曝露情況與預期臨床曝露量相似或更低，則可能需要考慮其他策略，例如：

i. 更改給藥途徑；

ii. 使用具有更高曝露量的不同物種；

iii. 改採其他組織或試驗方法(詳見第二章第(三)節「體內測試在應用上的限制」)。

如果無法達到適當的曝露量(例如，化合物在靶組織顯示出極低的生物利用度)，常規的體內基因毒性測試將毫無意義。

2. 當體外基因毒性試驗呈陰性結果

如果體外測試未顯示具有基因毒性的潛力，則體內(全身性)暴露量可以通過上述任何方法進行評估，或從因其他目的所進行嚙齒動物的標準吸收、分佈、代謝和排泄(ADME)試驗的結果來進行推斷。

（五） 體內試驗之採樣時機

進行體內微核、染色體畸變和 UDS 測試等基因毒性測試，取樣時間的選擇應遵循 OECD(1997)的建議。

若將微核分析整合至多週數試驗中，血液或骨髓採樣可在末次給藥之次日進行(參閱上文對額外血液採樣時機之建議)。

其他基因毒性測試的取樣時間，應按所測試的終點指標而定；例如，DNA 損傷/鏈斷裂測定通常在每日給藥、重複多次給藥的末次給藥後的幾個小時內(如 2~6 小時)進行採樣。在單次給藥情況下，應採用兩個採樣時間點： 給藥後的幾個小時內和 24 小時。

原則上，只要高劑量/暴露量是足夠的，任何給藥期限的測試都是適當的。

（六） 用於分析之動物數量

分析所需動物的數量應依據微核試驗(OECD)或其他基因毒性試驗的現行建議進行，通常不包含所有進行毒理試驗的動物。進行基因毒性分析的動物，應從進行毒理試驗的動物組中隨機選擇。

（七） 使用嚙齒類動物雄性/雌性進行體內基因毒性測試

若檢測性別特異性藥品，試驗可在相應性別中進行。急性測試通常僅在單一性別進行。對於急性測試，只有當任何現有的毒性、代謝或暴露(C_{max} 或 AUC)數據顯示，在所使用的物種中具有毒理學意義的性別差異時，才應該考慮兩種性別。否則，在急性基因毒性測試中單獨使用雄性被認為是合適的。當基因毒性試驗被整合到雌雄兩性的重複劑量毒性試驗時，可以從兩種性別採集樣本，但如果毒性/代謝方面沒有明顯的性別差異，則可只對一種性別進行評分。對於

所評分的性別，其劑量水準應符合適當劑量水準的標準(見第四章第(三)節)。其他已確立的體內基因毒性試驗，也可以應用類似的原則。

(八) 給藥途徑

一般情況下，給藥途徑是預期的臨床途徑，例如：口服、靜脈注射或皮下注射，但必要時，例如對於局部投予的化合物，可以進行調整以達到全身暴露之目的(請參閱第二章第(三)節)。

(九) 使用陽性對照於體內之試驗

對於體內試驗，當已確定具備進行該試驗的能力後，僅定期對動物進行陽性對照即可，而不必為每個試驗同時進行(註 16)。

五、 測試結果評估與追蹤測試策略之指引

對比試驗已明確顯示，在預測齧齒類動物致癌性時每種體外試驗系統均可產生假陰性和假陽性結果。基因毒性測試驗群(包括體內和體外測試)檢測的是主要通過直接的遺傳損傷機制的致癌劑，如大多數已知的人類致癌劑。因此，這些測試群不期望用於檢測非遺傳毒性致癌劑。一些實驗條件，如體外代謝活化系統的有限活化能力，可能導致體外試驗出現假陰性結果。測試群的試驗設計旨在減少對具有基因毒性的化合物，產生偽陰性結果的風險。但任何一項基因毒性試驗的陽性結果，並不總是意味著測試化合物對人類存在基因毒性/致癌性風險。

儘管體外數據可能表明藥品擁有某種程度的基因毒性，但適當的體內數據通常可以確定這些體外信號的生物學意義。此外，由於存在幾個間接的基因毒性機制只有在達到一定濃度時才起作用，因此可以為某些具有這些機制證據的藥品建立一個安全水準(閾值)，詳見第五章第(二)節(Muller 和 Kasper，2000；Scott 等，1991；Thybaud 等，2007)。

(一) 生物學相關性評估

以下建議假設測試以適當的劑量間隔、毒性水準等條件進行。

對於體外或體內出現基因毒性表觀上的輕微增加，首先應評估其再現性和生物學意義。結果不具生物學意義的例子包括：

i. 與陰性或溶媒對照組的數值相比有統計學意義的輕微增加，但是在該試驗機構之合適的歷史背景資料範圍內。

ii. 微弱或可疑的反應無法再現。

若以上任一情況應用證據權重分析提示其不具有潛在遺傳毒性，該試驗結果被認為是陰性或無生物學相關性，無需進行進一步試驗。

（二） 體外測試結果之評估

在評估陽性結果時，特別是微生物致突變性測試，應考慮測試化合物的純度，以確認陽性結果是否可能是由於汙染物所致。

1. 體外細菌突變試驗陽性結果之評估

由於 Ames 測試的陽性結果，被認為提示其 DNA 反應性，除非通過適當的風險-效益分析進行合理解釋，需要進行廣泛的後續測試來評估體內突變和致癌潛力，以評估治療病患的潛在風險。

有些菌落的人為升高而非真正的回復突變的典型例子。這可能是由於污染了氨基酸(即為沙門氏菌奧氏菌株提供組氨酸(histidine)，或為大腸桿菌菌株提供色氨酸(tryptophan))，因此細菌回復突變試驗不適合檢測可能會降解的胜肽類。另外，也存在一些細菌回復突變試驗陽性結果，不能提示在人體內具有基因毒性潛力的例子，例如當發生細菌特異性代謝、被細菌硝基還原酶活化等。

2. 體外哺乳類細胞試驗陽性結果之評估

IWGT 的報告中討論了對基因毒性陽性結果的證據權重評估，與追蹤測試的建議(Thybaud 等，2007)。此外，科學文獻列出了許多可導致有可疑相關性的體外試驗陽性結果的情況。因此任何體外測試中的陽性結果，都應基於以下證據權重進行評估。以下舉例僅供參考。

i. 體內不存在的條件(pH 值、滲透壓、沉澱物)。

(需要注意的是：1 mM 的限制避免了滲透壓的升高，如果改變受試物的 pH 值，建議給藥時，應調整 pH 值至未處理培養液的正常 pH 值)。

ii. 僅在最高毒性濃度下發生。

在 MLA 中，只有在 RTG 減少≥80%時。

對於體外細胞遺傳試驗，當增長被抑制≥50%時。

如果以上條件之一適用，權重證據表明該物質沒有基因毒性，可以按照標準測試群進行測試(選項 1)。因此，進行單一的體內測試即已足夠。

3. 體外試驗陰性結果之評估

對於體外測試呈陰性的結果，在特定情況下應該考慮進一步的測試，例如(以下舉例僅供參考)：該化合物的結構，或已知代謝路徑表明標準的體外代謝活化技術(例如：嚙齒動物肝臟 S9)可能不足以檢測；該化合物的結構，或已知活性表明使用其他測試方法/系統可能更適合。

(三) 體內測試結果之評估

考量相較於體外測試，體內測試有吸收、分佈、排泄等因素的優點，這些因素可能與人體使用相關。另外，體內測試的代謝結果也更能反映實際情況。如果體內試驗和體外試驗的結果不一致，則要視情況進行考量和解釋，例如代謝的差異，或是化合物在體內試驗中因快速而有效地排出體外。

基因毒性的體內測試也可能產生誤導的陽性結果，並不代表真正具有基因毒性。例如：

i. 微核數的增加可能並非由投予具有基因毒性物質所致，而是紅血球生成過程中的干擾所導致的結果(Tweats 等，2007)。

ii. DNA 附加物的數據應以已知的內生性附加物背景濃度為基礎進行判讀。

iii. 毒性相關的間接效應可能會影響 DNA 股斷裂試驗(例如：鹼性洗脫和 Comet 試驗)的結果。

因此，在評估基因毒性數據時，應考慮所有毒理學和血液學方面的發現(註 15)，並且間接和毒性相關的效應可能具有安全範圍，並且可能與臨床無關。

（四） 對陽性結果的追蹤策略

1. 體外哺乳類細胞測試結果之追蹤

以下討論係以 Ames 細菌突變試驗呈陰性為假設。

I. 機轉性/體內追蹤

當證據權重不足以證明哺乳細胞試驗之陽性結果不具相關性時，建議進行追蹤測試以提供實證證據。這可以透過額外的體外試驗(下文第 i 項)或兩個適當的體內試驗(下文第 ii 項)來達成，其方法如下：

i. 常可藉由體外試驗，對缺乏生物學相關性的基因毒性，提供證據權重的機轉資訊，例如在 MLA 中誘導染色體畸變或突變的受試物不是 DNA 損傷性物質的證據(如除 Ames 試驗之外的其他突變/DNA 損傷試驗結果為陰性；化學結構上的考慮)，或者體內可能不相關或可能具有閾值的間接機制的證據(如抑制 DNA 合成、僅在高濃度時產生活性氧化物等)(Galloway 等，1998；Scott 等，1991；Müller 和 Kasper，2000)。類似的研究可以用來追蹤體內微核試驗的陽性結果，或在這種情況下，可以包括指示染色體喪失/非整倍體性的已知機轉，或包括指示染色體喪失的著絲粒染色試驗(註 17)。在體外染色體畸變試驗中，多倍體是常見的結果。儘管非整倍體可能誘發多倍體，但單純的多倍體不足以表示具有非整倍體性的可能性，只能表示細胞週期的干擾。多倍體通常與細胞毒性的升高有關，如果在體外試驗中僅見多倍體，而未見結構上的染色體斷裂，一個確保具有適當暴露的體內微核試驗陰性結果，通常可提供缺乏非整倍體誘導潛力的充分證據。

   如果以上機轉資料和證據之權重顯示不具相關基因毒性，則只需進行一個體內測試即可證明不具有基因毒性。這通常是一個細胞遺傳試驗，若需追蹤染色體喪失，則應進行微核試驗。

   如果證據權重或機轉資料不足以排除相關基因毒性的可能性，通常需要進行兩個適當的體內測試，且需保證試驗結果和適當的組織(通常是不同的組織)，並注重在體內模型中達到足夠的暴露程度。

   或

ii. 進行兩個適當的體內測試，通常是分別使用不同的組織，並提供暴露程度的支援。

總體而言，足夠證明不具有重大基因毒性風險的是適當的體內試驗結果，其必須有適當的指標依據，並證明達到適當的暴露水準(見第四章第(四)節)。

II. 追蹤須依賴 S9 活化之體外測試陽性結果

當陽性結果只在 S9 活化系統存在時，首先應確認是否為代謝活化的的原因，而不是其他試驗條件的差異(例如：與未活化的培養中血清含量≥10%相比，S9 混合物中血清含量低或沒有血清)。隨後的追蹤策略旨在確定體外結果與體內情況的關聯性，通常會集中在肝臟的體內試驗(註 18)。

2. 體內微核試驗陽性結果之追蹤

若體內試驗結果顯示微核數量增加，應評估所有毒理資料，以確定非基因毒性作用是否是其原因，或是為其中的一個作用因素(註 15)。若懷疑紅血球生成或生理狀態(如低溫或高溫)等非特定性干擾因素，體內染色體畸變試驗可能更適合。若懷疑真正的數量增加，應採用證明該升高是否是由於染色體丟失或染色體斷裂所致的策略(註 17)。有證據表明，非整倍體誘導(例如：受到紡錘毒素影響)會遵循非線性劑量反應。因此，有可能確定存在染色體損失不會發生的閥值暴露量，並證明與臨床暴露量相比存在適當的安全範圍。

總之，在評估一種化合物的基因毒性潛力時，必須考慮所有發現，並了解體內和體外測試的內在價值和限制。

（五） 致癌物試驗發現腫瘤之基因毒性測試追蹤

對於在標準測試群中呈現陰性結果，但在致癌性試驗中引發腫瘤增加，而目前尚未確定是否存在非基因毒性機轉的化合物，可考慮在適當的模型中進行額外的基因毒性測試。爲幫助了解相關的作用機轉，這些額外的測試可以包括：修改體外測試中的代謝活化條件，或在體內進行測量誘發腫瘤的標靶器官中的基因損傷，例如 DNA 鏈斷裂測試(例如：Comet 試驗或鹼基消融試驗(alkaline elution))、肝臟 UDS 測試、DNA 共價結合(例如：32p 後標記)等，以及腫瘤相關基因變化的分子特性分析(Kasper 等，2007)。

六、 註釋

1. 體外微核試驗已在國際合作研究中廣泛評估(Kirsch-Volders 等，2003)，經ECVAM 驗證(Corv 等，2008)，並成為 OECD 指引 487(2010)的主題。

2. 存在一些具有基因毒性的致癌物質，它們能夠在骨髓測試中可靠地被檢測到，但卻在標準試驗中產生了陰性、微弱或矛盾的結果。這些致癌物質的數量雖然不多，但仍然相當重要，例如甲基苄肼(procarbazine)、對苯二酚(hydroquinone)、氨基甲酸乙酯(urethane)和苯(benzene)。(Tweats 等，2007)描述了來自於公司調查中的其他一些例子。

3. 原則上，可以在任何試驗動物物種的骨髓中評估造血幹細胞中的微核，並且在不會從脾臟濾除循環微核紅血球的物種的血液中進行評估。在實驗小鼠中，可以在血液中的多染紅血球中測量微核，而在小鼠接受持續治療 4 週或更長時間後，也可以使用成熟(正色)紅血球進行測量。雖然大鼠會快速從循環系統中清除微核紅血球，但已證實可以在大鼠的血液網狀紅血球中檢測使用多種斷裂劑和非整倍體誘導劑誘導的微核(Wakata 等，1998；Hamada 等，2001)。大鼠的血液亦可用於微核分析，前提是須以特定方法確保新形成的網狀紅血球(Hayashi 等，2007；MacGregor 等，2006)，且因為大鼠血液中微核的濃度較骨髓中低，亦須有充足的樣本數，以達到適當的統計敏感度(Kissling 等，2007)。不論選擇哪種方式—骨髓或血液，抑或自動分析或手動分析—實驗室須定出適當的最小樣本數，將評分誤差維持在動物的個體差異水準之下。

   目前已有文獻提供誘發狗與恆河猴微核的經驗(Harper 等；Hotchkiss 等，2008)。若有某種人體代謝物在嚙齒動物體內濃度不足，但在狗或猴子體內可以形成，則可應用這些替代物種。

4. 雖然兩個選項對測試群同等適用，應採何者為宜可藉由對於所測試化合物的相關知識作判斷。舉例而言，若試驗動物的全身暴露量與預期的臨床暴露量相當或相對較低，則應採用體外試驗，亦即選項 1(參閱第二章第(三)節、第四章第(四)節)。反之，若預期肝臟會產生存留週期短的活性代謝物，則建議採選項 2，包括對肝臟進行檢測。

5. 部分具有警示結構的分子實體，被認定為與導致化學物質的致癌性，與/或致突變性相關。警示結構的實例包括烷化親電子中心(alkylating electrophilic center)、不穩定環氧化物(unstable epoxides)、芳香胺、偶氮結構(azo-

structure)、N－亞硝基化合物(nitroso)、芳硝化合物(aromatic nitro groups)等(Ashby and Paton, 1994)。對於某些具有警示結構的化合物類別，目前已知對試驗計畫作特定調整，或增加對於基因毒性鑑別力的最佳化頗為重要(例如：帶有偶氮結構的分子、醣苷、需要藉由硝基還原作活化的硝基咪唑(nitroimidazoles)、需要不同嚙齒動物 S9 作代謝活化的非那西汀(Phenacetin)等等)。

6. 目前已有經驗皮膚和結腸誘發微核的體內試驗(Hayashi 等，2007)。在這些組織中進行 DNA 損傷試驗也是一個合適的替代方案。

7. 少數化學物質使用平板摻入法或預培養法更容易被檢測到，但通常是量的差異而不是質的差異(Gatehouse 等，1994)。從製藥工業的經驗得知，對於兩種方法進行藥品測試並沒有產生不同的結果，而且在 IWGT 報告中(Gatehouse 等，1994)，在預培養法中更容易被檢測到的化學分類的例子通常不是藥品，並且在體內基因毒性測試中呈陽性。這些包括短鏈脂肪族亞硝胺、二價金屬、醛類(例如：甲醛、巴克醛(crontoaldehyde))、偶氮染料(例如：黃色牛油)、吡咯啶生物鹼(pyrrolizidine alkaloids)、烯丙基化合物(異硫氰酸烯丙酯(ally isothiocyanate)、丙烯醯氯)和硝基(芳香族、脂肪族)化合物。

8. 在體外哺乳動物細胞試驗中，將最高濃度設為 1 mM 的理由如下：測試群包括 Ames 測試和一項體內試驗。這測試群可最大程度地檢測基因毒性致癌物，而非僅仰賴任何單一的試驗。擔憂未能在 Ames 測試或體內基因毒性試驗中被檢測出來，但在超過 1 mM 濃度的體外哺乳動物試驗中才能被檢測出來的化合物(DNA 損傷致癌物)，其可能性非常低。其次，1 mM 的上限支持了危害識別的要素，該濃度高於已知藥品的臨床暴露量，包括那些集中在組織中的藥品(Goodman＆Gilman, 2001)，而且高於體內臨床前試驗通常能達到的濃度。某些藥品已知需要較高的臨床暴露才能產生治療效果，例如核苷類似物和某些抗生素。雖然與現有藥品比較效價是申請人的興趣所在，甚至可能在高於上限 1 mM 進行比較，但最終還是由體內試驗來確定與人體安全性的相關性。對於分子量特別低的藥品(例如小於 200)，應考慮使用更高的測試濃度。

9. 部分基因毒性致癌物在體外基因毒性試驗中，若測試濃度未達到一定程度的細胞毒性，則可能無法偵測出來；對 DNA 損傷劑通常在中等程度的毒性下便可以被檢測出來(Greenwood 等，2004)。隨著細胞毒性的升高，化合物或其代謝物透過非直接 DNA 損傷的機制，可產生與細胞毒性相關而非基因毒

性的“陽性”結果。此種繼發於非 DNA 靶點損傷的間接誘導 DNA 損傷， 更易發生於在某一濃度閾值之上，而在較低的、與藥理學相關濃度時，預期不會發生對細胞進程的干擾。

在細胞遺傳學試驗中，即使已知是弱斷裂劑的致癌劑，在細胞計數減少不超過 50%時也得到陽性結果此外，在毒性濃度下，與 DNA 損傷、突變或致癌無關的化合物也可能引起染色體斷裂。在細胞染色體畸變試驗和體外微核試驗中，生長減少約 50%的限制是合適的。

對於在細胞株進行的細胞遺傳學試驗，測量細胞群生長隨時間的變化(測量培養與對照組細胞數的差異，例如藉由群體倍增(population doubling, PD；註 10)的方法)，是測定細胞毒性的有效方法，因為細胞數目可低估毒性。對於淋巴細胞培養，增殖抑制不超過 50%被認為是足夠的；這可藉由中期畸變試驗的分裂指數(MI)和體外微核試驗的胞質分裂阻滯指數來測定。此外，在體外微核試驗中，由於微核是在有絲分裂後進行計數的，因此需要確認細胞已經過細胞週期。這可以藉由使用細胞鬆弛素 B(cytochalasin B)促進核分裂而不是細胞分裂來確認，從而在雙核細胞中進行微核計數(對於淋巴細胞而言，這是首選方法)。對於細胞株，也可用其他證明細胞增殖的方法，包括如上所述細胞群生長隨時間變化的 PD 法(Kirsch-Volders 等，2003)。

對於 MLA，使用軟瓊脂和微孔兩種方法，將最高濃度設為相對總生長率(RTG)接近 20% (10~20%)的濃度，皆可達到合適的靈敏度(Moore 等，2002)。採用目前標準對已發表數據進行回顧，發現在 MLA 中僅在低於 20% RTG 濃度時得到陽性結果，同時為齧齒動物致癌物的化學物極為少見，而且該類化合物缺乏令人信服的基因毒性致癌劑的證據。因此，當突變僅在低於 20% RTG 濃度下發生時，對結果的評估應該非常謹慎，如果突變比例僅在≤10% RTG 時增加，則該結果不被認為陽性。

總而言之，在細胞遺傳學試驗中細胞生長/存活減少超過 50%情況下，或在 MLA 中降低超過 80%所得的陽性結果，需要謹慎解讀。雖然以此種細胞毒性/集落存活濃度所處理的細胞進行評估，能達到較高的靈敏性，但也帶來增加非相關陽性結果的風險。以測試群來評估基因毒性的做法，在設計上即為了在不依賴于在高細胞毒性下的單一體外哺乳動物測試下，確保有合適的靈敏度。

若欲決定適當的毒性範圍，以大範圍的濃度範圍先行探索試驗是有用的，但在基因毒性試驗的場合以間隔相近(小於兩倍稀釋)的多個濃度進行試

驗，往往至關重要。可對額外的濃度進行基因毒性測試，但並非所有的濃度都須要做評估。舉例而言，這不是指要為了準確達到細胞生長減少 50%，或 RTG 減少 80%，而進行大量試驗。

10. 對體外細胞遺傳學試驗，採用相對細胞生長測定來評估毒性是合適的，因為細胞計數可能低估毒性(Greenwood 等，2004)。藉由計算群體倍增(見詞彙表)來估計 50%生長減少濃度，已證明非突變劑或非致癌劑得到陽性結果的頻率會降低，而通過直接作用於 DNA 的藥品，能得到可靠的陽性結果。

11. 在某些情況下，可採用從單次或多次給予測試動物受試物後的培養淋巴細胞，檢測中期染色體畸變，就如同可採用骨髓中期細胞。由於循環的淋巴球並不進行複製，因此不會檢測到需要藉由細胞複製才能顯示其基因毒性作用的藥品(例如：某些核苷類似物)。由於某些淋巴球的存活期相對較長，原則上它們具有體內蓄積未修復 DNA 損傷的潛力， 這將使當細胞在體外受到刺激進行分裂時畸變率升高。體內淋巴球試驗可以用於染色體斷裂指標的追蹤，但通常使用其他組織，例如肝臟，因為其接觸藥品和代謝物的濃度更高，可為造血幹細胞微核試驗補充更多的資訊。

12. 在測試群中納入第二個體內試驗，可對藥品與/或其代謝物有充分暴露的組織進行檢驗，以確保不具有基因毒性。一小部分認為有遺傳毒性的致癌劑在肝臟試驗中結果為陽性，但在體內骨髓細胞遺傳學試驗中結果卻為陰性。這些例子可能反映出缺乏合適的代謝活性，或缺乏進入骨髓造血細胞的反應中間產物。

DNA 鍊斷裂、DNA 加合物與在轉基因的突變試驗，具有可在許多組織上應用的優點。雖然除了 UDS 試驗外，對於 DNA 鏈斷裂試驗(Comet 和鹼洗脫試驗)、DNA 加合物(共價結合)測定，與轉基因齧齒類動物突變試驗也已有相當多的經驗和已發表的文獻和計畫建議，但國際上仍未對所有這些體內試驗有公認的方案。對於在 MLA 體外試驗中呈陽性、主要誘導大型細胞集落，且在體外中期試驗中未表現染色體斷裂的化合物，應考慮進行體內的突變試驗，例如嚙齒動物突變試驗，而非 DNA 股斷裂試驗。UDS 試驗主要適用於能誘導巨大 DNA 加合物，或在 Ames 試驗中呈陽性的化合物。由於細胞毒性會導致 DNA 股斷裂，因此需要小心評估細胞毒性，以避免干擾 DNA 股斷裂試驗的結果。此在體外鹼洗脫試驗已有充分的了解(Storer 等，1996)，但對 Comet 試驗尚未進行完全驗證。原則上，在合適的劑量水準和採樣時間下，DNA 鏈斷裂試驗可整合在重複劑量毒性試驗

由於性成熟動物的肝臟不是高度有絲分裂的組織，第二個試驗通常會使用非細胞遺傳學的終點指標，當分裂肝細胞存在時，如在部分肝切除術後，或在年輕的大鼠(Hayashi 等，2007)，可以對肝臟進行微核分析，以及檢測已知的基因毒性化合物

13. 對於常規的溶媒如甲基纖維素水溶液，通常是適當的，但對於像 Tween 80 這樣的溶媒，可能比急性投予的體積低 30 倍。

14. 若毒理學試驗設計包含額外的血液採集，例如為了測量暴露程度，應該謹慎考慮。因為血液採集會刺激紅血球生成，導致微核血球數量增加，進而干擾微核分析結果。

15. 微核增加可發生於未投予任何基因毒性劑時，而是由於紅血球生成的干擾(例如：再生障礙性貧血、髓外造血作用)、壓力，以及體溫偏低或過高所致(Tweats 等，2007)。血液中脾臟功能的改變，可能會影響微核產生的細胞在血液中的清除，進而導致小幅增加在循環中含微核的紅血球。

16. 短期或重複給藥基因毒性試驗的陽性對照：

    對於微核(以及其他細胞遺傳學)試驗，陽性對照之目的是確保評分人員能夠可靠地檢測微核增加。這可藉由急性給予陽性對照的小組別動物(單性別)的週期性試驗(每隔幾個月)中的採樣來實現。對於人工評分，這些樣本可以與每個試驗中評分的編碼載玻片一起進行評估。陽性對照樣本不應因染色性質或微核頻率，而讓判讀者易於識別。對於自動化評分，每個試驗應使用適當的質量對照樣本。

    對於其他體內基因毒性試驗，陽性對照之目的是證明所選擇的動物物種、組織和計畫，能可靠地檢測到 DNA 損傷/致突變性的增加。在一個實驗室已證明能在大量的獨立實驗中穩定檢測到適當的陽性對照化合物後，如果不改變實驗條件，通常周期進行有陽性對照的試驗已足夠。然而，對於 Comet 試驗，目前建議採用平行的陽性對照。

17. 確定微核誘導主要因染色體丟失或染色體斷裂所致，應包括對體外或體內微核染色以確定著絲粒是否存在，例如使用螢光原位雜交(FISH)與特定探針，進行著絲粒區域的 DNA 序列研究，或者使用帶標籤的抗體來進行著絲粒蛋白的檢測。如果大多數誘發的微核是著絲粒陽性，表示有染色體丟失。(值得注意的是，即使像秋水仙素和長春花鹼等強微管毒劑，也不能產生 100%的著絲粒陽性微核，通常是 70%至 80%，在風險評估中公認為是非整倍體誘

導劑)。一替代的方法是進行體外或體內中期結構畸變試驗，若結果是陰性，則暗示微核誘導與染色體丟失有關。

18. 標準誘發的 S9 混合物具比人 S9 更高的活化能力，並且如果未添加特異性的輔助因數，則缺乏第二階段解毒能力。此外，體外高濃度測試物可能發生非特異的活化作用(Kirkland 等，2007)。使用人 S9 或其他與人體相關的活化系統進行基因毒性測試，可能有助於判斷結果的相關性。分析基因毒性試驗中培養物的代謝物特性，並與臨床前動物物種(在未經誘導的微粒體或肝細胞，或體內)或人體樣本中已知的代謝物特性進行比較，也有助於確定測試結果的相關性(Ku 等，2007)。此外，後續的研究通常會集中於進行體內肝臟試驗。體外試驗中對 S9 呈現陽性結果的化合物在體內試驗中未必會誘發基因毒性，因為有可能不存在相應的代謝物、代謝物產生量極小、被代謝或迅速排出體外，這些因素表明化合物在體內不會構成風險。

七、 詞彙表

鹼洗脫試驗：

見 DNA 股斷裂試驗。

非整倍體：

細胞或生物體中染色體數目不成倍數的改變。

鹼基置換：

核苷酸序列中單個或多個鹼基被其他城基替代，從而可導致蛋白質的改變。

細胞增殖：

細胞進行分裂並產生新的子細胞的能力。

著絲粒/著絲點：

染色體內部的結構。對於姊妹染色分體進行連結與紡錘絲將子染色體移動到兩極並確保有包含子核等程序屬於必要結構。

Clastogen：

能夠引起染色體結構斷裂的物質，通常可以藉由光學顯微鏡進行檢測。

細胞複製效率：

單一細胞進行複製的效率。通常是在適合的環境內種下少量細胞後再行測量。

Comet 試驗：

見 DNA 股斷裂試驗。

培養滿度：

通過目視檢查對細胞培養中的密度進行量化。

細胞遺傳學評估：

透過光學顯微鏡觀察有絲分裂或減數分裂的染色體結構，或進行微核分析。

DNA 加合物：

化學物與 DNA 的共價結合產物。

DNA 修復：

DNA 損傷後，原始 DNA 序列的重建。

DNA 股斷裂：

DNA 單鏈或雙鏈被切斷。

DNA 股斷裂試驗：

透過鹼處理，將特定類型的 DNA 損傷轉換為鏈斷裂，可藉由測量濾膜遷移速率的鹼洗脫技術，或藉由單細胞凝膠電泳或 Comet 測試(將細胞固定在載玻片的凝膠薄層，通以電流，使 DNA 斷裂短片段從細胞核中遷移出形成“彗尾”)進行檢測，在顯微鏡下觀察染色細胞，測定 DNA 遷移的程度。

框移突變：

基因的核苷酸序列中，插入或缺失一個或兩個相鄰鹼基的一種突變(遺傳密碼改變)。這可導致蛋白質的改變或縮短。

基因突變：

單一基因或其調控序列中可檢出的一種持久性改變。這些改變可以是點突變、插入或刪除。

遺傳指標：

所探討基因變化的確切類型或類別(例如：基因突變、染色體畸變、DNA 鏈斷裂、DNA 修復、DNA 加合物形成等)。

基因毒性：

泛稱各種機制導致發生的任何有害的遺傳物質改變。

微核：

細胞中帶有核 DNA 的粒子，可含有整條染色體、或有著絲粒或無著絲粒的染色體斷裂片段。

有絲分裂指數：

標本中處於有絲分裂各階段的細胞數佔不處於有絲分裂階段(分裂間期)細胞數的百分比。

染色體數目變化：

染色體數目與原本的單倍體或二倍體不同；對於細胞株，其染色體數目與原型染色體不同。

質體：

加入到正常細菌基因組中的遺傳物質。一個質粒可能插入宿主染色體或形成染色體外單元。

點突變：

通常僅限於單個 DNA 鹼基對的遺傳密碼改變。

嗜多色性紅血球：

分化中期的未成熟紅血球，因其含有核糖體，可通過 RNA 的選擇性染色與成熟的正染紅血球(不含核糖體)區分。

多倍體：

細胞中染色體倍數的數目變化，大致為單倍體數目的整數倍。核內複製是多倍體的一種形態類型，其為染色體對在中期進行聯合成為“雙分染色體”。

細胞族群倍增：

有數種計算方式，其中一種如下式：

群體倍增(PDs)=最終計數(N)除以起始(基線)計數(Xo)的比值，取對數後，再除以 log 2，亦即 PD = [log(N÷Xo)] ÷log 2。

重組：

DNA 斷裂後再進行平衡或不平衡的重新連接。

相對總生長率：

此細胞毒性的測量，採用相對混懸增長率(基於從給藥開始至給藥後的第二天的細胞丟失及細胞生長)，乘以突變量化分析時的相對接種效率而得出。

單細胞凝膠電泳試驗：

又稱 Comet 試驗，見 DNA 鏈斷裂試驗。

存活率(在致突變試驗中)：

存活細胞與死亡細胞的比例。通常經過一段給藥時間後，採用染色或集落計數的方法來確定。

轉基因：

將外源性或外來基因導入至宿主體細胞或生殖系細胞的基因組中。

非程序式 DNA 合成(UDS)：

為應對 DNA 損傷，在 S 期以外的細胞週期中發生的 DNA 合成。通常與 DNA 切除修復有關。

八、 參考文獻

1. Ashby J, Paton D. The influence of chemical structure on the extent and sites of carcinogenesis for 522 rodent carcinogens and 55 different human carcinogen exposures.Mutat Res 1994;286:3-74.
2. Corvi R, Albertini S, Hartung T, Hoffmann S, Maurici D, Pfuhler S et al. ECVAM Retrospective Validation of the in vitro micronucleus test (MNT). Mutagenesis 2008;23:271-283.
3. Gatehouse D, Haworth S, Cebula T, Gocke E, Kier L, Matsushima T et al. Report from the working group on bacterial mutation assays: international workshop on standardisation of genotoxicity test procedures. Mutat Res 1994;312:217-33.
4. Goodman & Gilman. The pharmacological basis of therapeutics. Hardman JG, Limbird LE, Gilman AG, editors. 10th ed. New York: McGraw-Hill Professional 2001.
5. Greenwood SK, Hill RB, Sun JT, Armstrong MJ, Johnson TE, Gara JP et al. Population Doubling: A simple and more accurate estimation of cell growth suppression in the in vitro assay for chromosomal aberrations that reduces irrelevant positive results. Environ Mol Mutagen 2004;43:36-44.
6. Hamada S., Sutou S, Morita T, Wakata A, Asanami S, Hosoya S et al. Evaluation of the rodent micronucleus assay by a 28-day treatment protocol: summary of the 13th collaborative study by the collaborative study group for the micronucleus test (CSGMT)/Environmental Mutagen Society of Japan (JEMS)–Mammalian Mutagenicity Study Group (MMS). Environ Mol Mutagen 2001;37:93-110.
7. Hartmann A, Agurell E, Beevers C, Brendler-Schwaab S, Burlinson B, Clay P et al. Recommendations for conducting the in vivo alkaline Comet assay. Mutagenesis 2003;18:45-51.
8. Hayashi M, MacGregor JT, Gatehouse DG, Adler I, Blakey DH, Dertinger SD et al. In vivo rodent erythrocyte micronucleus assay. II. Some aspects of protocol design including repeated treatments, integration with toxicity testing, and automated scoring. Environ Mol Mutagen 2000;35:234-52.
9. Hayashi M, MacGregor JT, Gatehouse DG, Blakey DH, Dertinger SD, Abramsson-Zetterberg L et al. In vivo erythrocyte micronucleus assay. III. Validation and regulatory acceptance of automated scoring and the use of rat peripheral blood reticulocytes, with discussion of non-hematopoietic target cells and a single dose-level limit test. Mutat Res 2007;627:10-30.
10. Heddle JA, Dean S, Nohmi T, Boerrigter M, Casciano D, Douglas GR et al. In vivo transgenic mutation assays. Environ Mol Mutagen 2000;35:253-9.

11. Hotchkiss CE, Bishop ME, Dertinger SD, Slikker W, Moore MM, MacGregor JT. Flow cytometric analysis of micronuclei in peripheral blood reticulocytes IV: an index of chromosomal damage in the rhesus monkey (macaca mulatta). Toxicol Sci 2008 ;102:352-8.
12. Kasper P, Uno Y, Mauthe R, Asano N, Douglas G, Matthews E et al. Follow-up testing of rodent carcinogens not positive in the standard genotoxicity testing battery: IWGT workgroup report. Mutat Res 2007;627:106-116.
13. Kenelly JC, Waters R, Ashby J, Lefevre PA, Burlinson B, Benford DJ et al. In vivo rat liver UDS assay. In: Supplementary Mutagenicity Tests, UKEMS Recommended Procedures. Kirkland DJ, Fox M, editors. Cambridge University Press 1993;52-77.
14. Kirkland DJ, Pfuhler S, Tweats D, Aardema M, Corvi R, Darroudi F et al. How to reduce false positive results when undertaking in vitro genotoxicity testing and thus avoid unnecessary follow-up animal tests: report of the ECVAM workshop. Mutat Res 2007;628:31-55.
15. Kirsch-Volders M, Sofuni T, Aardema M, Albertini S, Eastmond D, Fenech M et al. Report from the in vitro micronucleus assay working group. Mutat Res 2003;540:153-63.
16. Kissling GE, Dertinger SD, Hayashi M, MacGregor JT. Sensitivity of the erythrocyte micronucleus assay: dependence on number of cells scored and inter-animal variability. Mutat Res 2007;634:235-40.
17. Ku WW, Bigger A, Brambilla G, Glatt H, Gocke E, Guzzie PJ et al. Strategy for genotoxicity testing-metabolic considerations. Mutat Res 2007;627:59-77.
18. MacGregor JT, Bishop ME, McNamee JP, Hayashi M, Asano N, Wakata A et al. Flow Cytometric analysis of micronuclei in peripheral blood reticulocytes: II. An efficient method of monitoring chromosomal damage in the rat. Toxicol Sci 2006;94:92-107.
19. Moore MM, Honma M, Clements J, Harrington-Brock K, Awogi T, Bolcsfoldi G et al. Mouse lymphoma thymidine kinase locus gene mutation assay: follow-up international workshop on genotoxicity test procedures–New Orleans, Louisiana, April 2000. Environ Mol Mutagen 2002;40:292-9.
20. Moore MM, Honma M, Clements J, Bolcsfoldi G, Burlinson B, Cifone M et al. Mouse lymphoma thymidine kinase gene mutation assay: follow-up meeting of the international workshop on genotoxicity testing–Aberdeen, Scotland, 2003–Assay acceptance criteria, positive controls, and data evaluation. Environ Mol Mutagen 2006;47:1-5.

21. Müller L, Kasper P. Human biological relevance and the use of threshold arguments in regulatory genotoxicity assessment: experience with pharmaceuticals. Mutat Res 2000;464: 9-34.
22. OECD Guidelines for Genetic Toxicology 1997.
23. Scott D, Galloway SM, Marshall RR, Ishidate M Jr, Brusick D, Ashby J et al. Genotoxicity under extreme culture conditions. A report from ICPEMC task group 9. Mutat Res 1991;257:147-204.
24. Storer RD, McKelvey TW, Kraynak AR, Elia MC, Barnum JE, Harmon LS et al. Revalidation of the in vitro alkaline elution/rat hepatocyte assay for DNA damage: improved criteria for assessment of cytotoxicity and genotoxicity and results for 81 compounds. Mutat Res 1996;368:59-101.
25. Suzuki H, Ikeda N, Kobayashi K, Terashima Y, Shimada Y, Suzuki T et al. Evaluation of liver and peripheral blood micronucleus assays with 9 chemicals using young rats. A study by the Collaborative Study Group for the Micronucleus Test (CSGMT)/Japanese Environmental Mutagen Society (JEMS) - Mammalian Mutagenicity Study Group (MMS). Mutat Res 2005;583:133-45.
26. Thybaud V, Aardema M, Clements J, Dearfield K, Galloway S, Hayashi M et al. Strategy for genotoxicity testing: hazard identification and risk assessment in relation to in vitro testing. Mutat Res 2007;627:41-58.
27. Tweats DJ, Blakey D, Heflich RH, Jacobs A, Jacobsen SD, Morita T et al. Report of the IWGT working group on strategies and interpretation of regulatory in vivo tests. I. Increases in micronucleated bone marrow cells in rodents that do not indicate genotoxic hazards. Mutat Res 2007;627:78-91.
28. Tweats DJ, Blakey D, Heflich RH, Jacobs A, Jacobsen SD, Morita T et al. Report of the IWGT working group on strategy/interpretation of regulatory in vivo tests. II. Identification of in vivo-only positive compounds in the bone marrow micronucleus test. Mutat Res 2007;627:92-105.
29. Wakata, A, Miyamae Y, Sato S, Suzuki T, Morita T, Asano N et al. Evaluation of the rat micronucleus test with bone marrow and peripheral blood: summary of the 9th collaborative study by CSGMT/JEMS. MMS. Environ Mol Mutagen 1998;32:84-100.

ICH S3A：毒物動力學指引說明：

毒性研究之全身性暴露量評估

以微採樣為核心

問答集

(草案)

(Toxicokinetics: The Assessment of Systemic Exposure in Toxicity Studies Focus on Microsampling Questions and Answers)

衛生福利部食品藥物管理署

中華民國 113 年 O 月

前言

國際醫藥法規協和會(International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, ICH)於 2017 年發布 ICH S3A Q&As(Questions and Answers to ICH S3A: Note for Guidance on Toxicokinetics: The Assessment of Systemic Exposure in Toxicity Studies Focus on Microsampling S3A Q&As)指引，針對毒物動力學研究整合微採樣方法前所需考量之要點做探討，了解其益處及限制，進而評估主要試驗動物的毒物動力學，並且藉由透過減少或消弭對毒物動力學衛星試驗動物的需求而對 3R(替代、減少、優化)產生重要貢獻。

目錄

一、緒論–範圍----------1
二、微採樣應用基本原則----------2
三、對安全性評估之影響----------3
四、生物分析方法相關議題----------4
五、附件：問答集與 ICH S3A 指引章節對照表----------5

ICH S3A：毒物動力學指引說明：毒性研究之全身性暴露量評估

以微採樣為核心 問答集

序

S3A 指引於 1994 年成功施行，然而因為近年在分析方法敏感度的進步，微採樣技術已廣泛應用於毒物動力學評估。本問答集針對毒物動力學研究整合微採樣方法前所需考量之要點做探討，了解其益處及限制，進而評估主要試驗動物的毒物動力學，並且藉由透過減少或消弭對毒物動力學衛星試驗動物的需求而對3R(替代/減少/優化)產生重要貢獻。

一、 緒論–範圍

(一) (問 1)微採樣的定義是什麼？

答 1 在本文件中，微採樣意指用來採集極少量血液(通常≤50 µL)的方法，一般用於測量藥品及/或其代謝產物之濃度，進而計算相對應的毒物動力學參數。適合微採樣技術之基質包含血液以及從中提取之血漿或血清，可為液體或是乾燥形式以利運輸、儲存以及後續分析。毒物動力學微採樣可應用於齧齒類或非齧齒類動物，本問答集不包含在非由血液提取基質中執行之微採樣。

(二) (問 2)微採樣的效益或優勢是什麼？

答 2 最小化血液採樣可以降低動物的疼痛及緊迫，增進齧齒類及非齧齒類動物的福祉(優化)，亦可以於評估毒物動力學時取消衛星試驗組只進行主要研究，或是在齧齒類研究時降低該主要研究中衛星試驗組所需的動物數量(減少)。該效益對小鼠尤其明顯，因為對於使用傳統採樣的毒物動力學研究來說，衛星試驗組中小鼠通常被大量使用。微採樣的主要科學優勢在於可直接在相同的動物身上評估安全性數據以及藥品暴露量間的關係。

二、 微採樣應用基本原則

（一） (問 3)微採樣適用於哪種藥品和安全性評估研究上？

答 3 一般來說，微採樣適用於包含生物藥品在內的大多數藥品，然而無論分析物為何，皆應針對個案情況來評估測量方法的敏感度是否足以分析可得的少量樣本。

微採樣可用於單劑量、重複劑量以及其他所有的毒理學研究(例如：致癌性、幼年期、生殖研究)。依照 S3A 指引所述，使用微採樣時，於具有代表性的亞組執行採樣是可被接受的。已發表的範例顯示，由成年動物獲取少量血樣並不會影響關鍵的獸醫臨床病理學或病理參數。然而在大多數或全數樣本之藥品濃度低於定量極限(例如：外用或吸入性給藥之暴露量)的情況下，並不適合使用微採樣。但若微採樣使用的生物分析方法與常規樣本體積分析方法有相同的較低定量極限，則即使在大多數或全數樣本低於定量極限的情況下，仍然可以使用微採樣。

（二） (問 4)毒物動力學研究應用微採樣時所需之考量要點為何？

答 4 如同其他動力學採樣方式，為了適當地執行微採樣，必須先開發並驗證生物分析方法(藥品非臨床研究品質管理規範研究可依據當地法規指引驗證方法)以確保分析結果的可靠性。建立微採樣方法時，應謹慎評估下列分析特性(包含但不限於)：較低定量極限、準度、精度、在儲存前稀釋基質所造成之影響，以及在整個採樣、儲存、加工過程中生物基質內分析物之穩定度。當傳統方法已應用於某些研究中，且其他研究欲使用微採樣時，必須比較微採樣與傳統方法在給定基質下的暴露量測量，該比較在毒物動力學樣本呈現的條件截然不同時(例如：微採樣的乾燥樣本與傳統採樣的液體樣本)特別重要，可透過另外執行藥品動力學研究測量基質濃度時間曲線下面積以及/或 C_{max} 來實現比較，但前提是評估的濃度需在合適的範圍內，且兩者的參數需經過比較。若有執行藥品動力學研究的必要，應於執行含有微採樣程序的決定性研究(definitive study)前完成。可依據個案條件免除為比較上述兩種方法而另外執行藥物動力學研究的必要，並且提供合適的科學說明，例如：使用類似的測定條件來測試從相同採樣部位獲得的血液、血漿血清。

比較過程中，可透過在少量的動物身上於不同時間點進行多次血液樣本微採樣，然後測量分析物濃度，以確認採樣的變異性。在理想狀態下，所有的毒物動力學以及臨床暴露量比較研究都應該使用相同的基質。當研究使用了不同的基質時，應考量血液參數、血漿蛋白結合率、藥品的血液/血漿(或血清)濃度比率等相關因素，定義藥品濃度以及基質種類間的關係，以確保研究可使用不同基質的測量值適當地評估全身性暴露量。

（三） (問 5)微採樣的血液採集方式有哪些？

答 5 可於尾靜脈或隱靜脈等處使用毛細管或其他適當之微型採血裝置來採集血液，採集之血液以及從中提取的血漿或血清，無論是液體或乾燥之形式，皆可用來測量藥品濃度。在某些情況下，液體樣本可在儲存、運送、後續分析前以合適的媒液或空白基質稀釋。也有乾燥樣本的方法，即直接將樣本塗抹在纖維素等種類的材質上等待乾燥。可使用採集卡(裝置)上全部的樣本或取用一固定直徑的部分樣本來分析。隨著近期在微採樣方法上的進步以及持續的改良，目前已可精準採集所需血量，讓所有採集的樣本都可用於分析，不需要額外的容積測量。另外，新開發的技術也可於適當的驗證後被考慮使用。

三、 對安全性評估的影響

（一） (問 6)要如何評估血液樣本對毒性數據的影響以及主要研究的動物福祉？

答 6 從主要研究動物採集血液樣本時，需考量血液採集對動物生理狀態的影響，考量因素包含：(1)在一定時間內取樣的體積與數量、(2)試驗藥品的性質(例如：藥品對紅血球的影響、抗凝血效應、血流動力學性質)、(3)試驗系統(例如：物種、年齡、體重、總血量)、(4)採集部位。由於頻繁以及重複採血很可能會影響血液參數等生理數據，應適當地建立採樣方案，微採樣亦同。為求慎重，應記錄體重改變、進食狀況、血液參數(例如：紅血球數、紅血素、血球容積值、紅血球平均體積、電解質、總蛋白)等相關動物數據以及所有對採血部位造成的影響(例如：組織損壞、發炎)。為在特定研究條件下確認各個潛在作用是否與試驗藥品或程序有關，需評估前述參數並將有相同樣本數及數量的藥品試驗組與配對控制組做比較。若先前研究已指出頻繁採血會惡化與試驗藥品有關的血液參數變化，或合理懷疑試驗藥品的藥理作用可能會引發該變化，研究即使使用微採樣技術，也應在毒物動力學評估時使用衛星試驗組。在提供科學根據的前提下，亦可以將稀疏採樣*與微採樣技術合併使用。

*稀疏採樣在毒物動力學研究中通常包含在特定時間點從所有的藥品處理動物身上採集少量的血液樣本，這些樣本採集時間點分配給不同的動物，通常允許部分重複，再使用統計推論來確立試驗化合物的濃度時間行為。研究主持人可透過適當研究設計來減少所需的樣本數目以及採集的血量，在達成傳統毒物動力學目的的同時，避免採樣對動物健康狀況所造成的可能影響。

四、 生物分析方法相關議題

(一) (問 7)開發與驗證液體或乾燥樣本處理的生物分析方法時所需之考量要點為何？

答 7 除各地區生物分析指引中所提及的分析方法驗證外，研究在分析透過微採樣取得的樣本時，亦應考量下列要點：

使用液體採樣時應注意以下幾點：(1)確保樣本同質性(例如：移液)、(2)處理少量樣本可能產生的問題(例如：在儲存和後續冷凍或解凍過程中可能產生冷凍或乾燥作用)、(3)有限的樣本數可能導致定量下限上升、(4)在細小容器或毛細管中添加抗凝血劑可能會造成樣本稀釋、(5)採集容器可能會增加對分析物的吸收(即表面積對採集量的比值增加)、(6)維持適當的樣本保存條件、(7)樣本污染的風險以及使用特定方法時重複採樣的困難度。

使用乾燥採樣時(例如：在纖維素或非纖維素採集卡上點上血點、聚合物基質等)，選擇的方法需有足夠、可再現的回收率，且應盡可能選擇基質對藥品偵測的干擾較小的方法。若使用血點收集的方式，需確保分析物的偵測不受血球容積值影響，特別是分析對象為小分子藥品時更是如此。血球容積對分析物偵測的影響可以透過在不同血球容積值的血液加入已知濃度的試驗藥品來測量。另外，確認血點的均質性也同等重要，可透過評估從同一血點的不同部位取出多個部分樣本並測量各部分樣本內的分析物濃度，或透過放射性標誌評估來實現。只要能夠使用裝置採集正確的血量並分析完整的樣本，就能夠最小化上述問題。應依照當地指引執行已測樣本再分析(incurred sample reanalysis)，且應確保留下足夠的樣本量以及重複數(replicate)(例如：血點、容器、移液管尖端)執行已測樣本再分析。

五、 附件：問答集與 ICH S3A 指引章節對照表

指引章節	一、緒論	二、毒物動力學研究之目的以及可設定參數	三、一般性考量原則	四、不同毒性試驗領域之毒物動力學特定面相	五、補充備註	六、參考文獻(其他指引)
1.1 (問 1)	1		3.10		註 1	
1.2 (問 2)	1		3.5		註 1	
2.1 (問 3)		2		4		
2.2 (問 4)			3.1 3.10			
2.3 (問 5)			3.10			
3.1 (問 6)			3.3 3.5			
4.1 (問 7)			3.10		註 1	

ICH S3A：毒理動力學指引：

毒性試驗之全身性暴露量評估

(草案)

(Toxicokinetics: The Assessment of Systemic Exposure in Toxicity Studies)

衛生福利部食品藥物管理署

中華民國 113 年 O 月

前言

國際醫藥法規協和會(International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, ICH)於 1994 年發布 ICH S3A: Note for Guidance on Toxicokinetics: The Assessment of Systemic Exposure in Toxicity Studies 指引，提供對毒理動力學的含義和應用的理解，以及指導毒理動力學測試策略的發展，並強調將藥物動力學整合到毒性測試中的必要性，有助於解釋毒理學研究結果並促進合理的研究設計發展。本「指引」僅涉及開發供人體使用藥品時之「毒理動力學」。

目錄

一、緒論----1

二、毒理動力學研究之目的與可設定參數----2

三、一般性考量原則----2

(一)簡介----2

(二)暴露量的定量----2

(三)採樣時間點說明----3

(四)為產生足夠暴露量之劑量設定的影響因素----3

1.低劑量----3

2.中劑量----3

3.高劑量----4

(五)毒性試驗之暴露量評估----4

(六)暴露量判讀之複雜因素----4

(七)給藥途徑----5

(八)代謝物之確認----5

(九)數據之統計評估----5

(十)分析方法----6

(十一)報告----6

四、不同毒性試驗領域之毒理動力學-特定面向----6

(一)簡介----6

(二)單劑量毒性試驗----7

(三)重複劑量毒性試驗----7

(四)基因毒性試驗----7

(五)致癌性試驗----7

1.起始劑量選定或劑量範圍研究----7

2.主試驗----------8
(六)生殖毒性試驗----------8
1.簡介----------8
2.生育力試驗----------9
3.懷孕及哺乳動物試驗----------9
五、備註----------9
六、參考文獻(其他指引)----------12

ICH S3A：毒理動力學指引說明:毒性試驗之全身性暴露量評估

一、 緒論

本「指引」僅涉及開發供人體使用藥品時之「毒理動力學」。在這個背景下，「毒理動力學」被定義為藥物動力學數據之產出，無論是作為非臨床毒性試驗的重要組成部分，還是在特別設計的輔助研究中，以評估全身性暴露。這些數據可用於解釋毒理學研究結果，以及其與臨床安全性議題的關聯性(請見註 1 以瞭解本文件中使用的其他術語的定義)。

制定本「指引」提供對毒理動力學的含義和應用的理解，以及指導毒理動力學測試策略的發展。本指引強調將藥物動力學整合到毒性測試中的必要性，有助於解釋毒理學研究結果並促進合理的研究設計發展。

毒理動力學的量測通常與毒性試驗整合在一起，因此在本文件中描述為「伴隨式毒理動力學」(註 1)。或者，可以透過模擬毒性試驗條件進行的其他支持性研究來獲取數據。

如果監測適當參數，毒理動力學可以提供在試驗物種中的多劑量藥物動力學數據，從而避免重複進行此類研究；優化的數據收集設計將減少所需動物數量。

非臨床藥物動力學和代謝研究計劃的各個組成，對於解釋毒理學研究結果可能具有價值。然而，毒理動力學數據僅關注，在毒性試驗本身條件下新治療劑的動力學特徵。

毒理動力學是非臨床測試計劃的重要組成；它應可增強所產出毒理學數據的價值，包括理解毒性測試，以及與臨床數據進行比較，作為人體風險和安全性評估的一部分。由於毒理動力學整合到毒性測試中，且在非臨床和臨床研究之間搭起橋樑，因此其焦點主要是對毒性測試的解釋，而非鑑定試驗物質的基本藥物動力學參數。

藥品的開發是一個動態過程，涉及非臨床和臨床研究之間的持續反饋，因此不建議針對毒理動力學應用制定嚴格的詳細程序。並不一定需要在所有研究中收集毒理動力學數據，以科學方式判斷來決定這些數據何時可能會有用。個別毒性試驗中對毒理動力學數據的需求和暴露評估程度，應基於靈活的逐步式策略和個案決定過程，以提供充足的資訊進行風險和安全性評估。

二、 毒理動力學研究之目的與可設定參數

毒理動力學研究之主要目的是：

- 描述動物所達到的全身性暴露量，以及暴露量與劑量和毒性試驗時間進程的相關性。

次要目的包括：

- 將毒性試驗中所達到的暴露量與毒理學發現相關聯，並對這些結果與臨床安全性的關聯性進行評估。
- 支持(註 1)非臨床毒性試驗的物種選擇與治療間隔。
- 提供與毒性試驗結果相結合的資訊，有助於後續非臨床毒性試驗的設計。

為實現這些目標，可以藉由在個別試驗的適當時間點進行量測，獲取一個或多個藥物動力學參數(註 2)。這些量測通常包括親代化合物和/或代謝物的血漿(或全血或血清)濃度，並應根據具體情況進行選擇。毒理動力學研究中最常用的參數是血漿(或全血或血清)的曲線下面積(AUC)、峰值濃度(C_{max})和濃度時間 $C_{(time)}$(註 2)。對於某些化合物，基於(血漿蛋白)非結合濃度可能更適合用來計算暴露量。

這些數據可以從毒性試驗中的所有動物獲得，也可以從具有代表性的子群體、附加實驗組(參見第三章第(五)節和註 1)或獨立試驗中獲得。受益於毒理動力學資訊的毒性試驗包括單劑量和重複劑量毒性試驗、生殖、基因毒性和致癌性試驗。毒理動力學資訊還可以用於評估變更臨床給藥途徑的影響。

三、 一般性考量原則

(一) 簡介

以下段落列出在設計個別試驗時應考慮的一般原則。值得注意的是，對於那些依循優良實驗室操作規範(Good Laboratory Practice, GLP)的毒性試驗，同步的毒理動力學研究也必須符合 GLP 的要求。當安全性評估需要時，旨在回顧性地生成與毒性試驗條件相近的特定數據搜集的毒理動力學研究，也應符合 GLP 要求。

(二) 暴露量的定量

定量全身性暴露量可以評估試驗物種的負荷，並且幫助解釋不同物種、劑量組別和性別之間毒性的相似性和差異性。暴露量得以血漿(血清或血液)濃度，或

親代化合物和/或代謝物的 AUC 表示。在某些情況下，試驗可能會設計來探討組織濃度。在設計毒性試驗時，應考慮人體治療劑量(預期或已確定)下的暴露和劑量相關性，以便在動物毒性試驗中達到相關的暴露量。此外，還應考慮試驗物質的藥效學性質(定性或定量)在不同物種之間可能存在差異。

在某些情況下，藥效學作用或毒性可能提供支持暴露的證據，甚至可能取代藥物動力學參數。毒性試驗的藥物動力學監測或研究應確定研究過程中已達到的暴露量，並且還可提示毒理學家有可能發生的非線性、劑量相關的暴露變化(註 3)。藥物動力學資訊可能比單純根據劑量/體重(或體表面積)進行的比較更能提供物種間的比較結果。

(三) 採樣時間點說明

在合併毒理動力學研究中，收集體液的時間點應盡可能頻繁，但不要過於頻繁到干擾研究的正常進行，或給動物造成不必要的生理壓力(註 4)。在每項試驗中，所選擇的時間點數量應該是經過充分考慮和合理說明的，以便能夠正確估計暴露量(見第三章第(二)節)。這些說明應該基於從先前的毒性試驗、先行試驗，或劑量範圍試驗中獲得的動力學數據，以及在相同動物模型，或其他可靠的外推模型中所進行的獨立試驗得到的結果。

(四) 為產生足夠暴露量之劑量設定的影響因素

在毒性試驗中，劑量的設定主要取決於毒理學結果和試驗物種的藥效反應。然而，以下的毒理動力學原則可能有助於劑量的設定。

1. 低劑量

在低劑量上，最好是選擇一個無毒性作用的劑量水準(註 5)，在任何毒性試驗中的動物暴露量，理想上應該等於或僅略高於預期於患者中的(或已知的)最大暴露量。這種理想並非總是能夠達到，低劑量通常需要根據毒理學考慮來決定，但是系統性的暴露量應該被確定。

2. 中劑量

中劑量的暴露量應該通常是低(或高)劑量暴露量的適當倍數(或分數)，具體根據毒性試驗之目的而定。

3. 高劑量

毒性試驗中的高劑量通常根據毒理學的考量來確定，然而，應該評估所使用劑量達到的暴露量。

當毒理動力學數據顯示某化合物的吸收限制了對親代化合物和/或代謝物的暴露量(註 6)時，應接受使用產生最大物質暴露量的最低劑量作為頂部劑量(當沒有其他劑量限制時，註 7)。

在毒性試驗中特別需要注意當所選劑量產生非線性動力學時(註 3)，對毒理學結果的解讀應格外謹慎。然而，非線性動力學不一定會在毒性試驗中導致劑量限制或無法確認的結果；毒理動力學在評估劑量與暴露量之間的關係上非常有用。

(五) 毒性試驗中之暴露量評估

在毒性試驗中，應該對適當數量的動物和劑量組進行全身性暴露的估計(註 8)，以提供風險評估的基礎。

相關的毒理動力學試驗可以在主試驗中的全部，或者具代表性比例的動物中進行，也可以在特殊的衛星組中進行(註 1 和 5)。通常情況下，產出毒理動力學數據的樣本可以從主要研究中的動物中收集，如果涉及到大型動物，則可以在衛星組中進行收集，但對於較小的(嚙齒類)物種，可能需要設立衛星組。

所使用的動物數量應該是產生適當毒理動力學數據的最低數量。除非有合理性說明，在主試驗中使用雌雄動物時，通常應該估算兩性動物的暴露情況。

若給藥方式基本上沒有變化，則不必然需要對不同期程的試驗進行毒理動力學數據的收集(另見第四章第(三)節)。

(六) 暴露量判讀之複雜因素

儘管如上所述估計暴露量可以幫助解讀毒性試驗的結果，並與人體暴露量進行比較，但有一些注意事項需要注意。

應考慮物種間在蛋白質結合、組織吸收、受體特性和代謝特性上的差異。例如，對於高度蛋白質結合的化合物，以游離(未結合)濃度表示暴露量可能更加適合。此外，代謝物的藥理活性、毒性和生物技術產品的抗原性可能是複雜因素。此外，值得注意的是，即使在相對低的血漿濃度下，也可能在特定器官或組織中存在較高濃度的給藥化合物和/或代謝物。

（七） 給藥途徑

使用其他給藥途徑的毒理動力學策略，例如：吸入、外用或注射投予，應基於預期給藥途徑下物質的藥物動力學特性。

有時候會提出使用新的臨床給藥途徑藥品，例如，原以開發口服配方的產品，後續可能開發為靜脈注射投予。在這種情況下，需要確定更改臨床給藥途徑是否會顯著降低安全範圍。

這個過程可能包括比較現有給藥途徑，和新提出的給藥途徑在人體內產生的化合物和/或相關代謝物的全身曝露(AUC 和 C_{max})。如果新的途徑導致 AUC 和/或 C_{max} 增加，或者代謝途徑改變，則應重新考慮從動物毒理和動力學方面確保其安全性。如果新途徑暴露量與現有途徑相比並無顯著增加或不同，則非臨床毒性試驗可以專注於局部毒性。

（八） 代謝物之確認

毒理動力學的一個主要目標，是描述在毒理物種中投予化合物後達到的全身性曝露。然而在有些情況下，進行毒理動力學量測血漿或其他體液中的代謝物濃度，是特別重要的(註 9)：

- 當投予的化合物作為"前驅藥品"，而產出的代謝物被認定為主要的活性成分。
- 當化合物代謝成一個或多個，對組織/器官反應有重要貢獻的藥理學或毒理學活性代謝物。
- 當投予的化合物被廣泛代謝，而量測主要代謝物在血漿或組織中的濃度，是評估給予化合物後暴露的實際可行方法(註 10)。

（九） 數據之統計評估

數據應該能夠充分評估暴露狀況。然而，由於動力學參數在個體內和個體間可能存在較大的變異，且毒理動力學數據的收集通常用的動物數量較少，因此通常不需要在統計上達到高水準的精確度。應考慮計算平均值或中位數以及變異性的估計，但在某些情況下，個體數據可能比群組數據進行精細的統計分析更重要。如果進行數據轉換(例如取對數)，需要提供合理的說明。

(十) 分析方法

將藥物動力學整合到毒性測試中，意味著需早期開發分析方法，並隨著對代謝和物種差異的瞭解持續檢視分析物和基質的選擇。

在毒理動力學研究中使用的分析方法，應專門用於量測要評估的物質，並具有足夠的準確性和精確性。定量極限應足夠用於量測預期，在毒理動力學數據生成過程中可能出現的濃度範圍。

應清楚說明要測定的分析物和基質(生物液體或組織)，並研究每種樣本類型(每個物種)中內生成分的可能干擾。血漿、血清或全血通常是毒理動力學研究的首選基質。

如果藥品物質是外消旋體(racemate)或其他鏡像異構體(enantiomers)的混合物，應對分析物的選擇(外消旋體或鏡像異構體)提供額外的合理性說明。

非臨床研究中測定的分析物和基質，理想情況下應與臨床研究相同。如果在非臨床和臨床研究中使用不同的測定方法，則應確保它們都經過適當的驗證。

(十一)報告

應全面詳述所產生的毒理動力學資料，並評估結果以及其對毒性學研究結果解釋的影響。

應詳細報告或引用分析方法的概要。此外，應該給出選擇分析基質和量測分析物(見第三章第(八)和第(十)節)的理由。報告在申請案中的定位，取決於其數據是特定於任何一項毒性試驗，還是支持所有毒性試驗。

四、 不同毒性試驗領域之毒理動力學-特定面向

(一) 簡介

基於上述毒理動力學原則，以下具體考慮涉及個別領域的毒性測試。在必要時，可以延長或減少暴露監測或配置的頻率。僅從某些個體動物取樣可能是合適的，因為這有助於解讀這些動物的毒理學發現。

（二） 單劑量毒性試驗

這些試驗通常在還沒有發展出生物分析方法的很早期開發階段中進行，因此通常無法進行毒理動力學監測。若需要，可以在這些試驗中採集，並儲存血漿樣本以便之後進行分析；此時需要有關所採樣基質中分析物穩定性的數據。或者也可以在單劑量毒性試驗完成後進行追加的毒理動力學試驗，以回應由此試驗中可能衍生的特定問題。

單劑量動力學試驗的結果可以幫助配方選擇，以及預測給藥間隔內的暴露速度和持續時間。這有助於後續研究中選擇合適的劑量。

（三） 重複劑量毒性試驗

在可能的情況下，應根據藥效學和藥物動力學原則選擇治療方式(註 11)和動物物種。然而，當缺乏動物及人體的藥物動力學數據時，在非常早期的試驗可能無法實現。

毒理動力學應適當地納入研究設計中。這可能包括在第一個重複劑量研究(註 12)的治療期的開始和結束時，在適當劑量上進行曝露量的分析或監測(註 1)。後續研究的程序將取決於第一個研究的結果，以及治療方式的任何變化。在先前的毒性試驗的解讀中出現問題的特定化合物，可以對監測或分析進行延長、縮短或修改。

（四） 基因毒性試驗

對於在體內基因毒性試驗為陰性結果，可能需要證明該藥品在試驗動物中的全身性暴露量，或對於指標組織的暴露情況。

（五） 致癌性試驗

1. 起始劑量選定或劑量範圍研究

應進行適當的監測或測定，以產生毒理動力學數據，該數據可幫助主試驗的設計(見第四章第(五)節)。應特別注意尚未在早期毒性試驗中包含的物種和品系，以及首次使用的給藥途徑或方式。應特別注意在餐食中給藥時，所建立的適當毒理動力學數據(註 13)。

毒理動力學數據可幫助根據臨床暴露資訊選擇劑量，並在非線性動力學條件(註 3)可能干擾試驗結果解讀時提供協助。

原則上，理想的試驗設計應確保致癌性試驗使用的劑量，可以產生高於人體治療最大暴露量數倍的全身性暴露值範圍。然而如此理想的劑量選擇，可能會因為某些物種特定且無法避免的問題而無法實現，因此本指引強調的是在適當劑量下，以及致癌性試驗的各個階段估計全身性暴露量，以及量測親代化合物與/或代謝產物濃度之重要性，如此一來，該試驗的發現就可以用於動物模型與人體間的暴露量比較。

基於試驗物種和人體可能的曝露量之了解，以最大全身曝露量作為致癌能力測試的可接受終點。一般而言，毒性終點指標通常會被用來選擇最高劑量。

2. 主試驗

在可行的情況下，應根據可用的藥物動力學，和毒理動力學資訊來確定治療方式、物種和品系。實際上，絕大多數這些研究都是在大鼠和小鼠中進行的。

如 **4.1** 簡介章節所提到，建議透過監測確保主試驗的暴露，與單獨或特定劑量範圍研究所建立的動力學概況一致。這種監測在試驗中的某些時期是適當的，但不必超過六個月。

（六） 生殖毒性試驗

1. 簡介

在進行生殖毒性試驗前，最好先獲得一些藥物動力學的資訊，以判斷是否需要調整物種的選擇、試驗設計和給藥時程。此時的資訊並不需要很詳細，也不需要從懷孕或哺乳的動物身上取得。將依據試驗結果評估可能需要更多有關懷孕或哺乳動物的藥物動力學資訊。

通常因母體的毒性而限制生殖毒性的暴露。因此，雖然有時生殖毒性試驗中的毒理動力學監測可能很有價值，尤其是對於低毒性化合物來說，但不是所有化合物都需要這些資料。

因缺乏藥理反應或毒性作用而對全身性暴露產生疑問，可以運用毒理動力學的原則，評估在生殖過程的不同階段給予藥品的暴露量。可以使用一衛星試驗組的雌性動物來收集毒理動力學數據。

2. 生育力試驗

重複劑量毒性試驗的一般原則也同樣適用(參見第四章第(三)節)。是否需要監測生育力試驗將取決於所使用的給藥方式以及先前在所選物種中已經獲得的資訊。

3. 懷孕及哺乳動物試驗

應根據毒理學發現以及藥物動力學和毒理動力學原則來選擇於暴露期間的治療方式。應考慮到懷孕和非懷孕動物之間可能存在動力學差異。

毒理動力學研究可能涉及在指定天數對母體、胚胎、胎兒或新生動物的暴露評估(註 14)。可以評估母乳中的分泌物來確定其對新生動物的暴露影響。在某些情況下,可能需要進行額外的研究,以研究胚胎/胎兒轉移和母乳中的分泌物作用。解讀生殖毒性時應考慮到在有些物種並無法證明物質通過胎盤轉移。

五、 備註

註 1 本指引說明中的詞彙定義：

分析物： 生物樣品中欲測定之化學實體。

基質： 用來測定之血液、血漿、尿液、血清，或其他體液或組織。

合併毒理動力學：

毒性試驗於所有動物、代表性子群體，或衛星組執行之毒理動力學量測。

暴露量： 暴露量係以藥物動力學參數來表示,在試驗物種上試驗化合物和/或代謝產物,所造成之局部或全身性負荷。基質濃度時間曲線下面積(AUC)、和/或在預計達到濃度高峰時(C_{max})或其他時間點($C_{(time)}$)所測得之基質濃度，是最常用的參數。在特定案例中，可能有其他更適合的參數。

監測： 在給藥間隔中收集的少量基質樣本(例如：1 至 3 個樣本)來預估 $C_{(time)}$ 或是 C_{max}。

剖析： 在給藥間隔中收集的基質樣本(例如:4-8 個)來預估 C_{max} 和/或 $C_{(time)}$以及基質濃度時間曲線下面積。

衛星組： 在設計與執行毒性試驗時所建立的動物組別，其處理以及居住條件與主要研究的動物相同，但主要用於毒理動力學研究。

支持： 以毒性試驗來說，支持意指根據藥物動力學以及代謝原則認證，或確立毒性試驗的設計，此過程可能包含兩個步驟：

a) 透過毒理動力學原則確認給予的化合物和/或其代謝產物，在研究動物身上產生適當的全身性暴露量(見第三章第(四)節)。

b) 確認試驗物種之代謝特徵是否合適，通常以動物及人體的代謝研究數據來評估。

確效： 以分析方法來說，為根據待測生物基質以及待定量分析物，來建立分析方法之準確性、精確度、再現性、反應函數，與特異性。

註 2 以下符號與定義根據「藥物動力學符號、公式與定義手冊」，美國臨床藥理學院藥物動力學命名委員會，費城，賓州，1982 年 5 月：

C_{max} 最高(峰值)濃度。

$C_{(time)}$ 投予特定劑量後的特定時間點之最高濃度。

t_{max}， 投予劑量後達到峰值或最高濃度的時間。

$AUC_{(0\text{-}t)}$ 從 0 到 t 時之濃度時間曲線下面積，請注意 $AUC_{(0\text{-}infinity)}$是特殊情況下的 $AUC_{(0\text{-}t)}$值。

對某些化合物來說，有其他更適合的量測指標，例如：尿液排泄。生體可用率、半衰期、未與蛋白結合之藥品所佔比例、分布體積等參數可幫助研究判讀毒理動力學數據。因此根據第 3 節所探討的一般性原則，研究應根據個案條件來選擇參數以及時間點。

註 3 因清除過程達飽和而產生之非線性動力學特徵，可能會導致預期外的暴露量上升。在研究過程中，試驗動物可能會對血漿半衰期特別長的化合物有較高的暴露量，應謹慎觀察在給藥間隔中相對較短時間內，達到高 C_{max} 值的化合物。反之，研究過程中也可能會因為自動誘導的代謝酶，而導致過低的低暴露量。

註 4 若欲從主試驗動物取得樣本，應考量是否於所有給藥組與對照組，以使用相同方式處理的所有研究動物執行採樣，或於同樣數量的代表性子群體執行採樣。

註 5 無毒性作用劑量(與"無明顯不良反應劑量"相同)定義為：可觀察到藥理反應，但無產生任何不良反應的劑量。

註 6 在這些情況中，應確認吸收是速率限制步驟，且對給予物質暴露量的限制，並非因清除率增加所造成。

註 7 對口服投予動物可接受量的限制，可能會約束無毒性化合物，如溶液劑或懸浮劑投予可達到的劑量。

註 8 對照組樣本的測定通常是非必要的，若認為對其毒性試驗結果的判讀，或是對驗證其測定方法有幫助，依然可採集樣本和測定。

註 9 為了支持非臨床毒性試驗中適當的人體代謝物毒性測試，而需要紀錄其暴露量時，代謝物濃度的量測可能特別重要。

註 10 若代謝物的量測作為毒理動力學評估的一部分時，只能評估暴露量，無法解釋可能的反應性中間代謝物。

註 11 治療方式涵括了劑量、配方、給藥途徑，與給藥頻率。

註 12 在各個物種上執行整合毒理動力學數據的第一個重複劑量試驗，通常給藥期間為 14 天或以上。

註 13 可能需要執行額外試驗來比較，化合物透過混食、胃管灌食，或與預計臨床途徑不同的給藥途徑的暴露量。

註 14 應注意的是，雖然考量物質在進入胚胎胎兒時的轉移很重要，但實際上胎兒暴露量是研究最常評估的參數，常以「胎盤轉移」來表示。

六、 參考文獻(其他指引)

1. ICH S1C(R2)：藥品致癌性試驗劑量選擇
2. ICH S5A：藥品生殖毒性檢測

ICH S3B:藥物動力學：

重複劑量組織分佈試驗指引

(草案)

(Pharmacokinetics: Guidance for Repeated Dose Tissue Distribution Studies)

衛生福利部食品藥物管理署

中華民國 113 年 O 月

前言

國際醫藥法規協和會(International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, ICH)於 1995 年發布 ICH S3B:藥物動力學：重複劑量組織分佈試驗指引(Pharmacokinetics:Guidance For Repeated Dose Tissue Distribution Studies)指引，提供應考慮進行重複劑量組織分佈試驗的情境與試驗執行的指引。

目錄

一、簡介----------1

二、應考慮執行重複劑量組織分佈試驗之條件----------1

三、重複劑量組織分佈試驗之設計與執行----------2

四、總結----------2

ICH S3B：藥物動力學：重複劑量組織分佈試驗指引

一、 簡介

全面了解一個化合物的吸收、分佈、代謝和排泄，對於解釋藥理學和毒理學試驗至關重要。組織分佈試驗可提供化合物和/或代謝物分佈和累積，特別是與潛在作用部位有關的必要資訊；這些資訊可能有助於設計毒理學和藥理學試驗，並解讀這些實驗的結果。

在歐盟、美國和日本，已經一致同意單劑量組織分佈試驗為非臨床試驗的一部分。這些單劑量試驗通常足夠提供組織分佈的資訊。

對於重複劑量組織分佈試驗，尚未有一致的要求。然而，在某些情況下，重複給藥後的評估可提供重要的資訊。

本文提供應考慮進行重複劑量組織分佈試驗的情境與試驗執行的指引。

二、 應考慮執行重複劑量組織分佈試驗之條件

1. 當單劑量組織分佈試驗指出，試驗化合物(及/或其代謝產物)在器官或組織中的半衰期，顯著高於血漿中的排除半衰期，且超過毒性試驗給藥間隔的兩倍時，可能需要進行重複劑量組織分佈試驗。

2. 當在重複劑量藥物動力學或毒理動力學試驗中，化合物/代謝物在循環中的穩定態濃度，明顯高於單劑量動力學試驗所預測的濃度時，應考慮進行重複劑量組織分佈試驗。

3. 當觀察到與試驗物質安全評估密切相關的組織病理學變化，而這些變化無法從短期毒性試驗、單劑量組織分佈試驗，與藥理學試驗中預測時，重複劑量組織分佈試驗有助於解讀這些結果。這些發生病變的器官或組織，應該是試驗的重點。

4. 開發藥品用於特定部位的標靶性給藥時，可適當進行重複劑量組織分佈試驗。

三、 重複劑量組織分佈試驗之設計與執行

這些試驗之目的可以藉由使用放射標記化合物，或具有足夠靈敏度和特異性的替代方法來達成。應選擇藥品劑量和試驗物種，以釐清導致須考慮進行重複劑量組織分佈試驗之問題。

在選擇給藥時程時，應運用先前藥物動力學和毒理動力學試驗的資訊。給藥一週通常被認為是最短期間。當該化合物及(或)其代謝物的血液/血漿濃度，未達到穩定狀態時，應選擇更長的給藥時程。通常無需給藥超過三個星期。

如果在器官和組織中發生大量累積，或想釐清器官毒性的機制時，應考慮測量該器官或組織未改變的化合物和/或代謝物。

四、 總結

組織分佈試驗是非臨床動力學試驗中的重要部分。對於大多數化合物，具有足夠靈敏度和特異性的單劑量組織分佈試驗，預期可提供對組織分佈和累積潛力的充分評估。因此，不應統一要求所有化合物進行重複劑量組織分佈試驗，僅應在無法從其他來源獲得適當數據時才進行。在某些情境下，根據單劑量組織分佈試驗、毒性和毒理動力學試驗的數據，重複劑量試驗可能是適當的，尤其是具有明顯長半衰期、不完全消除，或出現意外器官毒性的化合物。重複劑量組織分佈試驗的設計和時機，應依據個案而定。

ICH S4：動物慢性毒性測試時程指引

(嚙齒類與非嚙齒類毒性測試)

(草案)

Duration of Chronic Toxicity Testing in Animals

(Rodent and Non Rodent Toxicity Testing)

衛生福利部食品藥品管理署

中華民國 113 年 O 月

前言

國際醫藥法規協和會(International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, ICH)於 1998 年發布 ICH S4(Duration of Chronic Toxicity Testing in Animals (Rodent and Non Rodent Toxicity Testing))指引，提供符合規範作為醫藥品安全性評估的一環，嚙齒類與非嚙齒類慢性毒性測試之考量。本指引為醫藥品之開發而設，但不適用於 ICH《生技產品安全性試驗》指引所涵蓋如單株抗體、重組 DNA 蛋白等。

目錄

一、目的----------1
二、適用範圍----------1
三、背景----------1
四、針對三個區域開發計畫中慢性毒性測試時程之指引-----2

ICH S4：動物慢性毒性測試時程指引(嚙齒類與非嚙齒類毒性測試)

一、 目的

本指引之目的，在於規範作為醫藥品安全性評估的一環，嚙齒類與非嚙齒類慢性毒性測試之考量。本指引不具法律強制力，申請者可改採具適當合理性之替代性作法。

二、 適用範圍

本指引為醫藥品之開發而設，但不適用於 ICH《生技產品安全性試驗》指引所涵蓋如單株抗體、重組 DNA 蛋白等。

三、 背景

在 1991 年的第一屆國際醫藥法規協合會議上，曾對於三個地區(歐盟、日本和美國)的慢性毒性測試實務進行回顧，由此協合出在嚙齒類動物慢性測試，6 個月測試時程支持上市許可的科學共識。然而，在非嚙齒類動物中的慢性毒性測試，則有不同的測試時程作法。

此缺乏協合的測試時程，導致藥品公司在開發新醫藥品，都需要部分地進行 6 與 12 個月的重複性研究。基於 ICH 的目標是在醫藥品開發過程中，減少或消除重複測試的需求，並確保更經濟地利用材料、動物和人力資源，同時保護公共健康，進行進一步的科學評估。

歐盟、日本和美國的監管機構，分別對於是否能以單一非嚙齒類動物慢性毒性測試時程，進行確認與評估。從在 16 個案例分析發現，應進行更詳細 6 個月比較 12 個月數據的評估。

這項評估由三個地區的主管機關共同進行。三方會議的案例分析，在 12 個月的案例中沒有額外的發現。其他一些對於試驗設計和執行具有可比較性的案例，評估是否僅因 6 和 12 個月不同的時程而有差異的發現，監管機構之間並未達成完全一致意見。

在一些案例中，於 12 個月的案例有觀察到的發現，但 6 個月沒有，而這些發現可能在 9 個月的試驗中得到。對於不同時程的試驗中發現的差異程度，表達了不同程度的關注。對於這些發現的臨床相關性還無法達成共識。通常不需要進行 12 個月的試驗，時程短於 9 個月的試驗可能已足夠。

在歐盟，根據修正後的理事會指令 75/318/EEC，可接受非嚙齒類動物進行 6 個月的試驗。為了避免重複，若已進行較長時程的試驗，則不需要再進行 6 個月的試驗。

四、 針對三個區域開發計畫中慢性毒性測試時程之指引

從上述非嚙齒類數據的深度分析和回顧，與基於 ICH1 對嚙齒類測試所達成的共識，為了避免重複，與跟進新醫藥品慢性毒性測試的單一開發計畫，在三個區域可接受提交以下的試驗：

1) 嚙齒類：

一個時程 6 個月的試驗。

2) 非嚙齒類：

一個時程 9 個月的試驗。

ICH S5(R3)：

人體藥品之生殖與發育毒性檢測指引

（草案）

(Detection of Reproductive and Developmental Toxicity for Human Pharmaceuticals)

衛生福利部食品藥物管理署

中華民國 113 年 O 月

前言

國際醫藥法規協和會(International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, ICH)於 2020 年發布 ICH S5(R3)(Detection of Reproductive and Developmental Toxicity for Human Pharmaceuticals)指引，針對 DART 相關試驗提出符合國際標準之建議。本文將說明各種用以補充現有資料並鑑別、評估、傳達藥品風險之可用策略與試驗設計。同時本文亦針對試驗資料之詮釋提出必要的整體性概念與建議。

目錄

簡稱列表 i

一、引言 1

(一)試驗目的 1

二、涵蓋範疇 2

三、生殖毒性試驗之一般性考量 2

(一)目標病人族群/療效適應症之考量 3

(二)藥理方面之考量 3

(三)毒性之考量 3

(四)時機之考量 4

(五)毒物動力學性質(toxicokinetics, TK) 4

四、哺乳類 *in vivo* 試驗之設計與評估 4

(一)生殖能力與胚胎早期發育(FEED)之評估策略 5

1.生物製劑之考量 5

(二)胚胎–胎兒發育(EFD)之評估策略 6

1.生物製劑之考量 6

2.評估 EFD 風險的替代性方法 7

I.替代性試驗的使用 7

3.推遲整合式試驗策略中決定性 *in vivo* 試驗之可能做法 7

(三)產前與產後發育(PPND)影響之評估策略 8

1.生物製劑之考量 8

五、試驗體系之選擇 8

(一)常用於測試之物種 8

1.DART 試驗所用物種之選擇 8

2.預防性與治療性疫苗所用物種之選 9

(二)較少用於測試之物種 9

(三)動物疾病模式、基因改造模式、替代分子藥品之使用 9

六、劑量選擇、給藥途徑和時程 10

(一)劑量選擇 10
1.毒性為基礎的指標 10
2.以全身性暴露飽和量為指標 11
3.以暴露臨界(exposure margin)為基礎之指標 11
I.適用於生物製劑之以暴露量為基礎的做法 11
4.以最高可能投予劑量為指標 12
5.以上限劑量為指標 12
6.較低劑量之選擇 12
(二)給藥途徑 12
(三)時程 12
(四)疫苗之劑量選擇與試驗設計 13
七、適用於嚙齒類之組合式試驗設計 14
八、數據報告與統計分析 14
(一)數據報告 14
(二)統計分析 14
九、風險評估之原則 15
十、註釋 16
十一、名詞解釋(以下的定義僅限此指導原則所用) 17
十二、參考文獻 19
附錄 1 *in vivo* 試驗設計 20
(一) ***in vivo*** 試驗設計之考量 25
1.生殖能力與胚胎早期發育(FEED)試驗 25
2.胚胎–胎兒發育(EFD)毒性試驗 28
I.劑量範圍探索胚胎–胎兒發育毒性試驗 28
II.初步胚胎–胎兒發育(pEFD)毒性試驗 28
III.決定性胚胎–胎兒發育毒性試驗 28
3.產前與產後發育(PPND)毒性試驗 31
I.非人屬靈長類(NHP)之加強型產前與產後發育(ePPND)毒性試驗 33
4.組合式試驗設計 34

I.FEED 與 EFD 34
II.雄性生殖能力與重複劑量毒性試驗 34
附錄 2 替代性試驗 35
(一)預測 MEFL 之替代性試驗的驗證 35
(二)採用替代性試驗之 EFD 試驗策略範例 37
1.將替代性試驗納入整合性試驗策略以推遲 *in vivo* 試驗之可行做法 37
2.預期對胚胎–胎兒具毒性之藥品 37
3.針對令病人極度衰弱或有生命危險(SDLT)之特定疾病的藥品 39
4.針對老年才發作(LLO)的疾病之藥品 39
縮寫列表 42

簡稱列表

AUC：曲線下面積

C_{max}：最大血漿濃度

C_{min}：最小血漿濃度

DART：發育與生殖毒性

DRF：劑量範圍找尋

EFD：胚胎胎兒發育

ePPND：強化出生前後發育的

FEED：生育力與胚胎早期發育的

GD：孕期天數

GI：胃腸的

GLP：藥品非臨床試驗優良操作規範

ICH：國際醫藥法規協和會

IV：靜脈內的

LOAEL：最低明顯反應劑量

LLO：晚年發病

MOA：作用機制

MEFL：畸形或胚胎胎兒致死性

MFD：最高可投與劑量

MRHD：人體建議最高劑量

NHP：非人靈長類

NOAEL：無明顯不良反應劑量

PD：藥效學

pEFD：初步胚胎胎兒發育

PK：藥物動力學

PND：出生後天數

PPND：出生前後發育

SDLT：嚴重衰弱或危害生命

TK：毒物動力學

WOCBP：具生育力之女性

ICH S5(R3)：人體藥品之生殖及發育毒性檢測

一、 引言

藥品欲進行人體臨床試驗與申請上市許可時須提交發育與生殖毒性(developmental and reproductive toxicity, DART)之非臨床評估結果。本指導原則之目的即針對 DART 相關試驗提出符合國際標準之建議。本文將說明各種用以補充現有資料並鑑別、評估、傳達藥品風險之可用策略與試驗設計。同時本文亦針對試驗資料之詮釋提出必要的整體性概念與建議。

本指導原則係基於國際醫藥法規協和會於 2020 年公布之 ICH S5(R3)所撰寫，ICH S5(R3)係對於 1993 年公布之醫藥產品生殖毒性試驗規範(ICH guideline S5 Detection of Toxicity to Reproduction for Medicinal Products)加以修正，以便與其他 ICH 規範銜接。ICH S5(R3)擴充了使用暴露量來選擇試驗劑量之方法，增加風險評估專章，並將疫苗與生物製劑納入範疇之中。此外，ICH S5(R3)說明了替代性試驗方法之驗證與使用的情況，並提供推遲發育毒性試驗之選項。

評估人用藥品對生殖與發育功能之影響時，一般須備齊可評估暴露於該藥品下可能遭受衝擊之資料。必要時，亦須提出該藥品代謝物對於所有發育與生殖階段產生之影響。沒有任何一份準則能涵蓋所有的可能性，故試驗策略得視需要彈性調整。

(一) 試驗目的

DART 試驗之目的在於發現藥品對哺乳類生殖之影響，以進行人體風險之評估。若條件合適，所採行之各式試驗需包含完整生命週期(自一特定世代受孕開始，於次世代受孕終了)之觀察結果，且需能發現立即不良影響與潛在不良影響。一般而言，需進行試驗之生殖階段如下：

A) 交配前至受孕(成年雄性與雌性之生殖功能、配子之發育與成熟程度、交配行為、受精作用)

B) 受孕至著床(成年雌性之生殖功能、著床前發育、著床)

C) 著床至硬顎閉合(成年雌性之生殖功能、胚胎發育、主要器官成形)

D) 硬顎閉合至懷孕期終了(成年雌性之生殖功能、胎兒發育與成長、器官發育與成長)

E) 出生至斷奶(分娩與泌乳、新生兒適應子宮外環境、斷奶前之發育與成長)

F) 斷奶至性成熟(斷奶後之發育與成長、適應獨立生活、進入青春期至完全性成

熟、對次世代之影響)

除非該階段與目標藥品所針對的使用對象無關，原則上每個階段所面臨的風險均應進行評估。試驗委託人得自行判斷個別試驗所需涵蓋之階段，但在藥品開發過程中，何時進行試驗應視其試驗對象與藥品開發階段而定(參閱 ICH M3、ICH S6 與 ICH S9 (3))。

二、 涵蓋範疇

此指導原則適用於所有藥品，含生物製劑與針對傳染性疾病之疫苗(及其新組成成份)，以及構成最終產品之新賦形劑。在本指導原則中，藥品一詞泛指前述所有治療模式。此指導原則不適用於細胞治療、基因治療、組織工程之產品。本文所列有關方法學之原則(例如試驗設計、劑量選擇、物種選擇等)適用於一切適合進行生殖毒性及/或發育毒性試驗之化合物。此指導原則應與 ICH M3、ICH S6、ICH S9 合併考量，以決定是否進行非臨床 DART 試驗以及進行該類試驗之時機。

三、 生殖毒性試驗之一般性考量

開發中的藥品多數需要依前文所列各生殖週期階段進行試驗，但如下文所示可能有例外存在，此時須提出合理性說明。為配合新藥之臨床研發，生殖週期各階段一般以三種 *in vivo* 方式進行試驗：

1) 生殖能力與胚胎早期發育(fertility and early embryonic development, FEED)試驗-A 與 B 階段；
2) 兩個物種的胚胎–胎兒發育(embryo-fetal development, EFD)試驗(亦常稱為致畸胎試驗)-C 與 D 階段；
3) 產前與產後發育(pre- and postnatal development, PPND)試驗-C 階段至 F 階段。

每一項化合物均應訂出需進行評估的生殖發育階段與最合宜的試驗方式。制定整體試驗策略評估藥品對生殖與發育之影響時，應考量的關鍵因素有：

- 使用對象(病人)與使用條件(尤其是與生殖能力和疾病嚴重程度有關者)。
- 藥品的配方與施用於人體時的給藥途徑。
- 相關之毒性資料(可含*in vitro*、*ex vivo*、非哺乳類研究之數據，以及結構–活性關係)、藥物動力學、藥效動力學等方面之相關數據，以及與其他藥品之藥理相似性的資料。
- 藥品作用標靶的一般生物學特質，或作用標靶已知在生殖與發育學上所扮演的角色。

在不損及整體評估結果的前提下，試驗的策略應盡量避免使用實驗動物。達成動物減量目標的作法包括整合常用試驗類型(見第 7 節)，並且使用經過適當驗證之替代性試驗進行風險評估(見附錄 2)。由於許多臨床研究計畫均在第三期前即告終止，所以依據 ICH M3 選擇適當的試驗與進行中臨床計畫的時程相配合(例如以胚胎–胎兒發育階段之毒性數據協助招募具生育能力之女性)，亦可減少實驗動物之用量。

整體來說，DART 試驗應遵循優良實驗室操作規範(Good Laboratory Practice, GLP)才能做為風險評估之用。然而，若某項相關 DART 風險評估已被未遵循 GLP 試驗(non-GLP study)所證實，在符合 GLP 條件下重複進行該試驗以確認試驗結果並非必要之舉。所謂相關風險係指該藥品達到或接近臨床暴露量時所發生的風險，可合理認定其影響也可能發生於人類身上者(見第 9 節)。雖然因為採用特殊試驗系統或方法的緣故，某些特定類型的試驗或試驗的特定部分難以依循 GLP 規範，但是仍須以科學性的高標準進行這些試驗，並應能隨時提供所蒐集資料之相關紀錄，在試驗報告應列出未依循 GLP 規範之處，並由整體安全性的觀點評估未依循 GLP 規範是否影響其成果/數據之分析。

（一） 目標病人族群/療效適應症之考量

需考量目標病人族群與適應症可影響 DART 試驗的程度及範圍，若藥品的 DART 對目標族群造成影響的風險微乎其微，則無須對所有的生殖與發育階段進行試驗。例如，若目標族群是已停經的女性病人，或兒童與青春期前之少年，或因住院中而排除懷孕可能的病人族群，則未必需要對所有的生殖與發育階段都進行試驗。

（二） 藥理方面之考量

設計試驗策略之前，應該先確認該藥品之藥理作用是否已知會與生殖能力、正常 EFD，或特定指標(如全身麻醉或交合行為之評估)的分析產生衝突。前述評估可以依據有相似藥理性質的其他藥品數據、目標藥效的已知影響、或相關之人類遺傳疾病的相關知識為基礎。例如，若藥品的開發目的為防止早產，則修改 PPND 的試驗設計即為合理之舉。若藥品之藥理作用與試驗之評估指標產生衝突，可以在有正當理由下，不對特定生殖能力指標進行檢測。

（三） 毒性之考量

以性成熟動物所進行的重複劑量毒性試驗可以提供藥品對於生殖器官的重要毒性資料，進而影響 DART 試驗設計。DART 試驗設計必須參考該藥品的既有

毒性資料，將劑量、毒物動力學特性以及給藥間隔等納入考量。例如，針對影響睪丸組織的化合物，可修正其標準生殖能力試驗之設計，以改變其給藥間隔或雌雄同籠的起始時間。

（四） 時機之考量

ICH M3、ICH S6、ICH S9 對於分析生殖與發育指標的試驗時機已有提出一般性的指引。決定何時進行特定 DART 試驗之前，應考量該特定試驗所產出的數據是否為支持該藥品安全應用於臨床試驗或目標病人族群所必須。因此，必要時可改變評估特定生殖階段的時機。

（五） 毒物動力學性質(toxicokinetics, TK)

藥品暴露量的數據可透過生殖毒性試驗[包含劑量範圍(dose range finding, DRF)試驗或樞紐試驗]或重複劑量毒性試驗取得。但是，考量到 TK 參數可能會因為懷孕而產生有意義的變化，建議先確認懷孕是否會改變暴露量。若試驗劑量是以暴露量比率為選擇基礎，則應提出符合GLP 規範的懷孕動物 TK 數據，並須說明採血日期的合理性。

若對於發育危害出現證據不一致或不夠明確，必要時，可透過測量胚胎或胎兒體內的藥品濃度來幫助解讀試驗結果。這些數據可以在獨立的試驗中蒐集，以確定實際的暴露量。然而，不宜將所得數據直接用以推測人類胚體中的可能濃度。

必要時，可藉由乳汁採樣或測量子代在斷奶前體內的暴露量來取得藥品經乳汁泌出的證據。

四、 哺乳類*in vivo* 試驗之設計與評估

評估一項藥品在生殖與發育方面可能造成的風險時，所採用的策略一般會包括一或多項的 *in vivo* 試驗。重點在於所做的試驗必須確保各生殖發育階段之間沒有留下空隙，可以完整評估整個生殖過程的所有階段。然而，在某些物種身上是難以做到對所有階段的完整評估，例如非人類靈長類(non-human primate, NHP)即是一例。對大多數的藥品而言，採用三階段試驗(FEED、EFD 及 PPND)的設計通常已足夠，而且各種試驗設計還可以進一步組合，以符合產品的特殊 需求以及減少實驗動物的使用。關於 FEED、EFD 和 PPND 等試驗以及其組合的相關細節，可參閱附錄 1。試驗委託人可自行決定各項試驗所涵蓋的階段，惟在決定應採何種試驗設計時，應將該藥品所有可取得之藥理學、毒物動力學、毒理學相關數據皆納入考量。

（一） 生殖能力與胚胎早期發育(FEED)之評估策略

FEED 試驗之目的在於測定不良影響是否於雄性及/或雌性交配前即因給藥而產生，且持續至交配與著床階段。因此，須評估生殖過程的 A、B 兩階段。雖然短週期的毒性試驗往往不足以揭露所有的不良影響，但透過持續至少兩週的重複劑量毒性試驗所取得之結果，通常即足以用來設計生殖能力試驗，毋需進一步作劑量範圍試驗。

若需進行 FEED 試驗以支持目標族群暴露於該藥品的安全性時，大多數情況須包含交配階段，此類試驗通常係以嚙齒類動物進行。若不預期藥品對生殖能力造成不良影響，則同一試驗中可以將藥品施用於雌雄兩性身上並令其同居。若該試驗發現藥品對於生殖能力有不良影響，則應進一步確認雌雄兩性究竟是哪一方受到影響。反之，若基於藥品作用模式或重複劑量毒性試驗結果而預期會對生殖能力造成不良影響，則給藥的雌雄兩性均只能與未給藥的異性同居。這點可以透過在同一 FEED 試驗中區分不同的實驗組，或進行兩個獨立的 FEED 試驗來達成。不良影響的可逆性對於生殖能力與早期胚胎發育的風險評估極為重要。

雌性嚙齒類的 FEED 試驗設計(見附錄 1)可用於偵測藥品對發情週期、受精卵輸卵管傳輸、著床以及胚胎著床前發育等作用。評估發情/月經週期時，務必取得週期的基線數據(2-3 個週期)，以區分給藥造成的影響與動物個體之間/內在的差異造成的影響。對發情期的週期性監測必須在確認交配期間持續進行。

對雄性嚙齒類採用同居前給藥 2-4 週的 FEED 試驗設計可以偵測藥品對精子生成與副睪運輸的影響。若重複劑量毒性試驗的結果顯示藥品對睪丸具有毒性，可適當將同居前的給藥期延長至 10 週，此舉有助於評估藥品對完整精子生成週期與副睪運輸之影響。此外，FEED 試驗亦能偵測到對雄性生殖器官進行組織病理檢查時難以發現的功能性影響，如性慾、副睪中精液成熟過程和射精等。

若對藥品作用模式或前述試驗的結果有所顧慮，則可在重複劑量毒性試驗及/或生殖能力試驗中增添額外的檢查項目(如採集精液計算精子數量與進行精子形態學/運動能力評估、測量賀爾蒙濃度、監測發情/月經週期等)，以進一步確認藥品對生殖能力的潛在影響。

1. 生物製劑之考量

若檢測之生物製劑在嚙齒類或兔類身上呈現藥理活性，則建議於此類物種中擇一進行 FEED 試驗。使用非嚙齒類的動物(如犬類與 NHP)評估交配行為往往不可行，例如，若 NHP 是對某些生物製劑(如許多單株抗體)唯一具有藥理相關性的物種，則對 NHP 進行重複劑量毒性試驗為期 3 個月以上的生殖器官組織作組織病

理檢查，可作為取代生殖能力評估的方案，這樣的做法應針對雌雄兩性的生殖器官進行詳細的組織病理檢查(註 1)。此外，所用之實驗動物須在試驗開始前已達性成熟，以便對其生殖器官/組織做出適當評估，除非該生物製劑係以治療晚期癌症為目標(可不需進行 FEED 試驗)。然而，上述評估方式所取得之數據僅能提供生殖器官在組織結構方面的訊息，並無法對生殖能力進行功能性的評估，所以僅以組織病理檢查的結果未必能充分預測生物製劑對 FEED 之影響。

（二） 胚胎－胎兒發育(EFD)之評估策略

EFD 試驗之目的在於探討當懷孕母體在胚胎形成時期接受給藥(C 階段)後，藥品對於 EFD 和懷孕動物的不良影響。EFD 試驗須包括對胚胎發育與存活(縱貫 C、D 階段)方面所作的評估。

對多數小分子藥品而言，一般係以兩個物種，即嚙齒類與非嚙齒類(通常為兔類)動物來進行 EFD 評估，兩個物種中至少要有一方呈現期望的藥效學反應。若該藥品在任何常用的物種(見 5.1 節)均未呈現藥效反應，則應考慮改以較少用的物種(見 5.2 節)或基因改造動物，或使用針對特定物種的替代分子藥品(見 5.3 節)(如寡核苷酸)，前提是這些模式已作過充足的特性分析能確保其藥理方面的相關性。一般而言，基因改造動物與替代分子藥品在危害辨識最為有效，但在運用於風險評估時卻有其局限。即使沒有相關的動物模式(例如藥效的目標均僅存於正常或罹病人體中)，仍應以兩個物種來進行 EFD 試驗，以偵測脫靶效應或次級藥理方面的不良影響。

只要有一個物種在相當於人類最高建議劑量(maximum recommended human dose, MRHD)的暴露量下，即會造成明顯的畸胎或胚胎–胎兒致死(malformations or embryo-fetal lethality, MEFL)，此種陽性結果即足以應用在風險評估之目的。

在某些特殊情況下亦可採用其他方法取代確認性 EFD 試驗(見附錄 2)，若有足夠的資料進行風險溝通，亦可以省略 EFD 試驗。目標藥品的藥理機制對 EFD 具有不良影響的證據(如作用機制、取自基因改造動物之表現型數據等)，即足以達成風險溝通之目的。

1. 生物製劑之考量

若有兩個物種(嚙齒類與非嚙齒類)對於生物製劑具有藥理相關反應，一般應以兩個物種(嚙齒類與非嚙齒類各一)評估該生物製劑對 EFD 之影響。然而，當嚙齒類對此生物製劑不具藥理相關反應，可以只用一個非嚙齒類(藥理相關物種)進行 EFD 試驗。若 NHP 為唯一藥理相關物種，則可以使用加強型的 PPND(ePPND)試驗來取代 EFD 試驗(見附錄 1)。針對癌症晚期所使用的生物製劑通常僅需以一個藥

理相關物種進行評估即可(見 ICH S9)。

若該生物製劑不會跟任何生殖毒性測試物種體內的同源標靶反應，因而無法找到藥理相關物種時，可考慮採用 ICH S6 所述之替代分子藥品或基因轉殖模式。以替代分子藥品的結果計算人體暴露量的安全係數並非合適的做法。若是藥理相關物種、基因改造動物或是替代分子藥品均不可得，則進行 *in vivo* 生殖毒性試驗並不具意義，在這種情形之下，均需對風險評估所採用的方法或是決定不進行試驗的原因提供合理的說明。

2. 評估EFD 風險的替代性方法

I. 替代性試驗的使用

目前已有數種替代性之 *in vitro*、*ex vivo*、以及非哺乳類 *in vivo* 試驗方法(以下以「替代性試驗」稱之)可用來檢測藥品對 EFD 所可能造成的危害。這些替代性試驗已經應用於探索或篩選具有 EFD 不良反應的藥品，也可用來探討毒性的作用機制。這些應用對於使用非臨床數據以推估藥品對人體的風險(尤其當目標僅限於人類時)頗有助益，因此運用替代性試驗於上述用途是值得鼓勵推廣的做法。

若通過適當的驗證，替代性試驗可以推遲傳統 *in vivo* 試驗的進行時機，甚至在特定情況下可取而代之，此舉有助於減少實驗動物的使用。關於驗證替代性試驗所應考量的觀念，以及適當使用替代性試驗的實例，可參閱附錄 2。欲將替代性試驗整合入試驗程序者，必須能提供至少與前文所述之現行試驗規範同等信賴程度之人身安全保障。基於編纂本指導原則時的科學發展走向，可以預見為了符合法規要求，多種替代性試驗將被應用在層級式(tiered)或組合式(battery)的評估程序(例如，附錄圖一及圖二的層級式評估程序，或下文所述之一物種替代性試驗搭配第二物種 pEFD 的組合式評估程序)。這些試驗策略須依特定的使用情境進行驗證，而使用情境係依所採用試驗方法之化學適用範圍，以及該試驗方法所涵蓋之生物學機制的特性而定。

3. 推遲整合式試驗策略中決定性 *in vivo* 試驗之可能做法

設計適當的試驗策略須依賴累積性證據權重法則。ICH M3 允許在進行決定性 EFD 試驗之前，使用兩個物種的初步胚胎–胎兒發育(preliminary embryo-fetal development, pEFD)毒性數據，做為在臨床試驗中限量收納具生育能力之女性(women of childbearing potential, WOCBP)(至多 150 名且最長為期 3 個月)的考量依據。基於這些條件，為了支持在第三期臨床試驗前納入 WOCBP，本指導原則以 ICH M3 為本，新增以下兩種方案：

1) 利用能預測單一物種試驗結果且經驗證的替代性試驗(見附錄 2)，並且搭配第

二個物種之 pEFD 試驗，就足以支持在臨床試驗中有限度地收納 WOCBP(至多 150 名且最長為期 3 個月)。一般而言，此替代性試驗與第二個物種 pEFD 試驗應包含嚙齒類與非嚙齒類各一。

2) 如果將額外的評估指標整合入至少一個利用藥理相關物種所進行之 GLP pEFD 試驗(亦即特定增加待評估幼仔的數目，並且包括骨骼檢查)之中，並搭配第二個物種所進行之 pEFD 試驗，則可允許第二期臨床試驗(含)前無限額地收納 WOCBP。

(三) 產前與產後發育(PPND)影響之評估策略

PPND 試驗之目的在於偵測懷孕母獸暴露在目標藥品下，是否會在胚胎著床至產後斷奶這段期間產生不良影響，進而評估該藥品對懷孕或泌乳中的母獸，以及對其子代發育所產生之作用，考量到此一期間受到影響而產生的表徵可能會延後顯現，須持續追蹤子代發育至性成熟期(即 C 至 F 階段)。PPND 試驗一般係使用嚙齒類，然而在適當情況下亦可使用其他物種(見附錄 1)。

在多數情形下，可無需進行初步(劑量範圍探索)PPND 試驗，因為前述的試驗數據通常已提供足夠的資訊。但是，在斷奶前或斷奶期犧牲幼獸的初步 PPND 試驗可用以選擇劑量或是供試驗設計做為參考，並/或提供幼獸暴露量的數據。若考量以改良式 PPND/ePPND 試驗協助探討小兒發育，可參閱 ICH S11(5)。

1. 生物製劑之考量

對於只能以 NHP 進行試驗的生物製劑，由於追蹤子代至成熟期通常並不可行，ePPND 試驗只能有限度的評估產後發生的影響(見附錄 1 與 ICH S6)。

五、 試驗體系之選擇

(一) 常用於測試之物種

DART 試驗應以哺乳類物種進行之。使用原本已經完成毒性試驗之相同物種與品系，可避免採用額外的實驗動物或試驗來探討藥物動力學、代謝特性及/或進行劑量範圍探索。所採用的物種必須已有充分的特性分析，而且與所作試驗欲評估之指標與效果相關(例如健康狀態、生殖能力、潛在生殖能力、背景畸胎率與死胎率等)。

1. DART 試驗所用物種之選擇

大鼠通常適用於 DART 試驗，亦是最常使用的嚙齒類物種，因為考量其實用性、對其藥理特性的廣泛瞭解、可用以解讀非臨床毒性試驗結果的全面性毒理資料，以及大量歷史背景值資料等因素。此外，小鼠亦是常用的嚙齒類物種，其使用原因多與大鼠雷同。

通常只有在評估 EFD 時會需要非嚙齒類的第二哺乳類物種，但也有例外(例如疫苗與生物製劑)。兔類試驗已知能檢測出在嚙齒類試驗中未能檢出的人類致畸物，由於其詳盡的歷史背景資料、可得性、和實用性等因素亦使兔類成為常用的非嚙齒類物種。

2. 預防性與治療性疫苗所用物種之選

用於評估疫苗(無論有無佐劑)的動物物種須能展現出對於該疫苗的免疫反應。基於所觀察到的免疫反應及施予劑量的合適與否，說明擬進行的發育毒性試驗類型及所選動物模式的合理性。一般而言，疫苗之發育毒性試驗通常會使用兔類，大鼠或小鼠。即便各物種可能存有性質上或數量上的反應差異(如體液免疫與細胞免疫指標)，發育毒性試驗通常僅需使用單一物種即可。雖然各物種由母體透過胎盤傳遞抗體的程度與時間有所差異，以兔類、大鼠或小鼠進行之發育毒性試驗仍然能提供該疫苗之成分/配方潛在的胚胎–胎兒毒性與懷孕期安全性的重要資訊。僅於其他物種均無法展現出免疫反應時，才建議使用 NHP。

若缺乏適當的動物模式(含 NHP)，以兔類、大鼠或小鼠所作之 EFD 毒性試驗仍能針對該疫苗之成分/配方可能具有的胚胎–胎兒毒性與懷孕期安全性提供重要資訊。

(二) 較少用於測試之物種

除了兔類、大鼠或小鼠，其他物種亦可用於評估藥品對各生殖階段的影響。在考慮使用其他物種時，應就擬測試之藥品、試驗設計與評估指標、以及能否將試驗結果推論至人體等層面，來評估該物種的優缺點(列於附錄 1 之表 1)。

NHP 應歸類為非常態使用之測試物種。如 ICH S6 所述，牠們多半被用於評估僅對靈長類具藥理活性之生物藥品在 EFD 與產後早期發育的影響。然而，尚有其他考量因素會限制 NHP 在 DART 風險評估試驗中某些指標的應用(見附錄 1 與 ICH S6)。

（三） 動物疾病模式、基因改造模式、替代分子藥品之使用

動物疾病模式、基因改造模式，以及替代分子藥品對於探討預期之藥理作用在生殖與發育方面的影響極有價值。當收集自健康動物的數據造成誤導或不適用於臨床上疾病狀況時，以疾病模式進行的試驗更顯出其價值性，該疾病模式必須具有藥理相關性並可適用於待分析的發育及生殖指標。應先剖析該疾病模式在病程中的病理生理學特性，即使該疾病模式與人體的病理生理學特性有些許差異，只要這些差異不干擾數據解讀，便無須以此為由排除該疾病模式的使用，此外應該在試驗中對於動物與動物之間的差異性進行特性描述。若控制組的歷 史數據有限，為幫助數據判讀，應另行備妥試驗指標的參考數據或直接於試驗中產生參考數據。

基因改造模式可透過永久性或條件性地改變標靶活性，進而探討藥品作用於標靶時對於 DART 參數產生的作用，此種基因改造模式可顯示標靶的生物特性是否與常用試驗物種在生殖與發育方面的不良反應間有緊密關連。

若試驗之藥品對常用試驗物種的體內標靶不具有適當的活性，可改用替代分子藥品來分析可能對生殖與發育帶來的不良影響。

六、 劑量選擇、給藥途徑和時程

劑量選擇、給藥途徑和時程都是試驗設計中極為重要的因素，且應以所有可取得的資訊做為基礎，例如藥理特性、重複劑量毒性、藥物動力學特性以及劑量範圍探索試驗等。關於小分子藥品與生物製劑的劑量選擇原則可分別參閱 ICH M3 與 ICH S6。若是在試驗體系中無法得到足夠的耐受性資料，建議可先進行劑量範圍探索試驗。

（一） 劑量選擇

在進行 DART 試驗時有數個可使用的劑量選擇指標，從試驗設計的觀點來看，本節所討論的每個劑量選擇指標都具有同樣的合適性。在決定性試驗中所用的高劑量應符合下文所示的單一或多項概念,選擇的劑量應以過去試驗(如重複劑量、TK、DRF 等)的數據觀察為考量，有時少於三種劑量即足以提供風險評估所需的資訊。若所選用的高劑量未使用下文所述的指標，則應以個案為基礎說明其合理性。

1. 毒性為基礎的指標

此指標係以高劑量時在親代動物引發微量毒性為基礎，依據先前試驗結果所

決定之高劑量的限制性因素應包括但不限於以下數點：

- 體重變化(體重增幅或體重絕對值;減少或增加)。不宜以體重增幅或體重值的細微短暫變化作為選擇劑量的標準。評估體重變化的影響時，應以該試驗完整給藥期間的體重值做整體考量。
- 過度的藥理反應，例如過多的鎮靜效果或低血糖。
- 毒理學反應(如抽搐、過度的胚胎–胎兒致死性、臨床病理檢驗值的變動等)。在預定的DART試驗期間會干擾試驗指標的特定標靶器官毒性。

2. 以全身性暴露飽和量為指標

達到全身性暴露之飽和量也是用來選擇高劑量的一種適當做法，其中應以試驗藥品相關物質的全身性可利用率來評估暴露量是否達到飽和。若無法再提升原型藥或其代謝物在血漿中的濃度，則無須再提高給藥劑量。

3. 以暴露臨界(exposure margin)為基礎之指標

以相對於最大建議人類用量(MRHD)去預測暴露臨界，也是選擇給藥劑量的一種適當做法。對於小分子藥品，若採用的全身性暴露量係依據 MRHD 而選擇數倍於 AUC 或 C_{max} 值，則可以此全身性暴露量做為高劑量選擇的合適指標。此外，若給藥劑量可使懷孕動物的暴露量達到 MRHD 暴露量的 25 倍以上，則此劑量一般可以做為 DART 試驗的最高劑量(註 2)，此 25 倍暴露臨界值則應建立在以原型藥的濃度進行符合 GLP 規範的 DRF/pEFD 或決定性試驗，但亦應考量原型藥在人體的主要代謝物是否也能達到合適的暴露臨界(見 ICH M3 與 ICH M3 問答集)。在前驅藥品(prodrug)的試驗中，尤其當實驗動物體內的活性代謝物及前驅藥比例較人類為低時，較適當的做法是以活性代謝物來決定暴露量的倍數。至於選用何者(原型藥或代謝物)來比較暴露量則應予以說明其理由。

對於只有在比 MRHD 暴露量高 25 倍以上才能在實驗動物體內顯現藥效動力活性的藥品而言，可以採用更高的給藥劑量以利評估藥理反應增強後的不良影響，但是也可能同時增加無關的脫靶效應。

以暴露量為基礎選擇 EFD 試驗劑量時，應由符合 GLP 規範的試驗取得懷孕動物之 TK 數據。對於選用總暴露量或非結合態的藥品暴露量之理由應予以說明，並且與所有非臨床試驗的規劃一致，如 ICH S3A 規範所示。

I. 適用於生物製劑之以暴露量為基礎的做法

根據 ICH S6，利用以暴露量為基礎的臨界值來選擇生物製劑的給藥劑量也是一個適當的做法，一般而言，所選擇的給藥劑量將以下述兩個劑量較高者做為給藥標準：須能在臨床前物種體內達到最大的預期藥理效果，或是能夠達到比臨床最大暴露量高約 10 倍的劑量。此外應參考 ICH S6，依與標靶結合的親和力或其他相關因素之差異而調整劑量。

4. 以最高可能投予劑量為指標

當與給藥途徑/頻率以及實驗動物解剖/生理屬性相關的藥品(或配方)物化性質會限制給藥的劑量時，則可選擇最高可投予劑量 (maximum feasible dose, MFD) 做為試驗的高劑量。根據 ICH M3 問答集 (1)，採用 MFD 是為了將實驗動物的暴露量最大化，而不是將給藥的劑量最大化。此外改變給藥頻率視同提高該藥品實際可行之每日總暴露量(見 6.3 節)。

5. 以上限劑量為指標

當無法以較低劑量滿足其他劑量選擇因子時，一般可採用 1 g/kg/day 做為上限劑量(若有其他考量可參閱 ICH M3)。

6. 較低劑量之選擇

一般而言，須針對 DART 建立無明顯不良反應劑量(no observed adverse effect level, NOAEL)。選擇較低的劑量時，應將暴露量、藥理性質以及毒性納入考量，以期適當地建立試驗結果的劑量反應關係。低劑量通常會採用 MRHD 人體暴露量的較低倍數，比如 1-5 倍。若所選的劑量在人體內所達到的暴露量不足以產生治療效果，則必須說明其合理性。

(二) 給藥途徑

一般而言，給藥途徑應該與臨床途徑相同。然而，若使用的臨床途徑無法在試驗動物體內達到足夠之暴露量，或是採用臨床途徑並不可行，則應考慮選用其他給藥途徑。若是有數種人類的給藥途徑正在評估當中，則只須以一種給藥途徑進行動物實驗即可，但前提是與所有臨床給藥途徑相比，動物的給藥途徑必需能達到足夠的全身性暴露量且適當涵蓋藥品之代謝物。

（三） 時程

暴露量概況可由毒性試驗所採用的給藥時程決定，而暴露量概況在風險評估中相當重要。雖然模仿臨床給藥時程通常即已足夠，然而增加或是減少給藥頻率的時程也是可以被接受。例如，若某藥品在實驗動物體內會迅速被代謝，其給藥時程就可以改為一日兩次，但如欲增加給藥頻率則須考量實務因素(如試驗的後勤作業、對實驗動物造成的負擔等)。此外，為確保藥品在試驗中欲評估的每個關鍵生殖及/或發育階段皆能達到適當的暴露量，改變給藥時程也是一個相當重要的方法。

（四） 疫苗之劑量選擇與試驗設計

本指導原則亦涵蓋用於以傳染性疾病為適應症之預防性及治療性疫苗(無論有無佐劑)。雖然用於其他適應症(例如癌症)之疫苗不在本指導原則的範疇之內，但本文所敘述的方法學原則亦可適用於這類疫苗的非臨床試驗。

預防性及治療性疫苗所需之生殖及/或發育毒性試驗的類型須依該疫苗之目標族群以及相關的生殖風險而定。一般而言，疫苗的對象若是新生兒、青春期前的兒童或年長者則不需要進行 DART 試驗。

疫苗的生殖毒性試驗通常只須評估在動物模式中引發免疫反應之單一劑量(見 5.1.2 節)，且採用臨床途徑作為給藥途徑。此單一劑量應為未依體重校正的最大人體劑量(亦即 1 人體劑量＝1 動物劑量)。若因可施打的總體積限制或因為劑量限制性毒性(無論是作用於局部或全身)等因素而不能對實驗動物施打最大人體劑量時，可以 mg/kg 為基礎採用超過人體劑量的劑量進行動物試驗。若於動物模式中選擇降低劑量，則應說明為何無法使用人體劑量之理由。

疫苗之給藥方案應能最大化胚胎期、胎兒期、產後早期母親體內之抗體效價及/或免疫反應。給藥的時機與次數須視該疫苗之免疫反應的開始時間與歷時多長而定。當研發懷孕期施打之疫苗時，應以疫苗預期的作用(例如保護孕婦或保護新生兒)為基礎，說明採用此特定試驗設計之理由。

由於每日給藥可能導致疫苗成分的過度暴露，建議對懷孕動物採取間歇式給藥而非每日給藥，此外，間歇式給藥比較接近多數預防性與治療性疫苗之建議接種時程。考量到常用動物物種的妊娠期較短，一般建議在實驗動物交配前數日至數週前施打一劑或多劑促發劑量的疫苗，以期能在懷孕期之重要階段(即器官成形階段)達到免疫反應的高峰。給藥方案可依在人類身上所施打的預定時程進行調整。

器官成形的早期階段至少須施打一劑疫苗，不僅可由此評估疫苗配方中的化合物是否具有直接影響胚胎之毒性，並且使剩餘的妊娠期維持高度的抗體反應。

若發現疫苗的胚胎–胎兒毒性，可以利用在特定時間點給藥的實驗動物次群組做進一步分析。若疫苗含有新型活性組成成分(含新型佐劑)，亦可採用類似於非疫苗產品的額外試驗策略。

七、 適用於嚙齒類之組合式試驗設計

雖然多數藥品的開發過程會應用到三階段各自獨立的試驗設計-FEED(A、B 階段)、EFD(C、D 階段)和 PPND(C 至 F 階段)，為了減少實驗動物之使用量，可針對此三階段試驗設計進行各種組合。組合式試驗設計的主要優勢在於可利用較少的實驗動物分析各個相關的生殖階段。此外，組合式的動物試驗設計也較能模擬臨床情況下的暴露時間，尤其是半衰期較長的藥品。較為常見的組合方式是將生殖能力與 EFD 兩種試驗相結合(A 至 D 階段)，再搭配一組獨立的 PPND 試驗(C 至 F 階段)。

參閱附錄 1 可以得知 FEED、EFD 和 PPND 三種試驗的設計與細節以及彼此間可行的試驗組合。

當雄性或雌性生殖能力不預期會受到藥品影響，或是重複劑量毒性試驗中觀察到生殖器官毒性而需延長給藥時程的情況下，皆可考慮將重複劑量毒性試驗與生殖能力試驗作結合。在重複劑量毒性試驗中經過一定的給藥時程後，便可將雄性實驗動物與性成熟的雌性(未給藥或是於交配前至少給藥兩週)相配對，這樣的試驗組合可以減少實驗動物用量，但每一組仍應維持至少有 16 對雌雄配對。此外，可對雌性的給藥時程自交配前兩週延長至器官形成期結束，藉此評估各項 EFD 指標(附錄 1)。

八、 數據報告與統計分析

(一) 數據報告

試驗動物各項數據應以清楚而簡潔的表格呈現，且表格須能方便追溯每一隻動物與其胚體自試驗開始至結束之變化。

描述胚胎的形態異常時應使用業界統一的術語，每窩的相關發現應依其胚體清楚列舉，並依照異常類型摘要式的條列。摘要列表應清楚標示包含或排除未懷孕動物數據之處。

對於試驗數據的詮釋應以與同時進行的控制組相比較為主，但可以引用過去的控制/參考數據協助分析，最好是選用由進行試驗的實驗室所蒐集的近期歷史數據，一般而言，最好是 5 年內的新數據，以利辨認基因偏移(genetic drift)。

（二） 統計分析

確認性試驗須進行統計檢定以分析給藥組與控制組之間是否達到顯著差異。DART 試驗的數據許多都並非呈現常態分佈，因而有必要運用無母數統計分析法。經帝王切開術(Caesarean section)取得的數據與胚胎、產後數據等之概述統計量應以每窩為單位作分析與計算。統計顯著性不見得代表陽性結果，而未達統計顯著性亦不見得代表陰性結果。若能透過所有藥理與毒理數據確認試驗結果是否具生物合理性，往往極為有用。

九、 風險評估之原則

如前文各章節所述，為了探討測試藥品在使用條件下(包含臨床試驗與獲得上市許可後之使用)是否對人類生殖有潛在的風險，進行試驗時應該採用所有取自測試藥品、相關化合物、人類基因的數據，以及關於標靶器官的生物學特性在人類生殖過程中所扮演的角色的相關知識，此外應針對可取得的非臨床 DART 數據資料內所有的侷限性(如試驗體系之相關性、所達之暴露量等)與不確定因素，以及所存在的缺漏進行討論並且分析其影響。一般而言，以適當物種且適當暴露量所得到的決定性 *in vivo* 試驗結果會比採用替代性試驗或初步試驗所得的結果具有更高的權重。風險評估的程序是一連續過程，隨著資訊逐漸浮現而縱貫整個產品的開發過程。

DART 試驗的發現結果未必全是不良反應，當某項發現呈現負面結果時，應以證據權重法考量多個因素以進行風險評估。這些因素可包括暴露臨界、生物合理性、劑量反應相關性的證據、可逆性、親代毒性產生干擾的可能性，以及是否呈現跨物種一致性等。關於罕見的畸型現象，升高劑量並未提高發生率並不足以減輕這方面的疑慮。

將試驗動物在 NOAEL 下的暴露量與人類 MRHD 下的暴露量相比較是風險評估裡極為重要的一環。進行比較時，應以最相關的衡量尺度作為比較的基準，如 AUC、C_{max}、C_{min}、依體表面積調整之劑量等。一般而言，若 NOAEL 低於 10 倍 MRHD 暴露量時，風險顧慮較大，反之則風險較小。該藥品在暴露超過 25 倍 MRHD 時才發生的影響，通常對該藥品的臨床應用而言無須太過在意。一般將最敏感物種的暴露量視為最具相關性的暴露臨界值，除非另有適當證據證明並非如此。生物合理性係藉由比較藥理作用機制與標靶器官在生殖或發育過程中所扮演的角色來評估，若一項發現可解讀為藥理的作用後果，則表示此項發現有影響人體之疑慮，若有發現劑量相關的證據，不論是發生率的增加或是嚴重程度的增加，均能加強其關聯性，但如果沒有生物上的合理性，即使在有劑量反應關係的情況下也不能排除脫靶毒性的出現。

對於藥品毒性可逆性的瞭解會改變風險評估的結果。若於停藥後可以恢復雄

性與雌性的生殖能力，對該藥品的疑慮較小；反之，若發生發育上不可逆的重大影響，如死亡或畸形，則會提高該藥品的疑慮。其他形式的發育毒性(例如發育遲緩、功能缺損等)或許可逆，亦或許不可逆，一般而言，暫時性的發現(例如嚙齒類動物呈現波浪狀肋骨之類的骨骼差異)若只是單獨發生則顧慮不大；同理，胎重減輕時，發育遲緩指標的變動亦無過大的疑慮；但是如果在無法明確判定是否有畸形產生的情況下，同時又發現變動發生率整體有所上升(無論在性質上相似與否)，則對於胚胎型態生成異常可能性的疑慮就隨之提升。

確認各項發現與藥品的相關性時，須考慮親代毒性的角色。若所觀察到的胚胎–胎兒毒性，在親代亦同時出現毒性時，即應審慎考量此發現是否可推及於人類身上。對此，各窩子代所觀察到的結果與母親親代毒性高低是否呈現一致性將有助於風險評估。發育毒性不應被預設為母體親代毒性的從屬，除非這項關係能被重複證明或有相關文獻可供佐證。

此外，當某項發現在多項試驗中或不同物種間皆呈現一致，將會加深對此藥品不良反應的顧慮。若嚙齒類的 EFD 試驗觀察到的胎兒致死性增高，與 PPND 試驗中發現同一窩子代間存活數降低的現象相符合，即是跨試驗一致性的良好例證，例如觀察到大鼠與兔類胚胎在著床後的損失率都升高就是跨物種一致性的例證。若是能對動物試驗中所發現的生殖或發育效應的機制有進一步的認識，將可協助解釋物種間的反應差異，並說明該作用是否與人類有相關性(例如皮質類固醇在小鼠身上引發的顎裂)。

針對哺乳行為所作的藥品風險評估將以 *in vivo* 試驗(PPND 或 ePPND)中由一窩實驗動物子代身上所觀察到的危害現象做為預測。此處所謂危害包括因為分泌的母乳中含有該藥品而對子代的生長與發育所造成的不良影響，此外若試驗中能取得子代的全身性暴露量數據，亦可與人類嬰兒經由母乳而來的推估暴露量相比較，雖然不同物種的乳汁成分不同，因而使目標藥品在動物乳汁與人類乳汁中的濃度並無直接數量上的相關性，但是動物乳汁中含有該藥品通常即表示人類乳汁中亦可能含有該藥品。最後，既有的人類數據也會影響對人類生殖力風險的整體評估。

十、 註釋

註 1： 睪丸與副睪的採樣與處理須以能保留曲細精管上皮組織結構的方法為之。先確認當下的精子生成週期，再以顯微鏡作詳細評估才是查驗精子生成能力是否受到影響的較佳做法。一般而言在試驗設計中增加額外的觀察指標(例如免疫組織化學特性、抗均質化精細胞數(homogenizationresistant spermatid counts)、流式細胞分析或是分期量化分析等)並無必要，卻可以進一步探討試驗所發現的影響具有何種特性。

以雌性動物進行試驗時，應先確認當下的生殖週期，並在有原胚濾泡與初級濾泡存在時，以顯微鏡對卵巢(包括卵泡、黃體、基質、間質、血管分布等)、子宮和陰道作詳細的檢查。

註 2： 一項針對 22 種已知或推定的人類致畸胎原所做的分析顯示當觀察到 MEFL 時，至少有一個物種暴露該藥品後的可觀察到不良反應之最低劑量(Lowest-observed-adverse effect level, LOAEL)小於 6 倍的 MRHD 值(Andrews et al.(6))，這表示在 EFD 毒性試驗中若使用大於 25 倍 MRHD 的暴露量做為試驗用高劑量，已足以檢測所有這些藥品的致畸性危害；這項分析亦顯示在實驗動物上所偵測到的人類致畸胎原中，至少有一個物種的 NOAEL 值小於 4 倍的 MRHD。

此外，IQDruSafe Leadership Group 曾對 EFD 毒性試驗進行了一項調查(Andrews et al. (7))，該調查總共發現了 153 個大鼠和 128 個兔子的 EFD 毒性試驗，在沒有出現干擾試驗之母體毒性(即限制給藥劑量)的情況下，動物原型藥品暴露量對於人類原型藥品暴露量比例可達 15 倍以上(以人類臨床治療用劑量的暴露量為基準)。這些數據顯示，對實驗動物給藥達到人類暴露量 25 倍以上，且未出現母體毒性的情況下(否則高劑量將會受限)，很少能偵測到 MEFL，在所有這些案例中，都是在給藥量超過人體暴露量 50 倍後才出現 MEFL，但在如此高暴露量才出現的 MEFL，顯然已經跟人體的風險評估不具相關性。因此，在未出現干擾試驗之母體毒性的情況下，使試驗動物的暴露量達到所有 原型化合物在人類血漿暴露量的 25 倍以上，可得到與人體風險評估相關的合理結果，是設計 EFD 與 PPND 試驗時高劑量的務實選擇。

十一、 名詞解釋(以下的定義僅限此指導原則所用)

替代性試驗(alternative assay)：以預測畸胎或胚胎－胎兒致死性為目的之*in vitro*、*ex vivo*、非哺乳類*in vivo* 檢驗方法。參見MEFL。

適用域(applicability domain)：一項物質能以試驗方法有效測得的理化性質以及該試驗方法所涵蓋的生物學作用機制等之範圍。

試驗法驗證(assay qualification)：確認某項替代性試驗能由*in vivo* 結果預測

MEFL。

組成成份(constitutive ingredients)：作為疫苗之賦形劑、稀釋劑、佐劑的化學或生物物質，包含任何用於協助藥品施用且單獨包裝的稀釋劑。

發育毒性(developmental toxicity)：藥品在個體成年前所引發的任何不良反應，包含從受孕至誕生後所誘發或顯現的不良反應。

GD 0：發現證實交配行為證據(如嚙齒類實驗動物由陰道抹片/陰道精栓發現精子，或觀察到兔類交配行為)的日期。

畸形(malformation)：一般是指無法正常發育與生存，甚至對之有嚴重危害的永久性結構變形。

初步 EFD 毒性試驗(preliminary EFD(pEFD) toxicity study)：符合以下條件之胚胎－胎兒發育毒性試驗：(1)器官形成時期暴露於藥品影響之下、(2)使用適當的劑量、(3)每個試驗組至少有 6 隻懷孕的實驗動物、(4)對胎兒存活、胎兒重量、外觀與軟組織變化作評估。(見ICH M3)

替代分子藥品(surrogate molecule)：分子藥品在試驗用實驗動物體內的藥理活性類似於人用藥品在人體內藥理活性者。

疫苗(vaccine)：在此指導原則中，「疫苗」一詞係指針對傳染性疾病之預防性與治療性疫苗。因此，將疫苗－含所謂疫苗產品(vaccine product)－定義為完整的配方，包含有抗原(或免疫原)與任何佐劑、賦形劑或是保存劑等添加物。疫苗之功能在於刺激免疫系統，使動物對疫苗所含之抗原產生免疫反應。疫苗之主要藥理效用為防止及/或治療感染或傳染性疾病。

變異(variation)：不影響存活力、發育、功能的結構性變化(如骨化作用受到延遲)，此類變化為可逆性且在正常族群中亦存在者。

十二、 參考文獻

1 International Council for Harmonisation M3: Guidance on Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals together with ICH M3 Questions & Answers.

2 International Council for Harmonisation S6: Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals.

3 International Council for Harmonisation S9: Nonclinical Evaluation for Anticancer Pharmaceuticals.

4 International Council for Harmonisation S3A: Note for Guidance on Toxicokinetics: The Assessment of Systemic Toxicity in Toxicity Studies together with ICH S3A Questions and Answers.

5 International Council for Harmonisation S11: Nonclinical Safety Testing in Support of Development of Pediatric Medicines.

6 Andrews PA, Blanset D, Lemos Costa P, Green M, Green ML, Jacobs A, et al. Analysis of exposure margins in developmental toxicity studies for detection of human teratogens. Regul Toxicol Pharmacol. 2019a;105:62-8.

7 Andrews PA, McNerney ME, DeGeorge JJ. Reproductive and developmental toxicity testing: An IQ-DruSafe industry survey on current practices. Regul Toxicol Pharmacol. 2019b;107:104413.

附錄 1　*in vivo* 試驗設計

以下為在 DART 試驗中使用各實驗動物物種之優缺點。

表1　各實驗動物物種用於發育毒性與生殖毒性試驗之主要優缺點		
常用測試物種		
物種	**優點**	**缺點**
大鼠	• 生物學特性廣為人知 • 廣泛用於藥效動力學與藥品探索的研究 • 生殖能力強大且妊娠期短 • 群體規模大且每胎隻數多 • 有重複劑量毒性試驗數據提供參考 • 廣泛的實驗室使用經驗且容易取得 • 詳盡的歷史數據	• 胎盤形成與人類不同(如生成時機、卵黃囊上下顛倒等) • 依賴泌乳素作為懷孕初期發展與維持的主要荷爾蒙，因而對特定藥品較為敏感(例如多巴胺促進劑) • 對於會干擾分娩的藥品高度敏感(如懷孕晚期施用非類固醇消炎藥) • 對於生殖能力的干擾敏感性不如人類 • 外源蛋白效用有限 – 藥理活性有限或無藥理活性 – 免疫原性可能造成影響

兔	• 與大鼠優點類似 • 屬於非嚙齒類動物模式 • 適於連續精液取樣與交配研究 • 抗體經由胎盤的傳遞現象比嚙齒類更近於靈長類，對於疫苗的DART試驗有益	• 對外源蛋白的限制與大鼠相近 • 生殖能力與產前/產後試驗的歷史數據有限 • 對腸胃擾動(如某些抗生素的影響)敏感 • 易於自然流產 • 難以臨床表徵監看其全身概況 • 須自行蒐集藥效動力學、毒性、TK數據，因為毒理學研究一般不包括這些項目(疫苗除外)
小鼠	• 與大鼠優點類似 • 有基因改造模式可用，亦可以進行基因改造 • 通常有替代分子藥品可用 • 消耗的試驗材料量較低	• 限制性與大鼠相近 • 胎兒小且組織量低 • 對壓力敏感 • 有時會發生畸型個體的叢集

不常用於測試之物種		
物種	**優點**	**缺點**
馬來猴(NHP)	• 相較於其他物種，通常與人類在譜系與生理方面較相近 • 比起嚙齒類，此物種更可能呈現與人類相近的藥理特性 • 胎盤形成與人類相似 • 有重複劑量毒性試驗數據可供參考 • 抗體經由胎盤的傳遞現象與人類相近	• 群體小因而統計檢定力低且群間差異大 • 潛在生殖能力低 – 每胎只生一隻 • 懷孕期背景損失高，具生殖能力個體來源有限 • 月經週期(30日)與妊娠期(165日)長 • 難以進行生殖能力(交配)試驗 • 性成熟晚(約3-6歲時)以致 F1 生殖功能難以評估 • 性成熟不能以年齡與體重認定 • 道德考量 • 控制組的歷史性數據與實驗室使用經驗/用量均較少 • 試驗開始時個體之年齡、體重、懷孕史差異極大

迷你豬	• 可供一般毒性試驗使用之替代性非嚙齒類 • 器官形成期短(GD 11-35) • 基因背景確定且不帶特定病原 • 出生7個月達性成熟 • 每胎隻數較NHP大 • 適於連續精液取樣與交配研究 • 生殖能力指標有充足的歷史性背景數據厂	• 有使用經驗的實驗室有限 • 妊娠期長(114日) • 消耗的試驗材料量高 • 產前沒有或僅有極少量的抗體傳遞

有限度用於測試之物種		
物種	**優點**	**缺點**
倉鼠	• 藥理上可能與人之間具有相關性的替代性嚙齒類動物模式	• 同類相食導致新生兒損失率高 • 控制組的歷史性數據與實驗室使用經驗有限 • 產後行為與功能性研究有限 • 靜脈注射難以作為給藥途徑 • 好鬥 • 對腸胃擾動敏感 • 須自行蒐集藥效動力學(PD)、毒性、毒物動力學(TK)數據，因為毒理學研究一般不包括這些項目 • 血液採樣困難
狗	• 通常有重複劑量毒性數據可參考 • 易於採集精液	• 妊娠期長(63 日) • 控制組的歷史性數據與實驗室使用經驗有限 • 產後行為與功能性研究有限 • 消耗的試驗材料量高

藥品對DART指標之影響亦可使用其他未列於上表中的哺乳類物種來評估

（一） *in vivo* 試驗設計之考量

一般而言，生殖能力試驗所用的實驗動物應該在試驗開始時於年齡、體重、雌雄配對數目等方面相當，這項原則對於試驗內部與試驗之間的比較都應成立，欲符合此要求最簡單的做法即在開始給藥時使用年輕但已達性成熟的成體。個別試驗中每組應有多少隻實驗動物，須在如何適當使用實驗動物的道德考量，以及基於多年來試驗設計經驗的科學考量兩者之間求取平衡。有時一組中不需太多實驗動物即足以展現藥品在臨床相關的暴露量下會對生殖或發育帶來的可能不良影響。

以 16-20 胎的嚙齒類或兔類作評估，能在試驗間達到相當程度的一致性。少於 16 胎將使不同次試驗的結果不一致，但每組多於 20-24 胎並不能顯著提升試驗結果之準確性與一致性。以上這些數字係指每次評估可用的胎數。若實驗組須進一步細分以進行多項評估，則試驗開始時所需之實驗動物數目應重新調整。

以下建議的各試驗設計可再依需求作調整，尤其參數、時機、評估方法等，而仍能達成試驗目的。決定個別實驗室與試驗目的適用何種試驗設計架構時應參酌專家意見。

1. 生殖能力與胚胎早期發育(FEED)試驗

FEED 試驗之目的在於評估藥品對配子成熟度、交配行為、生殖能力、胚胎著床前發育、和著床等影響。對於雌性動物，試驗內容包含動情週期與輸卵管傳輸所受的影響。而對於雄性動物，試驗內容包含偵測對雄性生殖器官作組織病理檢查所難以察覺的功能影響(如副睪中精液成熟過程)。

雌雄兩性實驗動物都給予目標藥品的兩性綜合 FEED 試驗是常見的做法(見表 2)。不過亦可將試驗中的異性以適當數量之未給藥雌性或雄性動物取代，進行單獨純雄性或純雌性投藥之試驗。

表2 FEED 試驗設計：嚙齒類，雌雄兩性綜合試驗	
參數	
每組大小	兩性至少各 16 隻
給藥組數	4(含 1 控制組)
給藥時程[a]	雄性：同居前 ≥2 週開始給藥，至少持續至確認有交配行為為止雌性：同居前 ≥2 週開始給藥，至少持續至胚胎著床為止(GD6)
交配比例	1 雄對 1 雌
交配期[b]	≥2 週
動情週期評估	每日，同居前的 2 週開始觀察，確認有交配行為後結束
臨床觀察/死亡率	每日至少觀察 1 次
體重	每週至少觀察 2 次
攝食量	交配期間外每週至少觀察 1 次
雄性屍體解剖[c]	保留睪丸與副睪，以備進行組織病理檢查。依個體逐一進行評估。進行目視檢查並將發現受影響的器官予以保留以備進行組織病理檢查。須自控制組選取足量的相同器官予以保留，以備日後比較。
精液分析[d]	非必要選項
雌性屍體解剖[e]	依個體逐一進行評估。保留卵巢與子宮，以備進行組織病理檢查。進行目視檢查並將發現受影響的器官予以保留，以備進行組織病理檢驗。須自控制組選取足量的相同器官予以保留，以備日後比較。
施行帝王切開術之時機	一般於妊娠中期施行帝王切開術
子宮著床數據	妊娠黃體數、著床點數目、胚胎存活與死亡數

a：應以所有可取得的重複劑量毒性試驗與遺傳毒性試驗數據為據說明選擇此給藥時程之正當性，尤其是對偵測精子生成所受影響的考量。若為期至少 2 週的重複劑量毒性試驗並未發現有影響,可以在交配前以 2 週為給藥週期分別對雌性與雄性實驗動物施藥。雄性應持續給藥至確認有交配行為，但確認雌性具生殖能力後終止更佳。雌性應持續給藥，至少至確認胚胎著床為止。如此做法才能評估重複劑量毒性試驗的組織病理檢查難以偵測的生殖功能影響以及對交配行為的影響。

b：多數大鼠與小鼠於同居 5 日內(即頭一次發情期)便發生交配行為，但某些情況下雌性可能出現假性懷孕。讓這些雌性與雄性同居超過 2 週即可令其重新發情並懷孕。

c：可考量於確定交配結果後才將雄性安樂死。若藥品能影響生殖能力，可令雄性與未給藥的雌性交配以確認是否透過雄性產生效果。若於交配後仍持續對雄性給藥並將安樂死延後至雄性暴露於該藥品之下達一完整的精子生成週期(例如 10 週)，則可更完整評估藥品對雄性生殖系統的毒性。

d：精液分析(如精子的數量、活動力及/或形態)有時能對風險評估遇到的問題提供有力的佐證。

e：大體而言，將雌性在懷孕第 13-15 日安樂死是分析生殖能力與功能所受影響(如分辨胚胎著床點與再吸收點)的適當做法。亦可選擇接近妊娠期終點才將雌性安樂死。

2. 胚胎－胎兒發育(EFD)毒性試驗

EFD 毒性試驗之目的在於評估與未懷孕雌性個體相比，藥品對懷孕個體的毒性。此外亦評估藥品對胚胎 - 胎兒的存活、宮內成長及型態發育的可能影響。

適用於嚙齒類、兔類和馬來猴等物種之實驗設計如下所述：

I. 劑量範圍探索胚胎–胎兒發育毒性試驗

對已進行交配之雌性個體所進行的 DRF 試驗最常用於決定性 EFD 毒性試驗中，選擇可應用於嚙齒類或兔類之適當的劑量範圍或給藥時程，但是既有的重複劑量毒性試驗耐受性與 TK 數據往往即足以滿足此需求。

II. 初步胚胎–胎兒發育(pEFD)毒性試驗

在設計上，pEFD 毒性試驗與決定性 EFD 毒性試驗相近(表 3)。典型的 pEFD 毒性試驗設計會在器官形成期持續給予適當劑量範圍的藥品，而且每一個實驗組取至少 6 隻懷孕的雌性個體作評估。評估內容包括胎兒存活率、胎重、胎兒外觀畸形與軟組織畸型等(見 ICH M3)。

III. 決定性胚胎–胎兒發育毒性試驗

於雌性實驗動物產期將屆時，施行帝王切開術，藉此分析胎兒之存活率、胎重、外觀畸形、軟組織畸型和骨骼發育等項目(表 3)。表 3 所列的施術時機係針對嚙齒類、兔類和馬來猴等物種。其他物種應擇適當時機施行手術。

表3 適用嚙齒類、兔類、NHP之EFD毒性試驗設計

	pEFD	**EFD**		
參數	**嚙齒類/兔類**	**大鼠(小鼠)**	**兔類**	**NHP[a]**
應否遵守 GLP	非必要選項[c]	是	是	是
懷孕雌性 最低隻數	6 隻	16 隻	16 隻	16 隻[b]
給藥組數目	4 組(含 1 控制組)	4 組(含 1 控制組)	4 組(含1 控制組)	至少 2 組(含 1 控制組)

給藥時程	依物種作 適當選擇	GD6/7 - 17 (6/7 -15)	GD6/7 - 19	約 GD20 到 至少 GD50
犧牲前 觀察指標				
臨床觀察/ 死亡率	每日至少 1 次	每日至少 1 次	每日至少 1 次	每日至少 1 次
體重	每週至少 2 次	每週至少 2 次 e	每週至少 2 次 e	每週至少 1 次
攝食量	每週至少 觀察 1 次	每週至少 觀察 1 次	每週至少 觀察 1 次	非必要選項
毒物動力學 特性	非必要選項[c]	是	是	是
犧牲後 觀察指標				
帝王切開術[f]	依物種作 適當選擇	GD20/21 (17/18)	GD28/29	GD100
目視檢查	是	是	是	非必要選項
妊娠子宮重量	非必要選項	非必要選項	非必要選項	NA
妊娠黃體	是	是	是	NA
著床點	是	是	是	NA
存活與死亡胚體	是	是	是	是
早期與晚期再吸收	是	是	是	NA
胎盤整體評估	是	是	是	是
胎盤重	非必要選項	非必要選項	非必要選項	非必要選項
胎兒體重	是	是	是	是
胎兒性別	是	是	是	是
胎兒外觀評估[g]	是	是	是	是

胎兒軟組織評估[g]	是	是g	是	是
胎兒骨骼評估[h]	非必要選項c	是g	是	是

a：若使用馬來猴以外的 NHP，應視情況調整試驗設計。

b：在 EFD 試驗中，每組須能提供足夠數量的胎兒以評估藥品可能對型態發育造成的不良影響。

c：若以 pEFD 試驗推遲決定性 EFD 試驗，則 pEFD 試驗須遵守 GLP 準則，且應採集懷孕實驗動物的 TK 數據並評估胎兒骨骼發育。

d：若使用嚙齒類或兔類，雌性應自著床起至硬顎閉合止持續給藥(即生殖階段中的 C 階段)。若使用 NHP，雌性應自確認懷孕起(約 GD20)到至少 GD50(主要器官形成期結束)為止持續給藥。

e：給藥期間每日測量懷孕雌性的體重能取得有用的資訊。

f：若使用嚙齒類或兔類，應於預產日前約 1 日實施帝王切開術。目視檢查發現受影響的器官應予以保留以備進行組織病理檢查。須自控制組選取足量的相同器官予以保留以備之後作比較。若使用 NHP，應於約 GD100 時施行帝王切開術。

g：須檢視所有胎兒之存活力與是否有畸形。胎兒應個別作檢視以便事後評估不同的觀察方法之間的關連。

h：雖然理想狀況下應檢查所有嚙齒類動物胎兒之軟組織與骨骼變化(若方法上許可)，將每胎 50%的胎兒觀察軟組織，另外 50%的胎兒觀察骨骼變化是可接受的作法。

3. 產前與產後發育(PPND)毒性試驗

PPND 毒性試驗之目的在於評估與未懷孕雌性個體相較的情況，給藥後毒性提高的程度、子代產前與產後成活力、生長與發育上的變化，以及子代的功能缺損，包括性成熟、成熟後之生殖能力、感官功能、活動能力、學習與記憶能力等。

可允許雌性生產並養育子代至斷奶，並且須於每胎子代中挑選至少一雄一雌養育至成年且可行交配，以分析其是否具有生殖能力(見表 4)。

表 4　PPND 毒性試驗之設計：大鼠	
參數	
每組大小	至少 16 胎
給藥組數	4(含 1 控制組)
給藥時程	自著床(GD6/7)開始給藥，至斷奶－即約產後 20 日(postnatal day 20, PND20)為止
F0　雌性	
臨床觀察/死亡率	每日至少 1 次
體重	每週至少 2 次
攝食量	至泌乳期中期，每週至少 1 次
分娩觀察	GD21 至完成
屍體解剖	將目視檢查發現受影響的組織以及取自控制組的相同組織予以保留，以備事後作組織病理檢查；清點子宮內著床位點數量
F1　斷奶前	
臨床觀察/死亡率	自 PND0 起每日觀察
斷奶前與斷奶後存活率	自 PND0 起每日觀察
體重與性別	PND0/1 觀察後每週至少觀察 2 次
選擇性每胎數量標準化	≥PND4，雌雄各 4 - 5 之幼崽
身體發育[a]	紀錄斷奶前發育與反射作用發生里程碑(如睜眼、耳廓展開、平面翻正、聽覺驚跳、空中翻正、對光反應等)

F1 斷奶後	
挑選作斷奶後評估與每組大小[b]	PND21。盡可能每胎至少1 雄1 雌，以達每組/性別各 16 隻
臨床觀察/死亡率	每日
體重	每週
選擇性攝食量	每週
性成熟[c]	雌性：陰道開啟 雄性：包皮分離
其他功能性測驗[d]	評估感官功能、活動能力、學習與記憶能力等
生殖能力	至少10 週大時進行；以同組內個體作配對(非同親代之 1 雄 1 雌)進行交配

a：身體發育的最佳指標是體重，但光憑體重一項並不足以取代其他與發育相關的參數。

b：每胎應至少保留 1 雄 1 雌，以進行行為與其他功能性測驗來評估生殖功能。某些情況下，每胎可保留更多隻數，以進行獨立的功能性評估。

c：應紀錄達性成熟時的體重，以確認跟控制組的差異有特殊性或與整體的成長有關。

d：學習與記憶能力應以複雜的學習任務來作評估。運動能力與伴隨前脈衝抑制(若有實施)的驚跳反射評估應持續足夠的時間，才能展現習慣化的程度。

I. 非人屬靈長類(NHP)之加強型產前與產後發育(ePPND)毒性試驗

表 5 之 ePPND 毒性試驗係針對 NHP 之試驗，其指標取自 EFD 與 PPND 兩種試驗。在 ePPND 毒性試驗中，給藥期橫貫整個妊娠期至分娩為止(例如自 GD20 至分娩)。關於進行試驗的時機與額外進行評估的參數可參閱 ICH S6。

表5　ePPND毒性試驗之設計：馬來猴[a]	
參數	
每組大小[b]	約 16 隻懷孕雌性個體
給藥組數	至少 2 組(含 1 控制組)
給藥時程	自確認懷孕(約GD20)始至分娩止
F0 雌性	
臨床觀察/死亡率	每日至少 1 次
體重	每週至少 1 次
分娩觀察	紀錄分娩完成日期
胎盤	可能情況下應予以保存
屍體解剖與組織評估	有必要時才執行
暴露量評估	視情況紀錄藥品 TK 特徵及/或全身濃度分布
F1	
臨床觀察/死亡率	自 PND0 起每日觀察
體重	每週觀察
型態/身體發育及/或功能評估	視情況依固定間隔作觀察
行為神經測試組合	產後頭 2 週內至少進行 1 週期
握力	PND28
母子互動	產後初期僅作確認有育兒行為之最低限度觀察，之後視情況作調整。
暴露量評估	視情況量測藥品在全身的濃度分布
外觀評估	固定週期
骨骼評估	約PND28 或更晚
內臟評估	屍體解剖時進行
屍體解剖	至少 1 個月大時，依評估目的而定，應保存組織以備組織病理檢查之所需

a：若使用馬來猴以外的 NHP，應視情況調整試驗設計。

b：在 ePPND 毒性試驗中，每組大小應能提供足夠數量的幼崽，以便分析藥品對懷孕結果可能的不良影響，以及必要時方便專家分析藥品造成的畸型與對產後發育的影響(如免疫系統)。多數 ePPND 毒性試驗花費數月累積懷孕動物數量。

4. 組合式試驗設計

結合不同的試驗設計來符合藥品開發計畫的需求也是可行的選擇。具體做法是自前述各試驗設計中汲取適用的指標組合成一項新的試驗設計。以下提出數項組合式試驗設計的概念。

I. FEED 與 EFD

結合 FEED 與 EFD 試驗之目的在於檢驗從交配前即對雄性/雌性給藥並持續至交配、胚胎著床、器官形成期末尾之後藥品是否因而產生毒性。這代表須評估生殖階段的 A 至 D 階段(見 1.1 節)，並且最常使用嚙齒類實驗動物，但也可使用非嚙齒類。

本試驗也可以採用組合式的雌雄兩性 FEED/EFD 設計，若雄性的生殖能力已經在一個獨立且具適當時程的重複劑量毒性試驗中被評估完成，亦可考慮採用純雌性之 FEED/EFD 試驗設計，如此未給藥的雄性個體在此設計中將僅作交配之用。

II. 雄性生殖能力與重複劑量毒性試驗

亦可透過嚙齒類重複劑量毒性試驗來評估雄性生殖能力，在此項組合式試驗設計中，將已經固定週數給藥的雄性個體與未給藥的雌性配對，且在同居後持續對雄性給藥直到重複劑量毒性試驗結束為止，於證實交配行為後約 2 週對未給藥的雌性施行帝王切開術。為適當評估藥品之影響，試驗設計應使每組至少含有 16 隻雄性個體。雌性生殖能力與其他 FEED 指標須另以獨立試驗評估。

附錄 2 替代性試驗

透過經驗證之替代性試驗(見「名詞解釋」一節)所取得的數據可在有限的場合中輔助危害鑑定與風險評估。經驗證之替代性試驗可獨立進行，或與一至多項 *in vivo* 試驗協同進行。

其用途包括以下數點：

- 有證據指出藥品對 EFD 有不良影響(例如某作用機制會影響基本的發育生物學途徑、基因改造動物之表現型數據、同類效應等)。
- 由於藥品在實驗動物物種體內的毒性使得藥品在動物體內的全身暴露量難以達到相當於人體在使用條件下所達之暴露量。
- 當動物試驗結果曖昧不明時，用以輔助證據權衡評估。
- 作為至多收案 150 名 WOCBP 且最長為期 3 個月之臨床試驗的旁證。
- 測試之藥品係針對極度衰弱或有生命危險(severely debilitating or life-threatening, SDLT)之病人，或是老年發作(late-life onset, LLO)的病人而開發。

若以替代性試驗輔助風險評估並將其納入整合性試驗策略的決定需要有其正當性。以風險評估為目的而採用之檢驗方法須遵循 GLP 規範，並適合其使用環境(亦即在可適用領域以及符合法規情況下，檢驗結果必須具有信賴度)。若想在試驗策略中納入替代性試驗，亦須同時評估分析藥品之代謝物的影響。本附錄僅舉出基本的科學原則以協助確認檢驗方法是否合乎法規要求，但不會對特定的檢驗方法提出建議。若替代性試驗只用於探討藥品作用機制，並非以取代 *in vivo* EFD 試驗指標為目標，則該替代性試驗無須符合此番嚴格驗證。

(一) 預測MEFL 之替代性試驗的驗證

已知必須要有適當測驗方式才能產生有價值的測驗結果，因此測量指標從檢驗目標與相關預測的角度都應有科學上的正當性。檢驗的預測結果、評估的指標以及適用領域三者間的關係都應有經驗法則佐證。欲使某一替代性試驗或替代性試驗之組合能夠合乎風險評估之法規要求[1]，則須對其方法論與結果提出詳盡說明，包括下列各點：

[1] 在此規範下的替代性試驗方法尚未完成正式確效，因此這些替代性試驗方法僅可用於特殊狀況。

- 預測模式的詳細說明與正當性，包括用以預測之物種(如大鼠、兔類，及/或人類)與指標。目前以檢測 MEFL 做為主要評估藥品對發育之潛在危害的*in vitro* 替代性試驗。
- 評估採用模式之生物合理性，其內容應包括 EFD 機制的敘述(如細胞遷移、細胞分化、血管新生、神經管生成和原腸胚形成等)，以及後續以該模式所探討的不良發育影響，此外，亦應討論各項檢驗方法之侷限性。結果敘述包括提出數據予以討論，並且證明藥品暴露的時間長短與時機能夠輔助對 MEFL 之 *in vivo* 預測。
- 評估該替代性試驗在檢驗 MEFL 之準確性與效果。替代性試驗之數據應與能夠引發 MEFL 之化合物在不引起母體毒性的 *in vivo* 試驗劑量下的數據比對。若該化合物並非市售藥品，則須提供相關 *in vivo* 數據。
- 經討論來決定替代性試驗中所得到的是陽性或陰性效應。
- 定義用以預測 MEFL 之分子標記與代謝標記的閥值並說明其正當性。
- 敘述用以判定 *in vivo* 數據陽性或陰性結果所採用之演算法的相關細節所採用的預測模式須能找出替代性試驗所使用之濃度與在所預測物種(尤以懷孕個體為佳)引發不良反應之暴露量之間的關聯性。
- 列出可驗證替代性試驗之各訓練數據集合體(用以發掘潛在的預測性關係)與測試數據集合體(用以分析預測性關係之強度與效用) 所涵蓋的任一化合物，並說明挑選這些化合物的標準。
- 若在驗證用數據資料集合體之化合物並非取自「參考化合物列表」(Reference Compound List，因此表將持續更新，請讀者自行前往 ICH 網站 https://www.ich.org 查詢ICH S5(R3) Annex 2 之1.3 節)，則應指出該化合物之 *in vivo* 暴露量與 MEFL 數據的來源(例如文獻、研究報告、法規回顧等)。
- 能夠呈現測驗方式效能的數據，須適當涵蓋可正當使用替代性試驗(使用環境)的生物與化學領域。
- 能夠呈現單向或組合式替代性試驗之敏感度、專一性、陰陽預測值和再現性的數據，並以其預測 *in vivo* 發育結果。在所選方法具正當性的前提下，各訓練數據集合體 與測試數據集合體的效能可單獨或一起評估。
- 如果使用一項以上的替代性試驗，除對預測模式進行合性評估之外，應分別對每項檢驗方法提出說明。對於如何將個別替代性試驗的結果整合入最終的預測結果須有明確說明。
- 替代性試驗發展與應用相關的歷史數據(例如存活率與畸形之數目與種

類)，中需含陽性對照數據。

藥品之試驗委託人應說明先前已向哪些衛生主管機關提交替代性試驗的驗證資料。須注意即便某主管機關核可某一試驗方法並不代表其他主管機關亦將核可該試驗方法。此外亦建議評估大鼠及/或兔類 *in vivo* 試驗未能檢出的人類致畸胎原，因為某些替代性試驗可用以預測 *in vivo* 試驗難以測得之 MEFL。

（二） 採用替代性試驗之 EFD 試驗策略範例

此章節提供整合性試驗策略的範例，說明如何納入替代性試驗以檢測藥品對 EFD 之不良影響。

1. 替代性試驗納入整合性試驗策略以推遲 *in vivo* 試驗之可行做法

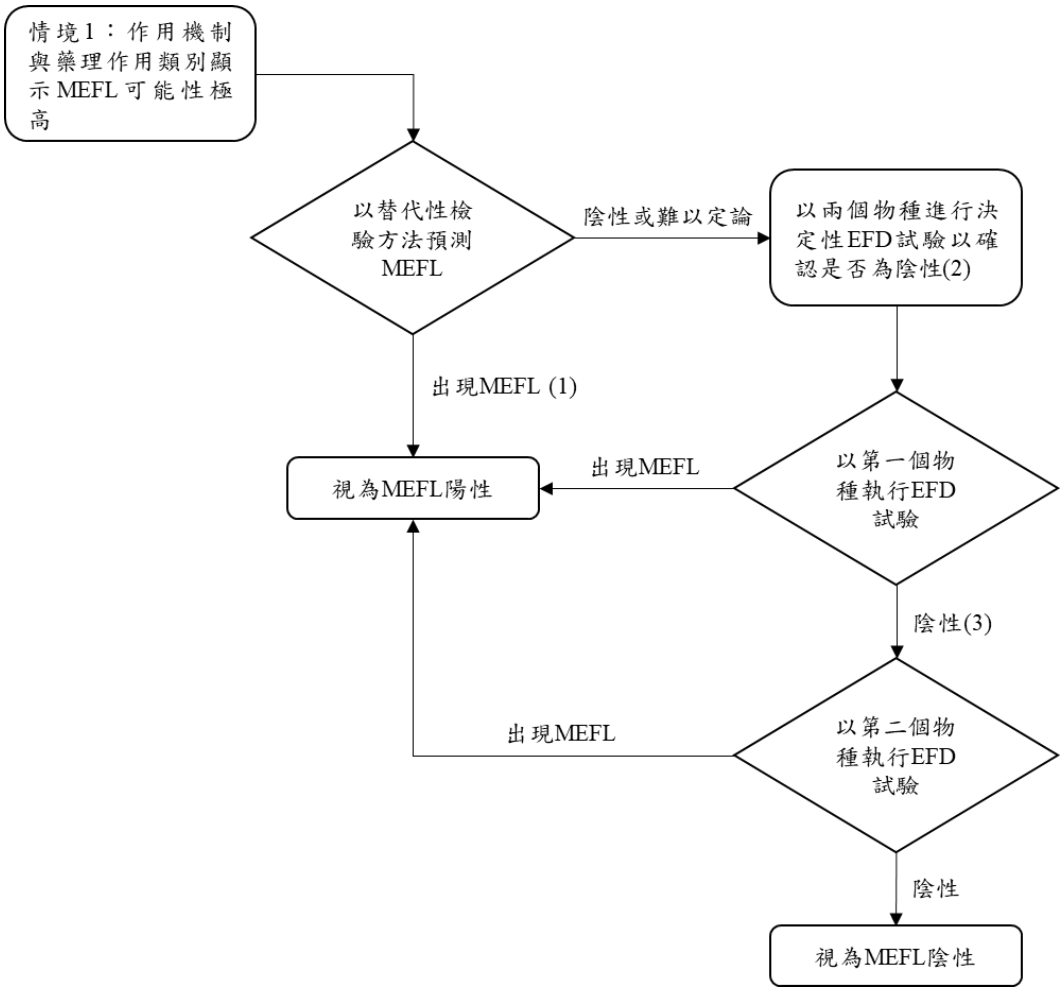
見此部規範正文之 4.2.3 節

2. 預期對胚胎–胎兒具毒性之藥品

若藥品因其作用機制、藥理作用類別或是標靶生物學特性等考量而預期該藥品對胚胎–胎兒發育具不良影響，應以通過驗證的替代性試驗進行確認(見本附錄之圖 1)。

若通過驗證的替代性試驗明確預測藥品在具臨床相關性的外推暴露量下為 MEFL 陽性，即足以證明藥品對 EFD 造成風險，通常無須進一步測試。但是若替代性試驗未能預測 MEFL，則應以兩個物種的實驗動物作決定性 *in vivo* EFD 試驗以進一步確認。圖 1 所示的試驗流程能減少實驗動物的用量，因為若第一項 *in vivo* 試驗即已呈現陽性，則無須進行第二項 *in vivo* 試驗。若替代性試驗已經預測藥品將對 EFD 產生不良影響，再以 *in vivo* EFD 試驗去試圖否定替代性試驗測得的陽性反應，實屬無益之舉。

圖1 以替代性試驗測試預期對胚胎–胎兒具毒性之藥品



(1) 若在臨床相關性的外推暴露量下觀察到明顯 MEFL 訊號，則無須進行進一步評估。

(2) 亦可以 pEFD 試驗代替，但須以具相關性的物種與決定性試驗確認陰性結果。

(3) 依圖中所示逐步進行*in vivo* EFD 試驗能減少實驗動物的用量，因為若第一項 *in vivo* 試驗即已呈現陽性，則無須進行第二項 *in vivo* 試驗。

3. 針對令病人極度衰弱或有生命危險(SDLT)之特定疾病的藥品

當考量可治療 SDLT 疾病(與嚴重性較低之慢性病相較)病人之藥品的風險與效益時，由於病人懷孕的可能性極低，所以將通過驗證的替代性試驗納入 EFD 風險評估的一環是適當的做法(見附錄 2 圖 2)。

當某一替代性試驗明確預測藥品在具臨床相關性的外推暴露量下對第一個物種(例如大鼠)為 MEFL 陽性時，則在個案基礎上可視為已充分顯示該藥品對 EFD 具有風險。但是，若其試驗結果為難以定論或可能呈偽陽性反應，則須以一到兩個物種的實驗動物作決定性 *in vivo* EFD 試驗，以輔助人體風險評估。若在適當之臨界暴露值下，在兩個物種的決定性 *in vivo* 試驗中皆無法觀察到 EFD 訊號，則替代性試驗的結果可視為對人體的風險顧慮極小。但是若該替代性試驗已經過驗證可預測人類 MEFL(即不僅限於預測動物的 MEFL)，則需要 提供額外數據(如機制或遺傳數據)以佐證該替代性試驗結果確實為偽陽性反應。如果兩項 *in vivo* 試驗中有一項或兩項都指出藥品具有 EFD 毒性，則該藥 品即視為對 EFD 具有風險。依附錄 2 圖 2 所示逐步進行 *in vivo* EFD 試驗能減少實驗動物的用量，因為若第一項 *in vivo* 試驗即已呈現陽性，則無須進行第二項 *in vivo* 試驗。

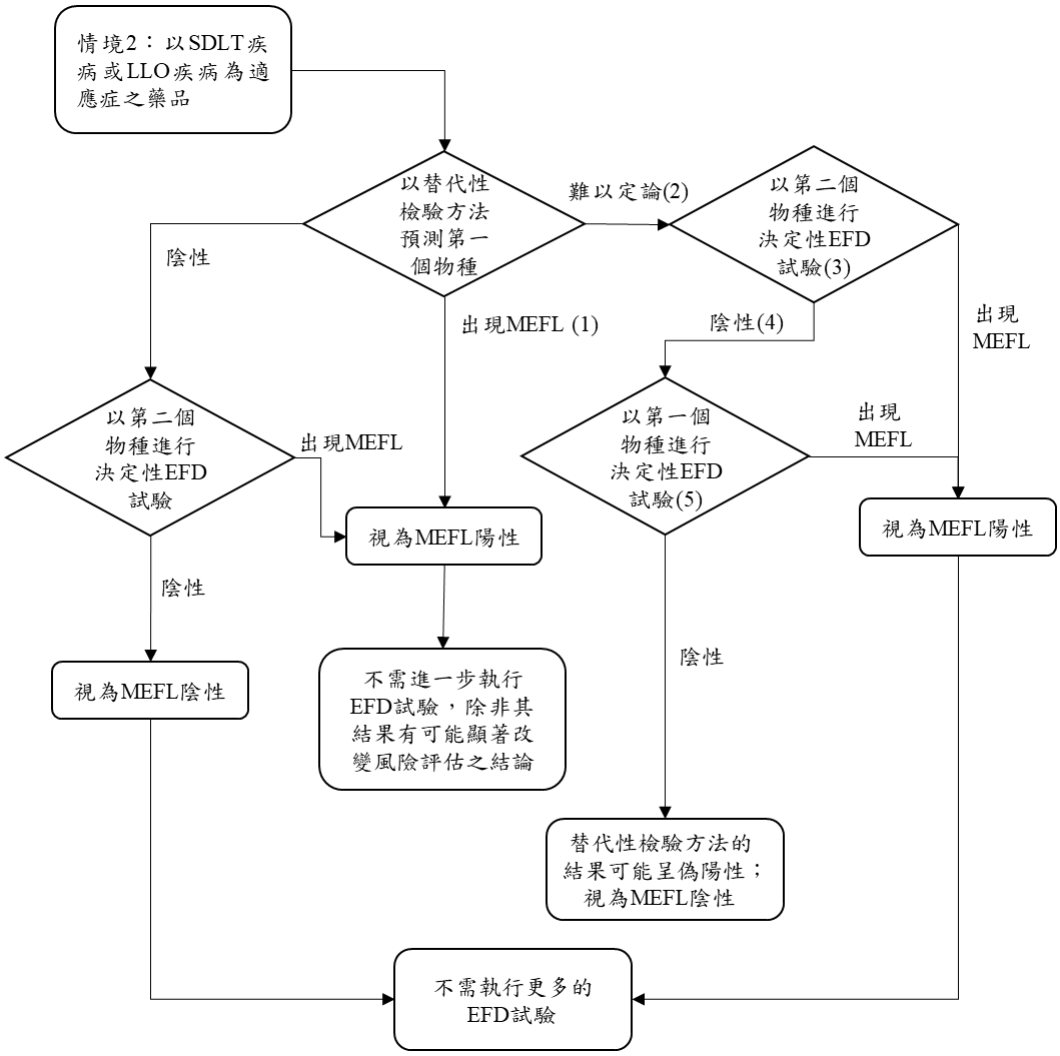
若對第一個物種的替代性試驗預測結果為陰性(即無 MEFL)，應對第二個物種作決定性 *in vivo* EFD 試驗以進一步確認，若試驗結果呈陽性，則該藥品視為對 EFD 具風險；結果呈陰性，則該藥品視為對 EFD 不具風險，且大體上不須再作進一步測試，除非判斷進一步測試的結果有可能顯著改變風險評估之結論。

4. 針對老年才發作(LLO)的疾病之藥品

某些疾病通常僅在老年人身上診斷得到，但仍有極低的機會在具生育能力的婦女身上診斷出此類疾病，例如好發於 60 歲以上老年人的大疱性類天疱瘡(bullous pemphigoid)。考量到 LLO 疾病之女性病人普遍生育能力極低，此病人族群因為使用此類藥品導致生殖缺陷發生率上升的可能性亦極低，因此是否有必要進行 EFD 評估應逐案審定。此外，此一情況並非假設接受治療的病人族群均已無生育能力(例如停經後骨質疏鬆症)，但是對已無生育能力的病人通常已無進行 EFD 評估的必要。

在此情境下的試驗策略與 SDLT 疾病的策略相似，唯一不同之處在於對第二個物種進行的首次 *in vivo* 評估可以比照 pEFD 試驗來操作。

圖 2 以替代性試驗測試SDLT 疾病或 LLO 疾病



(1) 在具臨床相關性的外推暴露量下觀察到明顯為MEFL陽性的訊號，則在個案基礎上可視為已充分顯示藥品對EFD具有毒性，無須進一步作評估。

(2) 雖然可使用pEFD試驗，須在兩個物種的決定性*in vivo* EFD試驗都得到陰性結果才能確定替代性試驗的結果為偽陽性。

(3) 對於LLO疾病，考量到病人族群懷孕可能性極低，通常對第二個物種作pEFD試驗即已足夠。

(4) 如圖所示逐步進行*in vivo* EFD試驗能減少實驗動物的用量，因為若第一項*in vivo*試驗已呈現陽性，則無須進行第二項*in vivo*試驗。

(5) 與預計由替代性試驗作預測的物種相同。

縮寫列表

1.	DART	developmental and reproductive toxicity,	生殖與發育毒性
2.	DRF	dose range finding,	劑量範圍
3.	EFD	embryo-fetal development,	胚胎–胎兒發育
4.	FEED	fertility and early embryonic development,	生殖能力與胚胎早期發育
5.	GLP	good laboratory practice,	優良實驗室操作
6.	MFD	maximum feasible dose,	最高可投予劑量
7.	MRHD	maximum recommended human dose,	最大建議人類用量
8.	NOAEL	no observed adverse effect level,	無明顯不良反應劑量
9.	PEFD	preliminary embryo-fetal development,	初步胚胎－胎兒發育
10.	PPND	pre-and postnatal development,	產前與產後發育
11.	ePPND	enhanced PPND,	加強型 PPND
12.	TK	toxicokinetics,	毒物動力學
13.	WOCBP	women of childbearing potential,	具生育力之女性

ICH S6(R1)：

臨床前生物技術藥品安全性評估指引

(草案)

(Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals)

衛生福利部食品藥物管理署

中華民國 113 年 O 月

前言

國際醫藥法規協和會(International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, ICH)於 1997 年發布 ICH S6(R1): Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals) 指引，本指引的三個主要目標如下：1)確立對人體安全的起始劑量以及後續劑量遞增的方案；2)找出可能產生毒性的標靶器官並研究該毒性之可逆性；3)確立臨床監測的安全參數。遵循本指引期能提高支持生物製劑開發的臨床前安全數據品質和一致性。

目錄

第一部分：----------1

一、緒論----------1

(一)背景----------1

(二)目的----------1

(三)適用範圍----------1

二、試驗物質規格----------2

三、臨床前安全性試驗----------2

(一)一般性原則----------2

(二)生物活性、藥效學----------3

(三)動物品種模型選擇----------3

(四)動物數量/性別----------4

(五)給藥劑量選擇----------5

(六)免疫原性----------5

四、特殊考量----------6

(一)安全藥理學----------6

(二)暴露量評估----------6

1.藥物動力學與毒理動力學----------6

2.測定----------7

3.代謝----------7

(三)單一劑量毒性----------7

(四)重複劑量毒性----------7

(五)免疫毒性----------8

(六)生殖與發育毒性----------8

(七)遺傳毒性----------8
(八)致癌性----------8
(九)局部耐受性----------9
備註----------9

第二部分：S6 附錄----------11
一、緒論----------11
(一)背景----------11
(二)目的----------11
(三)適用範圍----------11
二、物種選擇----------11
(一)一般性原則----------11
(二)一或兩個物種----------12
(三)使用同源蛋白----------13
三、研究設計----------13
(一)劑量選擇與藥物動力學藥效學原則之應用----------13
(二)研究期程----------13
(三)恢復----------14
(四)探索性臨床試驗----------14
四、免疫原性----------14
五、生殖與發育毒性----------14
(一)一般性原則----------14
(二)生育力----------15
(三)胚胎–胎兒發育與出生前後發育----------16
(四)研究時機----------16
六、致癌性----------17

備註----------18

參考資料----------21

ICH S6(R1)：臨床前生物技術藥品安全性評估指引

第一部分：

一、 緒論

(一) 背景

生物技術衍生藥品(生物製劑)最早在 1980 年代初期開發，並在 1980 年代後期獲得了第一批上市許可。各大法規主管機關就這些產品的安全評估發布了多份指引和需注意的文件。藉由回顧這些文件，可以從法規主管機關獲得有益的背景資訊，以助於開發新的生物製劑產品。

如今，已經累積了大量關於生物製劑申請的經驗。對這些經驗進行深入檢討已成為制定本指引的基礎，旨在為設計科學上可接受的臨床前安全性評估計畫提供普遍適用的原則。

(二) 目的

歐盟、日本、美國的生物技術衍生藥品法規標準在各地區間大致相同，均採用了靈活、個案考量、以科學為基礎的策略來執行支持臨床發展和上市許可所需的安全性評估。在這個快速發展的科學領域，各地區間達成共識和持續對話是非常重要的。

臨床前安全性評估的三個主要目標如下：1)確立對人體安全的起始劑量以及後續劑量遞增的方案；2)找出可能產生毒性的標靶器官並研究該毒性之可逆性；3)確立臨床監測的安全參數。遵循本指引期能提高支持生物製劑開發的臨床前安全數據品質和一致性。

(三) 適用範圍

本指引主要旨在為生物技術衍生藥品的臨床前安全性評估建議一個基本架構。它適用於通過使用多種表現系統(包括細菌、酵母、昆蟲、植物和哺乳動物細胞)，從特性已知細胞衍生的產品。預期用途可能包括體內診斷、治療或預防用途。活性物質包括蛋白質和胜肽，它們的衍生物以及含有它們成分的產品；它們可以從細胞培養中萃取，或使用重組 DNA 技術生產，包括通過基因轉殖植物和動物生產。範例包括但不限於：細胞因子、纖維蛋白溶酶原激活劑、重組血漿因子、生長因子、融合蛋白、酵素、受體、激素和單株抗體。

本指引中概述的原則也可能適用於重組 DNA 蛋白質疫苗、化學合成胜肽、血漿衍生產品、從人類組織萃取的內源性蛋白質和寡核苷酸藥品。

本文件不涵蓋抗生素、過敏原萃取物、肝素、維生素、細胞血液成分、傳統細菌或病毒疫苗、DNA 疫苗或細胞和基因治療。

二、 試驗物質規格

由於不純物或污染物的存在，可能會產生安全疑慮。移除不純物和污染物較好的方法是藉由純化製程，而非建立臨床前試驗計畫進行驗證。在所有情況下，產品應充分進行特性鑑定，以便進行適當的臨床前安全研究設計。

源自細菌、酵母、昆蟲、植物和哺乳動物細胞的宿主細胞污染物存在潛在風險。宿主細胞污染物的存在可能導致過敏反應和其他免疫病理效應。與核酸污染物關聯的不良作用屬於理論性的，但包括可能嵌合到宿主基因組的風險。對於源自昆蟲、植物和哺乳類動物細胞，或者基因轉殖植物和動物的產品，可能還存在額外的病毒感染風險。

一般而言，用於確定性藥理學和毒理學研究的產品，應與規劃用於初始臨床研究的產品相當。然而，在開發過程中，為了提高產品品質和產量，可以理解製程通常會發生變化，在將動物實驗結果外推至人類時，應考慮這些變化可能帶來的潛在衝擊。

在開發過程中，當引入新的或修改後的製程，或者在產品或配方中進行其他重大變更時，應證明試驗材料與後續臨床試驗產品的可比性。可比性可以基於生物化學和生物特性(例如：同一性、純度、安定性和效力)進行評估。在某些情況下，可能需要進行額外的研究(例如：藥物動力學、藥效學和/或安全性)。應提供採取方法在科學上的合理性。

三、 臨床前安全性試驗

(一) 一般性原則

臨床前安全性研究之目的，不僅在人體研究開始之前，也在整個臨床開發過程中界定藥理和毒理的作用。體內和體外研究都可以有助於這種特性鑑定。結構和藥理上與在臨床實務中具有廣泛經驗的產品相似的生物製劑，可能可以減少所需的毒性試驗。

執行臨床前安全性試驗時，應考慮以下幾點：

1. 選擇相關的動物物種；

2. 年齡；

3. 生理狀態；

4. 給藥方式，包括劑量、給藥途徑和治療間隔；

5. 試驗材料在使用條件下的安定性。

預期毒性研究應符合實驗室優良操作規範(GLP)；然而，也意識到在生物製劑研究中，一些需要專門測試系統的研究可能無法完全符合 GLP。應確定不符合規範的範疇並相對於整體安全評估之重要性。在某些情況下，缺乏完全 GLP 合規性，並不一定意味著這些研究的數據，無法用於支持臨床試驗和上市許可。

由於生物製劑具有獨特和多樣化的結構和生物特性，如物種特異性、免疫原性和不可預測的多效性活性等，因此傳統的藥品毒性試驗方法可能不適用於生物製劑。

(二) 生物活性、藥效學

生物活性可通過體外試驗來評估，以確定產品可能與臨床活性相關的作用。使用細胞株和/或初代細胞培養有助於檢測產品對細胞表現型和增殖的直接作用。由於許多生物技術衍生藥品具有物種特異性，因此選擇相關動物物種進行毒性試驗非常重要。從哺乳類細胞衍生的體外細胞株可以用於預測體內活性，並量化評估不同物種(包括人類)對生物製劑的相對敏感性。這類研究可以用來確定受體佔有率、受體親和力，和/或藥理作用，並有助於為進一步的體內藥理學和毒理學研究，選擇適當的動物物種。結合體內和體外研究的結果有助於將研究成果推廣到人體。評估藥理活性的體內研究，包括確定作用機轉，通常用於支持在臨床研究中使用產品的合理性。

對於單株抗體，應詳細描述抗體的免疫特性，包括其抗原特異性、補體結合以及對與預期靶點不同的人類組織的任何非預期反應性，和/或細胞毒性。這類交叉反應性研究應使用一系列人類組織，通過適當的免疫組織化學程序進行。

(三) 動物品種/模型選擇

許多生物技術衍生藥品的生物活性以及物種和/或組織特異性，往往不適合於一般使用的動物(例如：大鼠和狗)所進行標準毒性試驗設計。因此，安全性評估計畫應包含相關物種的選擇。所謂相關物種，是指試驗物質會因受體或抗原表現

而在體內產生藥理活性的物種(對於單株抗體而言，則是抗原表位)。可以採用各種技術(例如：免疫化學或功能性試驗)來鑑定相關物種。對於受體/抗原分佈的了解，可以更深入地了解可能的體內毒性。針對單株抗體的測試，應選擇表現所需抗原表位和與人體組織具有相似交叉反應性的相關物種。這樣能夠最大程度地評估因與抗原表位結合而產生的毒性以及任何非立意的組織交叉反應性。即使某種物種沒有表現所需抗原表位，但若該物種的非立意組織交叉反應性與人體相似，還是具有某種相關性。

安全性評估計畫通常應包括兩個相關物種，但在一些特定情況下，一個相關物種可能已足夠(例如：只能找到一個相關物種或生物製劑的生物活性已得到充分理解)。此外，即使在短期研究中需要用兩種物種來鑑定毒性，但仍有可能證明只使用一個物種進行後續的長期毒性研究是合理的(例如：如果兩個物種在短期內的毒性概況相似)。

在不相關物種動物進行毒性研究可能會產生誤導，因此不建議這樣做。當沒有相關物種動物時，可考慮使用表現出人體受體的基因轉殖動物，或同源蛋白質來執行研究，透過表現人體受體的基因轉殖動物模型而獲得的資料在藥品與人源化受體間交互作用，可以優化類似該藥品在人體中產生的生理效果。

雖然透過同源蛋白可獲得有用的訊息，但應注意同源形式與欲於臨床使用的藥品可能具有不同的製造過程、不純物或污染物範圍、藥物動力學特徵、確切藥理機制。在無法使用基因轉殖動物模型或同源蛋白的情況下，最好能針對單一物種執行有限的毒性評估，以確立特定方面的潛在毒性，例如：執行 14 天以下且包含評估心血管或呼吸功能等重要功能性終點指標的重複劑量毒性研究。

近年來，在開發與人體疾病相似的動物模型上已有長足進展，這些動物模型包含了誘發性與自發性疾病模型、基因剔除、基因轉殖動物。這些模型可提供研究生物製劑在藥理作用、藥物動力學、劑量測定法上進一步的參考，亦有助於安全性的確立(例如：評估是否會促進疾病的進展)。在特定情況下，可透過動物模型執行研究來替代正常動物的毒性研究(註 1)。應提供用來支持安全性的動物疾病模型，其在科學上的合理性。

(四) 動物數量/性別

每次劑量所使用的動物數量與毒性檢測能力有直接的關係，使用小樣本的研究可能因毒性的嚴重程度與觀察頻率無關，而無法觀察到該毒性事件。在因為樣本數過小而產生限制時(例如：非人靈長類研究)，可以透過增加監測的頻率與期間來補償。應使用兩種性別的動物，若使用單一性別應有合理性的說明。

（五） 給藥劑量選擇

給藥的途徑與頻率應盡量與臨床使用相同，並應考量在試驗物種中的藥物動力學與生物利用率，以及能夠安全且符合動物福利的給藥體積。為補償較高的活性成分清除率或較低的溶解度，在實驗動物的給藥頻率可能比在人體臨床研究中還高。在這些情況下，研究應確定相對於臨床暴露量的試驗動物暴露量，也應考量給藥量、濃度、配方、部位可能造成的影響。如果因為生物利用率有限或因給藥途徑或動物的大小/生理特徵等原因無法使用臨床使用的給藥途徑，則可採用其他替代或改良的給藥途徑。

為了顯示劑量反應關係，應選擇適當的劑量水平，包括毒性劑量和無明顯不良反應劑量(NOAEL)。對於某些具有極低或無毒性的產品，可能無法確定特定的最大劑量。在這種情況下，需要提供劑量選擇的科學理據和預計人體暴露量的倍數的科學合理性。選擇高劑量時，應考慮預期的藥理/生理作用、適當的試驗材料的可用性，以及預期的臨床用途。當產品對所選物種的細胞親和力或效價比對人體細胞低時，測試高劑量可能是重要的。在不同的生物技術衍生藥品和其臨床適應症中，確定足夠的安全邊際所需的人體劑量倍數可能有所不同。

（六） 免疫原性

因為許多用於人體的生物技術藥品在動物體內具有免疫原性，因此在進行重複劑量毒性研究時應測量與這些產品施用相關的抗體，以幫助解釋這些研究的結果。抗體反應需進行特性描述(例如：效價、有反應的動物數量、是否具有中和性)，並將其出現與任何藥理學和/或毒理學變化相關聯。在解釋數據時，應考慮抗體形成對藥物動力學/藥效學參數、不良反應的發生率和/或嚴重程度、補體活化或新的毒性效應的影響。還應評估可能與免疫複合物形成和沉積有關的病理變化之影響。

除非試驗動物的大部分出現免疫反應中和了生物製藥的藥理學和/或毒理學作用，否則抗體檢測不應成為提前終止臨床前安全性研究或修改研究設計期間的唯一評估標準。在大多數情況下，生物製劑的免疫反應是多變的，就像人體一樣。如果抗體反應不會對安全性研究的數據解讀造成影響，則不應賦予其任何特殊意義。

在動物體內誘導抗體形成並不能預測在人體中產生抗體的可能性。人體可能會產生對人源化蛋白的血清抗體，但治療反應通常仍會持續存在。在人體中，對重組蛋白質產生嚴重過敏反應的情況很少見。在這方面，通常對蛋白產品測試陽性反應的天竺鼠過敏試驗結果並不能預測人體的反應；因此，此類研究對於這些產品的常規評估價值有限。

四、 特殊考量

(一) 安全藥理學

對於毒性和/或臨床研究來說,透過適當的動物模型檢視不良藥理學活性發生的可能性，以及在必要時將特定的活性監測納入研究是重要的。安全藥理學研究測量潛在毒性的功能終點指標，該終點指標可透過執行額外研究來測量，或納入毒性研究的設計中。安全藥理學研究之目的應為找出藥品對主要生理系統(例如：心血管、呼吸、腎、中樞神經系統)的功能性影響。研究也應使用離體器官或其他不包含完整動物的試驗系統來做相關探討。在探討藥品的人體使用以及適應症時，需特別注意特定器官毒性，而上述所有的研究皆可為該毒性提供以藥品機轉為基礎的解釋。

(二) 暴露量評估

1. 藥物動力學與毒理動力學

由於生物技術藥品的特殊性，制定其藥物動力學研究的統一指引相當困難。在相關的物種動物進行單一劑量和多劑量的藥物動力學、毒理動力學和組織分佈研究是有用的，但常規的試圖評估物質平衡的研究是無用的。不同動物物種之間的藥物動力學差異可能對動物實驗的預測能力或毒性實驗中劑量反應關係的評估產生重大影響。免疫介導的清除機制對藥物動力學概況和毒性數據的解釋也可能產生影響。對於某些產品，相對於藥物動力學概況(如細胞因子)，藥效作用的表現也可能有顯著延遲，或者藥效作用的表現相對於血漿濃度有更長的持續時間。因此，制定針對生物技術藥品的藥物動力學研究指引仍有待深入研究。

適當的藥物動力學研究應使用與預期進行毒性試驗和臨床使用相符的製劑，並選用符合預期臨床研究的給藥途徑。吸收模式可能會受製劑配方、濃度、給藥部位和體積的影響。毒性研究應盡可能監測全身暴露的程度。

使用放射性標記蛋白時，需證明其放射性標記試驗物質具有與非標記物質相當的活性和生物特性。由於體內快速代謝或不穩定的放射性標記連接，使用放射性標記蛋白得出的放射性組織濃度和(或)自動放射照片數據通常難以解讀。當研究將放射性示蹤劑用於特定氨基酸時，需要謹慎解讀研究結果，因為胺基酸可能被回收並用於合成非藥品相關的蛋白質/胜肽。

在進行臨床研究前，應提供相關動物模型的吸收、分布和清除等數據，以預測暴露和劑量的安全邊際。

2. 測定

在使用一個或多個測定方法時，應針對每一個案進行評估並提供科學依據。通常一個經過驗證的測定方法已經足夠，例如，在投予放射性標記蛋白後，量化三氯乙酸可沉澱的放射性是一種常用的測定方法，但最好還應該使用針對分析物的特定測定方法。在動物和人體研究中，理想情況下應使用相同的測定方法。此外，還應評估血漿結合蛋白和/或抗體在測定中的影響。

3. 代謝

生物技術藥品預期代謝降解成小胜肽與個別胺基酸，因此可大致上了解其代謝途徑，無須對藥品執行傳統的生物轉化研究。

在理解藥效作用時，釐清生物製劑在生物基質(如：血漿、血清、腦脊髓液)中的行為與結合蛋白可能帶來的影響是很重要的。

(三) 單一劑量毒性

單一劑量毒性研究可提供描述劑量與全身性和/或局部毒性之間關係的有用數據，這些數據可用於選擇重複劑量毒性研究的劑量。單一劑量毒性研究可作為藥理學或動物模型成效研究的一部分，收集劑量反應關係的資訊。在設計這些研究時，應考慮納入安全藥理學參數。

(四) 重複劑量毒性

針對重複劑量毒性研究所選擇的動物物種，請參考第三章第(三)節。藥品的給藥途徑和給藥間隔(例如每日或間歇性給藥)，應該反映預期的臨床使用或暴露方式。如有可能，這些研究應該包含對毒理動力學的探討。

在研究設計中應該包含恢復期，以確認藥品的藥理/毒理作用是否可逆或可能惡化，以及是否存在潛在的毒性延遲效應。對於引起長期藥理/毒理作用的生物製劑，恢復組動物應持續監測，直到證明可逆性為止。重複劑量研究的給藥期程應根據預期臨床暴露和疾病終點指標來決定。對於大多數生物技術藥品，動物給藥期程通常為 1 至 3 個月。對於短期使用(例如小於 7 天)以及治療急性危及生命疾病的生物製劑，進行長達兩週的重複劑量研究已被認為足以支持臨床研究和上市許可。對於慢性適應症的生物製劑，儘管有些情況下更短或更長的，通常進行長達 6 個月給藥期程的研究也可以支持上市許可。對於預期長期使用的生物製劑，

長期毒性研究的給藥期程應有科學依據。

（五） 免疫毒性

免疫毒性評估的一個方面包括評估潛在免疫原性(參見第三章第(六)節)。許多生物技術製劑旨在刺激或抑制免疫系統，因此可能影響體液性免疫及細胞媒介免疫。注射部位的炎症反應可能表明有刺激性反應，然而，注射創傷以及/或製劑載體所造成的特定毒性作用，也可能導致注射部位出現毒性變化。此外，標靶細胞表面抗原的表達可能會改變，這對自體免疫潛力有影響。免疫毒性測試策略可能需要先進行篩選研究，然後進行機轉研究以澄清這些議題。然而，不建議對生物技術製劑使用常規分層測試方法或標準測試組合。

（六） 生殖與發育毒性

生殖/發育毒性研究的需求取決於產品、臨床適應症，和預定的病人族群(註2)。基於物種特異性、免疫原性、生物活性，和/或長消除半衰期的問題，具體的研究設計和給藥方案可能需要進行修改。例如，針對潛在的發育免疫毒性問題，特別是針對具有長期免疫作用的某些單株抗體，可以透過改良研究設計來評估新生兒的免疫功能。

（七） 遺傳毒性

對於生物技術藥品而言，一般進行的遺傳毒性研究範圍及類型並不適用，因此無需進行此類研究。此外，大量胜肽/蛋白質的投予可能會產生難以解釋的結果。這些物質不太可能直接與 DNA 或其他染色體物質產生作用(註 3)。

若對產品有疑慮(例如：複合蛋白產品中含有有機連接分子)，則應在可用且相關的系統，包括新開發的系統中進行研究。然而，將標準的遺傳毒性研究用於評估潛在製程污染物的遺傳毒性並不適當，若為此目的進行，應提供合理說明。

（八） 致癌性

標準的致癌性生物試驗通常不適用於生物技術藥品。然而，依據臨床用藥的時間長短、病人族群以及產品的生物活性(例如：生長因子、免疫抑制劑等)，可能仍需要針對產品的致癌潛能進行特定的評估。當存在致癌潛能的疑慮時，可以考慮採用各種方法進行風險評估。

針對可能支持或誘導轉化細胞增殖和純系擴增，進而可能導致腫瘤形成的產品，應評估與研究病患群體相關的各種惡性和正常人類細胞中的受體表現。此外，應確定產品刺激表達受體的正常或惡性細胞生長的能力。當體外數據對於致癌潛能引起擔憂時，可能需要在相關的動物模型中進行更多研究。在長期重複劑量毒性研究中納入對細胞增殖敏感的終點指標可能提供有用的資訊。

若產品在嚙齒類動物中具有生物活性且非免疫原性，並且其他研究尚未提供足夠的資訊以評估致癌潛力的情況下，應考慮使用單一嚙齒類物種。劑量的選擇應給予充分的考量。在確定適當劑量時，結合藥物動力學和藥效學終點指標，並考量比較受體特性和預期的人類暴露情況，是最具科學依據的方法。應提供劑量選擇的合理性依據。

（九） 局部耐受性

應對預計上市的配方進行局部耐受性測試與評估；然而，在某些合理情況下，可以接受對具代表性的配方進行測試。在一些情況下，可以通過單次或重複劑量毒性研究來評估產品的潛在不良影響，從而避免單獨進行局部耐受性研究的必要性。

備註

註 1：疾病動物模型有助於確定毒性終點指標、選擇臨床適應症以及確定合適的配方、給藥途徑和治療間隔。應特別注意，在使用這些疾病模型時，評估研究結果時往往缺乏足夠的歷史數據作為參考。因此，同時收集對照和基線數據對於優化研究設計至關重要。

註 2：目前已有大量公開資訊關於特定類別化合物(如：干擾素)對生殖和(或)發育可能造成的影響，而唯一相關的物種是非人類靈長類動物。在這些情況下，機轉研究指出新的但相關分子很可能也會產生類似的影響，因此可以免去進行正式的生殖/發育毒性研究。針對每個案例，在評估可能對生殖/發育造成影響的潛力時，應提供相關的科學依據。

註 3：對於某些生物製劑，存在自發突變細胞累積(例如：通過促使增殖的選擇性優勢)導致致癌性的潛在風險。標準的遺傳毒性測試套件並未針對這些

情況進行設計。因此，可能需要開發和評估替代的體外或體內模型以解決這些疑慮。

第二部分：S6 附錄

一、 緒論

(一) 背景

本附錄的建議進一步協調了歐盟、日本和美國各地區支持不同臨床開發階段的非臨床安全研究。本附錄反映了在生物技術衍生藥品安全評估方面達成的共識。

(二) 目的

本附錄之目的是對原始 ICH S6 指引中討論的以下主題進行補充、澄清和更新：物種選擇、研究設計、免疫原性、生殖和發育毒性以及致癌潛能的評估。自原始 ICH S6 指引發布以來的科學進步和經驗積累，使得制定本附錄成為必要。這個經協合的附錄將有助於確定當前的建議，並降低各地區之間存在重大差異的可能性。

本指引有助於及時開展臨床試驗，按照 3R(減少/優化/替代)原則減少動物的使用，以及減少其他藥品開發資源的使用。儘管本指引未涉及此議題，但應考慮使用適當的體外替代方法進行安全評估。如果這些方法獲得所有 ICH 法規主管機關的認可，則可以用來替代當前的標準方法。本指引旨在促進新藥品的安全與符合倫理的開發及可用性。

(三) 適用範圍

本附錄並未改變原始 ICH S6 指引的範疇。對於打算用於腫瘤治療的生物技術衍生產品，應查閱抗癌藥品非臨床評估指引(ICH S9 指引)。

二、 物種選擇

(一) 一般性原則

在確定物種相關性時，應該考慮多個因素。首先可以比較物種之間的目標序列同源性，接著進行體外試驗，對藥品目標結合親和力以及受體/配體佔有率和動力學進行質與量的跨物種比較。

同時，建議進行功能活性的評估。功能活性可以在物種特異性的細胞系統中和/或在體內藥理或毒理學研究中展示。調節已知的生物反應或藥效終點指標可以提供功能活性的證據，以支持物種相關性。

在預期的給藥方案之背景下，考慮物種在標靶結合和功能活性上的差異，應有助於確保模型能夠顯示標靶調節的潛在不良影響。當典型且健康狀況良好的臨床前試驗動物中的標靶表達量非常低時(例如：炎性細胞因子或腫瘤抗原)，可以根據細胞系統中的結合親和力和活性來指導物種的選擇。

評估動物組織中的組織交叉反應在物種選擇上的價值有限(見註 1)。然而，在特定情況下(即當上述方法無法用來證明藥理學相關物種時)，可以通過組織交叉反應研究來指導毒理學物種的選擇，方法是比較人類與預期存在標靶結合的動物組織之間的組織結合特徵。

如 ICH S6 指引所述，當因為生物製劑無法與任何物種中的同源靶標互動而無法確定相關物種時，可以考慮使用同源分子或基因轉殖模型。

針對外來標靶(例如：細菌、病毒標靶等)的單株抗體和其他相關抗體產品，在一個物種中(選擇物種需由試驗委託者合理判斷)可以考慮進行短期安全性研究(參見 ICH S6 指引)；不適合進行額外的毒性研究，包括生殖毒性研究。另一方面，當使用疾病動物模型來評估概念驗證時，可以包含安全性評估，以提供有關潛在與標靶相關的安全性方面的信息。在無法實現這種評估的情況下，應為臨床試驗採用適當的風險減輕策略。

對於結合新型毒素或毒物之單株抗體－藥品/毒素複合物(antibody-drug/toxin conjugate, ADC)的物種選擇，應依循與非複合抗體相同的一般性原則(見前文及註 2)。

(二) 一或兩個物種

若臨床候選藥品存在兩個在藥理學上的相關物種(一囓齒類與一非囓齒類動物)，應對兩者執行短期(期程最多一個月)的一般毒理研究，若這些研究的毒理結果相似，或者能從產品作用機制中理解這些結果，那麼通常只需要在一個物種上進行長期的一般毒性研究。在沒有科學理由支持使用非囓齒類動物的情況下，應選擇對囓齒類動物進行研究。不適合在兩個非囓齒類物種上進行研究。

若臨床候選藥品只對一種物種具有藥理活性，則使用該物種進行所有一般毒性研究是合理的。在使用相關產品的第二種動物進行研究時，不認為會為風險評估增加更多價值，不建議進行。

（三） 使用同源蛋白

使用同源蛋白是 ICH S6 指引第三章第(三)節提到的其中一種替代方式。透過這種方式進行的研究可用於檢測危害性和理解由於藥理學作用過大而產生的不良反應，但這些研究通常對於定量風險評估沒有太大幫助。因此，在確定危害性方面，如果有科學合理的研究設計和劑量選擇(例如最大藥理學劑量)，那麼只使用一個對照組和一個治療組進行安全性評估研究是可能的。

三、 研究設計

（一） 劑量選擇與藥物動力學/藥效學原則之應用

大多數生物製劑的毒性與其標靶作用機轉有關，因此使用相對較高的劑量可能會引起類似過大藥理學作用的不良反應。

在選擇劑量時，必須提供合理的科學依據，考量劑量反應關係的特性。藥物動力學/藥效學方法(例如簡單的暴露反應關係或更複雜的建模和模擬方法)可以幫助選擇高劑量，通過確定：1)在臨床前物種中達到最大預期藥理效應的劑量；和 2)達到比臨床最大暴露量高約 10 倍的暴露量。除非有科學依據支持使用較低劑量(例如最高可投予劑量)，否則在臨床前毒性研究中，應該選擇高劑量組的較高劑量。

在體外/活體外藥效學終點指標不可得時，可以使用藥物動力學資料和可用的體外結合和/或藥理學資料來選擇高劑量。應考慮到非臨床物種與人類之間在標靶結合和體外藥理學活性方面的差異，以調整高劑量的暴露量邊際。例如，標靶親和力和/或體外效能的相對差異很大，可能會建議在非臨床研究中使用更高劑量。如果使用此方法選擇的劑量未產生毒性作用，則進行更高倍數的人體劑量進行的額外毒性研究就不太可能提供額外的有用資訊。

（二） 研究期程

對於長期使用藥品，若符合第三章第(一)節中所述原則進行高劑量選擇，則在嚙齒類或非嚙齒類動物身上進行為期 6 個月的重複劑量毒性研究足以提供相關資訊。期程較長的研究通常無法提供能夠改變臨床發展歷程的有利資訊。

而對於針對晚期癌症病人所開發的長期使用生物製劑，毒性研究期程的相關原則請見 ICH S9 指引。

（三） 恢復

在臨床上產生具有潛在不良臨床影響的藥理學或毒理學作用時，應詳細瞭解生物體如何從此影響中恢復。透過了解所觀察到的作用是否為可逆或不可逆來獲取相關信息，或是在至少一個劑量水準的一個研究中加入一個不投藥期間，並由試驗委託方予以合理證明。不投藥期之目的在於檢查這些作用是否可逆，而非評估延遲毒性。並非必須證明完全恢復。若僅為評估免疫原性則添加恢復期並非必要。

（四） 探索性臨床試驗

可以採用 ICH M3(R2)指引中提出的彈性方法來支持探索性臨床試驗，這些方法同樣也適用於生物製劑。建議與相關的法規主管機關進行討論並達成共識。

四、 免疫原性

免疫原性評估之目的在於幫助解讀研究結果並設計後續的研究。然而，非臨床動物研究中的免疫原性評估並不適用於預測人體或人體中的人源蛋白質的潛在免疫原性。

建議在非臨床研究中，當出現以下情況時應進行抗藥品抗體(anti-drug antibodies, ADA)的檢測：1)藥品的藥效學活性出現改變；2)在缺乏藥效學終點指標的情況下，發現藥品暴露量發生了非預期的變化；3)有證據顯示存在免疫介導反應(如：免疫複合疾病、血管炎、過敏反應等)。由於難以預測何時需要進行抗藥品抗體檢測，因此建議在研究期間採集合適的樣本，以便在必要時進行分析，以幫助解釋研究結果。當檢測到抗藥品抗體時，應評估其對研究結果解讀的影響(參見第一部分第三章第(六)節，有關免疫原性影響的進一步指引)。

當檢測到抗藥品抗體且缺乏藥效學終點指標顯示體內毒性研究存在持續活性時，有必要進行中和潛力的表徵。可以通過體外生物活性測試或適當的藥動、藥效測試組合間接評估中和抗體活性，或直接進行中和抗體測定。

五、 生殖與發育毒性

（一） 一般性原則

符合 ICH S5(R2)指引的原則應用於生殖毒性研究，但是具體的研究設計和給藥方案可根據已知物種特異性、藥品和作用機制的本質、免疫原性和/或藥物動力學行為以及胚胎–胎兒暴露來進行調整。

一般會建議對相關物種執行臨床候選藥品的生殖毒性評估，且該評估應該只在藥理學相關物種上執行。候選藥品在嚙齒類及兔科動物中具有藥理學活性時，兩者皆應通過胚胎胎兒發育(embryo-fetal development, EFD)研究，但在其一物種體內觀察到胚胎胎兒致死性或致畸胎性者不在此限。

非人靈長類是唯一的相關物種時，僅應於該物種上執行發育毒性研究。

當臨床候選藥品僅在非人靈長類中具有藥理學活性時，仍應優先考慮對該候選藥品進行試驗。然而，如果提供了適當的科學理由，則可以使用替代模型來取代非人靈長類。

沒有相關的動物物種進行臨床候選藥品試驗時，可以考慮使用表現人類靶標或同源蛋白的基因轉殖小鼠或具有人類靶標同源基因的動物物種作為替代模型，前提是擁有充分的模型背景知識(例如歷史背景數據)(參見第一部分註 1)。若針對細菌和病毒等外來標靶的產品，通常不需要進行生殖毒性研究(參見第二章第(一)節)。

當證據權重分析(例如：作用機制、基因改造動物的表現型數據和藥品類別效應)表明藥品可能對生育力或妊娠結果產生不良影響時，這些數據足以提供足夠的信息以傳達對生殖的風險。在適當的情況下，可能不需要進一步進行非臨床研究。

(二) 生育力

如果大鼠與小鼠都是藥理相關的物種，可以在其中一種嚙齒類動物中進行生育力評估(參見 ICH S5 指引)。對於其他藥理相關物種，可以調整 ICH S5 指引中的研究設計，同時需要根據產品的本質和免疫原性等進行相關的修改。

在非人靈長類執行交配研究並不實際，不過，當非人靈長類是唯一的相關物種時，可對性成熟的非人靈長類執行 3 個月以上的重複劑量毒性研究，透過評估生殖道(器官重量、組織病理學評估)，以檢視對雄性和雌性動物生育力的影響。假若根據藥理活性或先前研究發現認定藥品有特殊的潛在危險性，可透過執行重複劑量毒性研究來執行專項評估，例如：月經週期、精子數、精子型態或活力、雄性或雌性生殖激素水準。

如果由藥理活性引發對懷孕/著床潛在影響的疑慮，且非人靈長類是唯一相關物種，此疑慮應以實驗方式加以解決。同源產品或轉基因模型可能是評估懷孕或

著床潛在影響的唯一實際方法，但不建議僅為在齧齒類動物進行交配研究而生產同源產品或轉殖基因模型。在沒有非臨床信息的情況下，應透過臨床試驗管理程序、知情同意和適當的產品標籤來減輕病人的風險。

（三） 胚胎–胎兒發育與出生前後發育

設計研究以及解讀發育毒性研究結果時，應考量生物製劑在胎盤轉移過程的潛在差異(見註 3)。

對於只在非人靈長類具有藥理活性的產品，根據預期的臨床用途和預期的藥理學，可考慮多種研究設計。若擔心作用機制會對胚胎–胎兒發育或流產造成不良影響，則可選擇進行分開的 EFD 和/或 PPND 研究，或其他研究設計(由試驗贊助方進行合理化說明)。然而，相較於分開進行 EFD 和/或 PPND 研究，可考慮進行一項良好設計的非人靈長類研究，該研究包括自妊娠第 20 天至出生期間的給藥(加強的 PPND、ePPND)。

對於上述的單一 ePPND 研究設計，無需包含剖腹生產組，但應評估自然分娩的妊娠結果。此研究應評估後代的存活能力、外部畸形、骨骼效應(例如透過 X 光)，並最終透過解剖評估內臟形態。超音波有助於追踪妊娠的維持情況，但不適合檢測畸形。畸形數據是通過產後觀察獲取。由於對子代的母親照顧會產生混淆效應，通常不建議對產後的母親進行藥品給藥。如果對藥理活性有相關性，也可以評估後代的其他終點指標。產後期的持續時間將取決於依據作用機制認定其他相關終點指標的情況(見註 4)。

非人靈長類中的發育毒性研究僅能提供危害鑑定。為了能夠對數據進行有意義的解讀，每個組別的動物數量應足夠(見註 5)。

如果使用其他非人靈長類物種進行研究，試驗委託者應該提供其研究設計的合理性。上述非人靈長類中的發育毒性研究僅能用作危害鑑定研究，因此如果對所選劑量水平有科學合理性的證明，則可使用一個對照組和一個劑量組進行研究。例如，對於單株抗體其臨床給藥方案旨在使可溶性標靶達到飽和，如果能夠在所選擇的動物物種中證明標靶達到飽和，且暴露水平高達治療藥品水平的 10 倍，那麼使用單一劑量組和對照組即可提供足夠的胚胎胎兒發育危害證據。

（四） 研究時機

對於臨床試驗納入尚有生育可能之女性，在獲取有關對胚胎胎兒發育的影響資訊前，應進行適當的臨床風險管理，例如使用高效率的避孕方法(參見 ICH M3(R2)指引)。

若生物製劑只在非人靈長類中具有藥效活性，並已採取充足避孕措施，可於第三階段臨床試驗期間執行 EFD 或 ePPND 研究，並於申請上市時提交研究報告。如果試驗委託者無法在臨床試驗中採取足夠的避孕措施，則必須在第三階段臨床試驗開始前提交 EFD 研究的完整報告或 PPND 研究的期中報告(詳見註 6)。如果該生物製劑只在非人靈長類中具有藥理活性，且其作用機轉可能會對胚胎胎兒發育造成嚴重影響，則應在產品標籤上予以明確標示，並避免女性在生育期間使用該產品。如果嚙齒類或兔科動物是相關物種，則應依照 ICH M3(R2)指引的生殖毒性研究時機；如果該產品中的嚙齒類動物是相關物種，則應遵循 ICH M3(R2)指引的生育能力數據時機。

針對屬於 ICH S9 指引範疇的腫瘤學產品，可參考該指引來決定適當的研究執行時機。

六、 致癌性

針對生物製劑的藥品特定致癌潛力評估的需求，應根據預期的臨床受試族群和治療持續時間來判定(請參閱 ICH S1A 指引)。當評估確實需要時，試驗委託方應設計一個策略來解決潛在的風險。

這個策略可以基於證據權重方法來制定，包括回顧各種來源的相關數據。數據來源可以包括已發表的數據(例如：來自轉基因、基因剔除或動物疾病模型、人類遺傳病的資訊)、類別效應資訊、關於目標生物學和作用機轉的詳細資訊、體外數據、慢性毒性研究數據和臨床數據。在某些情況下，現有的資訊可能已足夠評估致癌潛力及臨床風險，而無需額外的非臨床研究。

某些生物製劑的作用機轉可能會引起對其致癌潛力的擔憂(如免疫抑制劑和生長因子)。如果證據權重法(見前文)支持對致癌潛力的疑慮，則無需進行嚙齒類動物生物測試。在這種情況下，最佳方法是通過產品標籤和風險管理措施來解決潛在風險。然而，當證據權重不明確時，試驗委託方可以提議進行額外的研究，以減輕基於機轉的疑慮(參見第一部分，第四章第(八)節)。

對於那些對特定產品特性和與致癌潛力相關的作用方式了解不足的產品，可能需要進行更全面的評估(例如：瞭解與潛在致癌問題相關的目標生物學，以及在毒性研究中包含額外的終點指標)。

如果從這個更全面的評估中得到的證據權重並未顯示致癌潛力，則不建議進行額外的非臨床測試。另一方面，如果證據權重表明對致癌潛力的疑慮，那麼試驗委託方可以提議進行額外的非臨床研究以減輕疑慮，或者在產品標籤上反映這一疑慮。

藥品特定致癌潛力的評估主要用於傳達風險，並結合標籤建議、臨床監測、上市後監測或這些方法的組合，為風險管理計劃提供有益的資訊。

嚙齒類動物生物測試(或短期致癌性研究)在評估臨床候選藥品的致癌潛力方面，對同源產品通常具有有限的價值。隨著新策略和檢測方法的開發，可以考慮使用替代方法。

備註

註 1：組織交叉反應(Tissue cross-reactivity, TCR)研究是指利用免疫組織化學(immunohistochemical, IHC)技術進行的體外組織結合實驗，旨在確定單株抗體和相關類抗體產品與組織中抗原決定位的結合特性。除了免疫組織化學技術外，還可以使用其他技術來展示標靶/結合位點的分布。

建議在支持這類產品初次臨床給藥的安全評估中，使用一組人類組織進行組織交叉反應研究。然而，在某些情況下，臨床候選藥品可能並非理想的免疫組織化學試劑，使得組織交叉反應研究在技術上難以實現。

組織交叉反應研究能提供有用的資訊，以補充對標靶分布的認識，並提供有關潛在意外結合的資訊。然而，組織結合本身並不代表體內的生物活性。此外，抗體在體內通常無法到達的區域(如細胞質)的結合通常不具相關性。研究結果應在整體藥理學和安全評估數據包的背景下加以評估和解釋。

當人體組織中出現意外結合時，評估特定動物組織可以提供有關潛在相關性或其缺乏與臨床前毒性的補充資訊。不建議使用完整的動物組織面板進行組織交叉反應研究。

因為雙特異性抗體藥品會在一組人體組織中進行組織交叉反應研究，所以不需要研究單獨的結合成分。

當已經在一組人體組織中對臨床候選物進行組織交叉反應研究時，評估同源藥品的組織結合將不會帶來額外的價值，因此不建議進行。

組織交叉反應研究無法檢測關鍵品質屬性的細微變化，因此，在藥品開發過程中由於製程變更對受試藥品可比性的評估上，不建議使用組織交叉反應研究。

註 2：如果已經使用了兩個物種來評估 ADC 的安全性，那麼應該在至少一個物種中使用非複合毒素進行額外的短期研究，或在短期研究中的某個分支中使用非複合毒素。在這種情況下，最好使用嚙齒類動物作為實驗物種，除非毒素在嚙齒類動物中不具活性。如果只有一個藥理相關的物種可用，則應該在這個物種中測試 ADC。對於新型毒素，物種選擇的方法應與新型化學實體的方法相似，根據個案情況進行(例如：根據 ICH S9 指引進行抗癌藥品研究)。對於非新型且已有充足科學信息的毒素或毒劑，無需單獨評估非複合毒素。應提供數據以比較 ADC 在動物與人體中的代謝安定性差異。

註 3：在解讀研究結果時，應考慮到妊娠期間胚胎–胎兒在不同物種中的暴露特徵。高分子量蛋白(>5,000 D)無法通過簡單擴散跨越胎盤。對於分子量高達 150,000 D 的單株抗體，存在一個特定的運輸機制，即新生兒 Fc 受體，它決定了胎兒的暴露程度並在不同物種之間有所變化。

在靈長類動物和人類中，IgG 在器官形成期的胎盤轉移很低，從第二妊娠期早期開始增加，並在第三妊娠期晚期達到最高水平(5)。因此，在非人靈長類中進行的標準胚胎–胎兒研究，在評估器官形成期胚胎–胎兒直接影響方面可能沒有太大的價值，儘管可以評估由於母體影響而間接對胚胎–胎兒發育的影響。此外，非人靈長類母體在分娩後使用藥品通常與 IgG 相關性不大，因為 IgG 僅在最初(即初乳)分泌到母乳中，而在泌乳和哺乳階段後期則不會出現。

嚙齒類動物與非人靈長類動物和人類的差異在於，嚙齒類動物中的 IgG 通過 Fc 受體運輸機制穿越卵黃囊，而且相對於非人靈長類和人類，妊娠期間的暴露可能較早發生。此外，嚙齒類動物的出生發育程度不如非人靈長類或人類新生兒成熟。因此，應在泌乳期間給予大鼠/小鼠母體藥品，以便通過母乳使幼鼠至少在泌乳第 9 天暴露於藥品之下，此時幼鼠的發育程度與人類新生兒相當。

註 4：出生後的最短追蹤期應為 1 個月，以涵蓋早期功能測試(例如：生長和行為)。

一般而言，如果普通毒理學研究中有證據表明藥品對免疫系統(或免疫功能)有不良影響，則應在 ePPND 研究的產後階段對後代進行免疫功能檢測。在適當情況下，可以最早在出生後第 28 天獲得免疫表型。根據使用的功能測試，出生後免疫功能評估的追蹤期可以為 3-6 個月。

神經行為評估可以僅限於臨床行為觀察。由於工具性學習需要設置訓練期，並且在出生後至少持續 9 個月，因此不建議進行此類探討。

註 5： Jarvis 等人(2010)對食蟹獼猴 ePPND 研究中確定分組大小的方法進行了詳細討論(6)。ePPND 研究中的分組大小應能獲得足夠數量的幼猴(在出生後第 7 天，每組應有 6 至 8 個幼猴)，以便對出生後發育進行評估，並在需要時提供專家評估的機會(例如：免疫系統)。

大多數 ePPND 研究需要在幾周或幾個月內收集懷孕動物。當試驗項目組別的產前損失表明存在與治療相關的影響時，應考慮終止研究中進一步收集懷孕動物，並調整研究設計(例如：剖腹產)。

鼓勵在研究中重複使用安慰劑對照組母動物。

如果擔心藥品作用機制可能對 EFD 產生影響或導致流產，可以使用有限數量的動物進行研究以確認藥品是否具有危害。

註 6：非人靈長類 ePPND 研究的期中報告應包括以下終點指標：

母體數據：存活率、臨床觀察、體重、妊娠暴露數據(如有)、特定藥效學終點。

妊娠數據：研究開始時的妊娠動物數量、器官形成結束(妊娠第 50 天)和妊娠第 100 天的妊娠狀態、流產的發生和流產的時間點。在期中報告中無需使用超音波測定胎兒大小，因為實際出生體重將可獲得，因此無需執行該檢查。

妊娠結果數據：活產和死產數量、幼猴出生體重、產後第 7 天的幼猴存活率和體重、外部形態定性評估(即確認外觀在正常範圍內)、幼猴暴露數據(如有)、幼猴中的特定藥效終點指標(如適用)。

參考資料

1. ICH S5(R2) Guideline: Detection of Toxicity to Reproduction for Medicinal Products and Toxicity to Male Fertility; June 1993.
2. ICH S1A Guideline: Guideline on the Need for Carcinogenicity Studies for Pharmaceuticals; November 1995.
3. ICH M3(R2) Guideline: Guidance on Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorisation for Pharmaceuticals; June 2009.
4. ICH S9 Guideline: Nonclinical Evaluation for Anticancer Pharmaceuticals; November 2008.
5. Pentsuk N, Van der Laan JW. An interspecies comparison of placental antibody transfer: new insights into developmental toxicity testing of monoclonal antibodies. Birth defects research (Part B) 2009; 86: 328-344.
6. Jarvis P, Srivastav S, Vogelwedde E, Stewart J, Mitchard T, Weinbauer G. The Cynomolgous Monkey as a model for Developmental Toxicity Studies: Variability of Pregnancy losses, Statistical power estimates, and Group Size considerations. Birth Defects Research (Part B) 2010, 89: 175-187.

ICH S7A：人體用藥之安全藥理學研究指引

(草案)

(Safety Pharmacology Studies for Human Pharmaceuticals)

衛生福利部食品藥物管理署

中華民國 113 年 O 月

前言

國際醫藥法規協和會(International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, ICH)於 2000 年發布 ICH S7A(Safety Pharmacology Studies for Human Pharmaceuticals)指引，提供安全藥理學研究的定義、一般原則與建議，並避免不必要地使用動物和其他資源下，幫助保護臨床試驗參與者，與接受市售產品患者免受藥品可能的不良反應。

目錄

一、緒論----------1

(一)指引目的----------1

(二)背景----------1

(三)指引適用範圍----------1

(四)一般性原則----------1

(五)安全藥理學定義----------2

二、指引內文----------2

(一)研究目的----------2

(二)安全藥理學研究選擇與設計之一般考量----------2

(三)測試系統----------3

1.測試系統之一般考量----------3

2.體內與體外研究之採用----------3

3.實驗設計----------3

I.樣本數與對照組的使用----------4

II.給藥途徑----------4

(四)測試物質之劑量或濃度選擇----------4

1.體內研究----------4

2.體外研究----------4

(五)研究時程----------5

(六)代謝物、異構物與最終產品研究----------5

(七)安全藥理學核心組合----------5

1.中樞神經系統----------5

2.心血管系統----------6

3.呼吸系統----------6

(八)追蹤與補充性安全藥理學研究----------6
1.安全藥理學核心組合之追蹤研究----------6
I.中樞神經系統----------6
II.心血管系統----------6
III.呼吸系統----------7
2.補充性安全藥理學研究----------7
I.腎臟、泌尿系統----------7
II.自主神經系統----------7
III.腸胃系統----------7
IV.其他器官系統----------7
(九)無需執行研究之情況----------7
(十)與臨床發展之相關安全藥理學研究時機----------8
1.初次人體給藥前----------8
2.臨床開發期間----------8
3.上市許可前----------8
(十一)實驗室優良操作規範(GLP)之應用----------9
三、備註----------9
四、參考資料----------10

ICH S7A：人體用藥之安全藥理學研究指引

一、 緒論

(一) 指引目的

本指引之目的，是在避免不必要地使用動物和其他資源下，幫助保護臨床試驗參與者，與接受市售產品患者免受藥品可能的不良反應。本指引提供安全藥理學研究的定義、一般原則與建議。

(二) 背景

多年來，全世界進行藥理研究，作為人用藥品非臨床評估的一部分。然而，對於安全藥理學研究的設計與執行，尚無國際上已接受的定義、目標或建議。(註1)。

「安全藥理學研究」一詞首次出現在 ICH 指導文件中的「藥品進行人體臨床試驗之非臨床安全性研究時機(M3)」，和「生物技術衍生藥品臨床前安全性評估(S6)」，用以支持藥品在人體的治療使用(1、2)。安全藥理學研究的詳細內容，包括其定義和目標，仍留待進一步的討論。

(三) 指引適用範圍

本指引通常適用於人體使用的新化學成分實體，與生物技術衍生產品。在適當情況下(例如：當不良臨床事件、新病患群體，或新使用途徑引發先前未提出的疑慮等)，本指引也可能適用於已上市藥品。

(四) 一般性原則

在選擇和進行安全藥理學研究時，採取合理的方法非常重要。應進行特定的研究，且其設計將基於藥品的個別性質和預期用途而異。應使用科學驗證的方法，且國際認可適用於藥品的方法優先。甚者，鼓勵使用根據嚴謹科學原則的新技術與方法學。

某些安全藥理學指標，可以併入在毒理學、動力學、臨床研究等的設計中，然而在其他情況下，這些指標應在特定的安全藥理學研究中進行評估。雖然在經

適當設計的安全藥理學研究中，在治療範圍內的暴露量，可能觀察到物質的不良反應，而其或許無法從傳統動物毒性研究，用於檢測毒性的觀察和測量中發現。

(五) 安全藥理學定義

藥理學的研究可以分為三個類別：主要藥效、次要藥效以及安全藥理學研究。

就本文件之目的而言，安全藥理學研究定義為：研究藥品在相對於治療範圍與以上的暴露量，對生理功能潛在不良藥效作用的研究(關於主要藥效和次要藥效研究的定義，見備註 2)。

在某些情況下，物質主要與次要藥效性質的資訊，可能有助於評估其對人體的潛在不良效應，應與安全藥理學研究的發現一併考量。

二、 指引內文

(一) 研究目的

安全藥理學研究之目的是：(1)確認物質可能對人體安全性相關的非預期藥效性質、(2)評估在毒理學和/或臨床研究中，觀察到物質的不良藥效和/或病理生理學的影響，以及(3)調查所觀察到和/或懷疑不良藥效作用的機制。達到這些目的之研究計畫，應清楚地確認與描述。

(二) 安全藥理學研究選擇與設計之一般考量

因為藥理學作用依據每個測試物質的特性有所不同，應據此來選擇和設計其研究。應考慮以下因素(此清單並非全面)：

1) 與試驗物質所屬治療類別相關的作用，因為作用機制或許建議特定的不良反應(例如：致心律不整是抗心律不整藥品的通常特徵)；

2) 與化學或治療類別成員有關的不良反應，但與主要藥理作用無關(例如：抗精神病藥品和 QT 延長)；

3) 配體結合或酵素測定數據顯示潛在的不良反應；

4) 從先前的安全藥理學研究、次要藥效研究、毒理學研究，人體使用結果，有必要進一步的調查來建立和鑑別，這些發現與人類潛在不良反應的關聯性。

在早期開發時，通常沒有足夠的資料(例如：代謝比較)，來依據以上述所述合理地選擇或設計研究；在這種情況下，可以採用更為一般性的方法進行安全藥理學調查。

可以根據對生命支持功能的重要性，來建立器官系統的階層。對於維持生命所必需的器官或系統，例如心血管、呼吸和中樞神經系統，被認為是在安全藥理學研究中最重要的。其他器官系統，例如腎臟或消化系統，其功能可能會被不良藥效作用短暫干擾，但不會造成不可逆傷害，因此無須立即進行調查。在考慮可能的臨床試驗或受試者族群時(例如：克隆氏症患者的消化道，原發性腎性高血壓患者的腎功能，免疫功能受損患者的免疫系統)，這些其他系統作用的安全藥理學評估，可能是特別的重要。

(三) 測試系統

1. 測試系統之一般考量

應考量選擇相關動物模型，或其他測試系統，以獲得科學的驗證資訊。選擇因素可包括模型的藥效反應、藥品動力學概況、實驗動物的物種、品系、性別和年齡、測試系統的敏感度、感受性和再現性，以及有關物質的現有背景數據。若適用，在測試系統的選擇上應考慮來自人體的數據(例如體外代謝)。測量時間點應基於藥效和藥物動力學的考量。應提供選擇特定動物模型或測試系統的合理性說明。

2. 體內與體外研究之採用

測試系統可採用動物模型以及離體與體外製劑。離體與體外系統可能包括但不限於：分離的器官與組織、細胞培養、細胞碎片、亞細胞器、受體、離子通道、轉運蛋白與酵素。體外系統可用於支持性的研究(例如：獲取物質的活性概況，或調查體內觀察到作用的機制)。

在進行體內研究時，最好使用未麻醉的動物。數據來自於未被限制的動物，可能是長期植入遙測儀器、其他適合有意識動物的儀器方法，或在實驗室環境中訓練過的動物，優於數據來自於限制或未經訓練的動物。使用未麻醉動物時，避免不適或疼痛是最重要的考量。

3. 實驗設計

I. 樣本數與對照組的使用

動物組別的樣本數，應足以對所獲數據做有意義的科學判讀。因此，動物或離體制劑的數量，應可適當地證實或排除測試物質所呈現在生物學上的顯著作用。應考量生物學作用的規模會造成對人體的顧慮。實驗設計中應包括適當的陰性和陽性對照組。在充分了解的體內測試系統中，或許不需要陽性對照組。應有合理性說明在研究中排除對照組。

II. 給藥途徑

一般而言，在可行時應採用預期的臨床給藥途徑。無論給藥途徑為何，親代物質與其代謝物的暴露量，皆應與已知的人體資訊相似或更高。若測試物質的預期臨床使用包含多種給藥途徑(如：口服與非口服)，亦或是已觀察到或預測不同的給藥途徑，可能會在全身或局部暴露量，造成顯著的質性和量化差異，則評估在多種給藥途徑下的作用，或許是適當的。

（四） 測試物質之劑量或濃度選擇

1. 體內研究

安全藥理學研究應設計用來定義，已觀察到不良反應的劑量反應相關性。當可行時，應調查不良反應的時間進程(例如：反應的發生和時長)。一般來說，應將引起不良反應的劑量，與在測試物種中引起主要藥效作用的劑量，或在人體預期的治療效果進行比較。已知藥效的敏感性具有物種間的差異，因此，劑量應包括並超過主要藥效或治療範圍。在安全藥理學參數中未觀察到不良反應時，最高測試劑量，應是能夠在此或相似途徑與時長的其他研究中，所引起中度不良反應的劑量。這些不良反應可能包括劑量限制藥效作用或其他毒性。實際上，毒性範圍內的一些作用(例如：在心電圖記錄期間的震顫或肌肉抽動)，可能影響結果的解讀，並且限制劑量水平。如果在測試物種中的安全藥理學指標上，沒有觀察到不良反應，則上述限制劑量下對單一組別的測試可能就足夠。

2. 體外研究

體外研究應設計建立濃度－作用關係性。應該選擇能增加偵測到測試系統受到作用的濃度範圍。此範圍的上限或許會受到測試物質的物化特性，與其他測試特定因素的影響。如果沒有發現任何作用，應對所選擇的濃度範圍有合理性說明。

（五） 研究時程

安全藥理學研究通常以單一劑量給藥進行。當藥效作用僅在一定處理時間後才出現，或者從重複劑量非臨床研究或人體使用的結果，引起對於安全藥理學作用的疑慮時，應合理確定安全藥理學研究的時程足以探討這些作用。

（六） 代謝產物、異構物與最終產品研究

通常情況下，應該對所有可能在人體中具有，或預期會達到全身性暴露的親代化合物，及其主要代謝物進行安全藥理學研究。對於主要的人體代謝物，通常藉由親代化合物在動物的研究一併評估。如果在動物體內發現缺乏人體主要代謝物，或只存在於相對的低濃度，應評估這些代謝物對安全藥理學指標的影響。此外，如果人體代謝物已知在治療藥品的藥理作用中有實質貢獻，則有必要對這些活性代謝物進行測試。若親代化合物之體內研究，沒有如上述對其代謝物執行充分的評估，基於實務考量可採用體外系統。

當產品含有異構體混合物，應考量對各個異構體進行體外或體內測試。

只有在相較先前所測試的配方，會實質改變活性物質的藥物動力學和/或藥效時(即活性賦形劑如滲透增強劑、微脂粒，以及其他變化如多晶型)，才應以最終產品配方執行安全藥理學研究。

（七） 安全藥理學核心組合

安全藥理學核心組合的之目的，在於調查測試物質對維生功能的作用。在這方面，心血管、呼吸與中樞神經系統，通常被視為核心組合中應研究的維生器官系統。在某些情況下，基於科學理由，核心組合可能需要補充(見二章第(八)節)或不需要進行(參見二章第(九)節)。

排除特定測試或探索特定器官、系統或功能，應有科學合理性說明。

1. 中樞神經系統

應適當評估試驗物質對中樞神經系統的作用，包括評估運動活性、行為變化、協調性、感覺/運動反射反應，與體溫。例如：可以使用功能觀察組合(functional observation battery, FOB)(3)、修正後 Irwin 測試(4)，或其他適當的測試(5)。

2. 心血管系統

應適當評估測試物質對心血管系統的作用，包括評估血壓、心率，與心電圖。體內、體外和/或離體評估，也應考量包括再極化與傳導異常的方法(註 3)

3. 呼吸系統

應適當評估測試物質對呼吸系統的作用。應評估呼吸率，與其他呼吸功能的測量值(例如：潮氣量(6)，或血紅素氧飽和度)。動物的臨床觀察通常無法適當評估呼吸功能，因此這些參數應使用適當的方法學進行量化。

（八） 追蹤與補充性安全藥理學研究

不良反應可能基於測試物質的藥理特性或化學類別而有所懷疑，此外，還可能從安全藥理學核心組合、臨床試驗、藥品監視、體外實驗或體內研究，以及相關文獻報告引發關切。當這些潛在不良反應對於人體安全造成疑慮時，應適當地進行追蹤或補充性安全藥理學研究來加以探究。

1. 安全藥理學核心組合之追蹤研究

追蹤性研究意謂，對維生功能提供比核心組合更深入的了解或額外的知識。以下各小節提供了進一步評估這些器官系統潛在不良藥效作用的研究清單。這些清單並不意味是全面或規定性的，且應基於已有非臨床或人體數據等因素，根據個別情況考量研究的選擇。在某些情況下，更適合在進行其他非臨床和/或臨床研究來探討這些作用。

I. 中樞神經系統

行為藥理學、學習與記憶、配體特異性結合、神經化學、視覺、聽覺，和/或電生理學檢查等。

II. 心血管系統

心輸出量、心室收縮力、血管阻力、內源和/或外源物質對心血管反應的作用等。

III.呼吸系統

呼吸道阻力、順應性、肺動脈壓、血液氣體、血液酸鹼值等。

2. 補充性安全藥理學研究

補充性研究意謂，對未經過核心組合或重複劑量毒性研究，且對器官系統功能造成疑慮的潛在不良藥效作用評估。

I. 腎臟、泌尿系統

應評估測試物質對腎臟參數之作用。例如：可使用尿量、比重、重量滲透濃度、酸鹼值、體液電解質平衡、蛋白質、細胞學，以及血尿素氨、肌酸酐、血漿蛋白等血液化學測定值。

II. 自主神經系統

應評估測試物質對自主神經系統之作用。例如：可使用自主神經系統相關的受體結合、體內或體外對促效劑或拮抗劑的功能性反應、直接刺激自主神經與測量心血管反應、感壓反射測試，與心律變異性等。

III.腸胃系統

應評估測試物質對胃腸系統之作用，例如：可使用胃酸分泌、胃腸損傷可能性、膽汁分泌、體內轉運時間、體外迴腸收縮、胃液酸鹼值測量和收集等。

IV.其他器官系統

當有疑慮時，應評估測試物質在其他尚未探討的器官系統中所產生的作用。例如：可調查潛在依賴性，或骨骼肌、免疫，與內分泌功能。

（九） 無需執行研究之情況

對於藥理特性明確，與已證實低全身暴露，或低分布到其他器官或組織的局部用藥(例如：皮膚或眼睛)，可以無需進行安全藥理學研究。

對於治療末期癌症患者的細胞毒殺劑，在人體初次使用前可以無需安全藥理學研究。然而，對於新穎作用機制的細胞毒殺劑，進行安全藥理學研究可能具有價值。

對於具有高特異性受體標靶的生物技術衍生產品，通常僅需在毒理學和/或藥效研究中評估安全藥理學指標，因此對於這些產品，可減少或免除安全藥理學研究。

對於屬於新穎治療類別，和/或無法具有高特異性受體標靶的生物技術衍生產品，應考慮藉由安全藥理學研究進行更深度的評估。

在某些特殊情況下可無需安全藥理學測試，例如：具有相似藥物動力學與藥效的新鹽類。

（十） 與臨床發展之相關安全藥理學研究時機

在規劃安全藥理學計畫時，應該參考第二章第(九)節以確定是否建議特定的研究。

1. 初次人體給藥前

在初次人體給藥前，應調查測試物質對安全藥理學核心組合所列功能的作用，基於其引發的疑慮，也應進行任何已確認的追蹤性或補充性研究。透過適當設計和執行，用於闡明安全藥理學指標的毒理學研究資訊，可以減少或免除單獨的安全藥理學研究。

2. 臨床開發期間

在臨床開發期間可能需要額外的研究，來釐清在動物和人體所觀察到或懷疑的不良反應。

3. 上市許可前

在產品上市許可前，應評估對應第第二章第(八)節所列系統的安全藥理學作用。如果認為不需要開展此項試驗研究，應有合理性說明。具備適當設計和執行，用於闡明安全藥理學指標的毒理學或臨床研究資料，可支持此一評估並取代安全藥理學研究。

（十一）實驗室優良操作規範(GLP)之應用

確保非臨床安全性研究的品質和可靠性是重要的，通常藉由進行研究時遵循 GLP 來達成。然而，由於某些安全藥理學研究的獨特設計和實際考量，進行時可能無法完全遵循 GLP。即使在無法遵循 GLP 原則的情況下，也必須確保安全藥理學研究的數據品質和完整性。當進行研究無法遵循 GLP 時，應藉由適當的研究實施文件和數據歸檔，來確保研究的可重複性。任何研究或部分組成未能遵循 GLP，應有合理的說明，並且需要解釋其對安全藥理學指標評估的潛在影響。

進行安全藥理學核心組合通常應遵循 GLP，進行追蹤性或補充性研究，應在最大程度上遵循 GLP。作為毒理學研究一部分的安全藥理學研究，進行時應遵循 GLP。

進行主要藥效研究無需遵循 GLP。

通常進行次要藥效研究無需遵循 GLP。在化合物選擇過程中進行的次要藥效研究的結果，可能會對安全藥理學評估產生影響；但當沒有任何疑慮時(例如：未發現在安全藥理學指標，或化學或治療類別的任何問題)，則無需重複遵循 GLP 的研究。在某些情況下，次要藥效研究的結果，可能對潛在的不良反應的安全評估起到產生關鍵性的作用，通常進行這些研究時需要遵循 GLP。

三、 備註

1. 一般藥理學研究是藥品安全評估的重要組成。一般藥理學研究原本是指用來設計檢驗候選藥品主要療效以外的作用。安全藥理學研究則專注於識別對生理功能產生的不良效應。所有三個地區都接受來自一般藥理學研究(日本和歐盟)，或安全藥理學研究(美國)的數據，來評估藥品的上市申請。日本厚生勞動省於 1991 年發佈《一般藥理學指引》。在這份指引中，一般藥理學研究包括了解器官系統功能的非預期作用，和廣泛藥理特徵(藥理概況)。然而，對於「主要藥效學」、「次要藥效學」和「安全藥理學」等詞語，還沒有國際間可接受的定義，有必要在名稱和開展國際的安全藥理學指引。

2. 研究物質與治療標的有關之作用方式和/或效果，稱為主要藥效研究。研究一物質與治療標的無關之作用方式和/或效果，稱為次要藥效研究(有時歸類為一般藥理學研究的一部分)。

3. 關於再極化相關性心室心律不整(例如：Torsade de Pointes)的風險，科學界尚未對於應對方法達成共識，也沒有國際認可的指引。將製定 S7B 指引來呈現

目前一些可用的方法，並討論它們的優缺點。鼓勵向法規單位提交數據來支持使用這些方法。

四、 參考資料

1) ICH M3: Timing of Non-clinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials for Pharmaceuticals; 1997.

2) ICH S6: Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-derived Pharmaceuticals; 1997.

3) Mattsson, J. L., Spencer, P. J. and Albee, R. R.: A performance standard for clinical and Functional Observational Battery examinations of rats. J. Am. Coll. Toxicol. 15, 239 (1996).

4) Irwin, S.: Comprehensive observational assessment: 1a. A systematic, quantitative procedure for assessing the behavioural and physiologic state of the mouse. Psychopharmacologia (Berl.) 13, 222-257; 1968.

5) Haggerty, G.C.: Strategies for and experience with neurotoxicity testing of new pharmaceuticals. J. Am. Coll. Toxicol. 10:677-687; 1991.

6) Murphy, D.J.: Safety Pharmacology of the Respiratory System: Techniques and Study Design. Drug Dev. Res. 32: 237-246; 1968.

ICH S7B：人體藥品致延遲心室再極化(QT 節段延長)可能性之非臨床評估指引(草案)

(The Non-Clinical Evaluation of The Potential for Delayed Ventricular Repolarization (Qt Interval Prolongation) by Human Pharmaceuticals)

衛生福利部食品藥物管理署

中華民國 113 年 O 月

前言

國際醫藥法規協和會(International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, ICH)於 2005 年發布 ICH S7B (The Non-Clinical Evaluation of The Potential for Delayed Ventricular Repolarization (Qt Interval Prolongation) by Human Pharmaceuticals) 指引，提供評估測試物質延遲心室再極化潛力的非臨床測試策略。本指引包括對於非臨床測定，與整合型風險評估的資訊。未來累積額外的數據(非臨床與臨床)，會再做評估並修正本指引。

目錄

一、緒論----------1

(一)指引目的----------1

(二)背景----------1

(三)指引適用範圍----------2

(四)一般性原則----------2

二、指引內文----------2

(一)S7B 研究目的----------2

(二)研究選擇與設計之考量----------3

(三)非臨床試驗策略----------3

1.體外 IKr 測定----------4

2.體內 QT 測定----------4

3.化學/藥理學類別----------4

4.相關之非臨床與臨床資料----------4

5.追蹤性研究----------4

6.整合風險評估----------5

7.風險證明----------6

(四)以臨床開發為基準之 S7B 非臨床研究與整合風險評估執行時機----------6

三、試驗系統----------6

(一)試驗系統考量----------6

1.陽性對照物質與參考化合物之使用----------6

2.體外電生理學研究----------6

3.體內電生理學研究----------8

4.病理狀態與心律不整之模擬----------9

ICH S7B：人體藥品致延遲心室再極化(QT 節段延長)可能性之非臨床評估指引

一、 緒論

評估藥品對心室再極化(ventricular repolarization)與致心律不整(proarrhythmic)風險的影響，是重要探討的課題。未來累積額外的數據(非臨床與臨床)，會再做評估並修正本指引。

(一) 指引目的

本指引描述，評估測試物質延遲心室再極化潛力的非臨床測試策略。本指引包括對於非臨床測定，與整合型風險評估的資訊。

(二) 背景

心電圖(ECG)之 QT 節段(interval)(QRS 複合開始至 T 波結束的時間)，是一個心室去極化與再極化時長的測量值。QT 節段延長可能是先天或是後天的(如：藥品誘發)，當心室再極化延遲且 QT 節段延長，心室心搏過速的風險也隨之增加，包括多型性心室心搏過速(torsade de pointes)，特別是與其他風險因素(如：低鉀血症、結構性心臟病、心搏過緩)結合時。因此，許多重點關注與 QT 節段延長有關的藥品潛在致心律不整作用。

藉由心臟動作電位期間決定心室的再極化，是一個複雜的生理過程。它是許多膜離子通道和轉運蛋白活動的淨結果。在生理狀態下，這些離子通道和轉運蛋白的功能，存在高度的相互依賴性，各個離子通道或轉運蛋白的活動，都會受諸多因素所影響，包含但不限於：細胞內與細胞外之離子濃度、膜電位、細胞間電耦合、心率，與自主神經系統活性。代謝狀態(如：酸鹼平衡)與心臟細胞的位置和類型也是重要的。人體的心室動作電位，依序由下列五階段構成：

- 第 0 階段：動作電位上升，主要是鈉離子(Na^+)通道快速、短暫地流入鈉離子(I_{Na})的結果。
- 第 1 階段：動作電位停止上升，與再極化早期階段，主要源於 Na^+通道不活化，與經由鉀離子(K^+)通道的短暫流出鉀離子(I_{to})。
- 第 2 階段：動作電位的高原期，代表著經由 L-型態鈣離子(L-type Ca^{2+})通道流入鈣離子(I_{Ca})，與外流再極化的鉀離子電流達到平衡。

- 第 3 階段：動作電位持續下降，與再極化晚期階段，主要源於經由延遲整流鉀離子通道流出鉀離子(I_{Kr} and I_{Ks})。
- 第 4 階段：靜止電位，由流入的整流鉀離子電流(I_{K1})所維持。

導致動作電位的延長，可能源於降低流入之鈉離子或鈣離子電流不活化、增加鈣離子電流活化，或是抑制一或多個流出的鉀離子電流。前述延遲整流鉀離子電流 I_{Kr} 和 I_{Ks} 中的快速和緩慢活化組成，應對動作電位的時長有最大的影響力，進而影響到 QT 節段。一般認為經由人體中的 hERG 以及 KvLQT1 基因編碼的成孔蛋白質 KCNH2 與 KCNQ1，分別是負責 I_{Kr} 和 I_{Ks} 人體鉀離子通道的 α 次單元。這些 α 次單元蛋白可與輔助性 β 次單元(如：MiRP 和 MinK 基因產物)，組成異寡聚複合物，而可能調節離子通道蛋白的閘控特性。藥品導致 QT 節段延長，最常見的機制即為抑制負責 I_{Kr} 的延遲整流鉀離子通道。

(三) 指引適用範圍

本指引延伸與補充 ICH S7A：人體用藥之安全藥理學研究指引。本指引適用於人體使用之新化學成分，在適當情況下也適用於市售藥品(如：當不良臨床事件、新病患族群，或新投予途徑所引發先前未探討過的疑慮)。ICH S7A 列出無需執行研究的情況。

(四) 一般性原則

ICH S7A 中所述的原則與建議，也適用於依照本指引所執行的研究。為執行法規所要求的送件，於第二章第(三)節中所述的體外 I_{Kr} 與體內 QT 測定，應遵循優良實驗室操作規範(GLP)。執行第二章第(三)節中所述的追蹤性研究，應盡可能遵循 GLP。

體外與體內測定是具互補性的，因此依照目前的理解，兩者皆應執行。

應根據測試物質的藥效學、藥物動力學與安全性概況，來個別地設計試驗方法與風險證據。

二、 指引內文

(一) S7B 研究目的

研究之目的為：1)鑑別測試物質與其代謝物延遲心室再極化的潛力、與 2)建立心室再極化延遲程度，與測試物質及其代謝物濃度之關聯。研究結果可用來闡明作用機制，並一併考量其他資料，來建立人體心室再極化延遲，與 QT 節段延長的風險。

(二) 研究選擇與設計之考量

非臨床方法可探討下列：

- 在離體的動物或人體心肌細胞、培養的心臟細胞株、人體離子通道之異源表現系統，測量離子電流；
- 離體心臟製備品的動作電位參數，或在麻醉動物中可反映動作電位時長的特定電生理參數；
- 在清醒或麻醉動物測量的心電圖參數；
- 在離體心臟製備品或動物體內，測量致心律不整的作用；

前述四種功能層次，可透過體外與/或體內方法來探討，其發現有助於且能完善相關研究之執行。

體外電生理研究可用來探索，也許無法透過體內數據明確得出的潛在細胞機制。其他心血管參數的變化，或對多重離子通道的作用，都可能增加數據解讀的複雜度，在其他系統的互補性評估可能解決此問題。雖然再極化延遲可能藉由多種離子通道的調節造成，但 I_{Kr} 的抑制是人體中藥品誘發 QT 節段延長，最常見的機制。

具有分子、生物化學，與生理系統的完整體內模型，可能也對測試物質在人體的反應上提供有用資訊。經謹慎設計與執行的體內研究，可評估親代物質和代謝物，以及建立安全邊際。體內心電圖評估可提供傳導性質，與非心臟性影響(如：自主神經系統張力)的資訊，而動作電位參數研究，提供心臟中多重離子通道的整合活性資訊。

(三) 非臨床試驗策略

以下小節將說明務實且依據現有資訊的一般性非臨床測試策略，用來評估心室再極化延遲，與 QT 節段延長的風險。圖例僅列出測試策略的組成元素，但無特定的測試系統或其設計

1. 體外 I_{Kr} 測定

體外 I_{Kr} 測試評估藉由天然或表現 I_{Kr} 通道蛋白，像是基因編碼 hERG(見第三章第(一)節)的離子電流作用。

2. 體內 QT 測定

體內 QT 測試可測量心室再極化指數，例如 QT 節段(見第三章第(一)節)，可依照 ICH S7A(心血管核心組合試驗)與 S7B 之目的來設計，以減少動物及資源的使用。

3. 化學/藥理學類別

應考量測試物質所屬的化學/藥理學類別中，是否有某些成員會在人體誘發 QT 節段延長(如：抗精神病藥品、組織胺 H-1 受體拮抗劑、氟喹諾酮類(fluoroquinolones)抗生素)，在選擇參考化合物時，應適當考慮此因素，並納入綜合風險評估。

4. 相關之非臨床與臨床資料

整合風險評估的額外資訊可能包括結果來自：

- 藥效研究；
- 毒理學/安全性研究；
- 藥物動力學研究，包括親代物質與代謝物的血漿濃度(包含可得的人體數據)；
- 藥品交互作用研究；
- 組織分布與蓄積研究；

上市後監測。

5. 追蹤性研究

追蹤性研究旨在對測試物質於人體造成心室再極化延遲，與 QT 節段延長的潛力，提供深度的了解或額外的知識。該研究可提供有關效價、作用機制、劑量

反應曲線斜率，或反應程度的額外資訊。追蹤性研究用來設計解決特定的議題，因此可以使用各種體內或體外研究設計。

當非臨床研究的結果不一致，與/或和臨床研究結果有出入時，應透過回溯性評估與追蹤性非臨床研究，來了解岐異的基礎。追蹤性研究結果可以是整合風險評估中很重要的一環。

選擇和設計追蹤性研究，應考慮以下相關的非臨床和臨床資訊：

- 使用心室再極化測定，來測量離體心臟備製品的動作電位參數；
- 使用特定電生理學參數，來找出在麻醉動物的動作電位時長；
- 重複投予測試物質；
- 選擇動物物種與性別；
- 使用代謝誘導劑或抑制劑；
- 使用陽性對照物質與參考化合物；
- 先前其他未評估通道的抑制情形；
- 多重時點電生理學參數之測量；

在清醒動物中會限制產生數據解讀的干擾作用，像是測試物質在心率或自主神經活性作用，或像是震顫、抽蓄，或嘔吐等毒性的誘發反應。

6. 整合風險評估

整合風險評估係用來評估包含追蹤性研究結果，以及其他相關資訊的非臨床研究結果。此整合風險評估應基於科學，並對測試物質做客製化。此一評估有助於臨床調查的設計與其結果的判讀。當可行時，整合風險評估應納入主持人手冊與非臨床概要(ICH M4)中。依據藥品開發的階段，整合風險評估也應考量：

- 測定靈敏度與專一性；
- 在 S7B 測定中，測試物質相對於參考化合物的效價；
- 對再極化作用的暴露量，與在非臨床測試物種中引起主要藥效作用，或預期人體治療作用暴露量的關係性；

代謝物對 QT 節段延長的影響程度，以及人體和動物間之代謝差異。

7. 風險證明

風險之證明，係從試驗物質在人體內引起心室再極化延遲，與 QT 節段延長的整合風險評估，所得出的整體結論。

（四） 以臨床開發為基準之 S7B 非臨床研究與整合風險評估執行時機

應考量在初次人體給藥前執行 S7B 非臨床研究，評估延遲心室再極化與 QT 節段延長之風險。評估結果作為整合風險評估之一部分，有助於後續臨床研究之規劃與判讀。

三、 試驗系統

（一） 試驗系統考量

本節將概述現今用來評估測試物質對延遲心室再極化，與延長 QT 節段潛力的方法。在選擇最適當測試體系時，應考慮以下：

- 具科學驗證且穩健性的測定方法與實驗指標；
- 標準化測定與配製品；
- 結果具再現性；

適用於人體風險評估的測定評估指標/參數。

1. 陽性對照物質與參考化合物之使用

測定離子通道與動作電位時長，應在每一研究中使用次高有效濃度的陽性對照物質，以證實體外配製品的反應性。在體內研究中，應使用陽性對照物質來驗證和定義測試系統的靈敏度，但並非所有的研究都需要納入。

若測試物質的化學/藥理學類別，可能引起人體 QT 節段延長，應在體外和體內研究中，考慮使用參考化合物(同類別之物質)來比較，以了解測試物質相對於比較物的活性排序。

2. 體外電生理學研究

體外電生理學研究，可在試驗物質對動作電位時長，與/或心臟離子電流的作用上，提供寶貴的資訊。這些測定在評估 QT 節段延長的潛力，與釐清影響再極化的細胞機制，扮演重要角色。體外電生理學研究使用單細胞(如：異源表現系統、去聚集之心肌細胞)，或多細胞(如：浦金氏纖維、乳突肌、小梁、灌流心肌、完整心臟)配製品。可用異源表現系統，於人體離子通道蛋白表現在非心臟細胞株，評估測試物質對特定離子通道的作用。去聚集心肌細胞比表現系統在技術上更挑戰，但較適合用來評估對動作電位時長，與離子電流的影響。雖然單細胞配製品更脆弱，其可將作用部位的擴散阻礙降到最低。多細胞配製品為穩定的測試系統，可用於研究動作電位時長。透過分析每一個動作電位階段的參數，如第 0 階段(I_{Na})之 V_{max}、第 2 階段(I_{Ca})之 APD_{30} 或 APD_{40} 和第 3 階段(I_K)之三角測定，可有效探討負責各個階段的相對應通道。另外，研究已發現由離體心臟灌流(Langendorff)配製品所得之參數，可提供有關致心律不整風險的資料。

從兔、雪貂、天竺鼠、犬、豬等不同實驗動物物種，以及有時從人類取得來製備體外測定的組織與細胞。因為在成年的大鼠與小鼠再極化的離子機制，與包括人類等較大物種不同(成年大鼠與小鼠主要控制再極化的離子電流為 I_{to})，從這些物種所得的組織不適合用於體外測定。在選擇測試系統時，需考量物種導致心臟再極化，與動作電位時長的心臟離子通道種類並不相同。因為離子通道種類的分布，會因細胞的區域和種類而異，應考量所製備天然心臟組織或細胞的特徵與來源。

在體外研究中，測試物質濃度應為大範圍，含括且超過預期的最高治療血漿濃度。應測試濃度的遞增，直到確立濃度反應曲線，或是物化作用呈現出濃度限制性。理想狀態下，暴露時長應足以獲得穩態的電生理學作用，除非受到細胞或組織製備存活力的限制。應明確指出暴露時長，並使用適當的陽性對照物質，來建立體外測定系統之靈敏度。

以下為可能干擾或限制體外電生理學研究結果判讀的因素：

- 在生理食鹽水中有限的溶解度，限制了測試物質的高濃度測試；
- 對玻璃或塑膠的吸附，或是與測試基質的非特異性結合，都會在培養或灌注的介質中，降低測試物質的濃度；
- 測試物質的濃度，受其細胞毒性或物理化學屬性破壞細胞膜完整性的限制，導致電生理學指標無法獲得；
- 心臟細胞與組織的藥品代謝能力有限，因此，使用親代物質的體外研究，無法提供代謝物作用的資訊。當體內非臨床或臨床研究的 QT 節段延長結果，與體外研究使用親代物質的數據不一致時，應考慮在體外測試系統使用代謝物。

新的鉀離子通道測定技術正在開發。新穎的離子通道活性測定，有助於初步篩選測試物質來確認候選藥品。為符合法規之目的，採用新技術前，應證明傳統技術與新技術間的一致性。

使用競爭結合法，亦即探討測試物質從表現 hERG 的細胞株，將放射性標誌 hERG 通道阻斷劑取代的能力，無法提供測試物質對 I_{Kr} 促效或拮抗作用的資訊。再者，此測定無法確認在非放射配體結合部位，與 hERG 結合的測試物質。因為這些潛在的限制，此測定無法作為上述電壓鉗測定的替代方法。

3. 體內電生理學研究

完整動物模式可探討心室再極化，或評估對所有離子通道，與細胞類型整合作用關聯的心律不整。並且，呈現藥品在動物體潛在神經性和荷爾蒙影響的藥效作用。

心電圖的 QT 節段，是最常用來測量測試驗質對心室再極化作用的指標。在專門的電生理學研究中，有關心室再極化的資訊(如：單相動作電位時長與有效不反應期)，亦可透過體內模型取得。也可同時評估額外有助益的安全性參數，包括血壓、心率、PR 節段、QRS 期間，與心律不整。

QT 節段和心率具有反向、非線性的關係性，且在不同物種，或是同物種的不同動物間也有所不同。因此，心率的變化會影響 QT 節段，進而干擾測試物質對心室再極化，與對 QT 節段作用的評估。動物間心率具有變異性，主要有兩個原因：一是自主神經活性的不同，另外是測試物質對心率的影響。因此在解讀體內測試系統的數據時，應考量其它同時對心率變化的作用。理想下，應比較給予測試物質後所得的 QT 節段數據，與在相似心率狀態的對照與基線數據。當心率變異性並非源於測試物質時，可透過適應或使用麻醉動物模型來減少。若該變異性是源於測試物質，最常用的方法為使用像 Bazett 或 Fridericia 公式，為心率校正 QT 節段(QTc)，且應從測試系統數據，來說明心率校正公式選擇的合理性。當試驗組和對照組的心率差異較大時，校正公式可能無法有效評估 QT 節段延長的風險，替代方案為使用心臟節律器維持固定的心率。更適當的做法是分析 QT/RR 相關性，包括使用個別動物的公式來校正 QT 節段。

體內電生理學研究使用的實驗動物物種，包含犬、猴、豬、兔、雪貂，與天竺鼠。成年大鼠與小鼠再極化的離子機制，與包括人類等大型物種不同(成年大鼠與小鼠主要控制再極化的離子電流為 I_{to})，因此不適合使用這些物種。應選擇最合適的體內測試體系與物種，並有合理性說明。

劑量範圍應與 ICH S7A 所討論相符合，且盡可能應包含並高於預期的人體暴露量。動物對測試物質的不耐受性，如嘔吐、震顫，或過動，會限制劑量範圍。

為找出心室再極化延遲程度，與親代物質與代謝物間之關係而設計的研究，可藉由定速的靜脈輸注來控制暴露量。在適當的情況下，監測測試物質與代謝物暴露量(見 ICH S3A)，可幫助解讀劑量-與濃度-反應數據，與設計後續的研究。

執行研究與解讀結果時，應考量下列因素：

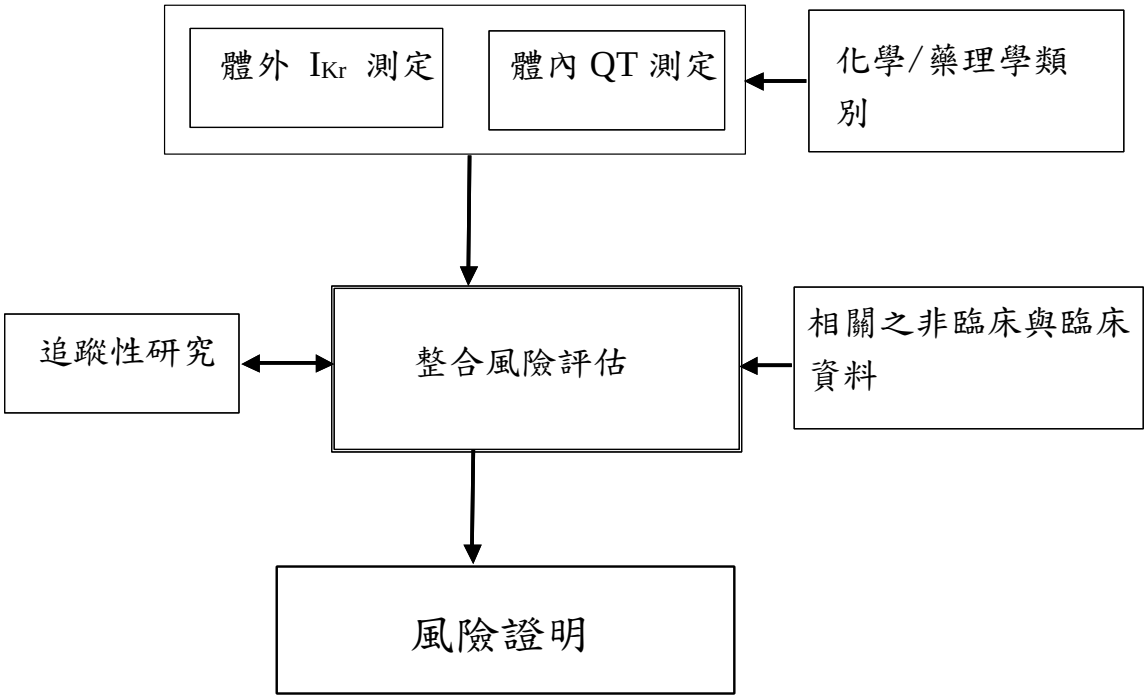
- 數據收集與分析方法；
- 測試系統的靈敏度與再現性；
- 給藥期間與測量點；
- 心率與其他會干擾 QT 節段數據解讀的作用；
- 物種間與性別差異，例如：心臟電生理學、血液動力學，或藥品代謝；

影響多個離子通道的藥品，具有複雜、不易解讀的劑量－反應關係性。

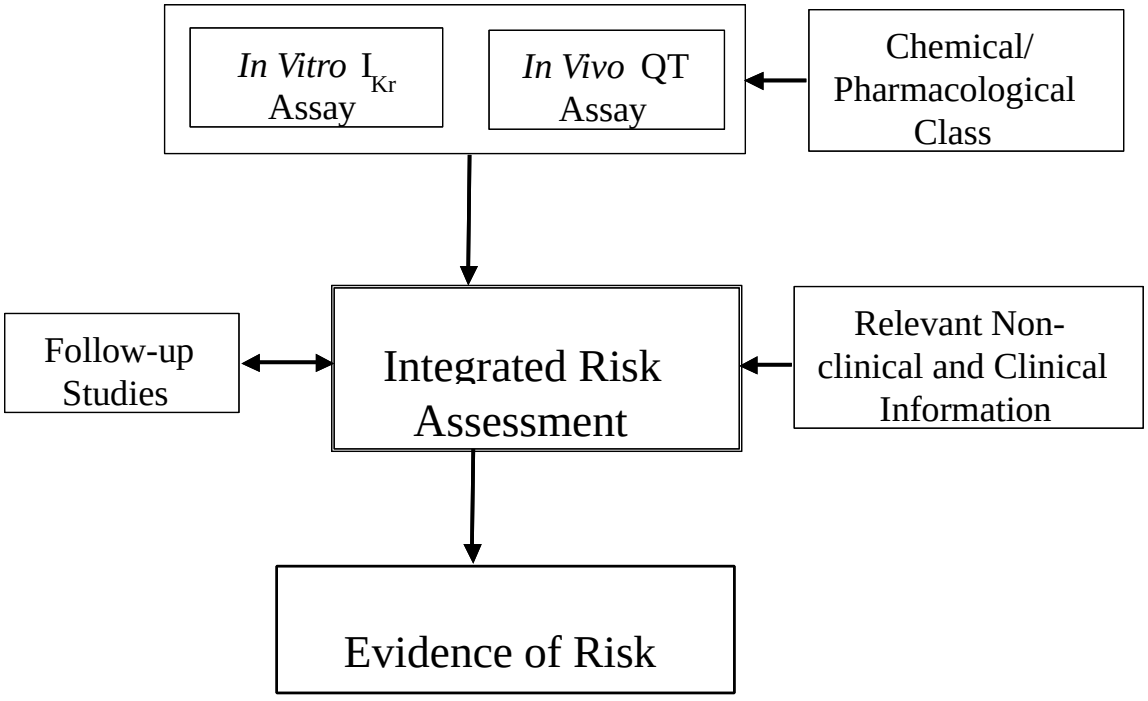
4. 病理狀態與心律不整之模擬

測試物質誘發心室再極化延遲，與致心律不整風險間的關係尚未確立。直接以 QT 節段延長，評估藥品的致心律不整風險，是合宜的做法。致心律不整活動的指標(如：電位不穩定性、不反應性的時間與/或空間分布、使用－依賴性的恢復、動作電位圖形變化)和動物模式，可能有利於評估致心律不整。鼓勵有興趣的單位可開發這些模型，並測試它們在預測人體風險的有用性。

非臨床測試策略



Non-clinical Testing Strategy



ICH S8：人體用藥免疫毒性試驗指引

(草案)

(Immunotoxicity Studies for Human Pharmaceuticals)

衛生福利部食品藥物管理署

中華民國 113 年 O 月

前言

國際醫藥法規協和會(International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, ICH)於 2005 年發布 ICH S8 (Immunotoxicity Studies for Human Pharmaceuticals) 指引，在於針對下列事項提出建議：(1)可供辨識有免疫毒性之虞的化合物之非臨床試驗方法、(2)免疫毒性測試的證據權重判斷方法。基於前述目的，在此將免疫毒性定義為非預期的免疫抑制或增強效果。因藥品效果而引發之過敏或自體免疫反應不屬於此範疇。

目錄

一、緒論----1

(一)目的----1

(二)背景----1

(三)適用範圍----2

(四)概述----2

二、指引----2

(一)評估潛在免疫毒性時須考量之因子----2

1.標準毒性試驗----3

2.藥理性質----4

3.目標病患族群----4

4.結構相似性----4

5.藥品在體內的動向----4

6.臨床試驗或臨床使用觀察到的跡象----4

(二)證據權重評估----4

三、額外免疫毒性試驗之選擇與設計----5

(一)目的----5

(二)分析方法選擇----5

(三)試驗設計----5

(四)額外免疫毒性試驗評估與進一步試驗之需求----6

四、臨床試驗時免疫毒性試驗之選擇時機----6

五、註釋----6

圖 1：免疫毒性評估之建議流程----7

附錄：評估免疫毒性的方法----8

ICH S8：人體用藥免疫毒性試驗指引

一、 緒論

(一) 目的

制定本指引之目的在於針對下列事項提出建議：(1)可供辨識有免疫毒性之虞的化合物之非臨床試驗方法、(2)免疫毒性測試的證據權重判斷方法。基於前述目的，在此將免疫毒性定義為非預期的免疫抑制或增強效果。因藥品效果而引發之過敏或自體免疫反應不屬於此範疇。

(二) 背景

人體用藥的標準開發程序應包含對免疫系統是否具有不良反應的評估。對免疫性統的毒性涵蓋多種不良反應，包括免疫抑制或增強。免疫抑制有可能導致對感染原或腫瘤細胞的抵抗力低下。反之，免疫增強則可能促進自體免疫疾病或過敏反應。此外，亦有可能使藥品或藥品－蛋白質加成物被視作外來物質，而產生抗藥反應，導致在後續施藥時發生過敏。過去與藥品有關的科學研究、發展及驗證多半聚焦於評估開發中藥品可能具有的免疫抑制或接觸致敏性質。人體用藥尚無檢驗對呼吸系統或全身之致敏性(抗原性)或對特定藥品之自體免疫性的相關規範。

免疫抑制或增強與兩類藥品有關：

1) 調整免疫功能(例如防止對移植的器官產生排斥反應)的治療性藥品，其所誘發之負面免疫抑制效應可視為藥效動力反應過度者。
2) 並非以影響免疫功能為目的，卻因為各種原因，例如免疫細胞壞死或凋亡，或與目標組織和非目標的免疫細胞中均存在的細胞受體發生反應而產生免疫毒性者。

治療癌症用的抗增生藥品即為有可能導致非預期免疫抑制性之實例。在此類事例中，於非臨床試驗發現不良反應可直接判定該藥品對人體具免疫毒性。這是因為藥品風險評估的目標組織通常係由快速分裂型細胞組成，例如取自骨髓的免疫系統前驅細胞，使得某些檢驗免疫毒性方法毫無價值。此時，對免疫功能的不良反應可透過非臨床試驗所得之藥理活性進行頗為可靠的預測與評估。對於同樣並非以抑制免疫反應為目的之其他類型化合物，藥效動力反應過

度與非目標所產生的反應間的分野可能較不明顯。舉例而言，某些消炎化合物會影響特定先天免疫功能，但卻未必會影響後天免疫反應。

（三） 適用範圍

本指引以提供人體用藥之免疫毒性非臨床測試的相關建議為主。範圍以非預期之免疫抑制與增強為限，不包括致敏性或特定藥品之自體免疫性。

本指引適用於新開發之人體用藥，亦適用於已上市但欲變更適應症或現有標籤，其內容可能導致免疫毒性相關之潛在問題者。此外，本指引或許亦可適用於在臨床試驗中，或在取得上市許可後，發現具有免疫毒性的藥品。本準則不適用於 ICH S6 準則(註釋 1)範圍內之生技醫藥產品與其他生技產品。

對於致敏作用或過敏的既有指引仍具效力，不受本指引影響。個別免疫毒性試驗應如何進行不在本指引的範圍內。一般方法論可參閱附錄。

（四） 概述

本指引全篇依循下列通則：

1) 所有新開發之人體用藥均應接受評估以探討是否具免疫毒性。
2) 可用的方法包括標準毒性試驗(standard toxicity studies, STS)與必要時額外進行之免疫毒性試驗。檢視是否有必要進行額外的免疫毒性試驗時，可依照證據權重法則檢視第二章第(一)節所述之因子後決定之。

本指引之敘述符合免疫毒性評估之建議決策過程，如流程圖(圖 1)所示。測試方法的細節可詳見附錄。

二、 指引

（一） 評估潛在免疫毒性時須考量之因子

決定是否有必要進行額外的免疫毒性試驗時，可由下列各方面判斷應納入考量的因子：(1)標準毒性試驗結果、(2)藥品藥理性質、(3)目標病患族群、(4)與已知免疫調節劑在結構上的相似性、(5)藥品在體內的動向、(6)臨床資料。

對潛在免疫毒性的初步篩檢須包括標準毒性試驗。使用嚙齒類與非嚙齒類動物的試驗數據，從最初的短期試驗乃至較長的重複劑量試驗，均應納入考量。應評估之參數與組織病理發現可詳見附錄。

1. 標準毒性試驗

須評估標準毒性試驗所得的數據，以確認是否有跡象顯示藥品具免疫毒性。須注意的跡象如下：

1) 血液的變化，例如白血球減少症/白血球增多症、顆粒球減少症/顆粒球增多症、淋巴球減少症/淋巴球增多症等。
2) 免疫系統器官重量或組織發生變化(例如胸腺、脾臟、淋巴結、骨髓等有變化)。
3) 血清球蛋白發生變化但無合理解釋(例如藥品對肝臟或腎臟產生作用)可能意味著血清免疫球蛋白有異。
4) 感染次數增多。
5) 若腫瘤發生頻率變高但無合理解釋，例如遺傳毒性、荷爾蒙、肝酶誘發等，則可視為發生免疫抑制的徵兆。

這些參數的變異反映出免疫系統遭到抑制或加強活化。免疫力參數值降低通常反映免疫抑制，而數值上升則通常反映免疫增強。然而，這並非絕對，且在某些案例中可能恰好相反。

免疫毒性評估跟對其他內臟系統的毒性評估一樣，都必須包括以下項目：

- 變化在統計學與生物學上的意義
- 效應的嚴重程度
- 劑量與暴露量的關係
- 超出預期臨床劑量後的安全性因子
- 用藥時間長短
- 使用的動物物種數與所影響的指標
- 可能係因為其他因子(例如壓力)所致的變化
- 可能的細胞標靶及/或作用機制
- 導致這些變異的劑量與導致其他類型毒性的劑量間的關係

•效應的可逆性

2. 藥理性質

若測試的某化合物具有可能影響免疫系統的藥理性質(例如消炎藥)，應考慮額外進行免疫毒性測試。在探討化合物對免疫系統影響的能力之非臨床藥理試驗中，其所獲取之資訊可應用證據權重法則，決定是否須額外進行免疫毒性測試。

3. 目標病患族群

若藥品的目標病患族群絕大多數都因為病況或同步化療而發生免疫功能不全，則可能必須額外進行免疫毒性試驗。

4. 結構相似性

化合物若在結構上與已知具免疫抑制力的化合物相似，則應考慮額外進行免疫毒性試驗。

5. 藥品在體內的動向

若化合物及/或其代謝物在免疫系統細胞中濃度居高不下，則應考慮額外進行免疫毒性試驗。

6. 臨床試驗或臨床使用觀察到的跡象

施用藥品的病患若在臨床上出現疑似免疫毒性的跡象，則應考慮額外進行免疫毒性試驗。

(二) 證據權重評估

前述各項因子的相關資訊須以證據權重法則進行評估以確認是否有值得注意之處。在任一區域的發現達到一定程度時，即應額外進行免疫毒性試驗。若在兩個以上的因子發現跡象，即便單獨因子之分量不足，仍應額外進行免疫毒性試驗。若未額外進行免疫毒性試驗，試驗委託者須提出合理解釋。

三、 額外免疫毒性試驗之選擇與設計

(一) 目的

若發現值得注意之處，應考慮額外進行免疫毒性試驗，確認該化合物之潛在免疫毒性。免疫毒性試驗亦有助於確認會影響可逆性的細胞類型及化合物的作用機制。此類資訊尚能促進對潛在風險的瞭解，甚至協助選擇應於臨床試驗中檢測的生物指標。

(二) 分析方法選擇

若依證據權重法則評估後發現有必要額外進行免疫毒性試驗，有數種分析方法可選擇。若標準毒性試驗的數據變化顯示發生免疫毒性，則須視所觀察到的免疫系統變化以及化合物所屬的類型，選擇何種免疫毒性試驗較佳。建議執行免疫功能試驗，例如 T 細胞依賴性抗體反應(T-cell dependent antibody response, TDAR)試驗。若有已知免於 T 細胞依賴性抗體反應的特定類型細胞在標準毒性試驗中受到影響，可執行分析方法測量該受影響的特定類型細胞之功能(參閱附錄)。若並未發現特定目標，建議執行免疫功能試驗，例如 T 細胞依賴性抗體反應試驗。

此外，白血球族群免疫分型(immunophenotyping)這種非功能性分析方法可用於辨識受影響的特定細胞族群，或許還能提供有用的臨床生物指標。

(三) 試驗設計

若欲評估藥品所誘發之免疫毒性，以嚙齒類動物連續 28 日每日施藥，是廣為接受的試驗設計。文獻中亦有敘述如何將免疫毒性的分析方法修改為適用於非嚙齒類動物。免疫毒性試驗所用之動物物種、品系、劑量、給藥路徑等須盡可能與發現不良免疫效應的標準毒性試驗一致。除了非人靈長動物外，試驗中通常並用雌雄兩性。若僅使用單一性別，須提出合理解釋。試驗所用之高劑量須高於無明顯不良反應劑量(no observed adverse effect level, NOAEL)，但低於會因壓力誘發變化之劑量(見附錄第一章第(四)節)。建議採用複數劑量，確立劑量－反應關係以及未觀察到遺傳毒性的劑量。

（四） 額外免疫毒性試驗評估與進一步試驗之需求

額外免疫毒性試驗的結果必須加以分析，評估是否有足夠數據可合理判定發生免疫毒性的風險：

1. 額外試驗可能未發現免疫毒性之風險，故無須進一步作試驗。
2. 額外試驗可能發現有免疫毒性的風險，但未能提供充分數據進行合理的風險效益評估。在此情形下，進行進一步的測試或可提供風險效益評估所需的充分資訊。
3. 若整體風險效益評估顯示免疫毒性的風險在可接受範圍內及/或可透過風險管理計畫，則或許無須作進一步動物試驗。

四、 臨床試驗時免疫毒性試驗之選擇時機

若依證據權重法則所做評估顯示應額外進行免疫毒性試驗，則應於將藥品施用於較大病患族群，通常為第三期之前完成試驗。如此一來，對免疫系統參數的監測可以在適當處與臨床試驗相整合。額外進行免疫毒性試驗的時機須依所試驗之化合物性質而定，若額外免疫毒性試驗結果為陽性時，則依所需進行的臨床試驗類型而定。若目標病患族群免疫功能不全，可將免疫毒性試驗的時機提前至更早的藥品開發階段。

五、 註釋

1. ICH S6 Guideline: Preclinical Safety Evaluation for Biotechnological-Derived Pharmaceuticals; July 1997.
2. ICH E2E Pharmacovigilance planning (Pvp) - Scientific guideline; Jun 2005.

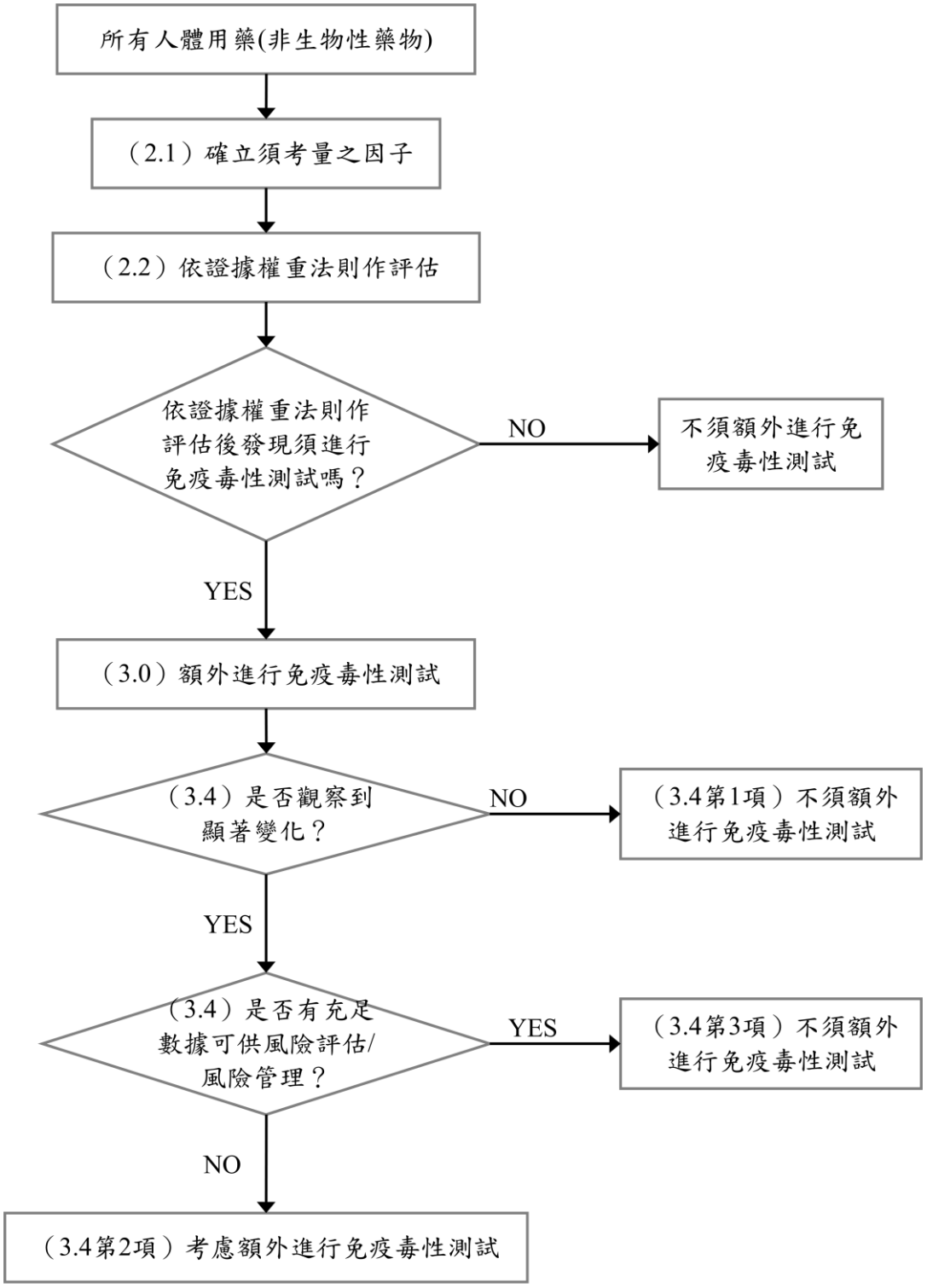


圖1 免疫毒性評估之建議流程

附錄：評估免疫毒性的方法

一、 標準毒性試驗

下表列舉標準毒性試驗中與免疫毒性相關所應評估的參數。這些參數(包括血液與臨床參數)以及取得樣本與評估組織切片的方法在專業的毒理病理學組織發行的刊物中有較詳盡的說明。

參數	特定成分
血液學	白血球總數與絕對白血球分類總數
臨床化學	球蛋白濃度[1]與A/G比
巨觀病理學	淋巴器官/組織
器官重量	胸腺、脾臟(非強制性：淋巴結)
組織學	胸腺、脾臟、引流淋巴結與至少再一種淋巴結、骨髓[2]、派亞氏淋巴叢(Peyer's patch)[3]、BALT[4]、NALT[4]

1 若球蛋白濃度產生無法解釋的變化，則應測量免疫球蛋白濃度。

2 若末梢血液細胞株或血液學方面觀察到無法解釋的變化則應對骨髓進行細胞學評估。

3 限口服藥。

4 限吸入用或經由鼻腔給藥。BALT 為 bronchus-associated lymphoid tissues(支氣管淋巴組織)之縮寫，而 NALT 為 nasal-associated lymphoid tissues (鼻淋巴組織)之縮寫。

(一) 血液學與臨床化學

建議以白血球總數與絕對白血球分類總數評估遺傳毒性。評估球蛋白濃度變化時須將其他因子(例如肝毒性、腎毒性)同時納入考量。血漿白蛋白濃度變化有可能代表血漿免疫白蛋白濃度發生變化。雖然血漿免疫白蛋白濃度對於免疫抑制是敏感度不足的指標，其濃度變化在特定情形下有助瞭解目標細胞族群或作用機制。

（二） 巨觀病理學與器官重量

屍體解剖時須檢視所有淋巴組織的巨觀變化。然而，嚙齒類的派亞氏淋巴叢因為尺寸微小，會使這項工作較為困難。脾臟與胸腺重量須作紀錄。為求盡量縮小犬類與猴類在腎臟重量上的差異，建議解剖時應先放血。胸腺會因年老而萎縮，使得正確重量難以取得。

（三） 組織病理檢查

應評估脾臟與胸腺的組織病理變化，作為全身免疫毒性之指標。流過或緊貼施藥點(暴露於最高濃度的藥品之下)的淋巴組織亦應予以評估。這些施藥點包括用藥途徑為口服的派亞氏淋巴叢與腸系膜淋巴結，用藥途徑為吸入的支氣管淋巴組織，用藥途徑為吸入或鼻腔(可行的情況下)的鼻淋巴組織，以及用藥途徑為皮膚、肌肉注射、皮內注射、鞘內腔注射、皮下注射等的最近端引流淋巴結。特定淋巴結與額外淋巴結的選擇須由申請人依其經驗決定。對於靜脈注射藥品，脾臟為可供考慮的引流淋巴組織。

敘述用以記錄變化的淋巴組織以及報告淋巴組織腔室內與施藥相關的變化時，建議以半定量的形式作敘述。

（四） 如何解讀與壓力相關的變化

對於標準毒性試驗，劑量接近或達最大耐受劑量時可能導致與壓力有關的變化(例如由於藥效動力反應過度而起)。這些對免疫系統的效應或許可透過提升皮質酮或皮質醇分泌，或藉由增加其他介質而進行介導。常見與壓力相關的免疫系統變化包括循環嗜中性白血球增生、循環淋巴球減少、胸腺重量降低、胸腺皮層細胞性(cellularity)降低與相關組織病理變化、脾臟與淋巴結細胞性變化等。此外，腎上腺重量增加及/或腎上腺皮質增生的組織學徵兆也是可觀察到的現象。胸腺重量降低伴隨如體重與活動力降低等臨床徵兆時，常被歸因於壓力，但這些發現本身並不足以成為壓力誘發免疫毒性的證據。關於壓力的證據須有足夠說服力，才能作為不額外進行免疫毒性試驗的理由。

二、 額外免疫毒性試驗

(一) 分析方法與驗證

大體而言，應選擇廣為採用且已證明具適當敏感度的免疫毒性試驗以及對已知免疫抑制劑有充分特異性的免疫毒性試驗。然而，在某些情況下，廣泛驗證可能尚未完成，且/或其分析方法尚未廣泛採用。若是這種情形，所選用的分析方法須有科學或機轉方面的基礎，而且在可能情況下須有適當的陽性對照組(positive control)。

不同實驗室所作的各種類型免疫毒性測試所得到的反應各有差異。在大多數的情形中，這樣的差異不會對於分析方法評估免疫毒性的能力造成影響。然則，為了確保分析方法有適當表現出並保證實驗室所展現的熟練度，應觀察多個標準技術參數以資驗證。這些參數包括分析方法內與分析方法間的精確性、技術人員對技術的精確性、定量極限、定量線性區、測試樣本穩定度等。此外，還應確認分析方法對已知免疫抑制劑的敏感度。建議除了使用非人靈長動物的試驗外，每間實驗室在測試正控制時均同時測試一個待測的化合物，或是定期執行此作業，以展現其熟練度。

關於免疫分型，若在技術上經適當驗證，則或許無須在每一場試驗均加入正控制。

免疫毒性試驗須符合實驗室優良操作規範(Good Laboratory Practices, GLP)。須知某些特殊的分析方法，如下文所列者，或許並未完全符合實驗室優良操作規範。

(二) T 細胞依賴性抗體反應試驗

可以藉由已知的 T 細胞依賴性抗體(例如羊紅血球細胞(sheep red blood cells, SRBC)或鑰孔蟲血氰蛋白(Keyhole Limpet Hemocyanin, KLH))來進行 T 細胞依賴性抗體反應試驗，以取得強健的抗體反應。所選用的指標須經證實為最適合所選分析方法與試驗動物者。

免疫作用的抗體不得在缺乏合理解釋下與佐劑合用。明礬唯有在非人靈長動物的場合下方得使用。相對 T 細胞依賴性抗體反應可能隨品系而異，尤其在小鼠的場合更是如此。在遠交系大的場合，同一組的個體之間可能呈現顯著差異。使用近親品系大鼠與充足的暴露量數據可與標準毒性試驗所用的品系銜接。

抗體可用 ELISA 法或其他免疫分析方法測定。這項方法勝過形成抗體的細胞反應的優點之一在於樣本可在試驗中逐一採集。若是猴類，個體間在反應動力特徵的高度差異使得逐次採集血液樣本有其重要性。在這樣的試驗中，數據可以數個樣本採集日的抗體反應總和形式來表示(例如 ROC 曲線下方面積)。

當以羊紅血球細胞抗原施行 ELISA 時，覆於盤上的捕捉抗原的製備極為重要。整個固定紅血球或膜製備都可以作為羊紅血球細胞捕捉抗原。ELISA 的結果以濃度或滴定量的形式表之皆可，唯不建議以光密度的形式表之。

（三） 免疫分型

免疫分型係利用抗體來辨識及/或計算白血球亞型。通常免疫分型是經由流式細胞術或免疫組織化學染色進行之。

流式細胞術應用在計算特定細胞族群時並不算是功能性分析方法。不過，該方法可用以測量抗原特定之淋巴細胞免疫反應。取自末梢血液的數據可以在銜接臨床試驗時派上用場，因為臨床試驗也會分析末梢血液淋巴細胞。評估與用藥相關的變化時建議採用白血球亞型的絕對值與比例。

免疫組織化學染色勝過流式細胞術的優點之一在於一旦發現免疫毒性的跡象，可以對來自標準毒性試驗的組織進行回溯分析。此外，亦可觀察特定淋巴組織腔室內的細胞類型變化。對於某些物種，部分淋巴細胞標記對福馬林固定較敏感，而且唯有在以特定固定劑固定的組織或快速冷凍的組織才能定位。以免疫組織化學染色法定量淋巴細胞與染色度相對較困難。

若以免疫分型試驗分析或辨識特定淋巴細胞族群的變化，欲使用的淋巴器官及/或末梢血液須以所觀察到的變化為基礎作選擇。免疫分型很容易可與標準重複劑量毒性試驗整合，因而可在給藥與無給藥期間(逆轉期)監看發生的變化。

（四） 自然殺手細胞活性分析

若免疫分型試驗顯示數量有變化，或標準毒性試驗顯示病毒感染率增加，或有需要因應其他因子時，可執行自然殺手(natural killer, NK)細胞活性分析。大體上，所有的自然殺手細胞分析都是體外(ex vivo)的分析方法，使用的組織(例如脾臟)或血液取自施用過受試化合物的試驗動物。細胞製備與經 ^{51}Cr 標記的目標細胞一起培養。涉及非放射性標記的新方法經適當驗證後即可使用。應分析不同的作用器(effector)對目標細胞的比，以期每一種分析方法都能充分量測細胞毒性並產生曲線。

（五） 宿主抗性試驗

宿主抗性試驗是將分組後的小鼠或大鼠試用不同劑量的試驗化合物搭配不同濃度的病原(細菌、黴菌、病毒、寄生蟲等)或腫瘤細胞。在載體和施用過試驗化合物的試驗動物身上所觀察到的病原感染力或腫瘤負荷的對比結果可用以確認試驗化合物是否有能力改變宿主抗性。目前已經開發出各種模式來分析各種病原，如單核細胞增生性李斯特菌(*Listeria monocytogenes*)、肺炎鏈球菌(*Streptococcus pneumoniae*)、白色念珠菌*(Candida albicans)*、流行性感冒病毒(influenza virus)、巨細胞病毒(cytomegalovirus)、亞力瘧蟲(*Plasmodium yoelii*)、旋毛蟲(*Trichinella spiralis*)等等。B16F10 黑色素瘤與 PYB6 肉瘤的腫瘤細胞株均已應用於小鼠的腫瘤宿主抗性模式中。

由宿主抗性分析所提供的資訊可瞭解宿主對特定分級的感染原或腫瘤細胞的易感性，因而對風險管理規劃有所影響。另外，宿主抗性分析在辨識或確認受試驗化合物影響的細胞類型上也扮演要角。更重要的是，宿主抗性分析涉及先天免疫機制，而目前尚無針對這些機制的免疫功能分析方法可用。執行宿主抗性分析前，應審慎考量試驗化合物對有機體或腫瘤細胞生長與致病性的直接或間接(非免疫介導性)影響。舉例而言，能抑制特定腫瘤細胞增生的化合物似乎能提升宿主抗性。此時建議以體外(in vitro)分析方法測試對有機體的直接影響。

（六） 巨噬細胞/中性白血球功能

目前已有研究發表數種試驗動物物種的體外(in vitro)巨噬細胞/中性白血球功能分析方法(吞噬作用、氧爆作用、趨化性、細胞溶解活性)。這些分析方法評估體外環境內暴露於試驗化合物的細胞或取自於施用試驗化合物的細胞(體外分析方法)，以分析其巨噬細胞/中性白血球功能。此外亦可評估體外環境如暴露於試驗化合物的影響。亦可透過體內(in vivo)分析方法評估網狀內皮細胞吞噬輻射或螢光標記的目標時所受之影響。

（七） 測量細胞介導免疫力的分析方法

測量細胞介導免疫力的分析方法在發展上並不如測量抗體反應的分析方法那般成熟。這些分析方法屬於體內(in vivo)分析方法，利用抗原進行敏化作用。其指標為藥品調控對試藥反應的能力。文獻中，大鼠與小鼠均對蛋白質免疫作用與試藥發生延遲性過敏(delayed-type hypersensitivity, DTH)反應。使用接觸性敏化劑的試驗模式已應用於小鼠，但尚未通過詳細驗證，亦未受到廣泛應用。小鼠可藉由病毒、腫瘤細胞株、異體移植等方式作為抗原攻擊以激發細胞毒性 T 細胞反應。文獻亦有報告猴類的延遲性過敏反應。然而，要在猴類身上穩定

再現這些反應極為困難。須注意勿將延遲性過敏反應認為經抗體或補體介導的阿瑟氏反應(Arthus reaction)。

ICH S9：抗癌藥品之非臨床評估指引

(草案)

(Nonclinical Evaluation for Anticancer Pharmaceuticals)

衛生福利部食品藥物管理署

中華民國 113 年 O 月

前言

國際醫藥法規協和會(International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, ICH)於 2009 年發布 ICH S9 (Nonclinical Evaluation for Anticancer Pharmaceuticals)，提供資訊協助開發抗癌藥品設計適當的非臨床研究計畫。本指引提供非臨床評估的建議，以支持在臨床試驗中用於治療罹患晚期疾病且治療選擇有限患者的抗癌藥品開發。本指引旨在促進和加速抗癌藥品的開發，保護患者免受不必要的不良反應；同時根據 3R 原則(減少、改進和替代)，避免不必要的動物和其他資源使用。

目錄

一、緒論----------1

(一)目的----------1

(二)背景----------1

(三)範圍----------1

(四)一般性原則----------2

二、支持非臨床評估之研究----------2

(一)藥理學----------2

(二)安全藥理學----------3

(三)藥物動力學特性----------3

(四)一般毒理特性----------3

(五)生殖毒理特性----------4

(六)基因毒性----------4

(七)致癌性----------4

(八)免疫毒性----------5

(九)光安全性測試----------5

三、以非臨床數據支持臨床試驗設計與上市申請----------5

(一)首次用於人體之起始劑量----------5

(二)臨床試驗中的劑量遞增與最高劑量----------5

(三)支持初始臨床試驗之毒理研究的時程與給藥方案----------5

(四)支援臨床發展與上市申請的毒理試驗的時程----------6

(五)藥品組合----------6

(六)支援兒童族群試驗的非臨床研究----------6

四、其他考量----------7

(一)偶聯產品----------7

(二)微脂體產品----------7

(三)藥品代謝物評估----------7

(四)不純物評估----------7

五、註釋----------9

ICH S9：抗癌藥品之非臨床評估指引

一、 緒論

(一) 目的

本指引之目的，在於提供資訊協助開發抗癌藥品設計適當的非臨床研究計畫。本指引提供非臨床評估的建議，以支持在臨床試驗中用於治療罹患晚期疾病且治療選擇有限患者的抗癌藥品開發。

本指引旨在促進和加速抗癌藥品的開發，保護患者免受不必要的不良反應；同時根據 3R 原則(減少、改進和替代)，避免不必要的動物和其他資源使用。

在開發抗癌藥品時，應適當地考慮其他 ICH 指引所描述的原則。本文件描述與其他指引非臨床試驗建議不一致的特殊情況。

(二) 背景

由於惡性腫瘤可能危及生命、死亡率高且現有治療方法效果有限，因此有必要更迫切為病患提供新型、有效的抗癌藥品。

關於如何設計和執行非臨床研究，用以支持治療癌症患者的抗癌藥品臨床試驗，目前尚未有國際公認的目標或建議。非臨床評估用於：

1. 鑑別藥品的藥理特性；
2. 建立首次在人體暴露的安全起始劑量；以及
3. 瞭解藥品的毒理特徵(例如鑑別標靶器官、曝露量－反應關係和可逆性等)。

在開發抗癌藥品時,臨床試驗通常納入病情進展中和致命的癌症病患。此外，這些臨床試驗中的劑量水平往往接近或達到不良反應劑量。因此，與其他藥品相比，抗癌藥品的非臨床研究在設計中所需的試驗類型、時機和彈性可能會有所不同。

(三) 範圍

本指引提供擬用於治療嚴重且危及生命之癌症患者的藥品相關資訊。鑑於此目的，本指引所涉及之病患族群通常是指晚期癌症患者。

本指引適用於所有給藥途徑的小分子藥品和生物技術藥品(生物製劑)，並描述用於治療嚴重且危及生命癌症患者的抗癌藥品開發，關於非臨床研究的類型和時機，並且適當參考其他指引。本指引還描述了在難治或對現有療法具抗藥性，或當前療法對病患無益時，進行早期臨床試驗的最小考量。非臨床數據支持第 I 期臨床試驗，而第 I 期臨床數據通常足以支持進行第 II 期，與進入晚期癌症患者的一線或二線治療。本指引還描述在晚期癌症患者的藥品持續臨床開發過程中，所需收集進一步的非臨床數據。當抗癌藥品在預期能長期存活的癌症患者人群中做進一步的研究(例如長期使用藥品以降低癌症復發風險)時，額外的非臨床研究建議和時機，取決於已有的非臨床和臨床數據，與所觀察到的毒性特徵。

本指引不適用於預防癌症、治療化療所引起的副作用或症狀、在健康志願者的研究、疫苗、細胞或基因治療。如果臨床試驗包括健康志願者，應遵循 ICH M3 指引。放射性藥品不在本指引的適用範圍之內，但其中的一些原則可能適用。

(四) 一般性原則

每種新藥品的開發，都要求根據擬定人體使用來設計試驗，以闡明其藥理學和毒理學特性。為闡述與藥品或其在人體中使用方式相關的新穎特徵，調整「標準」非臨床研究方案通常是必要的。

在開發過程中可能發生生產過程得改變。然而，非臨床研究中使用的藥品活性物質應經充分的特性分析，並且應適當代表用於臨床試驗中的活性物質。

通常，用於支持藥品開發的非臨床安全性研究應符合實驗室優良操作規範。

二、 支持非臨床評估之研究

(一) 藥理學

在第一階段臨床試驗之前，應先進行藥品的作用機轉、治療方案與抗腫瘤活性的初步鑑定。應基於藥品的標靶及作用機轉選擇適當的模式，但不必研究採用擬進行臨床評估的相同腫瘤類型。

這些研究可以用於：

- 提供非臨床的原則驗證
- 指導給藥方案與劑量遞增計畫
- 提供選擇試驗物種的相關資訊

- 如適用，協助起始劑量與研究生物標記選擇
- 如適用，提供藥品組合的合理性

瞭解藥品的次級藥效學特性有助於評估其對人體的安全性，並且在適當的情況下可進行相關探討。

（二） 安全藥理學

在開始臨床試驗前，需有藥品對重要器官功能(包括心血管、呼吸和中樞神經系統)的影響評估。這些參數可包含在一般毒理學研究中。在非嚙齒類動物進行給藥後詳細的臨床觀察與適當的心電圖測量即可，無需進行單獨的安全藥理學研究來支持晚期癌症患者的臨床試驗。如果發現特定的疑慮可能對臨床試驗的患者造成額外的重大風險，則應考慮進行適當的藥理安全性研究，這些研究的內容可以參照 ICH S7A 和/或 S7B 指引。如果沒有特定的風險，則不需要進行這些研究來支持臨床試驗或上市。

（三） 藥物動力學特性

在非臨床研究所使用試驗動物進行有限的藥物動力學參數(例如血漿/血清濃度峰值、曲線下面積(AUC)，與半衰期等)，可以協助第一期臨床試驗的劑量選擇、給藥方案及劑量遞增。評估藥品在動物體內的吸收、分布、代謝和排泄等進一步資訊，通常在臨床試驗中同步進行。

（四） 一般毒理特性

評估藥品的安全性，是晚期癌症患者進行第一期臨床試驗之主要目的。第一期臨床試驗評估可以包括給藥劑量至最大耐受劑量 (MTD) 和劑量限制毒性(DLT)。不需要進行毒理學試驗確定無明顯不良反應劑量(NOAEL)或無作用劑量(NOEL)，來支持抗癌藥品的臨床使用。由於藥品的毒性可能受到其給藥方案的極大影響，毒理學研究中應評估近似的臨床給藥方案。這一點在第三章(三)、(四)節中有進一步討論。

在了解嚴重不良反應是否可逆時，需評估從毒性中恢復的潛力。如果在接近臨床使用時出現嚴重毒性且科學評估無法預測復原情況，則需要進行包含末期未使用藥品期的研究。科學評估可以包括病理病變的範圍和嚴重程度，以及受影響器官系統的再生能力。如果需要進行恢復研究，應在臨床開發前完成。不需要有完全恢復的證明。

小分子藥品的一般毒理試驗通常包括嚙齒類和非嚙齒類動物。在某些情況下，根據個案決定採用替代方法可能是合適的(例如，針對快速分裂細胞的基因毒性藥品，若嚙齒類是相關物種，對一種嚙齒類動物進行重複劑量毒性試驗可能被認為是足夠的)。對於生物製劑，請參閱 ICH S6 指引中所規定的物種數。必要時應進行毒理動力學的評估。

（五） 生殖毒理特性

胚胎胎兒毒理評估之目的，是向已懷孕或可能懷孕的患者，溝通對於發育中的胚胎或胎兒可能的風險。抗癌藥品的胚胎胎兒毒性研究應在申請上市許可時提供，但非用來支持治療晚期癌症患者臨床試驗。對於具有基因毒性且在一般毒性試驗中以快速分裂細胞(例如隱窩細胞、骨髓細胞)為標靶的藥品，或歸屬於確定引起發育毒性的藥品類別，這些試驗在申請上市許可時也是非必要的。

對於小分子藥品，如 ICH S5(R2)指引所述，胚胎胎兒毒理研究通常在兩個物種中進行。如果胚胎胎兒發育毒性試驗在一個物種對於胚胎和胎兒的致死性或致畸性呈陽性，通常不需要進行第二個物種的確認性試驗。

對於生物製劑，通常在一個藥理學上相關的物種進行評估即可。可藉由器官成形期的毒性作用或根據 ICH S6 指引所述的研究設計進行評估。如有科學合理性，可以考慮使用替代方法，包括文獻分析、胎盤轉運評估、生物製劑的直接或間接影響，或其他因素。

針對治療晚期癌症病患的藥品申請臨床試驗或上市，無需進行生育力與早期胚胎發育的研究。一般毒理研究有關該藥品對生殖器官影響的資訊，可做為評估生育力受損的基礎。通常，擬用於治療晚期癌症病患的藥品申請臨床試驗或上市，無需進行產前和產後毒理試驗。

（六） 基因毒性

擬用於治療晚期癌症病患的藥品申請臨床試驗，無需進行基因毒性研究，但上市申請時需要提供。對於生物製劑，應遵循 ICH S6 指引的原則。如果體外試驗呈陽性結果，則不一定需要進行體內試驗。

（七） 致癌性

ICH S1A 已描述抗癌藥品致癌性評估的適當性。擬用於治療晚期癌症病患的藥品申請上市許可，無需進行致癌性研究。

（八） 免疫毒性

對於多數抗癌藥品而言，一般毒理研究的設計內容已足夠評估潛在的免疫毒性並支持上市。對於免疫調節藥品，試驗設計可加入額外的終點指標(例如流式細胞技術的免疫表現型分析)。

（九） 光安全性測試

在進入第一期臨床試驗之前，應基於藥品的光化學性質與同類藥品的資訊，進行初步光毒性評估。如果評估顯示有潛在風險，對試驗的門診病患應採取適當的保護措施。如果非臨床數據或臨床經驗無法充分評估光安全性的風險，則應在上市前提供符合 ICH M3 指引所描述的光安全性評估原則。

三、 以非臨床數據支持臨床試驗設計與上市申請

（一） 首次用於人體之起始劑量

選擇起始劑量的目標是找出一個能預期產生藥理作用且具合理安全性的劑量。起始劑量應採用所有可用的非臨床數據(例如：藥物動力學、藥效學、毒性)，與基於多種方法來進行科學上的合理選擇(請參閱註 2)。對於大多數全身性投予的小分子藥品，通常以體表面積標準化方法，進行動物劑量與人體等效劑量的物種間換算。對於小分子和生物製劑，跨物種劑量的計算可以基於體重、曲線下面積或其他曝露參數來進行。

對於具有免疫致效性質的生物製劑，起始劑量的選擇應考慮採用最低預期生物作用劑量(MABEL)。

（二） 臨床試驗中的劑量遞增與最高劑量

一般而言，非臨床研究中所測試的最高劑量或暴露量，不應限制臨床試驗中癌症患者的劑量遞增或最高劑量探討。當在非臨床毒理研究中觀察到嚴重毒性為陡峭的劑量或暴露量反應曲線，或是缺乏可預警嚴重毒性的指標時，應考慮使用較小的劑量遞增幅度(分數倍數的遞增而非加倍的劑量)。

（三） 支持初始臨床試驗之毒理試驗的時程與給藥方案

在第一期臨床試驗中，可對反應良好的病患持續治療，此時無須以比先前完成毒理研究期程更長之新的毒理研究來支持持續治療。

非臨床研究的設計應適當選擇，以因應可能在初步臨床試驗中採用的不同給藥方案。雖然毒理研究中不一定需完全遵循臨床試驗的給藥方案，但所提供的毒性試驗資料應足以支持臨床劑量和給藥方案，並確認潛在的毒性。例如，可考慮動物體內半衰期及預計(或已知)在人體的半衰期等因素。其他因素可包括暴露評估、毒性概況、受體飽和度等。表 1 提供了抗癌藥品開發中常用的非臨床治療方案示例，可用於小分子化學藥品和生物製劑。當已有的毒理學資訊無法支持修改臨床方案時，通常僅需要再進行一個單一物種的毒理學研究。

（四） 支援臨床發展與上市申請的毒理試驗的時程

支持第一期臨床試驗的非臨床數據與第一期臨床數據，通常足以支持進入第二期臨床試驗，與晚期癌症患者的第一或第二線治療。為了支持晚期癌症患者抗癌藥品的持續發展，需在進行第三期臨床試驗之前，以預期臨床給藥方案進行為期三個月的重複劑量研究。對於大多數用於晚期癌症患者的藥品，為期三個月的非臨床研究已足以支持上市。

若考慮變更臨床試驗給藥方案，須評估現有臨床數據以支持該變更的合理性。若臨床數據不足以支持時，需考慮上述第三章第(三)節中所討論的因素。

（五） 藥品組合

當預計使用藥品組合時，在毒理評估中應進行單獨藥品的充分研究。在開始臨床研究前，應提供數據支持藥品組合的合理性。一般來說，不需要進行用於晚期癌症患者藥品組合的安全性毒理研究。如果藥品的人體毒性特徵已經明確，通常不需要評估藥品組合的非臨床研究。對於至少其中一個化合物仍處於早期開發階段(即人體毒性特徵尚未明確)，應提供一個藥理學研究來支持藥品組合的合理性。該研究應基於有限的安全性終點指標(例如：死亡率、臨床徵兆和體重等)，提供在毒性沒有實質增加的情形下，該組合具有增加活性的證據。應基於已有的資訊決定是否需要進行針對一個藥品組合的毒理研究。

（六） 支援兒童族群試驗的非臨床研究

一般兒童病患抗癌藥品的研究範式，係先確定成人族群可接受的安全劑量，然後在初步的兒童臨床試驗中評估其劑量的分數倍數。本文件中其他章節的非臨床研究建議也適用於此族群。通常不需要為了支持癌症治療納入兒童族群，而對幼齡動物進行研究。唯有在人體安全性數據與先前動物研究，不足以支持評估預期兒童年齡層之安全性評估時，才應考慮在幼齡動物進行研究。

四、 其他考量

(一) 偶聯產品

偶聯產品是指與載體分子(如蛋白質、脂質或糖類)共價結合的藥品。評估偶聯物質的安全性是主要考量，而未偶聯物質(包括連接子)的安全性則可能只需進行較為有限的評估。應提供偶聯物在測試物種和人類血漿中的安定性。在給予偶聯物質後，毒理動力學應對偶聯後與未偶聯化合物都進行評估。

(二) 微脂體產品

若未包覆的物質已有充分特徵分析，則不必對微脂體產品進行完整評估。若適當，安全性評估應包括微脂體產品之毒理評估，以及未包覆藥品與載體之有限評估(例如一個單獨試驗組的毒理試驗)。此原則可能也適用於其他類似載體。必要時應進行微脂體產品的毒理動力學評估，若可能，應包括投予後的微脂體產品與游離化合物。

(三) 藥品代謝物評估

在某些情況下，已在人體中識別的代謝物並未在非臨床研究中進行評估。通常不需要為晚期癌症患者進行這些代謝物的單獨評估。

(四) 不純物評估

如 ICH Q3A 和 Q3B 所討論，一般以可忽略風險為基礎來建立不純物標準。抗癌藥品可接受超出這些 ICH 指引中的不純物鑑別限量，但應在上市申請中提供正當性理由。這些理由可包括治療的疾病和病患族群、母體藥品性質(藥理特性、基因毒性和致癌潛力等)、治療期程，與不純物減少對製造的衝擊。此外，品質評估可能包括考慮相對於臨床劑量，非臨床研究中所測試的劑量或濃度。對於具基因毒性的不純物，已有多種基於終生罹癌風險增加的方法來設定限量標準。這些限量不適用於治療晚期癌症患者的藥品，應考慮上述正當性理由來設定更高的限量。如不純物是動物和/或人體研究中的代謝物，通常考慮已無安全性疑慮。

表 1：支持初步臨床試驗所用之抗癌藥品給藥方案示例

臨床方案	非臨床給藥方案範例[1,2,3,4]
每3–4週一次	單劑量
每3週連續施用5日，每日一次	連續5日，每日一次
隔週連續施用5–7日，每日一次	隔週(2個給藥週期)施用5–7日，每日一次
連續3週每週一次，其後間隔1週	連續3週，每週一次
每週2–3次	連續4週，每週2–3次
每日	連續4週，每日一次
每週	4–5個劑量，每週一次

[1] 表 1 所述為給藥階段。非臨床研究中進行毒性評估的時機須依預期之毒性特徵與臨床給藥方案作合理選擇。舉例而言，可考慮在給藥階段之後隨即解剖試驗動物，以觀察早期毒性，再於一段時間後解剖另一隻試驗動物，觀察晚期毒性發作情形。

[2] 對於進一步討論有關臨床治療方案與非臨床毒性試驗間的彈性，可見第三章第(三)節。

[3] 表中所列治療方案無特定恢復期(關於恢復請詳第二章第(四)節與註 1)。

[4] 分子具有延長性藥效動力學效果、長半衰期，或潛在過敏反應時，本表所列治療方案應視情況作適當修改。此外，應考量免疫原性的潛在作用。

五、 註釋

1. 非嚙齒類動物的試驗劑量組通常包括至少三隻動物/性別/組，如適當則另加兩隻/性別/組以評估恢復情形(見第二章第(四)節)。一般而言，應使用雌雄兩性，否則應提出特定性別的合理性。

2. 許多小分子化合物常見的方法是以在嚙齒類動物 10%致命劑量(STD 10)的 1/10 為起始劑量。如果非嚙齒類動物是最適當的試驗動物，則 1/6 最高非嚴重毒性劑量(HNSTD)被認為是適當的起始劑量。HNSTD 被定義為不會產生致死性、威脅生命或發現不可逆毒性的最高劑量。

ICH S9 ：抗癌藥品之非臨床評估指引

問答集

(草案)

(ICH S9 Guideline:
Nonclinical Evaluation for Anticancer Pharmaceuticals
Questions and Answers)

衛生福利部食品藥物管理署

中華民國 113 年 O 月

前言

國際醫藥法規協和會(International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, ICH)於 2018 年發布 ICH S9 Questions and Answers (ICH S9 Guideline: Nonclinical Evaluation for Anticancer Pharmaceuticals Questions and Answers) 指引，提供抗癌藥品研發的進一步澄清。IWG 制定的問答旨在促進 S9 指引的實施，並進一步推進試驗動物的 3R(減少、改良、替代)原則。

目錄

緒論.....1

1. 緒論–適用範圍.....2

2. 支持非臨床評估之試驗.....5

3. 以非臨床數據支持臨床試驗設計與上市申請.....9

4. 其他考量.....12

5. 附錄：對應 ICH S9 各章節的問答集.....16

緒論

國際醫藥法規協和會(ICH)於2009年11月推出「ICH S9：抗癌藥品之非臨床評估指引」，這是促進抗癌藥品研發的一大進步。然而，在指引獲得第4階段認可後，所有使用該指引的相關單位都面臨實施方面的一些挑戰。實施指引揭示了一些內容可能會被法規單位和業界廣泛而不同地解讀。因此，ICH於2014年10月成立了實施工作小組(IWG)，以制定問答，提供抗癌藥品研發的進一步澄清。IWG制定的問答旨在促進S9指引的實施，並進一步推進試驗動物的3R(減少、改良、替代)原則。

S9 問題與回答

1. 緒論－適用範圍

#	問題	回答
1.1	ICH S9 指引提供的是針對罹患嚴重且危及生命的惡性腫瘤的藥品的相關資訊。所有針對抗癌藥品的初步研發計畫是否都在 S9 指引的規範之內？	由於多數初步開發計畫是針對已經對現有治療具抗性且難以治療的病患(包括成人和兒童)，因此 ICH S9 所描述的非臨床計畫是適用的。另請參閱問題 1.2 的回答。對於針對非難治或不具抗性的癌症病患的初步開發計畫，應以 ICH S9 為起點，並根據 ICH M3(R2)和 S6(R1)的指引添加其他適當的研究。在開發進程中若有不明確之處，應諮詢相關法規單位。另請參閱問題 1.5 的回答。
1.2	如果首次人體試驗是在對現有治療具抗性且難以治療的病患中進行的，那麼對於後續針對其他類型的癌症，但仍是對現有治療具抗性且難以治療的病患族群進行的第一期試驗，依然適用 ICH S9 指引？	是。
1.3	一般而言，這份指引被解讀為當病患預期壽命約為	ICH S9 指引並未針對特定餘命年數，且本指引在應用上也不宜以預期存活年數為基礎。本指引適用範圍的意涵已於問題 1.1 與 1.2 說明。

	3 年時，才會適用。進一步明確指出目標族群，將有助於增進指引的實用性。	
1.4	ICH S9 原則是否適用於治療嚴重致命且治療選項有限的非腫瘤類疾病？	這些適應症已超出 ICH S9 指引的適用範圍。如需了解在個別情況下，針對非癌症之致命或嚴重疾病，可縮短、延後、省略或增加某些特定研究以優化藥品的開發，請參閱 ICH M3(R2)指引。
1.5	ICH S9 指引是否涵蓋輔助性或前輔助性(neo-adjuvant)的臨床試驗？	是的。對於輔助性或前輔助性用藥，應將 ICH S9 指引為一個起點，即使已偵測不到殘存病灶。取自病患的數據(例如當起始計畫為針對難治性晚期疾病時)應予以考慮，並可用以縮短非臨床計畫。在已知具高治癒率且復發率低或延遲很長時間才會復發的情況下，可能需要在上市前進行進一步的研究(例如：致癌性試驗、完整的生殖與發育毒性試驗計畫)。在這些因子較不明確且復發率高或迅速的情況下，可以根據個別情況確定額外研究及其時間安排的需求，同時考慮臨床前與臨床安全數據、治癒率和預期復發時間的總體情況。 若初步開發計畫為輔助性或前輔助性治療，則可能需要額外的非臨床研究，包括較長期的一般毒理試驗。 在所有情況下，考慮疾病的自然進程非常重要。在運用 ICH S9 指引及省略試驗時，申請者應提供合理的理由。同時也請參閱問題 1.1、1.6 和 1.7 的回答。

1.6	若某種療法能提高存活率，建議進行哪些進一步的毒理試驗？各種試驗的適當時機為何？	若抗癌藥品呈現出能延長病患的存活，通常無需進行額外的一般毒理試驗。針對目標病患群的臨床安全數據，比額外動物試驗所產生的數據更具相關性來評估對人體的風險。在個別情況下，可能需要進行一般毒理之外的額外毒理試驗。若額外的試驗確實具有重要性，可在抗癌藥品獲得上市核准後提交。同時請參閱問題 1.7 的回答。
1.7	對於適用範圍所指，預期存活期較長的病患是否需要進行額外非臨床一般毒理研究，取決於現有的臨床與非臨床數據，以及所觀察到的毒性特徵。當一抗癌藥品依據 S9 指引用於特定惡性腫瘤，無論是在臨床開發中還是已獲得上市許可，擬應用於另一種嚴重但非立即危及生命的腫瘤適應症時，是否需要進行額外的非臨床安全試驗？	當治療開發從已核可的腫瘤適應症，或擁有充足非臨床和臨床安全數據的未核可適應症，轉移到的嚴重但非立即危及生命的未核可腫瘤適應症時，通常無需進行額外的一般毒理試驗(例如 6 個月或 9 個月的長期試驗)。類似於問題 1.6 的回答，對於已核可適應症病患族群所產生的臨床安全數據，對於未核可適應症病患族群的安全計劃最具意義且相關。根據個案情況，可能需要進行除一般毒理學之外的其他毒理研究。

2. 支持非臨床評估之試驗

#	問題	回答
2.1	本指引第 2.1 節「藥理學」中提到，試驗應對藥品的「抗腫瘤活性」進行特性鑑別。這暗示著這些試驗是體內(in vivo)試驗。對於藥理學特性的研究，進行體內特性鑑別是否是必要的呢？	如果用於抗腫瘤藥理學研究的體外系統，已證明可產生具關連性的數據，則體外研究是足夠的。
2.2	在支持首次於人體執行的毒理試驗中，是否應包括恢復組？	在支持臨床發展的所有一般毒理試驗中，應提供對恢復能力的科學評估，但並不是所有一般毒理試驗都需要自動包含恢復組。申請者可以藉由所觀察到的特定效應為可逆或不可逆，或提出正當理由來證明，其選擇在至少一個試驗和一個劑量級別中包含恢復期的合理性，來獲得這些訊息。

2.3	在支持第三期臨床試驗的三個月毒理試驗中，是否需要包括恢復組？	除非短期毒理試驗或臨床試驗中有需要恢復組來解決的問題，否則在三個月的試驗中並不一定特別需要。例如，當短期毒理試驗未包含恢復組，且對於所觀察到的特定效應不足了解是否為可逆或不可逆時，或者在缺乏臨床數據或數據有限的情況下進行三個月試驗時，可考慮加入恢復組。 雖然並非所有的一般毒理試驗都自發性地包含恢復組，一般毒理試驗應提供可能從毒性中恢復的科學評估，來支持臨床開發。建議採用適當的試驗模式來釐清特定的安全性問題。
2.4	癌症患者通常會接受輔助治療藥品(例如抗生素)。在毒理試驗中加入輔助治療藥品是否適當？	在某些情況下，毒理試驗中可適當地對受影響的動物施行輔助性治療，例如在試驗中觀察到由於免疫抑制引起的繼發性感染時。然而，通常不建議預防性地對所有動物施用輔助性治療。
2.5	是否有針對依 ICH S9 指引開發之藥品，需要進行濫用傾向試驗的相關指引？	用以治療癌症晚期病患的藥品，通常都不需要針對濫用傾向的非臨床研究，來支持臨床試驗與上市許可。
2.6	當適用於 ICH S9 指引時，帶有互補性決定區(complementary determining region, CDR)的生物製劑(例如單株抗體、抗體藥品複合體	一般而言，組織交叉反應試驗的實用性很小，除非有特殊考量，通常不需要在初期首次於人體執行的臨床試驗，或往後的開發階段進行。在沒有藥理相關物種的情況下，可考慮人體組織交叉反應試驗或替代性方法，來支持首次於人體執行的臨床試驗。

	等)，進行組織交叉反應試驗的用意為何?是否需要？	
2.7	若有胚胎胎兒致死或致畸胎的陽性訊號，本指引允許只需以單一動物物種進行試驗。如果在劑量探索試驗中，觀察到該物種有明確的胚胎胎兒致死或致畸胎證據，是否建議在該物種進行確定性試驗？	如果在劑量探索試驗(含 non-GLP 試驗)中觀察到胚胎與胎兒致死或致畸胎的明確證據，則一般無須進行確定性的試驗。此在單一物種進行的劑量探索試驗即足以支持上市申請。
2.8	第 2.5 節敘述對生物製劑進行替代性的評估。對於小分子藥品的生殖毒理評估，是否存在替代的體外或體內試驗方法？	是。替代性的評估可以輔助生殖風險的安全性評估。
2.9	當唯一相關物種為非人靈長動物 (nonhuman primate, NHP)，而作用機轉預期會產生生殖毒性風險與/或動物剔除，或	應提供依證據權重法則所作之生殖風險評估。以 NHP 試驗來評估對胚胎發育(embryofetal development, EFD)的危害並非預設作法。如果證據權重法則已明確指出有風險，便無須在 NHP 進行 EFD 試驗。根據 ICH S6 (R1)指引，NHP 的發育毒性試驗僅能辨識危害。應在仿單上適當地註明預期會產生的生殖毒性。

	是在嚙齒類身上使用代理生物製劑，已證實生殖風險之存在時，這些方法是否即足以用於危害鑑定，或者需進行懷孕 NHP 的試驗？	
2.10	是否有需要進行非臨床泌乳與胎盤傳遞試驗	無進行泌乳與胎盤傳遞試驗的特殊需求。
2.11	需要有哪些及多少個體外基因毒性試驗呈陽性，才能免除體內基因毒性試驗(指引第 2.6 節「基因毒性毒性」)？	如果細菌突變(Ames)試驗為陽性，則無需進行體內基因毒性測試。如果細菌突變試驗為陰性，但體外染色體損傷試驗(例如染色體異常、微核或小鼠淋巴瘤 tk+/-試驗)為陽性，應考慮進行體內基因毒性測試。有關詳細資訊，請參考 ICH S2(R1)。
2.12	段落「2.9 光安全性測試」中提到，如果基於物理化學特性的初始光毒性潛在風險評估，顯示出存在光毒性風險，何時應進行非臨床光安全性試驗？	光毒性試驗的時機請參閱 ICH S9 指引。對於光安全性評估，請參閱 ICH S10 指引。

3. 以非臨床數據支持臨床試驗設計與上市申請

#	問題	回答
3.1	指引第 3.1 節「首次投予人體之起始劑量」，提到免疫促效劑的生物製劑。小分子藥品也能是免疫促效劑。最低預期生物效應劑量(minimally anticipated biologic effect level, MABEL)的做法，是否也適用於小分子？	在適當情況下，小分子可以應用體內(in vivo)或體外(in vitro)數據，來估計 MABEL。如果風險因子的知識來自於(1)作用機制、(2)作用標地的性質，與/或(3)試驗動物或體外模式的相關性，應考慮這個做法。
3.2	使用最高非嚴重毒性劑量 (highest non-severely toxic dose, HNSTD，註解 2)來選擇適當的起始劑量，是否可適用於生物製劑？	在考慮動物與人類的受體親和力差異，以及生物製劑的藥理特性(包括抗體藥品複合體)後，可合適的使用 HNSTD 來決定生物製劑(例如當藥品非免疫促效劑時)的起始劑量。

3.3	ICH S9 指引指出，在現有毒理資料不支持改變臨床給藥方案的情況下，通常以單一物種進行額外的毒理試驗即已足夠。如果已經用原本的給藥方案完成三個月的毒理試驗，還應該執行那些額外毒理試驗(一個月或三個月毒理試驗)？	如有必要，一個最多為一個月期間的試驗，通常足夠支持變更給藥方案及上市申請(詳細指引請參閱 ICH S9，表 1)。此試驗應在臨床試驗開始前完成。
3.4	針對以快速分裂細胞為靶標的基因毒性藥品，在藥品持續進行臨床開發，包括上市申請時，建議進行何種一般毒理試驗？	針對以快速分裂細胞為目標的基因毒性藥品(例如核苷類似物、烷化劑、微小管抑制劑)，其具有抗增生作用(在快速生長的組織中尤其明顯)，且預期在不同物種具有一致的效果。因此，後續臨床發展與註冊所需的毒性試驗，僅須以單一的嚙齒類物種進行為期三個月的試驗即可。
3.5	ICH S9 指引第 3.5 節指出，預計以併用的方式使用的藥品，須個別進行詳細的毒理評估。為支持併用藥品的試驗，怎樣的非臨床數據才能算是「個別進行詳細的	「個別進行詳細的評估」指的是足以支持個別藥品臨床試驗的毒理分析。如果個別藥品都有充足的臨床數據(例如完整的第一期或在第一期有單藥治療階段)，則可能不須有額外非臨床毒理試驗的數據。須提供做藥品組合的理由，其可包括體外(in vitro)與體內(in vivo)藥理數據或文獻分析。 如果併用藥品其中一項組成的人體安全數據極為有限或缺乏，除了對其個別藥品進行毒理試驗外，尚需考慮對併用藥品進行非臨床藥理試驗。

	毒理評估」？若有必要，專門的毒理試驗應該在什麼樣的時機進行？	對於在動物體內缺乏藥理活性的藥品，可基於相關的體外測試，與/或對標的生物學機制的瞭解進行併用藥品之評估。 如果現有臨床與非臨床數據不足以訂出併用藥品的安全起始劑量，則可能需要以專門的併用藥品毒理試驗來訂定。
3.6	ICH S9 第 3.5 節指出，在開始臨床研究之前，必須提供支持併用藥品合理性的相關數據。什麼是「支持併用藥品合理性的數據」？	應提供合理的科學基礎以支持併用藥品臨床試驗的合理性。若可行，應提供藥理學試驗數據 (例如基於對治療標的生物學機制的動物腫瘤模型、體外或體內試驗等)，以證明併用藥品可增加抗腫瘤活性。此數據可以來自於內部研究或科學文獻。
3.7	ICH S9 指引是否適用於與某些抗腫瘤藥品結合用於治療晚期疾病的患者，但本身沒有抗腫瘤活性(例如增效劑)的藥品？若可適用，則對首次人體驗、臨床開發和上市申請，應進行哪些非臨床研究？	是的，如果這些藥品是用來治療癌症，則仍屬於 ICH S9 的適用範圍。應提供數據顯示增效劑不具抗腫瘤活性。併用藥品須進行一般毒理學、安全藥理學和生殖毒理學評估。單獨的增強劑作為併用藥品一般毒理學試驗中的其中一試驗組別，或是獨立進行最長為一個月的一般毒理學試驗(見 ICH S9 中的表 1)，可能有較局限的安全性評估。基因毒性試驗可考量其相關性，對個別藥品或併用藥品來進行。試驗的時機應遵循 ICH S9 的建議。

4. 其他考量

#	問題	回答
4.1	本指引第 4.1 節指出共軛物質之安全性是主要關注重點，而未共軛物質的安全性則可以僅作較有限度的評估。對於抗體藥品複合體(ADC)，較有限度的評估指的是什麼？	ICH S9 指引第 4.1 節所謂的「未共軛物質」是指 payload。 須至少以一種動物物種測試完整的 ADC 分子。關於 payload 的討論請見問題 4.3。
4.2	若 ADC 的抗體部分未曾進行單獨的特性分析，則毒理試驗是否應納入一組僅有抗體之組別？	一般來說，不須單獨對單株抗體作試驗。
4.3	是否建議只針對 payload 與/或連接子(linker)進行的試驗？	先導試驗與 payload 的性質將決定哪些額外試驗適合於 payload 或 payload 加連接子。通常不須要單獨對連接子作評估。若已分析過 payload 或 payload 加連接子的毒性(例如在先導試驗中)，payload 或 payload 加連接子的 GLP 試驗或許並無必要，或可以進一步精簡。若尚未分析過 payload 或 payload 加連接子的毒性，payload 或 payload 加連接子可以使用單一物種進行獨立試驗，或作為 ADC 毒理試驗的其中一組。請另外參閱 ICH S6 (R1)指引的註 2。

4.4	應進行哪種毒理動力學(TK)分析？是否應將游離態之抗體以及游離態之 payload 與 ADC 作區別？	目前 ADC 的最佳 TK 分析是測量 ADC 與 payload 的濃度，另應提供游離態抗體的數量。
4.5	是否應將血漿穩定性納入首次於人體執行(FIH)試驗的計畫中？若否，進展到哪個階段才需要？	須有 ADC 在人體與毒理試驗所用動物物種血漿穩定度的體外試驗數據，來支持 FIH 試驗。
4.6	是否有建議的方法來設定 ADC 的 FIH 試驗之起始劑量？	對癌症病患的起始劑量應與 ICH S9 指引的建議一致。舉例而言，對於具細胞毒性之 payload，可取 10%嚙齒類動物所觀察到嚴重毒性劑量(severely toxic dose)的 1/10(即 STD 10)，或取非嚙齒類動物最高非嚴重毒性劑量(highest non-severely toxic dose，HNSTD)的 1/6 作為 ADC 的起始劑量(基於身體表面積換算)，視何者最適切與/或敏感而定。新類型的 ADC 可考量其他方法。
4.7	考慮到 ADC 的半衰期較細胞毒性小分子藥品還長，使用 ADC 的單劑量毒性試驗是否即足以支持每三週一次的臨床給藥方案？	毒理試驗須至少投予 2 劑的 ADC，方可支持每三週或四週一次給藥方案的初步臨床試驗。

<table>
<tr><td>4.8</td><td>若非臨床試驗中 ADC 不能與試驗動物體內的標的結合，需要哪種體內重複劑量毒性試驗？</td><td>如果非臨床試驗試驗物種不具有抗原決定位，ADC 僅需一個使用單一物種的毒理試驗。通常不需要如基因轉殖動物或同源分子的替代性模式。</td></tr>
<tr><td>4.9</td><td>組織分布試驗對 ADC 的用途為何？</td><td>一般而言，ADC 不需要組織分布試驗。</td></tr>
<tr><td>4.10</td><td>一般而言，毒理試驗需使用兩種動物物種。對 ADC 而言，是否有使用單一動物物種便足夠的情況？</td><td>根據 ICH S6(R1)指引，如果 ADC 的抗體部分僅與人類與非人靈長類動物(NHP)的抗原結合，其毒性評估可以僅在 NHP(唯一的相關物種)執行。對於 payload，請見問題 4.3 的回答。</td></tr>
<tr><td>4.11</td><td>對於人體特有的代謝物，或在人體產生相對於毒理試驗動物較高量的代謝物，應該進行何種毒理評估？</td><td>一般而言，對於在人體產生相對於毒理試驗動物較高量的代謝物，不需要進行額外試驗。若代謝物不在毒理試驗動物物種產生，而且相對較高的人體暴露量是緣於該代謝物，而非活性藥品成分時，可考慮對人體代謝物進行額外的毒理評估。</td></tr>
<tr><td>4.12</td><td>當不純物超過 ICH Q3A/B 指引所定驗證限量時，是否需進行基因毒性評估：活性藥品成分有基因毒性時？活性藥品成分無基因毒性時？</td><td>
<table>
<tr><td>活性藥品成分有基因毒性？</td><td>不純物超過 ICH Q3A/B 指引所定驗證標準？</td><td>建議採取的行動</td></tr>
<tr><td>是</td><td>否</td><td>無</td></tr>
<tr><td>是</td><td>是</td><td>無</td></tr>
<tr><td>否</td><td>否</td><td>無</td></tr>
<tr><td>否</td><td>是</td><td>須對不純物進行基因毒性評估</td></tr>
</table>
</td></tr>
</table>

4.13	有關管控致突變不純物的 ICH M7 指引，是否適用於 ICH S9 指引的病患族群？	ICH M7 指引特別在其適用範圍一節指出，該指引不適用於 ICH S9 指引所定義的以晚期癌症為適應症的藥品成分與藥品產品。因此，用於治療符合 ICH S9 指引適用範圍適應症的產品，若含有致突變不純物，應考量與 ICH Q3A/B 指引的管控概念一致(見問題 4.12)。
4.14	因為壓縮腫瘤產品的開發時程，藥品成分的製程可能在上市申請時未臻成熟。如果完成註冊所需的毒理試驗後，發現超出 ICH Q3A/B 指引所定驗證標準的新不純物，該如何因應？	在這種情況下，ICH Q3A/B 指引對於不純物的驗證標準有相當之彈性。在這種情況下，為決定是否須作體內驗證試驗，必須進行風險評估(考量的因子包括: 與母藥在結構上的相似性、結構上的毒理警示、在毒理或臨床批次中較低濃度所存在的不純物、代謝物狀態、病患族群，與給藥方案等)。依 ICH S9 指引開發藥品時，僅發現一項不純物超過 ICH Q3A/B 指引的驗證標準，並不表示一定要進行這些試驗。在驗證試驗中確認無明顯不良反應劑量(no observed adverse effect level, NOAEL)，通常是沒有必要的。
4.15	如果一原本是針對末期病患開發之藥品的特定不純物，該藥品後來要轉用到預期存活較長的病患族群(例如長期施用藥品以降低癌症復發風險的病患族群)，該不純物在管理上應如何因應？	當一抗癌藥品將進一步於預期存活較長的癌症病患族群進行研究時，不純物管控須同時參考ICH Q3A/B與 ICH M7指引。

5. 附錄：對應 ICH S9 各章節的常見問題與回答

ICH S9 章節	第一章、緒論	第二章、輔助非臨床評估之試驗	第三章、以非臨床數據支持臨床試驗設計與上市申請	第四章、其他考量	第五章、註釋	其他 ICH指引
1.緒論–適用範圍						
1	1.3					M3(R2); S6(R1)
2	1.3					
3	1.3					
4	1.3		3.4			M3(R2)
5	1.3					
6	1.3		3.4			
7	1.3		3.4			
2.輔助非臨床評估之試驗						
1		2.1				
2		2.4				
3		2.4				
4		2.4				
5		2.4				
6		2.4				
7		2.5				

8		2.5				
9		2.5				S6(R1)
10		2.5				
11		2.6				S2(R1)
12		2.9				S10
3.以非臨床數據支持臨床試驗設計與上市申請						
1			3.1			
2			3.1		Note 2	
3			3.3			
4		2.4	3.4			
5			3.5			
6			3.5			
7			3.5			
4.其他考量						
1				4.1		
2				4.1		
3				4.1		S6 (R1)
4		2.3		4.1		
5		2.3		4.1		
6			3.1	4.1		
7		2.4		4.1		
8			3.1	4.1		
9		2.3		4.1		

10				4.1		S6(R1)
11				4.3		
12		2.6		4.4		
13		2.6		4.4		M7; Q3A/B
14				4.4		Q3A/B
15				4.4		M7; Q3A/B

ICH S10：藥品光安全性評估指引

(草案)

(Photosafety Evaluation of Pharmaceuticals)

衛生福利部食品藥物管理署

中華民國 113 年 O 月

前言

國際醫藥法規協和會(International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, ICH)於 2013 年發布 ICH S10(Photosafety Evaluation of Pharmaceuticals)指引，提供符合國際標準之光安全評估建議，提示支持人體臨床試驗及藥品查驗登記上市所需之評估。本指導原則應減少各區域之間對光安全性評價技術要求出現實質性差異的可能性。

目錄

一、引言 1
(一)指導原則之目標 1
(二)背景說明 1
(三)指導原則適用範圍 1
(四)一般原則 2
二、光安全性評估的考量因素 2
(一)光化學特性 2
(二)組織分佈/藥物動力學 3
(三)代謝物之考量 4
(四)藥理特性 4
三、非臨床光安全性試驗 4
(一)通則 4
(二)以活性含氧物產生進行光活性試驗 5
(三)體外光毒性試驗 5
(四)全身性給藥之體內光安全性試驗 6
(五)皮膚給藥之體內光安全性試驗 7
四、臨床光安全性評估 8
五、評估策略 8
(一)全身性投予之藥品評估建議 9
1.光毒性潛力的評估 9
2.光毒性的試驗評估 10
(二)經皮投予之藥品評估建議 11
1.光毒性潛力的評估 11
2.光毒性與光過敏性的試驗評估 11
六、附註 12
七、專有名詞注譯 14
八、參考文獻 16

ICH S10：藥品光安全性評估

一、 引言

(一) 指導原則之目標

本指導原則之目的是提供符合國際標準之光安全評估建議，提示支持人體臨床試驗及藥品查驗登記上市所需之評估，包括起始和後續額外的光安全評估要素，並應同時參考 ICH M3(R2) 規範第十四節的光安全試驗要求(參考文獻 1)。本指導原則應減少各區域之間對光安全性評價技術要求出現實質性差異的可能性。

本指導原則分為幾個章節：第二節討論光安全性評估的考量因素；第三節介紹現有非臨床光安全性試驗，但不描述具體的試驗策略；第四節提及臨床光安全性評估；第五節根據第二、三及四節敘述之考量與試驗方法，提供如何評估藥品於全身系統性暴露或經皮路徑給藥之光安全性。

藥品的光安全性評估應考慮使用非動物的替代方法或臨床數據來進行，以符合3R原則取代/減量/精緻化。

(二) 背景說明

ICH M3(R2)規範提供一些關於臨床研發執行光安全性評估時機的資訊，建議應先針對光毒性潛力進行初步評估，若合適的話，在大量受試者曝露前第三期進行實驗評估。同樣地，ICH S9 規範(參考文獻 2)也描述抗癌藥品光安全試驗的時機。然而，無論是 ICH M3(R2)或 ICH S9 規範都沒有提供試驗策略相關資訊。我國公告之「藥品非臨床試驗安全性規範」，亦提及藥品應參考 ICH S10 規範執行光安全性評估。本指導原則即參考 ICH S10 規範，進一步說明執行光安全性試驗之必要性與時機，及可能的評估策略。

(三) 指導原則適用範圍

本指導原則一般適用於新活性藥品成分(active pharmaceutical ingredients, APIs)、經皮投予含皮膚貼片臨床配方使用之新賦形劑及光動力治療產品。

由於目前尚未有可信的體外分析方法及標準的體內試驗可評估眼睛的光毒性作用，因此，本原則不提供經眼投予藥品之光安全性評估指導(附註 1)。

光動力治療藥品研發是以光化學反應活性作為其藥理學的內在條件，這類藥品的額外光毒性評估通常不是必要的。然而，光動力治療藥品的毒理動力學和組

織分佈評估是必要的，以保障患者並有適當風險管理。

本指導原則一般不適用於胜肽、蛋白質、抗體藥品複合體或寡核苷酸產品。此外，亦不適用於已上市的產品，包含活性成分或賦形劑，除非此類產品有產生新的疑慮如劑型由口服錠劑改為局部外用藥膏。

(四) 一般原則

藥品的光安全性評估是一個綜合的過程，涉及光化學特性評估、非臨床試驗數據和人體安全性資訊。光安全性評估將用於決定是否必要採取風險最小化措施，以預防人體的不良反應產生。

已討論過的四種與光安全性有關的試驗，包含光毒性、光過敏性、光基因毒性及光致癌性。其中，光基因毒性(附註 2)和(光致癌性 ICH M3(R2)的附註 6)測試，目前不認為對人用藥品是有用的。本指導原則只探討光毒性和光過敏性作用，定義如下：

- 光毒性(光刺激性)：照光誘發組織對光活性化合物的急性反應。
- 光過敏性：在光化學反應後，形成光化產物(例如：蛋白質鍵結物所驅使的一種化合物媒介之免疫反應)。

光敏作用是一個常用術語，有時被用來描述照光引起的所有組織反應。然而，為了明確區分光過敏和光毒性，在指導原則中不使用光敏作用這個詞。

對於化合物會表現出光毒性和/或光過敏性，以下特性相當關鍵：

- 收自然陽光範圍內的光(290-700 nm)；
- 吸收紫外線/可見光後，生成活性反應物；
- 有足夠的生體分佈到光曝露組織(例如：皮膚、眼睛)。

如果這些條件中，有一個以上未符合，此化合物通常不會呈現直接的光毒性作用。然而，可能會發生透過間接機轉增加皮膚對光的敏感。指導原則提供的試驗概述通常不涉及這些機轉(見第 2.4 節)。

二、 光安全性評估的考量因素

(一) 光化學特性

光活性潛力評估的最初考量是化合物是否可以吸收波長 290 到 700 nm 間的光子。若化合物於波長 290 至 700 nm 間的莫耳消光係數(Molar Extinction Coefficient, MEC)不大於 1000 L/mol/cm(參考文獻 3)，則被認為不會引起足夠的

光活性作用而導致直接的光毒性風險(附註 3)。

分子經由光激發可能產生活性含氧物(Reactive Oxygen Species, ROS)，包含過氧化物陰離子(superoxide anion)和經由能量轉移機轉產生單重態氧(singlet oxygen)。雖然光活性可能導致其它分子作用(例如：形成光化加成物〔photoadducts〕或細胞毒性光化合物)，即使在這種情況下，也經常會產生活性含氧物。因此，照射紫外線或可見光後產生活性含氧物，可視為光毒性潛力的指標。

光安定性試驗(參考文獻 4)也可以提供光活性潛力的評估依據。然而，並不是所有的光活性化合物都可在這些條件下檢測到，且光降解產物本身並不意味著藥品具有光毒性。因此，僅以光安定性試驗結果，不應被用來確定是否需要進一步的光安全性評估。

光化學特性評估應在高品質科學標準及數據收集記錄一應俱全的條件下進行，或符合優良實驗室規範/優良製造規範 GLP/GMP 之規定。

(二) 組織分佈/藥物動力學

在光照暴露時，光活性化合物在組織的濃度是個重要的藥物動力學參數，用以確認是否會發生光毒性反應。這濃度取決於多種因素，例如血漿濃度、組織灌注、從血管分佈到間質和細胞區域，以及化合物在組織中的結合、滯留與蓄積。光活性化合物之暴露時間取決於清除率，即血漿或組織中之半衰期。總和來說，這些參數定義了光活性化合物於組織中的平均停留時間。

化合物在組織中的結合、滯留與蓄積，並不是光毒性反應的關鍵。如果化合物分子足以產生光活性作用，它可能會在血漿或間質液中達到的濃度下產生光毒反應。然而，化合物在陽光暴露之組織中具有較長的半衰期，或具有較高的組織對血漿藥品濃度比值，相較於較短半衰期或組織對血漿比值較低的化合物，會更可能產生光毒性反應。此外，化合物濃度長時間維持在光化學反應臨界水平之上，人體暴露時間越長，就越有光毒性的風險。

雖然組織濃度閾值低於光毒性反應濃度，科學上的風險性可以合理忽略不計，但目前還沒有數據可以描述所有化合物通用的閾值。儘管如此，在逐案基礎上，可以基於實際或預期的組織藥品濃度，並考量上述因素，提出光安全性評估可能是不必要的合理性，例子包含：(1) 藥品之全身性暴露量很低；或(2) 藥品具有非常短之血漿半衰期或組織停留時間。

化合物和組織物質(例如：黑色素、角蛋白)的結合，是發生組織滯留和/或蓄積的一種可能機制。雖然與黑色素結合可以增加藥品於組織中濃度，但以黑色素結合藥品的經驗推測，此類單獨結合並不會呈現光安全性的疑慮。

單劑量組織分佈試驗中，在動物給藥後多個時間點量測，通常會提供組織與血漿濃度比值、組織中停留時間及滯留/蓄積潛力的充分評估。評估時應依據藥品的半衰期選擇適當的時間點。

經由可見光激活的化合物，並在內部組織表現出長半衰期，已被證明在醫療過程中，暴露在強光照射下會對這些組織造成傷害。因此，對於具有強烈體內光毒性的化合物或根據其作用機制已知具光毒性，例如：光動力學治療藥品，針對其分佈到內部組織以及組織特定半衰期的測量，都應進行評估。若藥品只吸收紫外線或具有短的組織排除半衰期，即使其具光活性，似乎不會對內部組織構成危險。

(三) 代謝物之考量

代謝產物通常不需要單獨的光安全性評估，因為代謝通常不會產生新的、不同於母分子之發色團(chromophores)。

(四) 藥理特性

在大多數情況下，藥品誘導光毒性乃肇因於化學結構，而不是藥理作用。但是，某些藥理特性(例如：免疫抑制、干擾血基質恆定等)可以增強光誘發作用的敏感性，包括皮膚刺激性或紫外線誘導之皮膚腫瘤生成。本指導原則所述的測試策略，並未設計用以檢測這些間接機轉之光毒性。許多這類間接機轉光毒性作用可以在其它非臨床藥理/毒理試驗中發現及評估。然而，其它間接機轉有關之光毒性作用可能只出現於人體使用經驗。

三、 非臨床光安全性試驗

(一) 通則

非臨床光安全性測試中，仔細選擇模型系統和曝露於相關照射光譜的條件十分重要。理想情況下，非臨床試驗應具有高靈敏度與專一性(即低偽陰性和偽陽性比率)。然而，為了支持本指導原則所描述的評估策略，非臨床光安全性分析最重要的是具備高靈敏度，藉此產生低比率的偽陰性(即高陰性預測值)，因為檢測結果若為陰性，通常不需要採取進一步的光安全性評估。可用的體外和體內非臨床測試，主要聚焦於偵測到潛在的光毒性作用，其結果不一定可轉譯為臨床相關的光毒性作用。

照射條件的選擇對於體外和體內試驗都是非常重要的。自然陽光代表人類可能經常接觸的最廣泛的光暴露範圍。然而，日光本身並沒有很好的定義，其取決

於許多因素，包含緯度、海拔高度、季節、日光時間及天氣。此外，人體皮膚對自然陽光的敏感性，亦取決於許多個體因素(例如：皮膚類型、解剖部位和曬黑狀態等)。標準化的日光照射條件已由各組織團體定義，應考量這些標準(參考文獻 5)，以評估日光模擬器光源的合適性，並且應基於所使用光譜的 UVA 部分對輻照度和輻照劑量進行標準化。UVA 劑量範圍 5 至 20 J/cm^2 已可用於目前的體外和體內光毒性試驗。此 UVA 劑量與夏季中午在溫帶地區和海平面上長時間戶外活動期間獲得的劑量相當。在人體中，UVB 引起的曬傷反應通常會限制總日光暴露量。然而，在非臨床光毒性試驗中，不應為了考量 UVB 的量而限制整體照射，可藉由可能地減弱 UVB 的量部分過濾，在不降低檢測靈敏度的前提下，使相關的 UVA 劑量可被測試。UVB 光穿透進入人體皮膚，主要是侷限在表皮，而 UVA 可以達到微血管血液。因此，對於全身性作用藥品，由 UVB 照射引起的光化學活化之臨床意義不如 UVA 重要。然而，UVB 照射與施用於光曝露組織之外用製劑有關。

所選擇或監測的光源特性(光譜分佈、照度及劑量)及試驗流程，必須於試驗方法中詳盡敘述(參考文獻 6) 。

(二) 以活性含氧物產生進行光活性試驗

若藥品研發者選擇評估光活性，則所用的測試方法應以合適的藥品在適當條件下測試，確認其靈敏度。活性含氧物分析即為這一類試驗(參考文獻 7)，數據顯示這個分析方法對於體內光毒性預測具高靈敏度，然而其專一性很低，造成高比率的偽陽性結果。該分析方法若在適當的條件下執行，且其測試濃度可達到 200 μM，所得之陰性結果將顯示其光毒性的可能性非常低。而陽性結果於任何濃度則僅可做為後續評估的指標。

(三) 體外光毒性試驗

數個體外測試方法已被發展用來評估化合物的光毒性潛力。有些分析尚未被認可使用於藥品。某些分析方法涉及溶解在細胞培養液中的化合物，這類的方法通常適用於藥品的活性成分或賦形劑，取決於其溶解性。其他分析方法涉及將測試物用於組織標本表面，適合用於局部使用的外用劑型。

光毒性評估最廣泛應用的體外試驗方式為經濟合作與發展組織(OECD)準則(參考文獻 6)中之"小鼠 3T3 纖維母細胞中性紅攝入光毒性試驗"(BALB/c mouse 3T3 cells neutral red uptake phototoxicity test, 3T3 NRU-PT)。此方法為目前公認最適合用於體外評估可溶性化合物。

雖然正式的歐洲替代方法驗證中心(ECVAM)針對此測試方法進行的驗證指

出，其靈敏度為 93%、專一性為 84%，但從藥廠的經驗推測其專一性低很多。經濟合作與發展組織最初的方法草案未針對藥品專一性進行驗證，因此推測需針對原方法進行部分修改，以解決在原料藥觀察到低專一性的問題(附註 4)。這些修改建議亦適合用於藥品。3T3 NRU-PT 的靈敏度很高，若化合物在此測試方法呈現陰性，則其在人類中具有光毒性作用的可能性很低。然而，在 3T3 NRU-PT 試驗呈現陽性結果，不應被認為是臨床光毒性風險絕對的指標，而是做為一個後續需再評估的指標。

BALB/c 小鼠的 3T3 細胞株對於 UVB 敏感，最初建議的照射條件(參考文獻 6)納入使用濾鏡來減少短於 320 nm 波長。然而，依據所使用的光源與濾鏡，調節 UVB/UVA 比值，使得可以在試驗中評估 UVB 誘導的光毒性。UVB 誘導的光毒性對於全身性暴露的藥品來說，發生機率不高，因為 UVB 僅微量的穿透表皮。然而，UVB 誘導之光毒性作用與外用藥品較有關係，對於主要在 UVB 範圍內吸收的外用藥品且須進行體外評估者，可以考慮使用改變照射條件的 3T3 NRU-PT 試驗(如上述)，或是考慮使用對 UVB 耐受性更好的體外皮膚模型。

具有角質層的重建人體皮膚模型，可用於測試不同類型的局部給藥成分，範圍從純化合物到最終臨床製劑。使用重建人體皮膚模型之分析方法發展至今，皆是用以測量組織在有無光照射下的細胞存活率。這類分析方法似乎能夠檢測已知的人類皮膚急性光毒性化合物。然而，某些分析顯示此方法之靈敏度低於體內人體皮膚實際之狀況，其引起陽性反應之最低濃度可能高於活體內人體皮膚的濃度。因此，重要的是要了解所選用分析方法的靈敏度，若可能且合適的話，應調整試驗的條件，例如，測試較高強度的劑型、增加曝露時間等。

無論藥品投予的途徑為何，都沒有專門評估眼睛光毒性的體外模型。雖然 3T3 NRU-PT 試驗或重建人類皮膚模型為陰性可推測為低風險，在缺乏資料的狀況下，這些測試對於眼睛光毒性的預測價值仍是未知的。

（四） 全身性給藥之體內光安全性試驗

經全身性給藥之化合物的光毒性測試已在不同的動物品系執行，包括天竺鼠、小鼠及大鼠。目前沒有建立標準化的試驗設計，因此須考量下列因素，以得到最佳的試驗方法。

對於物種的選擇，應考量光照敏感性(例如：最低致紅斑劑量)、熱耐受性及參考化合物的特性。有色素或非色素動物模型皆可選擇，雖然非色素皮膚較色素皮膚對於光毒性測試敏感，當選擇物種/品系無法確保於標靶組織具適當暴露時，應考量使用色素皮膚動物模型，特別是應用於活性成分與黑色素顯著結合的情況(見 2.2 節)。

若執行體內光毒性試驗，在設計試驗前，最好能知道此化合物之藥物動力學

特性，以確定光照刺激在最大濃度時間(T_{max})前後執行，有助於選擇臨床暴露相關之試驗時間點。若未獲得相關資料，則應在體內光毒性試驗一併收集相關資訊。

雖然光毒性是典型的急性反應，體內試驗評估的時間點仍應仔細考量。在重複劑量給藥後，相關光暴露組織中化合物的累積，可能導致光毒性反應的增加。同樣地，重複照射會使傷害累積進而增加光毒性反應。通常如果可行的話，使用臨床給藥途徑、一天至數天的給藥期間的試驗應較為合適。給藥後於 T_{max} 附近可以使用單次或重複的每日照光刺激。

全身性藥品若執行體內非臨床光毒性試驗，其劑量選擇應可支持有意義的人體風險性評估。針對此類試驗之最高劑量，符合 ICH M3(R2)第 1.5 節中關於一般毒性試驗的建議，被認為是合適的。若最大劑量為陰性結果，通常不需要測試較低的劑量。然而，若預期為陽性結果，其它劑量組可支持無明顯不良反應劑量 NOAEL 為基礎之風險評估，通常須考量與 C_{max} 之比較。基劑組(Vehicle)以及無光照刺激對照組可支持合適的分析及區分光照刺激或非光照刺激之間誘導的不良反應。若在動物體內的最大暴露量仍低於臨床暴露量，則以此陰性結果用來預測對人類的風險是有疑慮的。

化合物引起的光毒性之最敏感的早期徵兆通常是紅斑，然後是一般亞紅斑性光照劑量(sub-erythemogenic irradiation dose)下的水腫。反應的類型依化合物類別而有所不同。任何確定的光毒性作用，除應評估是否具劑量和時間依存性，可能的話，應建立 NOAEL 值。另外，可由其它的評估指標進一步支持危險辨識(例如：在皮膚或淋巴結的早期發炎標記，顯示有急性刺激)。

若動物光毒性試驗中，藥品系統性暴露會吸收超過波長 400 nm 的光，則必須由詳細組織病理學來評估視網膜的光毒性作用。若全身性給藥之化合物只吸收波長 400 nm 以下的光，則不再需要評估視網膜光毒性，因為此波長對於成年人角膜、水晶體及玻璃體之穿透率有限。

執行未正式確效的體內光毒性試驗，應使用合適的參考化合物來證明其具適當的效能，包括使用對人體具有光毒性且代表不同化學類別和光毒性機轉的化合物，以確定試驗的適當性。針對視網膜光毒性，建議使用的參考化合物，其吸收光波長應在可見光範圍(即大於 400 nm)。若體內光毒性試驗已被正式確效，或已經普遍被接受且在試驗設施中建立，則不會要求同時使用陽性對照化合物。

對於全身性投予的藥品，不建議執行光過敏性試驗。光過敏性反應在人體全身性投予之藥品非常少見，而且對於全身性給藥的化合物還沒有確立的非臨床光過敏性試驗。

（五） 皮膚給藥之體內光安全性試驗

針對探討全身性給藥途徑的主要建議，也適用於皮膚給藥，包括物種選擇、

試驗期間，以及光照刺激條件。對於皮膚藥品，通常應以臨床給藥劑型進行試驗，盡可能使用臨床擬給藥條件為範圍，曝露區域照光刺激應在給藥後特定時間內進行，且給藥及光照間距應依照製劑的具體特性提供合理的說明。光毒性作用應依據相關的觀察指標(見第 3.4 節)來進行評估。應使用適當的參考化合物，來證明分析的靈敏度。皮膚光毒性試驗通常不需評估全身性藥品濃度。

對於皮膚用藥，接觸光過敏性常常與非臨床急性光毒性(光刺激)試驗一起評估。然而，對於此試驗尚無正式的確效，當試驗中觀察到與人體有關的急性光刺激性，其對於人類光過敏的預測性仍是未知的。就法規監管目的而言，通常不建議這類的非臨床光過敏性試驗。

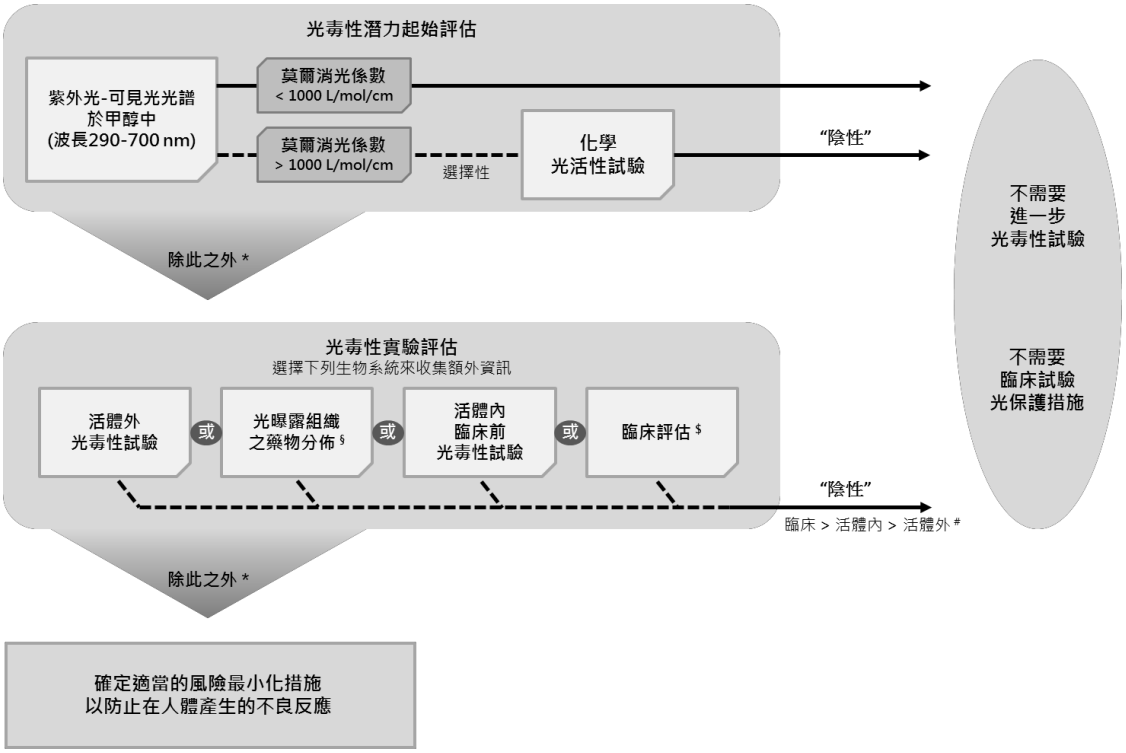
四、 臨床光安全性評估

如果有必要，有各種不同收集人體數據的選擇，從標準的臨床試驗不良事件報告到專屬的臨床光安全性試驗皆可。精準的策略須依逐案討論原則來決定。

五、 評估策略

光安全性評估策略的選擇是由藥品研發者決定。ICH M3(R2)根據光化學特性及藥理藥化分類，應於首次人體臨床試驗執行前進行光毒性潛力之初始評估。在初始評估中，建議包括 UV 至可見光譜的吸收特性，以排除進一步的光安全性評估。此外，可評估對皮膚和眼睛的組織分佈，以進一步了解對人體的風險和進一步測試的建議。然後，如果合適的話，光毒性潛力的實驗評估(非臨床體外或體內，或臨床)應在大量受試者暴露前進行(第三期臨床試驗)。

圖一為可能的光毒性評估策略概述。該圖是根據指導原則中本節概述的策略。策略是靈活的，根據特定的情況，某些評估是可選的，某些則可能可以不執行。



* "除此之外":數據無法支持此化合物為低光毒性潛力或尚未完成(未進行分析/試驗/評估)

\# 適當的體內光毒性試驗結果為"陰性"可取代體外試驗之陽性結果。設計及執行良好的臨床光毒性評估若顯示沒有疑慮，可取代所有非臨床評估之陽性結果。體外光毒性之陽性結果在某些案例中亦可因藥品組織分佈數據被認為是無光毒性風險(詳見內文)。在我國，以即將上市配方執行之臨床光毒性試驗足以支持經皮膚給藥途徑之藥品審核上市。

$ 臨床評估的範圍可包括臨床試驗之標準不良反應事件報告書到專屬的臨床光安全性試驗。

§ 藥品組織分佈不是皮膚外用藥品的光毒性考量。

圖一、經全身性及皮膚給藥途徑藥品可能執行之光毒性評估策略概述

(一) 全身性投予之藥品評估建議

1. 光毒性潛力的評估

若該化合物的莫耳消光係數(MEC)小於 1000 L/mol/cm(介於 290-700 nm 之間)，不建議進行光安全性試驗，並預期對人體沒有直接的光毒性作用。然而，應

該注意透過間接機轉(如 pseudoporphyria or porphyria)產生之光毒性作用，雖然不常見但卻有可能發生。對於化合物具有或超過 1000 L/mol/cm 的莫耳消光係數，若藥品研發者選擇執行化學光活性試驗並為陰性結果，將可支持並決定不需要進一步的光安全性評估(見第 3.2 節)。否則，都應進行該化合物的非臨床和/或臨床光安全性評估。此外，應該評估化學分類相關化合物的光毒性現有資訊，以提供可採取的評估策略。

2. 光毒性的試驗評估

為了減少動物的使用並遵循 3R 原則，通常在動物試驗前，應考慮使用確效過的體外方法評估。若藥品研發者選擇體外評估方法，則 3T3 NRU-PT 為目前最廣泛使用的分析方法，且在許多案例可視為光毒性評估的初始測試驗。3T3 NRU-PT 的高靈敏度導致良好的陰性預測性，並且通常接受陰性結果作為化合物不具有光毒性的充分證據。在這種情況下，不建議進一步的試驗，且預期對人體不具有直接的光毒性作用。

在某些情況下(例如：溶解度不佳)，可能不適合一開始以體外方式進行光毒性評估。這種情況下，可以考慮在動物或人體進行評估。或者，若可取得藥品組織分佈資訊，在某些個案中可以支持決定不需要進一步的光安全性評估(見第 2.2 節)。

若體外光毒性試驗結果為陽性，可執行動物光毒性試驗，以確認體外試驗顯示的潛在光毒性是否和體內試驗的反應具相關性。另外，在某些個案中，藥品組織分佈的資訊若能支持體內光毒性風險很低，則不需要進一步的光安全性評估(見第 2.2 節)。另一個選擇為於臨床環境中評估光安全性風險，或透過經光防護措施來進行管理。執行合適的體內光毒性試驗(在動物或人體)獲得之陰性結果，可取代體外試驗之陽性結果。在這種情況下，不建議進一步的試驗，且預期對人體不具有直接的光毒性作用。

在某些情況下，體內動物試驗若為陽性結果，可使用 NOAEL 為基礎進行風險評估，通常是考量與 C_{max} 之比較。否則，必須進行臨床評估。在所有的情況下，若明確的臨床光毒性評估指出無疑慮，可取代任何非臨床試驗的陽性結果。

體外光毒性試驗之陽性結果不會受到化學光活性試驗之陰性結果影響而否定(例如活性含氧物分析)。

當動物體內光毒性試驗或臨床光毒性試驗已執行的情況下，沒有理由需再執行體外的光毒性試驗。

（二） 經皮投予之藥品評估建議

1. 光毒性潛力的評估

若活性成分或賦形劑之莫耳消光係數不超過 1000 L/mol/cm(介於 290 至 700 nm 之間)，不建議進行光安全性試驗，並預期對人體沒有直接的光毒性作用。若化合物其莫耳消光係數值為大於 1000 L/mol/cm，但光活性試驗為陰性結果(例如活性含氧物分析)，可支持其無需進一步光安全性評估(例外見附註 5)。若有進一步評估的考量，應該評估化學分類相關化合物的光毒性現有資訊，以提供可採取的評估策略。組織分佈不是皮膚用藥的光毒性考量。皮膚用藥直接作用於皮膚，因此，除非投予區域不會經常曝露於太陽光，否則都假定是分佈於光線曝露的組織。

2. 光毒性與光過敏性的試驗評估

若可以達到適當的試驗條件(例如：測試濃度不受限於溶解度不佳，且可應用合適於 UVB 的劑量)，體外 3T3 NRU-PT 方法，可單獨用於評估活性成分或任何新賦形劑的光毒性潛力。若在體外方法未發現任何具光毒性之化合物，則臨床製劑的整體光毒性潛力可視為低風險。

某些臨床製劑特性會影響潛在的光毒性反應(例如：皮膚穿透、細胞內攝入)，則無法單獨使用 3T3 NRU-PT 方法來進行評估，因此，必要以臨床使用之劑型配方進行評估和/或在臨床試驗期間進行監測，以確認整體評估結果。

重建的人體皮膚模型可用於評估臨床製劑的光毒性潛力。在合適的試驗條件下(見第 3.3 節)，重建的人體皮膚分析結果為陰性，可推測此製劑的直接光毒性風險很低。在這狀況下，通常不建議進一步的光毒性試驗(例外見附註 5)。

若沒有合適的體外試驗方法，則起始試驗可在動物體內以臨床製劑進行光毒性測試。光毒性試驗在合適的體內動物模型執行，獲得之陰性結果可作為支持此製劑無直接光毒性風險之證據，通常不建議進一步的光毒性試驗(例外見附註 5)。或者，亦可於臨床環境中來評估光毒性潛力。

若皮膚用藥的活性成分或新賦形劑，其在波長 290 至 700 nm 間之莫耳消光係數超過 1000 L/mol/cm，除了光毒性試驗外，通常還會要求執行光過敏性試驗。由於非臨床光過敏性試驗之預測性未知，通常建議使用上市劑型於第三期臨床試驗中執行臨床評估。

透過皮膚貼片傳輸臨床皮膚用藥之光安全性可遵循本指導原則進行光安全性評估。但對於經皮傳輸給藥貼片，應同時進行皮膚及全身性光毒性評估。另外，對於整體風險評估，應該考慮預期的臨床應用方式例如：建議施用的皮膚區域及施用的持續時間和貼片基質的特性(例如：對 UV 和可見光不具穿透性)。

六、 附註

附註 1. 對於在相關波長光子會吸收的化合物，其莫耳消光係數值大於 1000 L/mol/cm，並且透過眼部途徑投予(例如：滴眼液、眼內注射)，應根據光毒性評估的一般原則評估其光毒性潛力。還應考量藥品在眼內的生物分佈以及眼睛的光學特性。關於化合物或化學分類相關化合物的任何資訊，皆應於整體性評估中予以考量。

化合物僅吸收波長短 400 nm 之光照並且以眼內注射於水晶體後(例如：在玻璃體內)，其視網膜光毒性的疑慮很低，因為只有波長大於 400 nm 的光照能到達成人眼後。然而，對小於約 10 歲的兒童來說，晶狀體對 400 nm 以下波長的光照沒有完全的保護作用。

附註 2. 不建議將光基因毒性試驗作為標準光安全性試驗計畫的一部分。過去，一些區域性指引(如 CPMP/SWP/398/01)建議進行光基因毒性試驗，優先在體外哺乳動物細胞中執行光致突變性試驗(染色體畸變或微核試驗)。然而，自從 CPMP/SWP 指引發佈以來，這些模型的使用經驗顯示，試驗實質上是過於敏感的，並且甚至有偽光致突變性發生率的報導(參考文獻 8)。此外，關於光基因毒性是否有意義增強臨床紫外線誘導皮膚癌之相關數據的解釋尚不清楚。

附註 3. 決定莫耳消光係數的標準化條件十分重要。透過分析要求(例如：溶解能力、紫外線－可見光透明度等)和生理相關性(例如：pH7.4 緩衝水溶液條件等)來選擇適當的溶劑。推薦使用甲醇作為首選溶劑，並用於支持 1000 L/mol/cm 的莫耳消光係數閾值(參考文獻 3)。當測量紫外線－可見光光譜時，應考慮潛在的限制(例如：由於高濃度或低溶解度造成的雜質影響，包括緩慢沉澱等)。如果分子的發色團似乎對 pH 值敏感(例如：酚類結構、芳香族胺及羧酸等)，在 pH7.4 緩衝水溶液條件下獲得的額外光譜仍可提供有價值的資訊，即便其吸收光譜的型態及莫耳消光係數不同。如果在甲醇中獲得的測量值與調整 pH 條件之測量值間出現顯著差異，則不能使用 1000 L/mol/cm 的莫耳消光係數閾值來免除進一步的光安全性評估。

附註 4. 根據藥廠的調查指出，以經濟合作與發展組織試驗指引(OECD TG)432 所述之 3T3 NRU-PT 試驗產生了高比例的陽性結果(約 50%)，其中大部

分與動物或人體的光毒性反應無關(參考文獻 9)。在對藥品數據進行回顧性審查後，將最大測試濃度從 1000μg/mL 降至 100μg/mL 似乎是合理的(參考文獻 10)，在此最大濃度限制下，沒有任何顯著細胞毒性在光照作用下的化合物可被認為沒有相關的光毒性作用。此外，根據 OECD TG 432 評估為"可能的光毒性"(例如：光刺激係數〔PIF〕介於 2 到 5 之間或平均光照作用〔MPE〕介於 0.10 到 0.15 之間)之全身性藥品，其毒理作用相關性是可疑的。這類化合物通常不需要進一步的光安全性評估。對於化合物的 PIF 值介於 2 和 5 之間且無法確定無光照作用時的 IC50，使用 MPE 計算評估化合物不被分類為陽性非常重要，即 MPE 小於 0.15。

全身性藥品於 3T3 NRU-PT 試驗評估為陽性，只有在體外試驗的濃度比在人體曝露於光照的組織中之濃度高出許多倍，得以在逐案討論的基礎上，並諮詢法規單位，考量是否對人體屬"低風險"的光毒性作用，且可免除後續的體內光毒性試驗。

附註 5. 經皮投予的藥品，可能需要以上市配方 API 加所有賦形劑執行光毒性光刺激性臨床試驗，以支持產品的核准。

七、 專有名詞注譯

3T3 NRU-PT:
小鼠 3T3 纖維母細胞中性紅攝入光毒性試驗。

評估 Assessment:
在指導原則的內文中，評估指的是分析所有可用的資訊，並非指一定要執行額外的特定試驗。

發色團 Chromophore:
分子的會吸收可見光或紫外光的次級結構。

皮膚用藥 Dermal Drugs:
施用於皮膚部位的產品。

直接光毒性作用 Direct Phototoxicity:
藥品或賦形劑經由吸收光照所引起的光毒性作用。

間接光毒性作用 Indirect Phototoxicity:
藥品或賦形劑由於細胞、生化或生理作用改變產生的光毒性作用(例如：干擾血基質恆定等)，而非與本身光化學反應有關。

光照強度 Irradiance:
發生於表面的紫外線或可見光照度，單位為 W/m^2 或 mW/cm^2。

光照作用 Irradiation:
物體/受試者曝露於紫外線或可見光的照射流程。

莫耳消光係數 Molar Extinction Coefficient, MEC:
又稱為莫耳吸收率，反映分子吸收特定波長光子的效率(通常以 L/mol/cm 表示)，受到許多因素的影響，例如溶劑。

平均光照作用 Mean Photo Effect，MPE:
用來計算 3T3 NRU-PT 試驗的結果。MPE 是基於與完整的濃度反應曲線比較而來請參考(OECD TG 432)。

NOAEL:
不造成任何不良反應的劑量。

經濟合作暨發展組織之測試指南 OECD TG:
經濟合作暨發展組織之測試指南。

人體臨床試驗 Outpatient Study:
受試人群不局限於臨床研究地點的臨床研究。

光產物 Photoproducts:
光化學反應所產生的新化合物或結構。

光活性作用 Photoreactivity:
化合物吸收光子後，與其它分子產生反應之特性。

光刺激係數 Photo Irritation Factor, PIF:
藉由比較有無光照作用之 IC_{50} 來計算 3T3 NRU-PT 試驗之結果。

活性含氧物 Reactive Oxygen Species, ROS:
包含超氧陰離子自由基(superoxide anion)和單原子態氧(singlet oxygen)。

全身性藥品 Systemic drugs:
投予路徑會產生全身系統性暴露的藥品。

紫外線 A UV A:
紫外線 A(波長介於 320 nm 至 400 nm 間)。

紫外線 B UV B:
紫外線 B(波長介於 280 nm 至 320 nm 間)。

八、 參考文獻

1. ICH M3(R2) Guideline: Guidance on Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals; June 2009.
2. ICH S9 Guideline: Nonclinical Evaluation for Anticancer Pharmaceuticals; October 2009.
3. Bauer D, Averett LA, De Smedt A, Kleinman MH, Muster W, Pettersen BA, et al. Standardized UV-vis spectra as the foundation for a threshold-based, integrated photosafety evaluation. Regul Toxicol Pharmacol 2014;68(1):70-5.
4. ICH Q1B Guideline: Stability Testing: Photostability Testing of New Drug Substances and Products; November 1996.
5. Solar spectral irradiance. CIE 1989 Jan;85.
6. Test No. 432: In vitro 3T3 NRU phototoxicity test. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals Section 4 2004 Nov.
7. Onoue S, Igarashi N, Yamada S, Tsuda Y. High-throughput reactive oxygen species (ROS) assay: An enabling technology for screening the phototoxic potential of pharmaceutical substances. J Pharm Biomed Anal 2008;46(1):187-93.
8. Lynch AM, Robinson SA, Wilcox P, Smith MD, Kleinman M, Jiang K, et al. Cycloheximide and disulfoton are positive in the photoclastogenicity assay but do not absorb UV irradiation: another example of pseudophotoclastogenicity? Mutagenesis 2008 Mar;23(2):111-8.
9. Lynch AM, Wilcox P. Review of the performance of the 3T3 NRU in vitro phototoxicity assay in the pharmaceutical industry. Exp Toxicol Pathol 2011 Mar;63(3):209-14.
10. Ceridono M, Tellner P, Bauer D, Barroso J, Alépée N, Corvi R, et al. Workshop Report: The 3T3 neutral red uptake phototoxicity test: Practical experience and implications for phototoxicity testing – The report of an ECVAM–EFPIA workshop. Regul Toxicol Pharmacol 2012;63(3):480-8.

ICH S11：支持兒童用藥品開發之

非臨床安全性試驗

(草案)

(Nonclinical Safety Testing in Support of Development of Pediatric Pharmaceuticals)

衛生福利部食品藥物管理署

中華民國 113 年 O 月

前言

國際醫藥法規協和會(International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, ICH)於 2020 年發布 ICH S11(Nonclinical Safety Testing in Support of Development of Pediatric Pharmaceuticals)指引，提供針對小兒藥品研發之非臨床安全性評估，提出符合國際標準之基本原則，並針對現況提出建議，以利加速進入小兒臨床試驗，並依循 3R 原則(替代、減量與優化)以減少動物試驗。

目錄

一、引言 1
(一)目的 1
(二)背景 1
(三)適用範圍 1
(四)一般原則 1
二、執行額外非臨床安全性研究的考量 2
(一)臨床試驗部分 2
(二)證據權重方法 3
(三)評估證據權重之考量 5
1.臨床資料 5
2.藥理學性質 5
3.藥物動力學數據 6
4.非臨床安全性資料 6
5.可行性 7
(四)證據權重評估的應用與結果 7
三、非臨床幼齡動物試驗的設計 7
(一)一般考量/試驗目的 7
(二)劑量探索試驗 8
(三)動物試驗品系之選擇 8
(四)動物年齡、給藥期與給藥方式 10
(五)給藥期後的評估 11
(六)給藥途徑 11
(七)劑量選擇 12
(八)觀察指標 12
1.核心評估指標 12
2.額外的評估指標 14
(九)分配動物至試驗組別與指標子集 17

1.離乳前分配.....17
2.離乳後分配.....18
(十)動物數量與性別.....18
四、小兒優先/小兒專門藥品研發之考量.....18
五、數據的解讀.....19
(一)解讀觀察指標時的考量.....19
(二)對整體試驗結果的解讀.....20
六、其他考量.....20
(一)賦形劑.....20
(二)藥品併用.....20
七、名詞解釋.....22
八、參考文獻.....24
附錄 A：各物種之器官依據年齡發育之總覽.....25
附錄 B：使用證據權重方法之案例研究.....50
附錄 C：離乳前囓齒類動物之幼崽窩分配方法.....54

簡稱列表	
ADME	吸收、分布、代謝、排除
CNS	中樞神經系統
CYP	細胞色素 P450
DRF	劑量範圍尋找
ePPND	強化出生前後發育
FIH	首次用於人體
FOB	功能觀察
GABA	γ-氨基丁酸
GFR	腎小球過濾率
GI	胃腸的
HPG	人體腦下垂體促性腺激素
ICH	國際醫藥法規協和會
JAS	幼年動物研究
NHP	非人靈長類
NOAEL	無明顯不良反應劑量
PND	出生後天數
PPND	出生前後發育
PK	藥物動力學
PD	藥效學
TDAR	T 細胞依賴性抗體反應
TK	毒物動力學
WoE	證據權重

ICH S11：支持兒童用藥品開發之非臨床安全性試驗

一、 引言

(一) 目的

本指導原則之目的在針對小兒藥品研發之非臨床安全性評估，提出符合國際標準之建議。本非臨床安全性試驗指導原則，將針對現況提出建議，有助於加速進入小兒臨床試驗，並依循 3R 原則(替代、減量與優化)以減少動物試驗。

(二) 背景

許多國家的法規單位都曾針對小兒藥品制定規範，但對於幼齡動物試驗(juvenile animal study, JAS)是否須執行、執行的時機與試驗設計仍有差異。

本指導原則係基於國際醫藥法規協和會(ICH)於 2020 年公布之 ICH S11 規範所撰寫，並彙整 ICH 相關規範(如 ICH E11、M3、S5 與 S9)與法規單位、企業調查及文獻之案例，呈現 ICH 對小兒藥品之非臨床安全性評估的指引。

(三) 適用範圍

本指導原則對預計用於小兒族群之藥品研發，提供非臨床安全性評估方法的相關建議，包括曾使用於成人的產品，以及首次用於人類即針對小兒族群的產品(請參考第(四)節)。

ICH S9 規範內的藥品(癌症用藥)是否需進行 JAS，請參考 ICH S9 規範。在設計 JAS 試驗時，應參考 ICH S11 規範。

小分子藥品及 ICH S6 所定義之生物藥品亦適用本指導原則。組織工程產品、基因和細胞療法及疫苗等產品通常不需進行 JAS 試驗，因此，本指導原則不適用於這些產品。然而，本指導原則對於以既有資料評估安全性的相關建議，仍適用上述產品。

(四) 一般原則

小兒病人族群與成人之不同點，在於小兒病人使用藥品時，可能正處於快速生長和/或出生後器官發育階段。在藥品治療過程中，器官的成熟與否都會影響藥品之藥物動力學(pharmacokinetics, PK)、藥效學(pharmacodynamics, PD)和/或藥品

之脫靶效應，這可能導致小兒族群(如 ICH E11 所述)與成人在安全性和/或功效性上的差異。

為了設計合適且有效的非臨床計畫，必須先全面瞭解臨床研發計畫。應依據證據權重法則(weight of evidence, WoE)進行評估，以決定是否必須為小兒族群而進行非臨床研究，且應隨著臨床研發進程，依據當前所有的可用數據來調整證據權重法則。因小兒年齡、適應症和治療持續時間的不同，相同藥品但不同投予途徑可能會獲得不同的證據權重法則評估結果。依據 ICH M3，對於支持小兒族群的短期 PK 試驗而言，幼齡動物的毒性試驗通常並不重要。

建議儘早將支持小兒藥品研發之非臨床資料納入考量。例如，為釐清小兒族群之潛在安全性疑慮，其中一種方法為變更非臨床計畫之傳統設計和/或時機(例如：於更小的年齡開始進行重複劑量毒性試驗，以支持相對應的小兒病人發育階段)。另一種方法則是相較於一般藥品研發時程(參考 ICH M3 和 S6)，提前進行產前及產後發育(pre- and postnatal development, PPND)試驗，並調整子代的毒物動力學(toxicokinetics, TK)和其他指標。上述變更皆可取代或改善 JAS 的設計。

只有在先前的非臨床和人體數據不足以支持小兒臨床試驗時，才需要執行額外的非臨床研究。JAS 係設計用來釐清其他非臨床試驗或小兒臨床試驗所無法釐清之安全性疑慮(包含潛在長期安全性影響)。本指導原則建議可客製化 JAS，包括核心設計評估指標及因應特定疑慮之潛在額外評估指標。

某些法規單位有定義小兒藥品研發計畫之相關程序(參考 ICH E11)，在執行 JAS 之前，建議廠商儘早與法規單位互動，以便有效率地開發小兒藥品。

二、 執行額外非臨床安全性研究的考量

(一) 臨床試驗部分

ICH E11 規範討論了小兒藥品的臨床研究計畫，建議在設計非臨床試驗前，應先瞭解小兒藥品的臨床研究計畫。小兒臨床研究計畫的內容包括適應症/情境、目標小兒年齡組別及治療方案(尤其是發育期用藥的持續時間)。小兒藥品的臨床研究通常是接續在初始的成人臨床試驗之後，但亦可與成人臨床試驗同時進行、或也可以不先進行任何成人臨床試驗。是否建議進行額外的非臨床試驗，以及非臨床試驗之設計和時機點，係取決於已知的安全性疑慮及預期小兒臨床用途而定。

對於嚴重衰弱或危及生命之疾病或對於目前小兒族群具有嚴重醫療迫切需求之疾病，廠商與法規單位應在「獲取既有試驗以外的新數據對於患者之助益」，以及「執行額外非臨床試驗延遲患者取得新藥之可能性」間衡量。是否執行非臨床試驗與執行的時間點，應依據完整的風險效益評估而定。在上述情況下，若可

因新資料產出而辨識出安全性疑慮，則應考慮進行適當之非臨床試驗，且可與正在進行中的小兒臨床試驗同時進行。

（二） 證據權重方法

制定小兒藥品的非臨床研究計畫取決於整體證據的綜合評估，包括臨床背景和藥理學、藥物動力學(ADME)、體外與體內非臨床試驗數據、以及臨床安全性數據(成人和/或小兒)，也就是證據權重方法。證據權重方法同時考量多種因子進行評估，因此不應單獨考量單一因子。在考量所有因子之重要性後，得出最終結論，才可判斷目前的數據是否足以釐清申請案中小兒族群之安全性疑慮，或是仍需要進行額外的非臨床試驗以釐清這些疑慮。此外，亦應考量 JAS 結果的生物相關性及推論至人體之可能性。

在設計初始小兒研究計畫時即應進行證據權重評估，若非臨床或臨床試驗出現新的安全性疑慮，或變更年齡範圍、用藥途徑、治療持續期、藥品配方和/或適應症時，則應重新評估。各試驗之證據權重評估結果，可能依據小兒族群和預計治療之疾病而有所不同。

圖 1 列出應於證據權重評估中考量的重要因子。最重要的因子(意即權重最高)為預期病人之最低年齡以及是否可能對病人發育中器官系統產生不良影響，圖中其他因子則未依照重要程度排序。此清單不一定涵蓋所有情況，可能仍有其他應考量之特定因子。後續章節將針對證據權重因子進一步描述。

圖 1：在決定是否必須進行非臨床試驗時，需考量之重要證據權重(WoE)因子。最具權重之因子(排序最高)為預期病人之最低年齡及小兒試驗期間是否可能對病人的發育中器官系統產生不良影響，其他因子則未依照重要程度排序。

（三） 評估證據權重之考量

1. 臨床資料(證據權重因子：預期病人之最低年齡；既有數據的總量/類型；臨床治療持續期)

預期病人之最低年齡是最重要的考量因子之一。如同 ICH E11 所述，將小兒族群以年齡來分類的做法過於獨斷，但如圖 1 中的分類方式仍有助於思考以何種非臨床試驗來支持此類病人的安全性。若需以年齡分層，則應著重病人之生理發育狀態。對於較年輕的小兒病人年齡範圍，可能更需要執行額外的非臨床試驗。

由於既有的小兒病人臨床數據，常來自其他小兒次族群(若可得)及使用同種藥品之成人。因此，已建立的臨床安全性概況通常是在決定是否需執行額外的非臨床試驗時，所需優先考慮的要點之一。

臨床治療持續期是決定是否必須進行額外非臨床試驗的另一項因子。較長的治療持續期(例如：3 個月、6 個月或長期間歇性治療)更有可能使小兒受試者於發育敏感期小兒暴露在藥品下，因此相較於短期治療，更有可能需執行進一步的非臨床試驗。短期的藥品暴露雖然比較不會造成發育層面的問題，如影響生長。然而，如果發生在器官發育的脆弱時期時，短期暴露亦可能造成有害影響。

若既有的臨床安全性資料及風險管控策略足以支持小兒使用該藥品時，則無須進行額外非臨床試驗。此外，如果不預期成人和小兒病人在標靶器官對藥品毒性的敏感性存有差異，則無需為了確認標靶器官之毒性而執行 JAS。但是仍需考慮標靶組織及非標靶組織在發育上的差異性。

若已有成人臨床數據，且藥品暴露未發生於器官發育脆弱時期，JAS 用於支持小兒病人的初始短期 PK 試驗，不認為具有重要性(請參考 ICH M3)。

2. 藥理學性質(證據權重因子：對發育中器官系統的影響；於器官發育期產生藥理作用之標的；藥品的選擇性與專一性)

藥品之主要或次要藥理學性質可能導致不必要的副作用，若此類副作用發生於系統/器官發育時、或發育中器官與成熟器官對藥品具有不同的敏感性時，可能衍生小兒使用該藥品之疑慮。建議首先應對藥理學標的(例如：受體、酶、離子通道和蛋白質)於發育期之表現及其發生史，或該藥理學標的於發育期的可能角色，檢閱相關文獻以全面瞭解其生理表現。自基因改造動物(如剔除某個受體)所得到的數據亦可用來識別藥理學標的是否可能會影響小兒族群的發育，此類資料亦可納入至證據權重評估。

若藥品已知的藥理性質可能影響目標小兒族群的發育，或是藥品的藥理性質對於發育過程的影響尚屬未知或無法合理預測，則應考慮執行進一步的非臨床研

究。對標的具有高度選擇性和專一性的藥品(例如：單株抗體或雙特異性抗體)，其潛在不良反應可能為過度之藥理作用，因此比低選擇性和專一性藥品更易於預測。而選擇性和專一性較低的藥品，可能因具有次級藥效作用，需要執行進一步的非臨床試驗的可能性較高。使用幼齡動物或人類小兒的組織或檢體(例如：血清、尿液)進行體外或離體研究，可能有助於確定年齡對藥品敏感性的潛在影響。

當目前的藥理學資料已發現藥品具有特定危害時，則進一步的非臨床試驗可能並無助益，除非需要更詳細了解劑量反應關係或成年和幼齡動物的敏感性差異。

3. 藥物動力學數據(證據權重因子：既有數據的類型與數量)

對於 ADME 具重要性之器官成熟程度(例如：胃腸道、肝臟及腎臟系統)，會改變人與動物體內之全身性藥品暴露量，導致藥品功效和毒性出現年齡上之差異。在人類中，這些差異性通常在新生兒和嬰幼兒中最為顯著。

臨床藥理學及建模與模擬工具被認為是有助於提供小兒受試者使用藥品時的藥物動力學、藥效學、功效和安全性等資料(見 ICH E11)。一般而言，JAS 提供的資料通常不足以預測人類 ADME 在年齡上的差異性。

4. 非臨床安全性資料(證據權重因子：對發育中器官系統的影響；既有數據的類型與數量)

既有非臨床數據應可用來評估藥品對小兒受試者之發育中器官的潛在影響。例如，在小兒受試者可能達到類似動物之暴露量，將特別增加疑慮，尤其當這些現象發生在目標小兒年齡層之重要器官/組織的出生後發育階段(請參考附錄 A)。此外，成年動物出現的安全性警訊，若不止在一個物種中發現，也應格外重視。即便成年動物出現的毒性無法對映到成年人類的不良反應，若這些毒性標的器官/系統在相關小兒受試者仍處於發育階段，仍應適宜小兒評估這些毒性對小兒受試者之潛在影響。依據動物起始用藥年齡及納入的評估指標，既有的毒性試驗資料或許可釐清部分疑慮。

基因毒性試驗與安全性藥理試驗通常是為了支持成人臨床試驗而執行，在進行小兒臨床試驗之前即應取得上述試驗資料。若安全性藥理試驗結果顯示某藥品可能對目標小兒病人族群之發育中或正在成熟之器官系統的結構或功能造成影響，則應考量該影響可能造成的後果。一般而言，不需要以幼齡動物執行額外的基因毒性和安全性藥理試驗來支持小兒的適應症。

生殖發育毒性試驗的數據中也能提供有用的資料。若已有 PPND/ePPND 試驗的數據，且這些數據已顯示出生後子代帶有臨床相關的全身性藥品暴露量，則

可使用這些數據進行證據權重評估(請參考第一章第(四)節)。對於使用非人類靈長類(non-human primate, NHP)所進行的 ePPND 試驗，子代的數據可以描繪出早期產後發育期之毒性，及確認子代的藥品暴露量與藥效。

若可得，應參酌 PPND/ePPND 數據與一般毒性試驗數據，評估執行額外非臨床研究是否能有所幫助。應考量母體及胎兒對藥品的耐受性，這可能影響子代數據的解讀。僅憑子代發生不良反應，不一定建議應執行 JAS。然而，若在 PPND/ePPND 試驗中出現安全性的疑慮時，則應將其納入證據權重評估。在嚙齒類動物，若能證明藥品的暴露量，則這些數據可對應至早產或足月出生的新生兒。然而，在決定動物的發現與人體相關性時，應考量不同物種在器官系統發育上的差異。

若已有先前執行的 JAS 數據，則應將其列入證據權重評估。

5. 可行性

決定是否執行額外的動物試驗時，亦應考量試驗設計和評估指標在技術上及實務上的可行性。對某些物種來說，某些評估指標可能難以做到(如需進一步了解，請參考第三章)。

此外，若以幼齡動物執行之劑量探索試驗(Dose Range-Finding, DRF)顯示，確認 JAS 無法得到適當的全身暴露量或是在目標小兒患者之相關年齡範圍進行，則此確認性 JAS 可能無法提供有用資料或缺乏必要性(請參考第三章第(二)及第(六)節)。

(四) 證據權重評估的應用與結果

證據權重方法應用來評估是否需執行額外的非臨床試驗，且著重於最能評估臨床風險的相關因子。若認為需執行非臨床試驗時，已發現之特定安全性疑慮應作為這些非臨床研究之指引；這些非臨床研究可能是 JAS 或其他試驗(例如：體外或離體研究)。對於 JAS 而言，其試驗目標應與證據權重評估結果及預計小兒用途一致，此點對於設計及客製化 JAS 給藥期和評估指標相當重要。

證據權重方法的應用範例請參考附錄 B。

三、 非臨床幼齡動物試驗的設計

(一) 一般考量/試驗目的

本章節包含對於 JAS 試驗設計、核心評估指標及釐清特定疑慮之額外評估指

標之建議。設計 JAS 時，若缺乏個別額外評估指標之理由，不建議加入所有可能之額外指標。應依循藥品非臨床試驗優良操作規範(Good Laboratory Practices, GLP)來執行 JAS。

人體及動物器官系統的成熟階段，會影響人類或動物對毒性之敏感性。瞭解各物種於發育期間之器官成熟程度與功能，不僅有助於設計適當的 JAS，並且有助於將動物的非臨床毒性反應推論至相對年齡之人類。各器官系統的發育狀態並不一致，物種間發育狀態之比較可能極有挑戰性。例如，人類和動物出生時的相對成熟狀態、出生後成熟速度和/或成熟狀態之調控便相當不同。雖未臻詳盡，若需要比較各物種的器官發育情形，可參考附錄 A 之表格 A1-A5。

（二） 劑量探索試驗

建議使用少量的幼齡動物執行劑量探索試驗(DRF)，以評估與暴露量和年齡相關之藥品耐受性。於離乳前開始給藥可避免非預期之死亡或過多毒性(通常與藥品暴露量無關)，將更有助於設計確認性 JAS。劑量探索試驗給藥時，應包含確認性 JAS 預計之動物最低起始年齡，以評估耐受性和暴露量差異最明顯之時期。DRF 試驗通常為期較短、只納入部分評估指標、且不預期包含所有核心指標(例如組織病理切片)。當然也可在 DRF 試驗中探索特定指標，藉此完善確認性 JAS 的試驗設計。執行 DRF 試驗時，可以不必遵循 GLP 規範。

DRF 試驗可揭露與小兒發育相關的重要資訊。藉由 DRF 試驗，可鑑別出不同年齡範圍間之暴露量差異，並可能有助於調整確認性 JAS 的給藥方式(請參考第三章第(四)及第(七)節)。

若於預期小兒臨床暴露量的 DRF 試驗即顯示缺乏耐受性，則可能代表對應之臨床年齡範圍具有嚴重的安全性疑慮(意即幼齡動物對藥品的毒性比預期更為敏感，這可能與其尚未成熟有關，與臨床小兒使用有相關性)。若不瞭解小兒敏感性更高或顯著毒性差異之原因時，宜審視既有之 ADME、安全性及發育生物學知識，並依此進行額外研究，將有助於解讀這些差異。這種情況可能必須進行客製化 JAS 研究，以進一步找到敏感的年齡範圍和/或瞭解毒性的可能機制。上述的額外研究結果，可能會隱含對於特定年齡小兒之安全性疑慮，而因此調整預期的小兒臨床年齡範圍，若確有調整小兒臨床年齡範圍，應重新審視證據權重評估結果(請參考第二章第(二)節)。

（三） 動物試驗品系之選擇

當必須進行 JAS 時，大多數情況下僅需使用一個物種。原則上應優先考慮使用成年動物重複劑量試驗之相同物種，通常偏好使用嚙齒類動物。在任何情況下，

皆應充足說明選擇物種的理由，不建議使用與藥理學無關的物種執行非臨床試驗，以避免造成錯誤解讀。

在選擇試驗動物品系時，應考量下列因素：

- 對於動物之藥理或毒理學標的(例如：受體)發育史之瞭解，與目標小兒族群之比較。
- 傾向使用已有成年動物重複劑量毒性試驗數據的物種和品系，以便比較幼齡和成年動物之間的毒性及全身暴露量。
- 毒理學標的器官
    - 相較於目標小兒族群，幼齡動物之相對器官/系統發育階段小兒(請參考第三章第(四)節)。
    - 動物模式是否能夠偵測有疑慮之毒性指標。
- 與人類 ADME 特性之相似度。
- 在使用選擇的物種進行試驗時，技術上與實務上是否可行。

若想要瞭解使用不同嚙齒類動物(大鼠、小鼠)或非嚙齒類動物(兔子、狗、迷你豬和非人靈長類)之優缺點，可參考附錄 A 之表 A6。

儘管對許多生物製劑來說，NHP 具有藥理學上的相關性，但由於科學及實務上的原因(例如配種、運輸及管理親代與子代的配對)，使用離乳前 NHP 進行 JAS 極具有挑戰性。此外，使用離乳後 NHP 進行 JAS，僅能提供有限的助益。離乳後 NHP 的器官系統，相對於人類小兒年齡，通常更為成熟(請參考附錄 A)。僅有少數使用離乳前 NHP 進行之 JAS 具有足夠參考之價值(例如：預期的新生兒用途和 ePPND 試驗的藥品暴露量不足時)，因此，通常建議使用其他物種進行試驗(請參考第(四)節)。

如同 ICH S6 所述，可考慮使用可取得之同源蛋白質(homologous protein)來達到於幼齡嚙齒類動物或非嚙齒類動物危害辨識之目的。

當首次用於人體的臨床試驗即以小兒族群做為受試者(請參考第(四)節)，或對於出生後發育期有多項特定疑慮且無法使用單一物種釐清時，則可能有使用兩個物種執行 JAS 之必要。然而，依據 ICH S6，生物藥品應使用藥理相關的物種來進行評估。通常無需使用第二種物種執行 JAS 來驗證第一個物種試驗的結果。

若某種小兒疾病已有動物模式(例如：酵素替代療法)，且已被用於支持藥品研發，則可在這些動物試驗中納入合適的安全性評估指標(例如：組織病理與臨床病理學)。這些資料可有助於進行證據權重評估，而不需再執行 JAS。

（四） 動物年齡、給藥期與給藥方式

動物在開始用藥時的年齡應相當於預期病人最年輕的年齡，並依據毒理所關注的器官系統比較人類與動物的器官系統發育期。由於物種之間各器官的發育期並不一致，因此應依據具有潛在疑慮之標的器官/系統或預期病人族群特別脆弱的發育中系統排定優先順序。應依據相關資料，說明選定初始給藥時之動物年齡的理由(例如：附錄 A 之資料)。

與為成年族群執行的非臨床試驗(請參考 ICH M3)相較之下，JAS 的給藥期不一定要與小兒族群的臨床治療持續期具有直接相關性。決定 JAS 的給藥期時，應考量小兒年齡範圍、動物發育期通常比人類短、對預期小兒族群的安全性疑慮及疑慮標的器官的相對發育期。JAS 通常應在有疑慮系統的生長發育關鍵期和活躍期投藥，請參考附錄 A 之動物發育關鍵期和活躍期。

舉例來說，若某藥品唯一有疑慮之目標器官為腎臟，則可使用著重於大鼠腎臟發育期執行之短期 JAS 作為支持性資料，無須顧及臨床治療持續期的長短。反之，即使臨床治療持續期很短，為釐清相關疑慮，仍可使用動物進行長期給藥試驗，藉此涵蓋發育時間不同或具有較長發育時間的器官系統。例如，某藥品具有影響中樞神經系統之疑慮，可以利用離乳至成熟期投藥之大鼠所進行的 JAS，支持其預計用於 2 歲以上小兒病人 10 天的臨床治療持續期(請參考附錄 A)。

若臨床治療預期將持續到青春期，通常會使用嚙齒類動物持續進行試驗直至動物達到成熟期。由於 NHP 自出生至成熟期需歷經數年，使得在 NHP 投藥至成熟期不切實際。再者，NHP 進入青春期及成熟期的時間點通常個體差異較大。然而，若可在數個月內進入成熟期且個體間相對一致，仍可能使用其他典型非嚙齒類動物進行給藥持續至成熟期之試驗(如迷你豬，請參考附錄 A)。

JAS 給藥方式應使動物在具有疑慮的發育期間，達到並維持相當的藥品暴露量。因此，JAS 的給藥方式，可能與臨床的給藥方式不完全相同。例如：臨床給藥頻率可能是每週一次，但幼齡動物可能需要更頻繁的給藥方式。如果幼齡動物體內的藥品蓄積造成疑慮，其投藥頻率亦可低於成年動物毒性試驗(例如：每天給藥改為每隔一天給藥)。

當數據顯示不同年齡的動物對於藥品具有不同耐受性或暴露量不同時，應考慮隨著時間調整劑量，以取得在適當發育期間且達到臨床相關暴露量之資料。

若在一 JAS 中，預期動物無法耐受其給藥期，為了達到臨床相關之暴露，或許可將給藥期切分到不同子群(例如：可將 6 週的 JAS 給藥期，分為兩個子群，每群 3 週，分別從不同年齡開始給藥)。若採用不同給藥期切分到不同子群的方法，可能須追蹤所有子群至成熟期，以偵測延遲性效應。不過，使用此類試驗方法時亦需考量其缺點，如增加試驗動物數量及難以解讀不同年齡動物之數據。

（五） 給藥期後的評估

建議可於 JAS 停止給藥後，再加上一段停藥後的觀察期，以幫助釐清下列兩項問題：(1)給藥期所觀察到的任何現象是否可逆、或可能持續、或惡化；以及(2)後續發育產生之任何變化，是否為早期藥品暴露所引起(意即延遲發作)。

應依據證據權重評估及試驗評估指標，來決定是否需進行停藥後的觀察，並可套 ICH M3 評估可逆性的相關原則。停藥後觀察期的時間應要足夠觀察反應的潛在恢復情形，且應考量藥品的排除情況。然而，無需證明這些反應是否完全可逆，只需要知道是否有可逆的傾向(例如：發生率和/或嚴重性減少)，以及判斷這些反應最終是否會完全回復的科學性評估就已足夠。同樣的，若已確定成年動物之特定反應具有不可逆性，通常無須進行 JAS 去確認。不過某些 JAS 觀察的指標，例如進入青春期的時間點，可能不適用於傳統上評估可逆性的方法。此外，應考量停藥後觀察期位於動物生命周期的哪一階段，若停藥後觀察期是在動物成熟之前，恢復能力可能會受到特定器官的持續生長發育所影響，因此，應小心解讀相關數據。

某些特定變化只會於停藥後的觀察期才出現，因此應規劃足以讓器官成熟且表現出變化的觀察期長度。某些項目(例如：學習、記憶和免疫功能)必須等動物達到某種成熟程度後，才能進行有意義的評估，這些評估可在確定停藥後觀察期已能涵蓋所有臨床使用時機後進行。在某些案例中，JAS 於動物未成熟的年齡即停止用藥，而停藥後觀察期則可允許動物持續成熟到可執行適當評估。

於停藥後觀察期進行評估，可幫助釐清早期藥品暴露引起之延遲發作，尤其是動物尚未成熟即已停藥之情況。

對於非嚙齒類動物，依據物種不同，若發育持續時間非常長、個體差異大、或是延遲或富變化的發育狀態的評估方式(例如：學習和記憶測試)尚未完全建立時，於 JAS 加入停藥後觀察期的組別用處不大。

（六） 給藥途徑

如果可行，JAS 應使用所擬的臨床給藥途徑，但仍應以獲得足夠的全身暴露量為最優先考量(請參考第三章第(七)節)。

在難以執行的情況下(例如：於離乳前大鼠以口服方式投予一皮膚產品)，可能需考慮其他給藥途徑。亦可考慮於試驗期間更改給藥途徑(例如：在靜脈注射可行之前，先皮下注射)。應充足說明採用其他途徑的有效性(例如：提供代表性幼齡動物之暴露量數據)。

若預計有兩種或多種臨床使用途徑，使用一種給藥途徑進行 JAS 即足夠，但應證明幼齡動物中達到的暴露量足夠涵蓋所有預期臨床給藥途徑之暴露量。

（七） 劑量選擇

最好能針對不良反應找出劑量－反應關係，並訂出幼齡動物中不造成任何不良反應的劑量(NOAEL)。所選劑量的暴露量應與成年動物的暴露量有部分重疊，以便比較年輕及成年動物之間的藥品反應。然而，為避免使評估更為複雜，高劑量組不應造成會明顯干擾生長和發育評估指標的毒性。由於可能會混淆試驗結果，JAS 應盡量避免體重減輕或體重停滯的情況發生在快速生長期。在試驗動物可耐受的情況下，至少須有一個劑量的藥品暴露量近似於預期臨床族群之暴露量。對於小分子藥品而言，可套用 ICH M3 的選擇高劑量原則；對於生物藥品而言，則可適用 ICH S6 的原則來決定劑量。

若在 JAS 期間因 ADME 系統成熟，使藥品的全身暴露量有實質變化，則應考慮在 JAS 期間調整劑量(增加或減少)。劑量調整乃為了維持一致的全身暴露量及臨床相關性。一般而言，於 JAS 期間調整劑量不宜超過一次。

（八） 觀察指標

一般而言，JAS 應使用下列第三章第(八)節所提及的核心評估指標。此外，亦可考慮使用額外的評估指標(請參考三章第(八)節)，並解釋該評估指標何以釐清已發現的安全性疑慮。當有說明充足理由時，在某些情況中(如後續研究用的 JAS)，可能無需觀察所有核心評估指標。

加入某項指標時，應考量且說明這項指標不會在動物離乳時或離乳前，增加太多侵入性程序或延長試驗程序，以避免造成死亡。

1. 核心評估指標

I. 死亡率與臨床觀察

在整個實驗期間皆應評估死亡率。應於給藥期和停藥後，進行包括身體檢查在內之臨床觀察，以確認對行為的明顯影響。

當幼齡動物於離乳前就開始給藥時，應對親代動物進行臨床觀察，包括評估哺乳及育幼行為。對於仍在吸乳期之幼獸和成年動物進行的臨床觀察可能略有不同，且可能代表不同的動物健康狀態(例如：飽水程度可反應幼崽的營養狀態)。因此，對於子代的臨床觀察應能涵蓋對吸乳期幼獸之特定項目。並於離乳後，進行與成年動物相同的臨床觀察。

II. 生長

應依據體重及長骨長度，來評估動物之生長狀態。出生後早期時，體重可能激增，因此應制定適當的個別體重測量間隔，以獲得計算劑量所需之資料。一般而言，於剖檢時測量一根長骨(例如股骨)的長度即足夠(請參考第(五)節)。

III. 攝食量

應依物種及飼養條件來測量離乳後動物的攝食量。

IV. 性別發育

當試驗設計涵蓋動物進入青春期時，建議應觀察青春期開始之指標(例如，對嚙齒類動物來說，即為母鼠陰道開啟及公鼠陰莖與包皮分離)。

V. 臨床病理學

若預計評估時，該週齡動物的臨床病理數值範圍已知，且可以幫助解釋組織病理發現，則應於試驗期末剖檢時，進行標準臨床病理學檢查(血清生化及血液學檢查)，做為試驗結束時的評估指標。

VI. 解剖病理學

給藥期結束和/或停藥後觀察期結束時，應針對要被解剖的動物進行病理剖檢、測量器官重量、收集與保存臟器組織，且應針對重要器官(例如：骨頭/骨髓、腦、胃腸道、心臟、腎臟、肝臟、肺臟、卵巢、可評估精子形成過程之成熟雄性動物的睪丸、肉眼觀察到的病灶、及已知的藥品作用標的器官)進行微觀病理評估。

若需進行 JAS 支持首次用於小兒的臨床試驗(請參考第(四)節)，則建議使用與成人毒性試驗相同之標準組織種類進行組織病理學評估。

VII. 毒理動力學

在 JAS 中設計觀察毒理動力學(Toxicokinetics, TK)時，強烈建議使用微量採樣(microsampling)和稀疏採樣(sparse sampling)模式(請參考 ICH S3A)。

應於接近給藥期開始與結束時，進行毒理動力學採樣。若是離乳前就開始給

藥，則可考慮於試驗期中進行 TK 評估。如果在試驗期間調整了劑量，則建議進行額外的 TK 採樣。JAS 的劑量探索試驗可以幫助規劃決定性 JAS 的 TK 採樣日期與時間(請參考第(三)節)。應考量將藥品具活性成分及相關的人體主要代謝物納入 TK 評估。對於生物藥品，若合適，應收集樣本檢測與評估抗藥抗體的產生(請參考 ICH S6)。

2. 額外的評估指標

應依據證據權重評估所發現疑慮的類型與強度，來決定是否需要納入觀察額外的指標。

I. 其他生長指標

視動物物種而定，可使用頭臀長、體長(例如：鼻尖至尾巴)和/或肩胛高可用做為生長的指標。除了剖檢時的直接量測，亦可利用非侵入性影像技術(如 X 光)量測非嚙齒類動物的長骨長度亦相當有用。

II. 骨骼的評估

對於骨骼代謝或結構上有發現疑慮時，應考慮納入額外評估指標。例如：測量骨質密度和骨骼的幾何構造、與骨質生成和吸收有關的血清及尿液生物指標、以及骨組織型態。

III. 臨床病理學

可考慮納入額外的血液學、血清生化學和/或其他生物指標，以進一步剖析已發現之標的器官/組織疑慮。亦可於必要且可行時，納入其他參數，例如尿液分析或凝血功能評估。

由於較難於幼齡動物取得足夠的樣本量(尤其是嚙齒類動物)，額外取樣本可能需要額外的動物數量，因此僅建議在對於釐清疑慮具關鍵影響才額外取樣。當樣本量有限制時，則應依照所辨識的疑慮，來優先選擇相關指標。

IV. 解剖病理學

可評估額外的組織/器官，以釐清某些特定的疑慮。需要進一步評估時，可使用免疫組織化學染色或其他特殊組織染色方法、電子顯微鏡、組織型態量測學或

其他影像技術。

V. 眼科檢驗

由於人類眼球結構大多於出生前即發育完成，因此 JAS 通常不包括常規的眼科檢驗(例如：眼瞼反射、眼底鏡檢查)。然而，若有眼部毒性之疑慮，應考慮針對眼部指標加以評估。

VI. 中樞神經系統的評估

中樞神經系統(CNS)評估分有許多不同類別，例如：

- 詳細的臨床觀察
- 動物行為觀察
- 學習與記憶測試
- 廣泛的神經組織病理評估

應依據證據權重評估中所辨識之疑慮，選擇需要觀察的額外 CNS 指標。決定在 JAS 進行這些額外評估之時機點時，應考量其結果是否將用於研究因過度藥理作用、發育神經毒性(亦即持續存在或在停藥後才發生之影響)或兩者同時造成之不良反應。

若藥品的標靶在 CNS，應考量該藥品跨越腦血管障蔽後的分布程度及腦部的哪些區域可能受到影響(例如：可能因標靶分布及相關作用途徑造成影響之區域)。若已知此類資料將有助於選擇合適的額外 CNS 指標(例如：決定是否需要評估學習記憶及其他指標時)。

詳細的臨床觀察是 CNS 評估中非常關鍵的一環，因此應視情況於給藥期及停藥後觀察期進行詳細的臨床觀察。應紀錄這些觀察項目的嚴重程度，及相對於投藥時間，其臨床症狀開始及持續的時間，以判斷是否 CNS 症狀暫時與藥品暴露有關。

有許多可使用之行為測試，包括評估運動能力、協調及反射和/或聽覺驚嚇反應〔例如：習慣化(habituation)或前脈衝抑制(prepulse inhibition)〕。功能觀察(Functional observational battery, FOB)或修飾過的 Irwin 測試(modified Irwin test)被認為對幼齡嚙齒類動物具有較低的敏感性，因此其用途有限。所篩選的測試應適用於被測試物種，且試驗動物之行為測試的時機點應考量該試驗動物於評估時之成熟程度。在決定是否於給藥期間進行行為測試之前，應考量藥品作用(例如：鎮靜或運動協調的抑制)是否可能干擾行為測試結果。

若於證據權重評估中發現到與學習和記憶有關之疑慮時，則應選擇適合評估相關疑慮的複合性學習任務。若需評估對於學習及記憶的持續影響或延遲影響，應於停藥後觀察期進行相關評估。

出生後 CNS 評估通常會使用嚙齒類動物進行，若嚙齒類動物對藥品不是合適的物種時，亦有其他物種(例如：犬、迷你豬等)可進行的行為測試。在 NHP，於 JAS 或 ePPND 中的行為觀察可用於評估潛在的 CNS 影響。在 NHP 已開發出許多類似用於人類小兒的學習評估方法，但是因為這些試驗設計複雜且個體間差異很大，實際上極少使用這些評估方法。

最後，若證據權重評估發現任一 CNS 區域或結構可能受到影響(例如：海馬迴或髓磷脂等)，則應在給藥期結束及停藥後觀察期後的剖檢，進行廣泛神經病理組織評估(例如：檢查額外的組織切片、免疫組織化學和特殊染色等)，亦可視情況使用影像技術。

VII. 生殖評估

若有對雌性和/或雄性生殖器官或功能產生影響之疑慮，在進行組織病理檢查和測量器官重量時，除了性腺之外，亦可對生殖和/或內分泌組織進行上述檢查。不過，針對已於成年動物發現不可逆的生殖系統之影響，JAS 評估並不具重要性。

對於雌性嚙齒類之相關生殖疑慮，建議觀察動情週期，以評估生殖及內分泌功能。對於雄性嚙齒類之相關生殖疑慮，若有助於鑑別藥品的影響，可考慮進行精子分析(例如：精子計數、活動力和型態)和/或睪丸免疫組織化學染色(如觀察細胞凋亡)。

相對於試驗物種生殖成熟之時間，給藥與評估的時間點極為關鍵。在設計試驗及決定生殖評估的時間點時，應考量濾泡生成和精子生成的時間點。僅能於性成熟的動物評估其生殖器官或功能(例如：動情週期、精子計數、或精子生成之性組織評估)。若臨床用藥族群的年齡涵蓋青春期之前的階段，則需考慮藥品是否會導致性成熟延遲或影響成年生殖功能。而若臨床治療僅限於青春期之前，則 JAS 應設計為僅使用未成熟動物進行給藥，然後在不進一步給藥的情況下，讓動物成熟並在動物達到性成熟後進行評估。

通常不建議於 JAS 進行配種評估。大多數對於與雄性生育力相關的生殖器官的影響，皆可經由組織病理偵測。在雌性嚙齒類動物中，評估動情週期性及卵巢組織即可辨識許多與發育相關的生殖危害。對於犬類和 NHP 而言，由於發育時間較長及個體變異度大，因此較難以進行配種評估。

由於內分泌激素濃度的變異度較高(尤其是青春期)，通常不建議 JAS 進行內分泌激素的評估。因此，若需評估內分泌激素應詳細說明理由，並且清楚了解測定特定內分泌激素的時間點，與動物年齡之間的關係。

生殖評估的可行性在於大多數使用嚙齒類動物，但若非嚙齒類動物於 JAS 期間達到性成熟期，亦可考量使用非嚙齒類動物進行生殖評估。

VIII. 免疫評估

如果藥品類別或來自動物或人體的資料顯示有影響免疫系統發育的疑慮時，建議依據 ICH S8 進行免疫毒性評估。這些對於發育很重要的疑慮，可能包括暫時性、長期、或永久性增加或降低淋巴球亞型之數量或功能、或是增加或降低免疫球蛋白。應於適當的發育階段進行功能性的檢測，例如可於大鼠出生後第 45 天進行 T 細胞依賴性抗體反應檢測。然而，若已完整鑑別相關毒性，通常不需於 JAS 確認免疫毒性。

（九） 分配動物至試驗組別與指標子集

1. 離乳前分配

一項確認性的 JAS 可能規模龐大且複雜，因此在維持科學嚴謹性和使用動物之間取得平衡是非常重要的。在開始設計試驗之前，研究者應完整了解所有預期評估之指標(核心指標及額外指標)。高效率的試驗設計是依循 3R 原則減少使用試驗動物的關鍵，並應以親代動物(及其子代)數量來衡量試驗設計之效率，親代動物(及其子代)數量包括被排除在標準化幼崽窩之外的幼崽及未被分配評估特定指標之幼崽。

對於多產非嚙齒類動物有很多不同管理幼崽的分配方式。每胎僅有一隻或少數子代之物種(例如：NHP、犬)可依照一般毒性試驗的分配原則來設計組別分配。

對於大多物種來說，於離乳前開始 JAS 表示必須針對一窩子代進行給藥。在此情況下，儘管母獸是提供子代營養和照護的關鍵一環，但子代才是主要的試驗系統。設計試驗時，應考量降低潛在干擾因子，而針對 JAS，最重要的干擾因子通常是母獸育幼和每窩幼崽數，而不是遺傳基因。為了減少干擾，可考量如何組成幼崽窩、如何標準化幼崽窩、如何分配幼崽窩至各劑量組別，以及如何分配個別幼崽進行指標評估。

組成試驗動物之幼崽窩時，應篩選表現良好育幼行為之母獸及健康狀況良好之幼崽。建議將相同週齡的幼崽依照數量或性別比例標準化分配(例如：分配大鼠時，每窩分配 4-5 隻子代/性別/窩)，上述之標準化幼崽窩分配可透過完全領養(隨意混合所有幼崽窩)或最少領養(盡可能維持幼崽窩完整性，僅為了調整每窩幼崽數及性別比例而領養別窩的幼崽)的方法達成。可行的話，試驗幼崽窩的標準化分配之時機，應使新幼崽窩在首次給藥前得到足夠的適應期。由於每窩幼崽數可能影響幼崽生長速率，因此建議在離乳前的階段，每個劑量組組內與組間使用之每

窩幼崽數目應維持一致。

分配動物至劑量組別時，應分配各標準化幼崽窩至同一劑量組別，以避免交叉汙染、及試驗和對照子代競爭吸乳位置和時間。

在確認性試驗中分配個別動物至測量指標時，建議將同一窩中相同性別之幼崽分配到不同的評估指標，以避免母獸撫育造成之差異(請參考附錄 C)。

應於試驗計畫/程序和報告中，詳述領養幼崽的原則、幼崽窩標準化方法、劑量組別及評估指標分配方法，請參考附錄 C 提供之案例研究，該案例使用大鼠進行 JAS，並使用一分配方法減少了基因、母獸保育及每窩幼崽數等干擾因子。依據試驗目的及指標，仍有許多其他可成功分配幼崽窩之方法，但不論如何，選擇分配方法時應考慮及避免產生上述偏差。

2. 離乳後分配

對於多產的物種，建議設計試驗時應考量潛在干擾因子，尤其是在離乳後早期開始用藥及子代係以少數母獸供給之情況下，在設計試驗時應考量與離乳前分配類似之干擾因子。

（十） 動物數量與性別

JAS 的各組動物數量依據所選評估指標，宜參考確認性毒理試驗的每組動物數量(例如：使用 10 隻動物/性別進行停藥後剖檢，類似於大鼠重複性劑量毒性試驗)。為減少試驗動物數量，指標可於相同子集動物中合併評估，以提高效率(請參考附錄 C)。此外，一般建議 JAS 同時使用雌性及雄性動物。

四、 小兒優先/小兒專門藥品研發之考量

常見的小兒優先/小兒專門藥品的臨床研發方法，通常是在進行任何小兒臨床試驗前先在成人自願者進行首次用於人體(first-in-human, FIH)的試驗。且依據 ICH M3，這種研發方法通常包括了嚙齒類動物及非嚙齒類動物的重複劑量毒性試驗、安全性藥理試驗和基因毒性試驗。此外，ICH S6 的原則也同樣適用。支持成人 FIH 試驗的毒理試驗通常是使用兩個物種執行的標準化重複劑量毒性試驗，或者可將其中一個或兩個試驗開始時使用幼齡動物，並可針對某些物種，持續投藥至動物進入成熟期(請參考第三章第(四)節)。此外，使用幼齡動物進行試驗時應加入額外的相關指標(請參考第三章第(八)節)。使用幼齡動物進行試驗可能更具效率，因其可以支持在成人 FIH 試驗後更快地啟動小兒病人臨床試驗。

有時候，在治療小兒病人之前尚未有任何成年病人或健康自願者的數據(例

如：某些危及生命或造成嚴重衰弱的疾病可能只發生於小兒，或是某些藥品可能無法安全地使用在成人自願者上)。在這些情況中，FIH 試驗將在小兒病人進行，而其非臨床計畫通常會加入一項嚙齒類動物 JAS 及一項非嚙齒類動物 JAS。安全性藥理試驗和基因毒性試驗的執行則通常如成人臨床試驗的要求一樣，只是通常不需使用幼齡動物(請參考第二章第(三)節)。

若藥品預期用於治療小兒的慢性疾病，應使用一種嚙齒類動物及一種非嚙齒類動物進行長期毒性試驗。且應於上述至少一項試驗中，在相當於預期病人族群最低年齡的動物發育年齡開始投藥。原則上，若長期試驗是在相當於預期病人族群最低年齡的動物發育年齡開始給藥，便足以涵蓋所有小兒年齡及持續給藥時間，因此可取代成年動物長期試驗及一獨立之 JAS。此外，可能仍必須進行生殖毒性及致癌性等非臨床評估。

若需要針對生物藥品進行 JAS，依據 ICH S6，應僅得使用相關物種。可於幼齡或標準 NHP 重複劑量試驗中，加入以非侵入性方式觀察的安全藥理指標。且應依循 ICH S6 所述，探討潛在基因毒性及致癌性。

以離乳後 NHP 執行 JAS 時，通常使用 10 至 12 月齡的動物，因此限制了最低小兒年齡涵蓋的範圍。在首次且主要用於新生兒之藥品，且沒有其他可行的替代方法進行非臨床安全性評估的情況下，才建議使用離乳前 NHP 進行 JAS。若試驗預計對離乳前 NHP 直接給藥，就算是小規模的 JAS 也可能需要相當多的母獸。因此，應依據臨床疑慮，清楚說明試驗設計及其評估指標。此外，在設計試驗時也應保持彈性，以因應性別分布和子代體重的變異度。當支持最低小兒年齡的 JAS 不可行時，應考量是否有其他相關的替代方法(例如：體外試驗、基因改造動物模式或使用替代分子等)。試驗的設計請參考第(三)節。

五、 數據的解讀

(一) 解讀觀察指標時的考量

許多 JAS 之觀察值(例如：體重和臨床病理症狀)會依年齡、性別和物種/品系而變。年齡相符且同時並行的對照組數據(concurrent control data)對於解讀試驗結果極為重要。若可取得對照組的歷史數據或參考資料(例如：組織資料庫或影像庫)將有助於判讀結果，尤其是當該現象的發生率性低或出現非預期之早期死亡的情況(即，對照組數據缺乏或不足時)。

解讀幼齡和成年動物臨床觀察值的方法可能不相同，此外對於離乳前動物的評估也應考量母獸保育行為和整窩幼崽的整體健康狀態。

確認性 JAS 應將生長評估做為主要目標，最好能藉由在剖檢時評估長骨長度、體重與攝食量(若可得)來評估生長狀態。需要使用體重與攝食量來區分藥品

對長骨長度的作用是直接影響或間接影響(藥品造成營養不良和體重流失/減輕，而間接地影響長骨長度)。若僅體重增幅降低，則未必會影響生長。若為了偵測藥品對於生長的“短暫”影響而頻繁評估長骨長度，其結果不但難以解讀，且由於發育中的動物個體間往往存在生長速率的差異性，頻繁評估長骨長度能提供的資料亦相當有限。

器官重量及生殖器官開始發育的評估屬於生長評估的範疇，亦應進行。由於某些器官可能在發育期間會以不同的速率生長(亦即異速生長對比於等速生長)，因此器官重量變化並不一定會與體重變化成比例。此外，各器官受生長影響的敏感性可能不同(例如：大腦受生長影響之敏感性較其他器官更低)，因此解讀絕對及相對器官重量時應考量上述事項。

進行統計分析時，不應將於部分試驗動物幼崽窩所取得之子代數據，認為是獨立變數(請參考 ICH S5)。

(二) 對整體試驗結果的解讀

應對於所有試驗進行總體的評估，比較幼齡動物和成年動物之試驗結果的差異，並評估與人類臨床上的相關性。對於出現在幼齡動物但未出現於成年動物的臨床相關現象，以及幼齡動物與成年動物在敏感性方面之明顯差異，應加以討論。對於相關發現的整體解讀，應考量藥品影響的種類、嚴重程度、是否恢復、動物年齡、以及觀察到任何影響之藥品暴露量和/或劑量，並評估上述事項與預期小兒用途之臨床相關性。

六、 其他考量

(一) 賦形劑

藥品配方偶而會含有少用於小兒族群的賦形劑，為評估小兒臨床配方添加此類賦形劑之安全性，應盡可能取得此賦形劑之資料，並依循證據權重方法(請參考第(二)節)來評估。若沒有足夠數據可以支持此賦形劑使用於預期小兒族群，則可能有進一步安全性評估的必要，例如，於 JAS 加入一個單獨組別專門評估賦形劑。

(二) 藥品併用

研發於小兒使用之併用藥品時，應依循 ICH M3 對一般併用藥品提供之原則及本指引之證據權重方法進行非臨床評估。只有當以往的人類及動物試驗數據不足以支持併用藥品用於小兒族群時，且證據權重評估顯示進行 JAS 能有助於釐清

疑慮時，才需要進行 JAS。若需要額外的非臨床資料，在設計試驗時，應考慮哪一種指標適合釐清特定藥品併用所引起之疑慮。若認為適合進行 JAS 時，使用預期用於臨床之併用藥品進行評估即可，藥品個別成分的試驗可能不具重要性。若正在針對其中個別藥品進行 JAS，則可將併用藥品的額外組別納入該 JAS 一起執行，並可藉此獲得原本應另外進行併用藥品 JAS 試驗才能取得之數據。

七、 名詞解釋(以下的定義僅限此指導原則所用)

異速生長(Allometric growth)與等速生長(Isometric growth)

個體身形大小於生長時保持一定比例成長，稱為等速生長。相對於等速生長發生任何偏移，則稱為異速生長。異速生長時，骨骼長度、器官重量及體表面積可能依循著身體質量的指數函數而變化。

指標子集(Endpoint subset)

同一劑量組別中，被指定觀察相同指標的一群動物個體。

加強型產前及產後發育試驗(Enhanced pre- and postnatal development study, ePPND)

此類型的試驗設計是根據生物藥品的經驗(通常是在 NHP)，其設計是在 PPND 試驗中，針對新生兒和嬰兒(而非胎兒)，加入胚胎胎兒發育試驗(embryofetal development study)的元素。

領養(Fostering)

對於無基因相關性之後代，提供餵養及保育之行為。完全領養技術(fully fostering technique)是將幼崽窩隨機混合，其目的為不讓母獸照顧到其親生子代。最少領養技術(minimally fostering technique)則是盡可能維持每窩幼崽的完整性,僅在必要時領養別窩幼崽以達到需要的每窩幼崽數及性別比例。

幼齡動物(Juvenile animal)

處於出生後器官或系統型態及功能尚未完全成熟階段之動物。

幼齡動物試驗(Juvenile animal study, JAS)

為評估藥品對幼齡動物之毒性，而進行之非臨床安全性試驗。

小兒優先藥品研發(Pediatric-first development)

意指在研發任何成人適應症之前，先對治療小兒病人進行研發。

小兒專門藥品研發(Pediatric-only development)

意指專門針對小兒年齡使用的藥品所進行之研發(例如：治療新生兒呼吸窘迫症候群)。

證據權重(Weight of Evidence, WoE)

一種評估來自數種來源資料之方法，以決定是否有足夠證據支持小兒用藥的研發，或是否必須進行額外的非臨床試驗，以釐清潛在的安全性疑慮。

證據的權重係依據相關因子而定，例如數據品質、結果一致性、藥品影響性質及嚴重程度及資料相關性。證據權重方法仰賴科學判斷，因此需考量不同數據來源之健全度及可靠性。

八、 參考文獻

1 ICH E11 Guideline: Clinical Investigation of Medicinal Products in the Paediatric Population; August 2017

2 ICH M3 Guideline: Guidance on Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals; June 2009

3 ICH S3A Guideline: Note for Guidance on Toxicokinetics: The assessment of Systemic Exposure in Toxicity Studies; October 1994

4 ICH S5 Guideline: Detection of Reproductive and Developmental Toxicity for Human Pharmaceuticals; February 2020

5 ICH S6 Guideline: Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals; June 2011

6 ICH S8 Guideline: Immunotoxicity Studies for Human Pharmaceuticals; September 2005

7 ICH S9 Guideline: Nonclinical Evaluation for Anticancer Pharmaceuticals; October 2009

附錄 A：各物種之器官依據年齡發育之總覽

下列表格總覽各物種之器官發育，並比較各種常用於評估毒性之物種，其相對於人類的發育時機點及持續時間，列出相似處及差異性。

本表格適用於評估已知非臨床數據之相關性，以及選擇用於進行 JAS 之物種、決定試驗起始年齡和用藥持續時間。本表格之內容來自目前已知的相關資料，但這些資料可能仍未臻完善。參考各物種特定相關文獻和/或器官系統的文獻綜述，可以提供更多與各物種相關之資料。許多因子例如品系、繁殖及動物供應商，都可能影響隨年齡的發育程度，因此也應將這些因子納入考量。

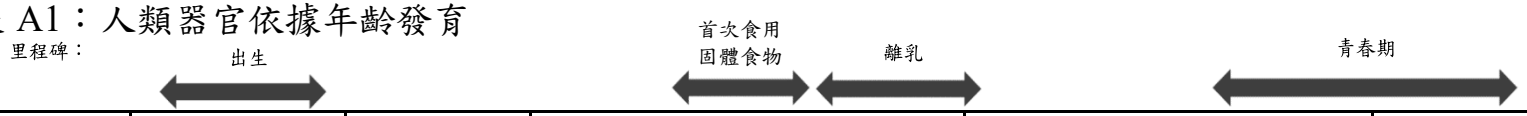
下列樣式適用於表 A1-A5 及圖 A1：

	結構及功能生長及發育之關鍵期
	生長和/或功能成熟之活躍期
	緩慢持續生長和/或功能的精緻化
	結構及功能完全成熟

人類年齡分類如同 ICH E11 規範所述，大致具有與非臨床物種發育相應之里程碑(例如：出生、開始食用固體食物、離乳、青春期及成年期)。本表格僅列出到達里程碑之相近年齡，例如人類許多器官系統之發育活躍期可達 12 或 18 月齡，而人類可能因地區或文化影響，在這段時間內開始食用固體食物及離乳，因此僅能列出相近年齡。

在功能及組織生長的關鍵期和活躍期，影響發育的毒性是最大的疑慮，對生長較慢或功能正在精緻化的時期則疑慮較低。在某些器官系統中，例如免疫系統，其組織於出生時已有能力作出反應，但在出生後不久，隨環境刺激，組織會進行大幅度增生；此外，某些器官系統是非常複雜的，例如中樞神經系統在建立反射、痛覺途徑、睡眠模式、髓鞘形成、協調及認知功能方面的時程都不一樣，在這些複雜的發育時程，可能影響中樞神經系統發育期的感受性，因此本表所列之里程碑，僅能提供大致的指引。某些中樞神經系統的相關功能，需至成年期才發育成熟且無法以任何動物進行模擬。青春期是內分泌活動非常密集的階段，對人體生殖系統的結構及功能成熟非常重要，同時也會影響骨骼肌肉生長及中樞神經系統的發育，而各物種的青春期發生時間可能變異性極大，尤其是靈長類動物。在靈長類動物中，青春期開始及青春期發展可以由外部性徵辨識，就像人類可使用坦納氏期(Tanner staging)進行評估。在不同的物種中，雌性經常比雄性更早發育出完整的生殖功能。最後，如表格所述，一些器官系統在成年期後會隨功能的完備而持續緩慢生長。

表 A1：人類器官依據年齡發育



年齡分類；系統：	早產至足月	新生兒 (足月出生-27 日齡)	嬰兒/學步兒 (28 日齡-23 月齡)	小兒 (2-11 歲)	青少年 (12-18 歲)	成人 (>18 歲)
心血管	新生兒關鍵生理過渡期(肺臟及血管阻力、胎體分流關閉)		離子通道/電導(ion channels/conductance)逐步增加	心肌及血管適應性改變		
內分泌	於孕中期(second trimester)開始產生荷爾蒙及在生長/發育關鍵的足月內分泌功能已發育完整			小兒晚期性早熟(adrenarche)	青春期性荷爾蒙激增及成熟	
眼球	具 O_2-敏感性之視網膜血管新生	出生時型態已完整發育	1 歲時，完成視網膜(中央窩)、水晶體及虹膜色素化發育	1-4 歲時，視力訓練非常重要(1-4 月齡時訓練聚焦及追蹤；3 月齡開始可辨別顏色)	於青少年期至成年期持續形成水晶體	

胃腸道	多種早產吸吮/吞嚥反射足月新生兒之重要功能—酸化(acidification)、運送(transit)和微生物群系(microbiome)	消化功能及吸收量隨生長增加	消化功能適應發展，以適應飲食變化/複雜化	
肝膽	出生時型態已發育完整新生兒膽汁製造及排除之重要過渡期	代謝量及排除量之重要增加期	代謝及排除功能的持續精緻化	
免疫	新生兒之初級免疫及次級免疫組織之結構擴增	因時間和環境所引起免疫組織逐步增生及發展記憶		
表皮	角質化及產生皮脂	新生兒期重要功能(屏障、保水、調節溫度和感覺)與成人相較，表皮面積比例更高	表皮逐步酸化、逐步產生微生物群及免疫功能 青春期毛髮增長、油脂分泌	
神經	神經元子集形成及活性興奮性訊號開始髓鞘化	最大神經元數量及大腦：足月出生時的體重足月出生時已存在的髓鞘及神經膠質細胞仍在持續精細化產後神經元凋亡、突觸修剪(synapse pruning)遷移和神經迴路整合代謝功能、神經傳遞物及傳導系統以不同的速度成熟化	感覺運動控制精細化、以及擴增複雜學習、記憶功能	CNS 持續發育至進入成年期

肺	出生時具關鍵液體→氣體交換功能小管→末端小囊→肺泡結構 早產時僅產生肺表面張力素，足月時分泌	逐步形成肺泡	肺泡表面積隨生長增加，於青少年期達到最大好氧功能		
腎	於足月時完成腎發生(nephrogenesis)	腎功能增加以GFR 取代濃度進行排除作用	腎小管生長及功能精緻化，包括紅血球生成素和血管張力軸		
生殖	卵母細胞減數分裂和睪丸下降	睪丸已下降至陰囊產後 HPG 之性荷爾蒙高峰(微小青春期)	靜止期	賽特利氏細胞增生 乳房發育初精/初潮	
骨骼	生長板發育	出生時已具有生長板 生長激素及甲狀腺激素促進快速生長關鍵期	生長較慢	青春期生長	生長板關閉

表 A2：大鼠器官依據年齡發育之概觀

系統	一般考量	新生兒 (~PND 1-10)	首次食用固體食物 (~PND 15)	離乳 (~PND 21-25)	青春期 (M~PND 42，F~PND 35)	成年期 (~PND 70)
心血管	• 新生兒關鍵生理過渡期(肺臟及全身血管阻力) • 心肌及血管適應性改變 • 心肌細胞及離子通道逐步增加至 PND 21					
內分泌	• 出生時，大多數腺體已發育完整，有助於生長					
眼球	• 視網膜、水晶體、虹膜、角膜及附屬器官持續發育至 PND 14 • PND 14 時開眼 • 離乳時，眼球型態已完整發育；視力持續生長及精細化至青春期					

胃腸道	• 出生時未成熟；未能產生胃酸、胰臟酵素分泌不足，直至 PND 14 • 近端小腸一開始具高通透性，可吸收完整蛋白質 • 消化功能於 3 週齡內適應發展，以適應飲食變化					
肝膽	• 出生時，結構尚未成熟 • 前 4 週時，成形之肝索及肝板逐步發育，且代謝功能相應增加					
免疫	• 隨時間和環境變化，次級免疫組織逐步增生及發展記憶 • 通常於 PND 45 後評估 TDAR					
表皮	• 新生兒期重要功能(屏障、保水、調節溫度、電導和感覺)；2 週齡時表皮增厚 • 產後發育附屬器官及毛髮，PND 21 時結構已與成熟個體相似 • PND35 至 42 時呈現雌雄異型					

神經	• 前 3 週時，嗅覺球、小腦、海馬迴及大腦皮質結構成熟 • 達到最大神經元數量及大腦：PND 7 時體重，廣泛發生產後凋亡、修剪和遷移 • 產後脊髓由後端至前端髓鞘化；大腦發展反射、感覺運動、再發展學習及記憶 • 傳導系統、鴉片類受體/代謝、GABA、血清素和正腎上腺素途徑以不同的速度成熟化					
肺	• 出生時已具有末端小囊 • 於一開始的 2 至 3 週齡形成肺泡					
腎	• 出生時，腎臟發育尚未完成 • 前 3 至 5 週齡，GFR 及腎功能逐步增加					
生殖	• 前 3 週齡，萊氏細胞減少產生雄性素，以利賽特利氏細胞及生殖細胞增生 • 維持生殖相關變化，並於青春期開始時(5 至 7 週齡)會表現雌雄異型之型態					
骨骼	• 產後至成年期急遽生長 • 長骨生長板結構至 PND 14 至 21 才顯現，並維持開放至成年期					

PND：產後日齡

表 A3：米格魯犬器官依據年齡發育之概觀

系統	一般考量	新生兒 (<3 週)	首次食用固體食物 (~3 週)	離乳 (~8 週)	青春期 (M~5-8 月，F~6-12 月)	成年期 (>~12 月)
心血管	• 新生兒關鍵生理過渡期(肺臟及全身血管阻力) • 心肌及血管適應性改變 • 1 週齡至 6 月齡時，血壓顯著上升且心率下降					
內分泌	• 在子宮內時，內分泌組織發育並開始產生荷爾蒙 • 具有生長/發育相關的關鍵內分泌功能，並持續作用至青春期					
眼球	• 出生時，型態發育已幾乎完成；於 10-14 日齡開眼 • 7 週時，視網膜成熟；～8 週時，角膜具有透明度且虹膜色素化完成 • 12-14 週時，視力完全成熟					
胃腸道	• 出生時，胃腸道已完整形成；產後 1-2 日時，完整形成吸吮/吞嚥及尋乳反射(rooting reflexes)之功能 • 初乳刺激腸道成熟及生長 • 於出生及離乳期之間，初始發育代謝功能					

肝膽	• 1 週齡時，肝膽結構成熟化 • 膽汁分泌功能成熟較慢(30%至 70%之成年動物是於 4-6 週齡成熟化)					
免疫	• 出生時，具無伽瑪球蛋白血症(agammaglobulinemic)；需於產後 12-24 小時攝入初乳以從親代獲得 IgG • 免疫組織結構及功能，大多於出生時已成熟化，或是於出生後很快成熟化 • 胸腺於產後快速生長，並於離乳時達到最大尺寸，並於青春期開始退化					
表皮	• 新生兒期重要功能(屏障、保水、電導和感覺)於產後早期(~2 週齡)發展， • 出生時具有胎毛；離乳時，鼻平面(planum)及掌面增厚，並轉換為成年毛髮					
神經	• 出生時已具有高張屈曲(hypertonic flexion)，並於第 1 週發展伸直(extension)；新生兒(原始)反射於～PND 28 消失 • 產後至 8 週，急遽發展功能性運動(functional locomotor) • 產後第 6 週，脊髓結構成熟化，但神經傳導速度須至第 6-12 月才增加					

	• 約於 PND18 至 28，快速發展認知並進入快速學習發展期					
肺	• 產後持續肺成熟化，肺功能相當於人類足月之 1-2 週新生兒 • 第 8 週時，已能維持日常呼吸速率(respiratory rate, RR)；RR 隨青春期增長而遞減 • 持續發育至第 8 週，並於～1 歲齡時達到最大肺泡功能					
腎	• 出生時，腎的結構及功能尚未成熟，約於 2 週齡時完成腎臟發育 • 腎小管生長及腎小體成熟化持續至產後第 3 週，並於離乳時達到成熟 • 產前即已開始發育濃縮功能，但於產後才開始發育酸鹼平衡功能					
生殖	• 睪丸於產後 5 至 6 週下降至陰囊 • 雄性於～5 至 8 月齡性成熟；雌性於～6 至 12 月齡性成熟					
骨骼	• 於 1 至 10 週齡，形成長骨骨化中心(ossification center)					

	• 四肢直至 2 週齡，方可支撐體重 • 5 月齡時，最快速生長之長骨已完成生長，並持續緩慢生長至～18 月齡					

PND：產後日齡

表 A4：哥廷根迷你豬器官依據年齡發育之概觀

系統	一般考量	新生兒 (<2 週)	首次食用固體食物 (~2-3 週)	離乳 (~4-6 週)	青春期 (~4-6 月)	成年期 (>~6 月)
心血管	• 新生兒關鍵生理過渡期(肺臟及全身血管阻力) • 心肌及血管適應性改變和生長					
內分泌	• 在子宮內時，內分泌組織發育並開始產生荷爾蒙 • 具有生長/發育相關之關鍵內分泌功能，並持續作用至青春期					
眼球	• 出生時，眼球型態已完整發育；於產後 3 日內開眼 • 第 3 週時，眼瞼可完全拉開(full eyelid retraction)，因此可進行眼科檢查					
胃腸道	• 與人類產後胃腸道發育高度相似；具有新生兒期關鍵吸收能力 • 產後即具有酸化、微生物群、活動力；於離乳後發展適應性消化/運送功能					

肝膽	• 出生時，結構及功能尚未成熟，於 4 週齡時，達到相似於成年體之結構 • 特別於前 3 至 4 月齡時，增加代謝功能					
免疫	• 出生時，僅有最低先天及被動免疫力；仔豬需於產後～2-4 小時攝入初乳 • 於～4 週齡時，解剖構造已完全發育 • 隨時間和環境變化，次級免疫組織逐步增生及發展記					
表皮	• 新生兒期重要功能(屏障、電導、感覺) • 出生後 2-3 週內，體溫調節功能不佳					
神經	• 產後大腦生長期呈現雌雄異型，並快速生長至離乳，其後持續生長至青春期 • 出生時，已具有髓鞘、神經膠質細胞及大多數之皮質神經元 • 出生時之神經肌肉系統較人類更具功能性					
肺	• 出生時，肺臟已完整發育，並於產後 2 週內完成肺泡形成 • 持續生長與功能精緻化，直至青春期					

腎	• 出生後至～第 3 週，形成腎元 • 功能約於 3 月齡時成熟化					
生殖	• 出生時型態已完整發育，且睪丸已下降至陰囊 • 雄性於 4 至 5 月齡性成熟；雌性於 5 至 6 月齡性成熟					
骨骼	• 出生時已可站立，並於數日內增加可動性(mobility) • 產後快速生長，並於 18 月齡關閉骨骺生長板					

表 A5：馬來猴器官依據年齡發育之概觀

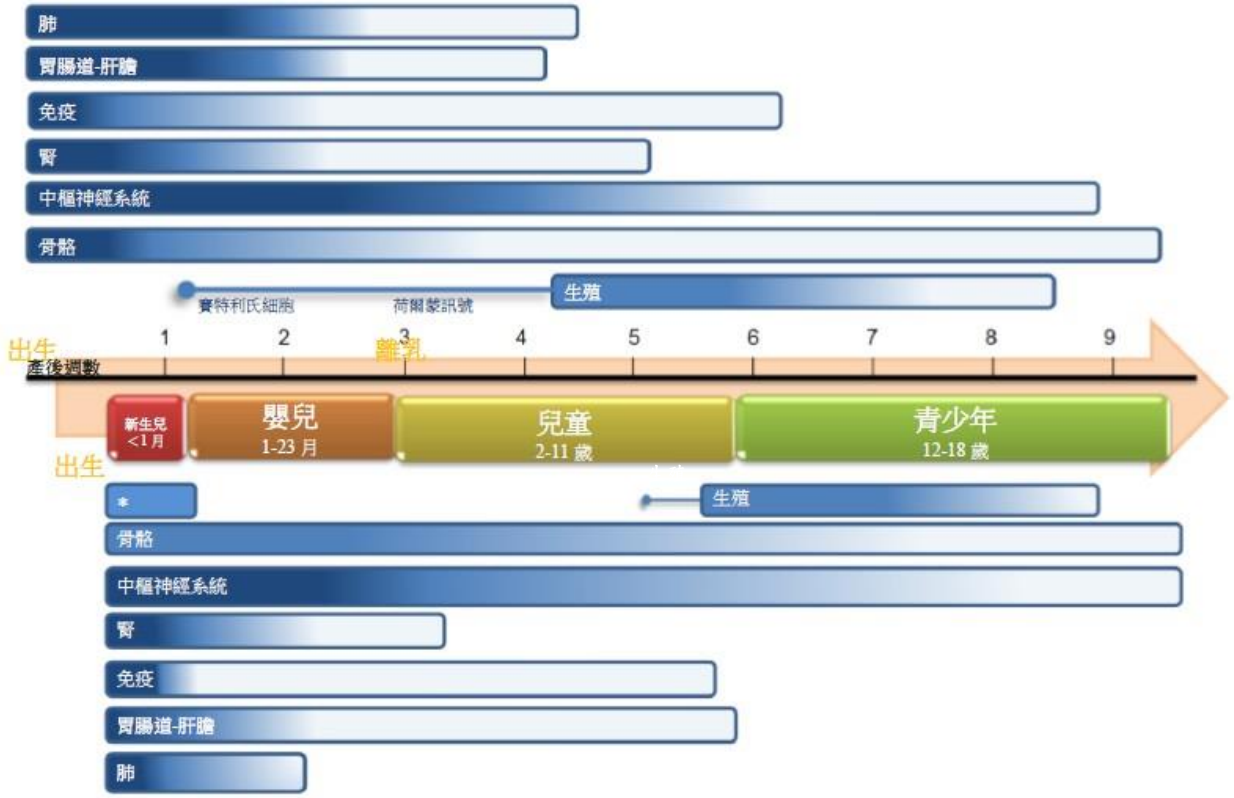
系統	一般考量	新生兒 (<1 月)	首次食用固體食物 (~3 月)	離乳 (~6 月)	青春期 (~3-4 年)	成年期 (~4 年)
心血管	• 新生兒關鍵生理過渡期(肺臟及全身血管阻力) • 心肌及血管適應性改變 • 心肌細胞增生至 3 月齡，並隨之逐步生長					
內分泌	• 出生時，大多數腺體已發育完整，有助於生長 • 腎上腺皮質之網狀層(zona reticularis)於 3 至 6 月齡擴增(腎上腺皮質功能初現〔adrenarche〕) • 性腺之內分泌功能，於青春期擴增					
眼球	• 出生時結構已完整發育，並可開眼 • 中央窩及水晶體於產後成熟化					
胃腸道	• 出生時已具有功能，並與人類產後胃腸道發育相似 • 產後即具有酸化、微生物群和活動力 • 於離乳後發展適應性消化/運送功能，以適應飲食變化/複雜化，以及擴增微生物群					

肝膽	• 出生時，結構已發育完整 • 代謝功能性逐漸增強，尤其是在最初的 3 至 6 月內					
免疫	• 免疫組織結構於新生兒期擴增 • 隨時間和環境變化，次級免疫組織逐步增生及發展記憶					
表皮	• 出生時已具有功能(屏障、保水、以及調節溫度、電導和感覺)，且具有毛髮及附屬器官					
神經	• 持續精細化，並逐步發育至成年期 • 產後發生凋零、修剪和遷移，且於離乳前最為明顯 • 出生時已存有髓鞘及神經膠細胞，並於產後進一步擴增 • 神經傳遞物質及傳遞系統以不同速度成熟化(意即：GABA、血清素、多巴胺及正腎上腺素之成熟化速度皆不同)					
肺	• 出生時結構已成熟，並逐步生長					
腎	• 足月出生時，已完成腎臟發育 • 前 6 月齡內，GFR 及腎功能逐步增加					
生殖	• 出生時睪丸已下降至陰囊，並具有生殖細胞、賽特利氏細胞及萊氏細胞 • 濾泡於 3 至 6 月齡開始發育及閉鎖(atresia) • 青春期開始時產生生殖變化(初潮和初精)並持續至成年期					

骨骼	• 出生時嬰兒已可抱住母獸 • 出生時已具有生長板 • 最快速產後生長發生於離乳前，並持續緩慢生長至成年生長板關閉時					

圖 A1：大鼠及人類器官系統發育比較

大鼠



人類

*：人類新生兒「迷你青春期」(請參考表 A1)，請注意「生殖」欄位帶線條的前導點表示早期青春期荷爾蒙訊號

表 A6：用於 JAS 之各種哺乳類物種的主要優點及缺點

物種	優點	缺點
大鼠	● 於許多 JAS 中已充分被研究之物種，可取得廣泛歷史對照數據 ● 具有多項具發育一致性之里程碑(一般生長、陰莖與包皮分離/陰道開啟和青春期) ● 經常用於(成年動物)一般及生殖毒性試驗 ● 體型最適合於早期離乳前開始進行大多數操作/用藥 ● 每窩幼崽數有助於平衡性別分布、分配幼崽於不同指標及專屬的幼崽群 ● 短暫的發育期(～10 週)有助於加入廣泛範圍之指標 ● 短暫的發育期有助於納入使用大型動物難以執行之額外指標(例如：發育期神經毒性、免疫毒性和生殖力/配種) ● 體重極輕，只需使用少量試驗物質 ● 相對容易運送、飼養及管理 ● 母獸便於領養別窩幼崽	● 體型小、代謝率高、生長快速，健康狀況容易快速衰退且容易死亡 ● 相對於人類，出生時有許多器官系統較少發育(尤其是中樞神經系統、肺、腎、胃腸道及免疫系統；直至 PND 12-14 才開眼) ● 離乳前胃腸道尚未成熟，因此難以將口服藥品之 ADME 特性轉移至人體使用 ● 短暫的發育期，導致難以清楚觀察出對藥品反應最脆弱的時期 ● 傳統的血液採樣，通常是試驗期末剖檢時採樣，尤其是針對離乳前大鼠 ● 由於多數指標或採樣都可能需要犧牲整個幼崽群，因此試驗規模容易擴大 ● 對生殖力的干擾，比人類較為不敏感 ● 對於使用外源性蛋白質上的限制 ● 通常與高專一性的標靶治療的藥理學無相關性 ● 會受到免疫原性的影響

	● 容易取得處於同樣產後階段之幼崽 ● 出生時已具有被動免疫力	
小鼠	● 優點大致相似於大鼠，但產後發育稍微快於大鼠 ● 具有多種 CYP 酵素；代謝某些化合物的能力可能比大鼠更像人類 ● 小鼠具有膽囊(大鼠沒有) ● 有很多文獻，尤其是 CNS 及免疫系統之發育和特化 ● 有多基因改造模型，包括使標靶治療反應更近似人類的模型	相似於大鼠，其他事項如下述： ● 幼崽體型更小，從早期開始的操作/用藥次數比大鼠少 ● 每次評估指標或採樣時，皆須犧牲整個幼崽群，且可能需要將樣本混合 ● 歷史資料比大鼠少

物種	優點	缺點
犬	● 經常用於一般(成體)毒性試驗 ● 出生時體型較大 ● 較易於操作 ● 每窩幼崽數有助於分配崽犬去觀察不同指標 ● 可將崽犬與母犬暫時分開數小時 ● 可事先計畫配種 ● 許多器官系統之產後發育相當於人類嬰兒(心血管、肺臟和免疫系統) ● CNS 成熟化較具特性，具有明確的學習/認知之關鍵發展期	● 發育期較長(約 5-12 月性成熟、12-18 月骨骼成熟)，且個體間之生長及發育里程碑具有高變異性 ● 為晚熟性動物(意指出生時未開眼、無法站立直至產後約 2 週) ● 剛出生時需要攝入初乳，以被動轉移母體免疫球蛋白 ● 每窩幼崽數及性別分布不一，不利於觀察組別間之差異(遺傳/動物窩數、性別分布) ● 缺乏歷史性背景數據，尤其是關於非標準化指標之相關數據 ● 為季節性繁殖，配種及試驗開始時，可能需耗費數週或數月 ● 不易於領養別窩幼崽 ● 體型較大，相較於嚙齒類動物需要更大的試驗場地

迷你豬/豬	● 與人類具有許多相似的發育里程碑 ● 出生時體型較大 ● 較易於操作 ● 可事先計畫配種 ● 每窩幼崽數有助於分配崽豬去觀察不同指標 ● 便於領養別窩幼崽 ● 每窩幼崽數較大，有助於平衡性別分布 ● 新生崽豬之胃腸道與人類相似，有助於使用口服藥品 ● 大多數給藥途徑皆可行(除吸入藥劑之外)；最佳的皮膚試驗模型(附屬器官及毛囊較少、與人類表皮厚度相似) ● 發育期較短(約 6-9 月)，相對於其他大型非嚙齒類動物更容易運送及飼養	● 毒性的歷史對照數據與犬類或 NHP 等物種相比略少 ● 剛出生時需要攝入初乳，以被動轉移母體免疫球蛋白 ● 相較於人類嬰兒，某些器官系統出生時更為成熟(例如，肺和肌肉骨骼) ● 體型較大，相較於嚙齒類動物需要更大的試驗場地 ● 對非常年輕的崽豬進行 IV 注射或強制餵食有困難

物種	優點	缺點
NHP	● 通常使用馬來猴(cynomolgus monkey)，但亦可使用恆河猴(rhesus monkey)及絨猴(marmosets monkey) ● 與人類具有許多相似的發育里程碑 ● 新生兒/嬰兒之胃腸道、免疫系統、心血管、腎臟及特殊感官(眼、耳)發育與人類相似 ● 幼猴出生時體型相對較大 ● 可取得自出生起之廣泛參考數據及歷史性背景數據 ● 經常用於(成年動物)一般及生殖毒性試驗(例如 ePPND)，尤其是生物製劑 ● 母體轉移免疫球蛋白的機制相似於人類，因此幼猴出生時即具有被動免疫力(血清 IgG) ● 通常是高專一性標靶治療最具藥理相關性的動物模型	● 發育期較長(幼猴性成熟期約為 3-6 年、骨骼成熟期約為 5-8 年)，使涵蓋所有發育階段的延長幼齡試驗難以進行 ● 通常單胎僅有一隻幼猴，且生長及發育具有高度個體間差異性 ● 絨猴通常生產雙胞胎，離乳前需要哺乳及親代保育；後代數量通常非常少 ● 子代於 1 月齡前，極需要母獸保育(試驗需盡可能避免干擾；離乳前雖可以操作及給藥，但具有母獸棄育之風險)，且於 3-6 月齡間，需與母獸同住；由於需要運送及檢疫，因此通常難以進行＜9 月齡之幼齡猴試驗 ● 相較於人類，NHP 新生兒之肌肉骨骼、CNS、內分泌和呼吸系統更為早熟 ● 無法同步化配種(尤其是季節性繁殖動物，例如恆河猴可能需耗費數週甚至數月，才能起始配種及試驗) ● 道德考量(需要強烈理由來說明使用幼齡 NHP 進行毒性試驗)

兔子	● 發育期較短(約 5-6 個月)，且體型較小，僅需要使用少量試驗物質 ● 較易於操作 ● 常用於生殖毒性試驗；亦可用於眼部用藥及骨骼生長評估 ● 每窩幼崽數有助於平衡性別分布及分配幼崽去觀察不同指標 ● 相對容易運送及飼養 ● 出生時已具有被動免疫力	● 與其他非嚙齒類動物相較，尚未建立完整的發育里程碑 ● 未被常規使用/完全接受於(成體)一般毒性試驗 ● 毒性的歷史對照數據與犬類或 NHP 等物種相比略少 ● 操作幼崽後，可能激起母獸之同類相食行為或排斥 ● 對於使用外源性蛋白質上的限制與大鼠類似，且免疫原性可能導致急性 過敏反應 ● 胃腸道相當敏感 ● 一般的臨床觀察，難以看出其生理狀況

物種	優點	優點
其他物種	● 可考量其他具有藥理學和毒理學相關性之物種，其他哺乳類動物試驗系統包括倉鼠、天竺鼠、樹鼩(tree shrew)、貂、貓、綿羊及山羊等。 ● 優點大多為物種或試驗計畫的特異性，但通常由於該物種之特定基因模型或疾病模型才考量使用該物種，或是存在數據得以支持判讀及轉 移特定指標至人類時。 缺點包括： ● 與大鼠、小鼠、犬、迷你豬/豬、以及 NHP 相較，發育里程碑建立較不完整 ● 未被常規使用/完全接受於(成體)一般毒性試驗 ● 較少毒性的歷史對照數據 ● 用途受限(僅有特定適應症之模型，例如心衰竭) ● 許多動物皆需於剛出生時攝入初乳，以被動轉移母體免疫球蛋白 ● 較難取得特定用途之實驗動物、較難安排適當的實驗室	

附錄B：使用證據權重方法之案例研究

案例 A：

某個已知藥理學特性之小分子藥品，其具有成人臨床及非臨床數據，包括重複劑量毒性試驗數據。上述所有數據皆顯示，在 1 個月的臨床治療持續期中，使用該小分子藥品治療預期的小兒族群(青少年受試者，12 歲以上)後，該小分子藥品不會對發育中器官造成安全性疑慮。經由證據權重分析後，認為額外的非臨床試驗將無法提供更進一步之有用資料。

案例 B：

某個新作用機轉的小分子藥品，預計從新生兒或嬰兒開始進行長期治療，該小分子藥品之第一期臨床和非臨床安全性數據未發現明顯的安全性疑慮，此處列出依據該小分子藥品之藥理學特性，推斷對發育中器官系統有潛在的影響。經由證據權重分析後，認為進一步的非臨床研究可能可以提供有用資料，例如依據標的發育中器官系統，在 JAS 觀察額外的指標。

案例 C：

某個預計長期用於小兒(6 歲及以上)的小分子藥品，其藥理學標的可能對 CNS 發育造成關鍵作用，目前已有非臨床及成人臨床數據，可能難以使用臨床監控及管理方法釐清對於發育中 CNS 潛在影響之疑慮，其既有數據已可充分釐清其他發育中系統之狀態。經由證據權重分析後，建議執行離乳後 JAS 試驗，設計中加入核心指標和額外 CNS 指標，以釐清特定疑慮。

案例 D：

某個針對特定可溶性細胞激素之單株抗體，預計長期用於小兒風濕及過敏性疾病(>2 歲)，目前唯一發現的毒性，是可逆性的血清免疫球蛋白減少及注射部位偶爾產生局部反應(動物及成人患者皆發生)。在一項以猴子進行的 ePPND 試驗中，子代之藥品暴露量至 PND 28 都與親代相當，但隨後逐漸減少，T 細胞依賴性抗體反應(TDAR)結果則與對照組相似(產後 3-6 月間)。經證據權重分析後，建議不需進行幼齡動物試驗。

附錄 C：離乳前嚙齒類動物之幼崽窩分配方法

在 JAS 對離乳前幼齡大鼠給藥時，應減少其受到潛在干擾因子的影響，例如母獸的保育、每窩幼崽數、以及其他因子，如遺傳因子。減少干擾因子的方法，包括考量如何組成幼崽窩、如何標準化幼崽窩、如何分配幼崽窩至各劑量組別和如何分配動物個體至各評估指標子集，請同時參考第 3.9.1 節。

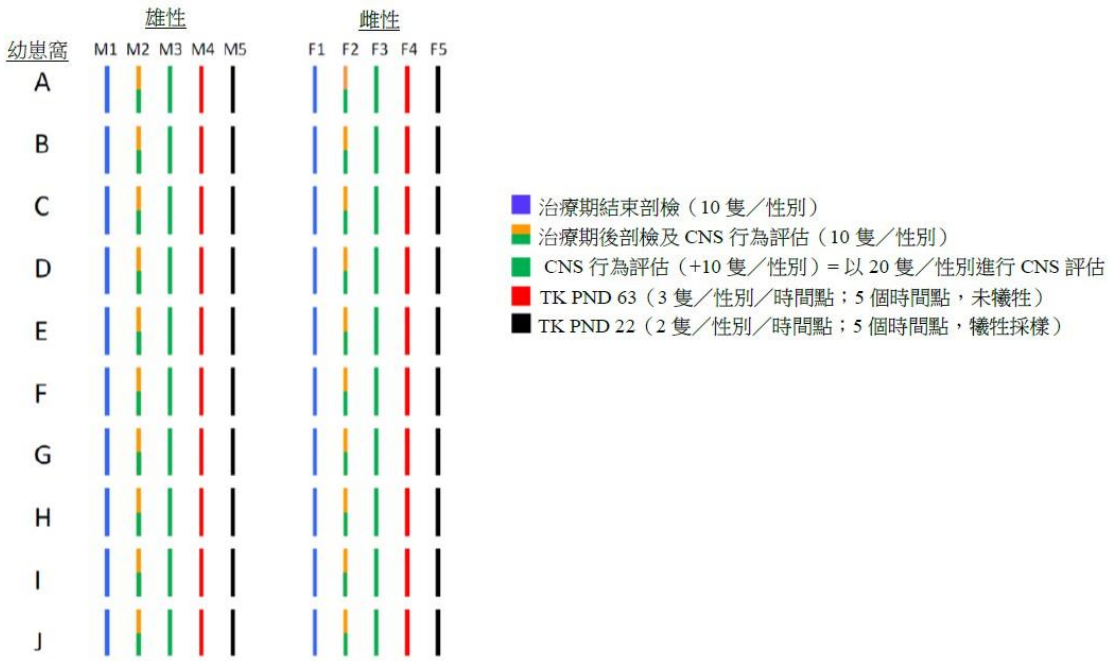
一種可以達到平均分配潛在干擾因子的方法是

- 使用最少領養技術將幼崽窩標準化時，將大多數健康幼崽維持在原生母獸身邊，並在必要時才加入少量其他幼崽讓母獸進行領養，以達到預期之每 窩幼崽數及性別比例。
- 排每個標準化的幼崽窩至各劑量組
- 安排幼崽窩中的幼崽個體至各指標子集

在下列範例中，大鼠 JAS 的最終試驗設計，其給藥期為 PND 14 至 63，並同時評估核心指標(於 PND 14、22、及 63，進行 TK 評估)及試驗特定額外指標(治療期後剖檢及中樞神經系統評估)。各劑量組別有至少 10 組大鼠之幼崽窩(將各母獸/幼崽配對，標記為 A、B、C 等等)，每個幼崽窩皆經過標準化調整至 10 隻幼崽(可行的話，雄性及雌性各有 5 隻)，圖中各色條即代表幼崽個體。各基因相關後代，以隨機方式分配編號(例如 F1 與 F2 分別代表第一隻及第二隻母鼠)，若有加入其他幼崽，則重新指定為最後的編號(例如：F5 代表第五隻母鼠)，所有親生(可取得的話)或領養之辨識資料，皆應記錄於試驗數據中。接著，將完整幼崽窩指定至相同劑量組別，因此同一幼崽窩中的 10 隻幼崽，皆會接受相同劑量。一般來說，幼崽窩的總數是依據各觀察指標需要的總幼崽數而決定，一般常建議使用微量採樣方法，有助於減少 TK 試驗所需要的動物數量。

在此範例中，於 10 個幼崽窩中，依照相同的方式安排幼崽至各核心指標及試驗特定額外指標子集(亦即將各動物窩之 1 或 2 隻公鼠和/或母鼠指定至同一個特定指標子集)，並指定編號較前面的幼崽(亦即 M1 或 M2)於治療期結束後進行剖檢，以及觀察其他主要指標，藉此將母獸領養之非親生幼崽分配至較不易受干擾因子影響之指標子集。而依據試驗特定指標的不同，可能有其他分配幼崽至指標子集之方法也能夠完成試驗目的。

下圖表示，一個劑量組別中有 10 個幼崽窩，每個幼崽窩有 5 隻幼崽/性別



在此範例中，1 隻幼崽/性別/幼崽窩被分配到治療期結束的剖檢(M1/F1 藍色色條；總計使用 10 隻幼崽/性別/劑量組)。而第二個子集的 10 隻幼崽/性別/劑量組(M2/F2 黃色混合綠色色條)則被分配進行兩種評估，分別為 CNS 行為評估及治療期後的剖檢，而除了這 10 隻幼崽/性別/劑量組，同時使用第三個子集的 10 隻幼崽/性別/劑量組(M3/F3 綠色色條)，合併總計 20 隻幼崽/性別/劑量組，進行 CNS 行為評估，此項 CNS 評估包括治療期間的詳細臨床觀察、以及治療期後臨床觀察、行為測試、學習和記憶測試。此外，亦針對兩個剖檢子集(治療結束及治療期後)進行更多的神經病理學評估。第四個子集(M4/F4 紅色色條)則被分配至 PND 63 TK 子集(使用連續性採樣；由於可於此離乳後週齡之大鼠進行不需犧牲的連續採樣，因此實際上該子集僅需要部分幼崽進行 TK 評估，其餘幼崽可用於其他評估)。由於母獸及幼崽窩干擾因子與單劑量 TK 評估無關，因此從 PND 14 的第一次給藥後的幼崽中(未列於圖中)採集 TK 血液樣本，而這些幼崽在血液採集後將不會繼續進行試驗(約 3-4 隻幼崽/時間點/劑量組)。最後分配 1 隻幼崽/性別/幼崽窩(M5/F5 黑色色條)至 PND 22 TK 子集(通常針對該週齡之幼崽需要進行犧牲採血，除非可使用微量採樣技術)。

治療期結束剖檢(M1/F1)及治療期後剖檢(M2/F2)之幼崽也進行核心指標的觀察，包括離乳後攝食量、性發育、臨床病理症狀及長骨長度，並對所有幼崽評估死亡率、臨床觀察及記錄體重。

除了上述範例外，亦有其他方法有助於減少試驗使用之幼崽數量，例如，可將一個 10 隻幼崽/性別/劑量之子集，分配至連續性採樣 TK(4 隻幼崽/性別/劑量組)及治療期後剖檢(6 隻幼崽/性別/劑量組)。或者可將上述案例之第四個子集的

10 隻幼崽/性別/劑量組(M4/F4)中，分配 4 隻幼崽/性別/劑量組進行 PND 63 TK 評估(通常可針對該週齡幼崽進行不需犧牲的連續採血)，以及 6 隻幼崽/性別/劑量組進行 CNS 評估。第三個子集的 10 隻幼崽/性別/劑量組(M3/F3 綠色色條)也可分配至 CNS 子集，這樣就有 16 隻幼崽/性別/劑量組進行 CNS 評估，這些方法都不需要使用更多實驗動物進行 CNS 評估。實驗單位應詳細考量試驗設計，並使用適宜之指標及動物分配方法，以減少幼崽窩數量及使用的實驗動物數量。

ICH M3(R2)：藥品人體臨床試驗與上市許可申請所需之非臨床安全性試驗指引

(草案)

(Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals)

衛生福利部食品藥物管理署

中華民國 113 年 O 月

前言

國際醫藥法規協和會(International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, ICH)於 2009 年發布 ICH M3(R2) (Guidance on Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals) 指引，用以支持具特定適用範圍與試驗時程之藥品人體臨床試驗以及上市許可申請所建議執行之非臨床安全性試驗，提供國際標準建議，並促進試驗建議之協和。本指引倡導新藥品的安全、符合倫理的開發。

目錄

一、緒論 1
(一)目的 1
(二)背景 1
(三)適用範圍 1
(四)一般性原則 2
(五)選擇一般毒性試驗之高劑量 3
二、藥理學試驗 5
三、毒理動力學與藥物動力學試驗 5
四、急毒性試驗 5
五、重複劑量毒性試驗 6
(一)臨床開發試驗 6
(二)上市許可 8
六、估算人體起始劑量 8
七、探索性臨床試驗 9
(一)微劑量試驗 9
(二)單一劑量試驗 10
(三)多劑量試驗 10
八、局部耐受性試驗 18
九、基因毒性試驗 18
十、致癌性試驗 18
十一、生殖毒性試驗 19
(一)男性 19
(二)不具生育力之女性 19
(三)具生育力之女性 19
(四)孕婦 21
十二、在兒童族群執行臨床試驗 21

十三、免疫毒性.....22
十四、光安全性測試.....22
十五、非臨床濫用傾向評估.....23
十六、其他毒性試驗.....23
十七、複方藥的毒性評估.....24
十八、持續促進協和之努力.....25
十九、註釋.....25
二十、參考文獻.....26

ICH M3(R2)：藥品人體臨床試驗與上市許可申請所需之非臨床安全性試驗指引

一、 緒論

(一) 目的

制定本指引之目的係為用以支持具特定適用範圍與試驗時程(duration)之藥品人體臨床試驗以及上市許可申請所建議執行之非臨床安全性試驗，提供國際標準建議，並促進試驗建議之協和。

非臨床安全性試驗指引之協和化有助於訂定通用的建議，並減少區域間出現本質上差異之可能性。

本指引應可促進臨床試驗的及時執行，以及依 3R 原則(減量/優化/取代)減少實驗動物的使用，並且減少其他藥品開發資源的耗費。儘管在本指引中並未加以討論，但應考慮使用新的體外(in vitro)替代試驗方法來進行安全性評估。若這些新方法已經過驗證，且已為所有 ICH 法規單位所接受，即可以之取代現行的標準方法。本指引倡導新藥品的安全、符合倫理的開發。

(二) 背景

本修訂版指引所提出的建議能進一步促進歐盟、日本、美國等區域間，為支持藥品臨床開發各階段所需之非臨床安全性試驗的協和。本指引所表述的是關於用以支持藥品人體臨床試驗與上市許可申請所需之非臨床安全性試驗的類型、試驗時程以及時機等方面所達成之共識。

(三) 適用範圍

為支持藥品上市許可申請所執行的非臨床安全性評估通常包括藥理試驗、一般毒性試驗、毒理動力學與非臨床藥物動力學試驗、生殖毒性試驗、基因毒性試驗等；另外對於具特殊考量或須長期使用的藥品，則還包含致癌性評估。其他針對光毒性、免疫毒性、幼齡動物毒性、濫用傾向風險等進行評估之非臨床試驗，則應視個案情況決定是否有執行之必要。非臨床安全性試驗之必要性以及其與臨床試驗執行間之關聯性將於本指引中闡明。

本指引適用於藥品開發過程中通常會遭遇的情境，且應視為藥品開發的總體指導原則。非臨床安全性試驗與人體臨床試驗必須規劃設計以兼顧科學與倫理之合理性。

對於生物技術衍生藥品(依參考文獻 1 之定義)，則應依 ICH S6 指引執行合適的非臨床安全性試驗。對於這類型藥品，ICH M3(R2) 指引僅針對非臨床試驗在藥品臨床開發各階段的執行時機提供建議。

對於開發中藥品其適應症係針對目前尚無有效療法的危及生命或嚴重疾病(例如：晚期癌症、抗藥性 HIV 感染及先天性酵素缺乏症等)，其毒理學評估與臨床開發規劃亦須視個案情況而定，使藥品的開發可達到加速並且最佳化之目的。對於這類型案例，與利用創新治療方式進行開發的藥品(例如 siRNA)及疫苗佐劑等，特定試驗或可加以精簡、延後或增刪。若已有其他適用於特定藥品範疇的 ICH 指引，亦應一併參閱。

（四） 一般性原則

藥品的開發是階段性的過程，過程中會涉及對動物與人體的藥效與安全性的評估。非臨床安全性評估的目標通常包括探討標的器官的毒性效應、劑量依存性、與暴露量之間的關係，以及潛在的可逆性。這些資訊可用以估算人體試驗的最初安全起始劑量與劑量範圍，以及確認在臨床試驗中加以監測的潛在不良反應指標。雖然非臨床安全性試驗通常僅限於臨床開發的初始階段，但其內容必須足以釐清那些在擬支持的臨床試驗條件下可能發生的不良反應。

人體臨床試驗為了驗證藥品的療效與安全性，最初會在少數受試者施以相對較低的全身暴露劑量，然後在之後的臨床試驗中藉由延長試驗時程增加藥品暴露量及/或增加接受藥品暴露的受試者人數。臨床試驗的時程必須根據先前在臨床試驗中所呈現的足夠安全性，以及隨著藥品臨床開發進展而新增的非臨床安全資訊而決定是否可延長。

臨床或非臨床試驗中發現的嚴重不良反應會對臨床試驗是否繼續造成影響。應從臨床角度對前述不良反應加以評估，以確認進行其他額外的非臨床及/或臨床試驗的設計與適當性。臨床試驗乃分階段執行，且不同區域採用不同的詞彙。本指引通常採 ICH E8 指引所定義的詞彙(參考文獻 2)。然而，隨著將臨床開發各階段進行合併的趨勢，在某些情況下，本指引仍依臨床試驗的時程長短、規模以及受試者的特性給予非臨床試驗的建議。

（五） 選擇一般毒性試驗之高劑量

一般而言，在毒性試驗中，使用最高達到最大耐受劑量(maximum tolerated dose, MTD)之劑量應足以鑑定出可能具有臨床相關性的效應。在每一項試驗都驗證 MTD 是沒有必要的。其他同樣也合適的限制劑量包括可達到高倍數暴露量或飽和暴露量之劑量，或使用最高可投予劑量(maximum feasible dose, MFD)。這些上限劑量(詳下文及圖 1)可以避免在實驗動物施予無助於臨床安全性預測的劑量。這些建議與針對設有明確上限劑量及/或暴露量的生殖毒性以及致癌性試驗設計所給予的建議是一致的(參考文獻 3、4)。

除以下所討論的例外情況，嚙齒類與非嚙齒類動物的急性、亞慢性、慢性毒性試驗的上限劑量設為 1000 mg/kg/day 可適用於所有情況。在少數情況下，臨床劑量已超過每日 1 g，毒性試驗 1000 mg/kg/day 的劑量無法達到相對於臨床暴露量 10 倍的平均暴露臨界值(mean exposure margin)毒性試驗劑量須在 10 倍平均暴露臨界值、2000 mg/kg/day 或 MFD 等三者中，擇其低者做為上限。在極少數情況下，2000 mg/kg/day 的劑量所產生的暴露量低於臨床暴露量，此時可考慮將劑量上限提升至 MFD 的程度。

達到 50 倍臨床全身暴露量的暴露臨界值之劑量[通常以母藥(parent drug)或前驅藥(pro-drug)之藥理活性分子(pharmacologically active molecule)之整組平均曲線下面積(Area Under Curve, AUC)值(見註 1)為依據計算]，一般也被視為可作為所有物種的急毒性或重複劑量毒性試驗的最大劑量。

在美國，為支持第三期臨床試驗的執行，以 50 倍暴露臨界值作為上限劑量時，通常應可於至少一個物種中觀察到劑量限制性毒性(dose-limiting toxicity)；若否，則建議以一個物種進行一個月或更長時程的試驗，其採用之劑量可為 1000 mg/kg 上限劑量、MFD 或 MTD，三者擇其低者。然而，視個案情況，若在高於 50 倍暴露臨界值的劑量下，試驗時程較短的試驗已能發現劑量限制毒性，則或許無須進行前述試驗。

若欲將基因毒性評估指標合併至一般毒性試驗中觀察，則須以 MFD、MTD 或 1000 mg/kg/day 上限劑量為依據，選擇合適的最大劑量。

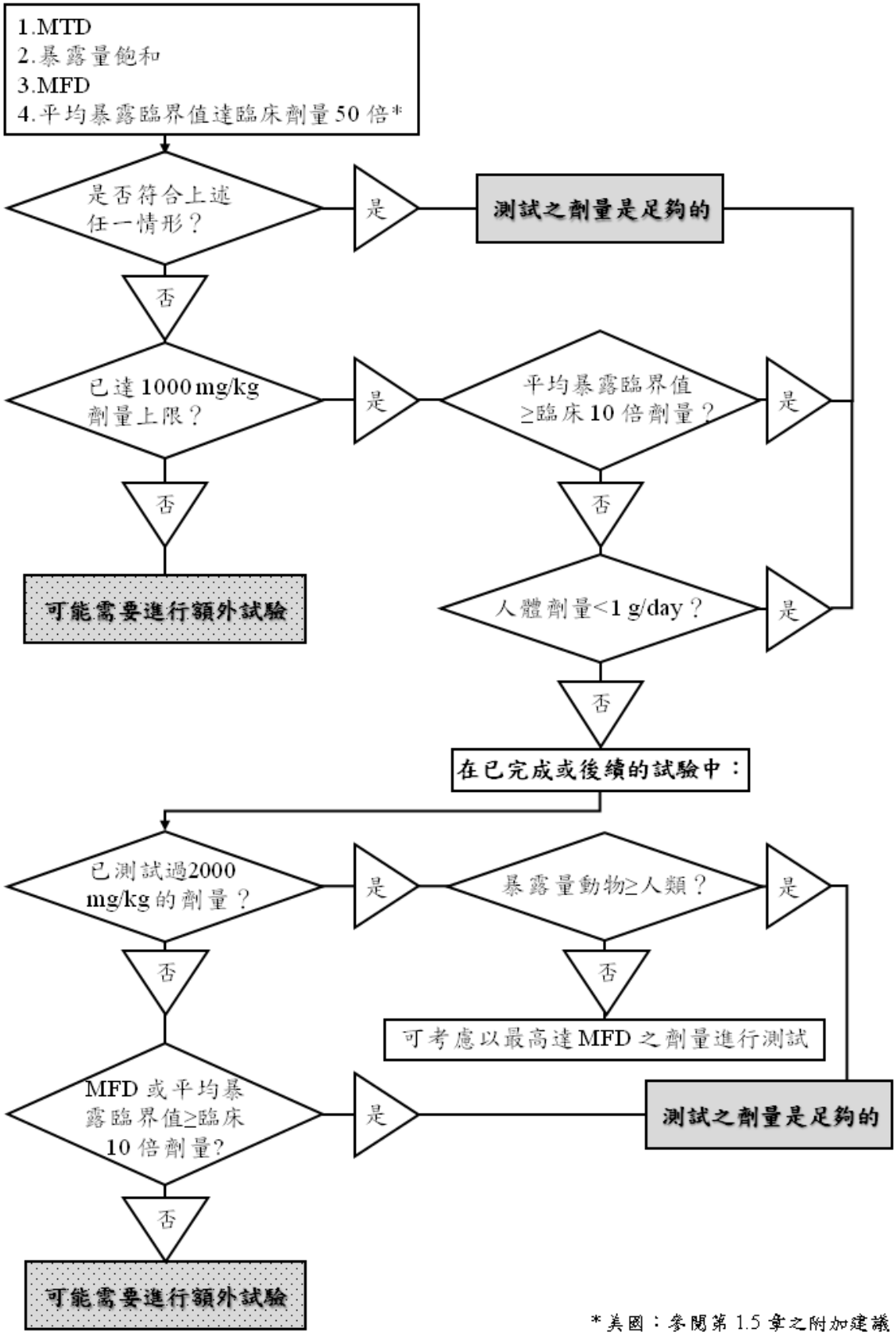


圖 1 一般毒性試驗之建議最大劑量選擇

二、 藥理學試驗

安全性藥理學與藥效學(PD)試驗之定義可參閱 ICH S7A 指引(參考文獻 5)。

安全性藥理學的核心群(core battery)試驗包括對心血管、中樞神經以及呼吸系統的影響評估，且根據 ICH S7A、S7B 指引，通常應在首次人體試驗前執行(參考文獻 5、6)。如有必要，可於之後的臨床開發階段進行補充的與追蹤性的安全性藥理學試驗。為減少實驗動物的使用，若可行，可考量是否將任何其他須執行的體內評估納入一般毒性試驗中一併執行。此外，主藥效學試驗(體內及/或體外)之目的在於探討藥品對於治療目標的作用方式及/或效果。此類試驗一般均是在藥品開發過程中的藥品探索階段進行，因此通常不符合實驗室優良操作規範(GLP)標準。此類試驗有助於非臨床與臨床試驗之劑量選擇。

三、 毒理動力學與藥物動力學試驗

一般而言，在進行人體臨床試驗之前即應完成動物與人體之體外代謝與血漿蛋白結合測試，以及重複 劑量毒性試驗物種的全身性暴露評估(參考文獻 7)。應在大量人類受試者接受藥品暴露前或長期治療開始之前(通常在第三期臨床試驗之前)，取得在試驗物種以及與潛在藥品交互作用相關的體外生物化學資訊等方面的進一步的藥物動力學(PK)(例如：吸收、分布、代謝及排除)資訊。這些數據可用來比較人類與動物的代謝物，以及決定是否須進行額外的測試。只有在人體代謝物的暴露量為總藥品相關暴露量的 10%以上時，且人體暴露量明顯高於毒理試驗中的最大暴露量時，才須針對人類的代謝物進行非臨床分析。此類試驗應在第三期臨床試驗執行前完成。對於每日劑量＜10 mg 的藥品，採用純度較高的試驗藥品原料可能更能測試出是否須進行前述額外測試。某些代謝物並不具有毒理學方面的疑慮[例如：多數的穀胱甘肽共軛物(glutathione conjugates)]，因此無須進行測試。應視個案情況，考量是否應針對有疑慮的代謝物(例如：獨特的人體代謝物)進行非臨床分析。

四、 急毒性試驗

傳統上，急毒性資訊是透過在兩種哺乳類物種採用臨床給藥途徑以及非口服兩種給藥途徑所進行的單一劑量毒性試驗來取得。然而，這類資訊亦可藉由操作合宜的劑量調升試驗，或在一般毒性試驗物種中定義 MTD 的短期劑量探索試驗(dose-ranging studies)中取得(參考文獻 8、9)。

當急毒性資訊已經由任一類試驗取得，則不建議再執行個別的單一劑量試驗。提供急毒性資訊的試驗可以僅使用臨床途徑進行，且若臨床投予途徑已經

過設計合宜的 GLP 重複劑量毒性試驗的驗證，則前述急毒性數據亦可在非 GLP 的試驗取得即可。急毒性試驗不應以致死性(lethality)為預設評估指標。

某些特定情況(例如：微劑量試驗，詳第七章)，急毒性或單一劑量試驗可作為支持人體試驗的主要證據。在這些情況下，高劑量的選擇可與第一章第(五)節所述不同，但仍應可用以支持預定的臨床劑量與給藥途徑。執行這些試驗必須符合 GLP 規範。藥品的急毒性資訊可用來預測人體藥品過量時的後果，應備有相關資訊以支持第三期臨床試驗的進行。提早對急性毒性進行評估對於藥效之適應症有其重要性，因為適應症的病患族群在門診臨床測試中面臨較高的藥品過量風險(例如：憂鬱、疼痛及失眠等狀況)。

五、 重複劑量毒性試驗

重複劑量毒性試驗的建議試驗時程通常與所規劃的臨床試驗之試驗時程、治療的適應症、以及研究範圍有關。原則上，在兩種哺乳類物種(一種為非嚙齒類)所執行的動物毒性試驗的試驗時程應等於或超過人體臨床試驗的試驗時程，最長至重複劑量毒性試驗的最長建議試驗時程(表 1)。關於合適的重複劑量毒性試驗的上限劑量/暴露量建議，可參閱第一章第(五)節之說明。視個案而定，在已顯示明顯治療效果的情況下，臨床試驗的時程得延長至超過支持該臨床試驗開發之重複劑量毒性試驗的試驗時程。

(一) 臨床開發試驗

在兩種試驗物種(一種為非嚙齒類)所執行之最少兩週的重複劑量毒性試驗(表 1)通常已足以支持任何試驗時程在兩週以內的臨床開發試驗。試驗時程較長的臨床試驗則應以至少相等於臨床試驗時程的重複劑量毒性試驗來支持。六個月的嚙齒類試驗以及九個月的非嚙齒類試驗，通常足以支持六個月以上的臨床試驗(例外情形見表 1 註腳)。

表 **1**：用以支持臨床試驗執行之重複劑量毒性試驗建議試驗時程

臨床試驗之最長時程	用以支持臨床試驗之重複劑量毒性試驗之建議最短試驗時程	
	嚙齒類動物	非嚙齒類動物
最長 2 週	2 週 [a]	2 週 [a]
2 週至 6 個月	同臨床試驗 [b]	同臨床試驗 [b]
> 6 個月	6 個月 [b, c]	9 個月 [b, c, d]

a. 在美國，可以利用延長的單一劑量毒性試驗作為 2 週試驗的替代(見表 3 註腳 c)，支持單一劑量人體試驗。少於 14 天的臨床試驗可利用歷時試驗時程與所擬進行之臨床試驗相同的毒性試驗來支持。

b. 在某些情形下，若先提供 3 個月的嚙齒類與 3 個月的非嚙齒類動物試驗數據，即可將試驗時程超過 3 個月的臨床試驗先行啟動；其後依當地臨床試驗規範，在將臨床試驗給藥時程延長至超過 3 個月之前，提交完整的長期嚙齒類與非嚙齒類試驗數據：其數據取自歷時 3 個月的嚙齒類試驗與歷時 3 個月的非嚙齒類試驗。若為嚴重或危及生命的適應症，或視個案情況，延長臨床試驗給藥時程可由長期嚙齒類動物試驗的完整數據以及長期非嚙齒類動物試驗的活體觀察和屍體剖檢數據來支持，並在之後的 3 個月內提交非嚙齒類動物的完整組織病理數據。

c. 已證明對目標臟器的發育有疑慮的案例。若是如此，以幼齡動物執行長期毒性測有可能會有在某些以兒童族群作為臨床試驗主要族群的情況下，且從現有的動物試驗已經發現藥品對目標器官的發育具潛在疑慮(毒理學或藥理學)之案件。在這些案件中，某些情況下，執行長期幼齡動物毒性試驗可能是適當的(見第十二章)。

d. 在歐盟，以非嚙齒類動物進行 6 個月的試驗被認為是可以接受的。然而，若已執行了更長時程的試驗，則不宜再另外進行一個 6 個月的試驗。

以下例子說明在日本及美國將最長 6 個月的非嚙齒類動物試驗視為合適的情況：

- 出現免疫原性或無法耐受干擾了長期實驗的進行。
- 重複、短期的藥品暴露，例如：偏頭痛、勃起功能障礙、單純泡疹等間歇性治療，即使臨床試驗的時程會超過 6 個月。
- 長期給藥以降低癌症復發的風險。
- 預期餘命較短的適應症。

（二） 上市許可

相對於臨床試驗，真實情況下的臨床實施條件的控制較少，且擔負用藥風險的病人族群規模較大，此時較長的非臨床試驗時程更有價值。可用以支持不同治療療程的上市許可申請的重複劑量毒性試驗之試驗時程如表2所示。然而，在少數的情況下，其適應症所指示的用藥期間為2週至3個月，但大規模的臨床經驗卻顯示藥品將比所建議的用法被更廣泛且長期使用(例如：焦慮、季節性過敏性鼻炎、疼痛)，此時重複劑量毒性試驗的試驗時若採用針對療程大於 3 個月所建議的試驗時程，可能較為適宜。

表 **2**：用以支持上市許可申請之重複劑量毒性試驗之建議試驗時程

臨床給藥時程	嚙齒類動物	非嚙齒類動物
最長至2週	1個月	1個月
2週以上至1個月	3個月	3個月
1個月以上至3個月	6個月 [c]	6個月
3個月以上	6個月	9個月 [c,d]

註：見表1註腳c、d

六、 估算人體起始劑量

人體起始劑量的估算是保障參與首次人體試驗的受試者安全的重要環節。決定人體建議起始劑量時，所有相關的非臨床數據，包括藥理劑量反應、藥理/毒理反應特性、以及藥物動力學等資料，均應納入考量。

一般而言，在以最合適物種所進行的非臨床安全性試驗中測定的無明顯不良反應劑量[No Observed Adverse Effect Level (NOAEL)]可提供的訊息最為重要。所規劃的臨床起始劑量也會取決於各種因素，包括 PD、分子特性以及臨床試驗設計等。應參考各區域現有法規指引，選擇可用的特定方法。

對人類的探索性臨床試驗(詳第七章)可以在非臨床數據比支持一般臨床試驗進行所需較少或相異的情況下啟動(見第五章第(一)節)；因此，其臨床起始(以及最大)劑量的估計可有不同的方式。針對各種探索性臨床試驗設計的起始劑量的建議挑選準則如表3所示。

七、 探索性臨床試驗

已知在某些情況下，及早一步取得人體數據可有助於增進對人體生理學/藥理學、候選藥品特性知識、以及治療標的與疾病之相關性等方面的知識見解。簡化的早期探索性方法可以達成此目的。本指引中，探索性臨床試驗係指那些預計在第一期臨床試驗早期所進行的臨床研究，其僅涉及有限的人體暴露量，不含治療目的，且不意圖測試臨床耐受性。此類試驗可用以研究各種參數，諸如 PK、PD 以及其他生物標誌(biomarkers)，其中可能包括 PET 受體的結合與位移或其他診斷測量等。在這些試驗中所收納的受試者可以是選自特定族群的病人或健康人。

在這些情況下所適用之非臨床支持性數據的數量與類型將取決於所預計達到的人體暴露程度，兩者皆與最大臨床劑量以及給藥時程有關。以下將摘要整理探索性臨床研究方法的五個不同範例，以及在表 3 有提供更詳細的整理，同時也涵蓋針對這些研究方法所建議的非臨床測試。然而，本指引未提及的替代方法同樣可以使用，包括用以支持生物製劑產品的策略。建議先與法規單位討論這些替代方法，並達成共識。這其中任一種方法都可減少藥品開發中整體的動物使用量。

這五種方法的建議起始劑量與最大劑量如表 3 所示。如表 3 與第二章所提到的，在所有的案例中，利用體內及/或體外模式分析 PD 與藥理學特性相當重要，且應用於支持人體劑量的選擇。

(一) 微劑量試驗

以下敘述兩種不同的微劑量方法，細節詳見表 3。第一種方法的總劑量不會超過 100 微克(microgram, mcg)，可以單一劑量或分成多劑量投予至每一位受試者。在 PET 研究中，此方式可用以研究目標受體的結合或組織分布的情形。此外，不論有無使用同位素標定的試劑，此方法還可以用來進行 PK 評估。

第二種微劑量方法是給藥次數<5 次，每次投予至多 100 mcg(每位受試者總共 500 mcg)。此方法的應用類似第一種方法，但對於活性較低的 PET 配體更為適用。在某些情況下，對於擬用口服作為投予途徑的藥品，且在其口服非臨床毒理試驗資料亦已具備時，可以使用 i.v.途徑進行臨床微劑量試驗。如表 1 或表 3 所述，在以 i.v.投予微劑量以達到足夠的暴露臨界值的情況下，可藉由既有的口服毒理試驗資料支持其安全性。由於在此情況下所投予的劑量極低(至多 100 mcg)，因此不建議用此方法研究 i.v.投予時的局部耐受性。但若是使用全新的 i.v.溶劑(vehicle)，則應評估該溶劑的局部耐受性。

（二） 單一劑量試驗

以未達療效或落入預期療效範圍的劑量進行單一劑量試驗，第三種方法通常是以未達療效的劑量作為起始劑量的單一劑量臨床試驗，而其後劑量可能提升至具藥理意義或達到預期療效的劑量範圍(見表 3)。可允許的最大劑量須根據非臨床數據進行設定，但有可能會根據試驗過程中逐步出現的臨床資訊而進一步限制。此方法可用在相關評估，例如：利用接近或達到預期藥效活性劑量的非放射性標定藥品進行 PK 參數的測量。另一個例子是可分析單一劑量投予後的藥品與標的結合或藥理學性質。此研究方法並非用來支持臨床最大耐受劑量的訂定(見表 1 註腳 a 所舉之例外情況)。

臨床試驗，而其後劑量可能提升至具藥理意義或達到預期療效的劑量範圍(見表 3)。可允許的最大劑量須根據非臨床數據進行設定，但有可能會根據試驗過程中逐步出現的臨床資訊而進一步限制。此方法可用在相關評估，例如：利用接近或達到預期藥效活性劑量的非放射性標定記藥品進行 PK 參數的測量。另一個例子是可分析單一劑量投予後的藥品與標的結合或藥理學性質。此研究方法並非用來支持臨床最大耐受劑量的訂定(見表 1 註腳 a 所舉之例外情況)。

（三） 多劑量試驗

表 3 提供可用以支持多劑量臨床試驗的兩種不同的非臨床試驗方法(方法 4、5)。這些方法可用於支持在人體有效劑量下投予最長至 14 天的人體 PK 以及 PD 研究，但並不是用來支持訂定臨床最大耐受劑量。

方法 4 是以嚙齒類與非嚙齒類動物進行 2 週的重複劑量毒性試驗，動物劑量選擇是根據臨床最大劑量下預期的 AUC 值的暴露量倍數來決定。

方法 5 是以嚙齒類動物進行 2 週的毒性試驗，並在非嚙齒類動物進行確認試驗，用以研究在嚙齒類動物試驗所訂出的 NOAEL 是否對於非嚙齒類動物也不會產生毒性。若嚙齒類動物的 NOAEL 暴露量在非嚙齒類動物會觀察到毒性反應，則應該將臨床給藥延後，直到在該物種完成進一步的非臨床試驗 [通常會是標準的毒理試驗(見第五章)]。

表 **3**：用於支持探索性臨床試驗時所建議執行的非臨床試驗

臨床		非臨床		
給藥劑量	起始與最大劑量	藥理學試驗	一般毒性試驗 [a]	基因毒性試驗 [b]/其他
方法 1： 總劑量≦100 mcg 給藥間隔限制) 以及總劑量≤ NOAEL 的 1/100 且≤藥理活性劑量的 1/100(i.v.途徑以 mg/kg 換算，口服途徑以 mg/m^2 換算)。	最大劑量與起始劑量可以相同，但不得超過 100 mcg 的總累積劑量。	應執行體外標的/受體特性分析。 在一種藥效學上具相關性的模式針對主要藥理學特性(作用機轉及/或效果)進行適當研究，以輔助支持人體劑量選擇。	利用單一物種，通常為嚙齒類，進行延長的單一劑量毒性試驗(見註腳 **c** 與 **d**)，並以預設的臨床給藥途徑配合毒理動力數據，或利用 i.v.途徑給藥。最大劑量可至臨床劑量的 1000 倍，i.v.途徑以 mg/kg 為換算基礎，口服途徑則以 mg/m^2 換算。	不建議進行基因毒性試驗，但若已執行任何相關試驗或結構－活性關係 (SAR) 評估，應一併於臨床試驗申請時提供資料。 對於具高放射活性的藥劑(例如：PET 影劑)，應提交適當之 PK 與劑量學估計。

方法 2： 總累積劑量≤ 500 mcg，最多給藥 5 次，每次給藥間須有足夠的沖洗期(washout)(6 個以上的實際或預估之半衰期)以及每次劑量≤ 100 mcg 以及每次劑 量≤NOAEL 的 1/100 且 ≤藥理活性劑量的 1/100。	最大每日劑量與起始劑量可以相同，但不得超過 100 mcg。	同方法 1 之建議。	利用單一物種，通常為嚙齒類，進行 7 天的重複劑量毒性試驗，並以預設的臨床給藥途徑配合毒理動力數據，或利用 i.v.途徑給藥。 須包含血液學、臨床化學、屍體剖檢、以及組織病理學等資料。最大劑量可至臨床劑量的 1000 倍，i.v.途徑以 mg/kg 為換算基礎，口服途徑則以 mg/m^2 換算。	同方法 1 之建議 。

表 **3**：用於支持探索性臨床試驗時所建議執行的非臨床試驗

臨床		非臨床		
給藥劑量	起始與最大劑量	藥理學試驗	一般毒性試驗 [a]	基因毒性試驗 [b]
方法 3： 以未達療效或落入預期療效範圍的劑量進行單一劑量試驗。	決定起始劑量應根據在最敏感物種所觀察到的毒性類型以及藥理活性劑量等考量。有關人體初始劑量的其他考量，應參考當地法規。 若在動物所觀察到的任何相關毒性預期可在人體被監測且具有可逆性，最大劑量可以設定為在較敏感的物種達到½ NOAEL 暴露量的劑量。	同方法 1 之建議以及安全性藥理學核心群試驗(見第二章)。	利用嚙齒類及非嚙齒類動物進行延長的單一劑量毒性試驗(見註腳 **c**)，並以預設的臨床給藥途徑配合毒理動力學、血液學、臨床化學、屍體剖檢以及組織病理數據分析。 此情況下之最高劑量應為MTD、MFD或上限劑量(見第一章第(五)節)。	細菌逆突變試驗(Ames assay; 若 Ames assay 不適用，例如：抗菌產品，則使用其他替代方法)。

表 **3**：用於支持探索性臨床試驗時所建議執行的非臨床試驗用

臨床		非臨床		
給藥劑量	起始與最大劑量	藥理學試驗	一般毒性試驗 [a]	基因毒性試驗 [b]
方法 4： 在療效劑量下給藥最長至 14 天，但不以評估臨床 MTD 為目的。	若在兩個物種均觀察到毒性反應，其臨床起始劑量須遵循當地法規訂定之。若在兩個物種均未觀察到毒性反應(即 NOAEL 為最高測試劑量，且所使用之劑量未受到其他限制，例如並不是 MFD)，或僅於一個物種觀察到毒性反應，則臨床起始劑量可達到臨床 AUC 預估值(根據物種間 PK 模式或以 mg/m^2 換算推估)，應大約相當於在產生較低暴露量物種的 NOAEL 劑量下 AUC 的 1/50。關於人體初始劑量的其他考量，例如：預測的	同方法 1 之建議以及劑量與毒理試驗使用劑量相近之安全性藥理學核心群試驗(見第二章)。	利用嚙齒類及非嚙齒類動物進行包含標準參數評估設計之 2 週的重複劑量毒性試驗，其動物劑量選擇是根據最大臨床劑量下預期產生的 AUC 量的倍數來決定。	細菌逆突變試驗(Ames assay;或當 Ames assay 不適用時，例如抗菌產品，則使用其他合適的替代方法)以及一項可以偵測哺乳類動物染色體損傷的檢驗(體內或體外試驗)。

	PD 活性，應參考當地的規範。 若在兩個物種均未觀察到毒性反應，則建議最大臨床劑量所產生的暴露量不得超過動物所測試的最高劑量下，任一物種所產生的較低暴露量(AUC)的 1/10。 若僅有一個物種出現毒性反應，最大臨床劑量不應超過出現毒性反應物種的NOAEL，或未出現毒性反應的物種所測試的最高劑量AUC 的 1/2，兩者擇其低者。 若在兩個物種均觀察到毒性反應，則應根據標準風險評估方法決定最大臨床劑量，且在此特例中，可以探索臨床 MTD。			

表 **3**：用於支持探索性臨床試驗時所建議執行的非臨床試驗

臨床		非臨床		
給藥劑量	起始與最大劑量	藥理學試驗	一般毒性試驗 [a]	基因毒性試驗 [b]
方法 5： 給藥最長至 14 天，且不超過非嚙齒類動物的給藥時程。劑量達到療效劑量範圍，但不以評估臨床 MTD 為目的。	起始劑量所預期產生的暴露量不應超過較敏感物種的 NOAEL 的 1/50(以 mg/m^2 換算)。關於人體初始劑量的其他考量，應參考當地的規範。人體最大暴露量不應超過非嚙齒類物種的 NOAEL 下的 AUC，或嚙齒類物種 NOAEL 下的 AUC 的 1/2，兩者擇其低者 [e]。	同方法 4 之建議。	利用嚙齒類動物(須提出嚙齒類為最適物種之科學論述)進行標準的 2 週重複劑量毒性試驗。最大劑量應為 MTD、MFD 或上限劑量(見第一章第(五)節)。 利用非嚙齒類動物(n=3)以及在嚙齒類動物產生預期的 NOAEL 暴露量之劑量進行確認性試驗，試驗時程最少 3 天，且至少達到預計的臨床試驗時程。 或者，亦可以非嚙齒類動物進行劑量調升試	細菌逆突變試驗(Ames assay;或當 Ames assay 不適用時，例如抗菌產品，則使用其他合適的替代方法)以及一項可以偵測哺乳類動物染色體損傷的檢驗(體內或體外試驗)。若有進行體內試驗，則可併入嚙齒類動物的毒性試驗中一併評估。

			驗，試驗時程最少 3 天，且至少達到以嚙齒類之預期 NOAEL 暴露量所預設的臨床試驗時程。	

a. 行一般毒性試驗須符合 **GLP** 規範。

b. 基因毒性試驗之設計與劑量選擇請見參考文獻 **10**。

c. 一般而言，延長的單一劑量毒性試驗應設計為可在投予單一劑量後，進行血液學、臨床化學、屍體剖檢、以及組織病理學(若在高劑量組動物未發現與藥品相關的病理變化時，可僅對控制組與高劑量組動物進行評估)評估，並在 **2** 週後進一步評估延遲毒性及/或恢復性。嚙齒類動物試驗通常設計包含給藥當日 **10** 隻/性別/組，以及給藥後 **14** 天於所挑選劑量組別安排 **5** 隻/性別進行評估。非嚙齒類動物試驗設計則通常包含給藥後 **2** 天 **3** 隻/性別，以及給藥後 **14** 天 **2** 隻/性別進行評估。

d. 以單一劑量在第 14 天評估可逆性/延遲毒性，可用以支持微劑量試驗的方法。所使用的劑量不必是高劑量，但應至少為臨床劑量的 100 倍。

e. 在臨床試驗未呈現不良反應的情況下，若動物毒性試驗所發現毒性反應預期在人體為可監控、可逆且僅具低嚴重性，則將劑量提升至此 AUC 以上可能是合適的。

八、 局部耐受性試驗

局部耐受性評估宜以擬使用的臨床投予途徑在一般毒性試驗中合併評估，一般而言，不建議單獨執行試驗。

為支持在人體有限度地使用非治療途徑給藥(例如：在人體 i.v.投予單一劑量以協助測定口服藥的絕對生體可用率)在單一物種進行一項單一劑量局部耐受性試驗則被認為是合適的。若既有的毒理試驗資料已可涵蓋在人體透過非治療途徑給藥的預期全身性暴露量(AUC 與 C_{max})，則可將局部耐受性試驗的評估指標侷限於僅觀察臨床表徵以及針對投藥部位的巨觀和微觀的組織學檢查。局部耐受性試驗所用的製劑配方不一定須與臨床所用的製劑配方相同，但至少應該相似。

對於已可以口服途徑的毒理試驗數據支持的 i.v.途徑微劑量試驗(見第七章)，可無須再執行針對原料藥(drug substance)的局部耐受性評估。但若有使用全新的 i.v.溶劑，則應評估對該溶劑的局部耐受性。對於非口服的藥品，若需要在非計劃中的注射部位進行局部耐受性評估，則應在大量病人接受藥品暴露之前(例如：第三期臨床試驗)完成。對於這類試驗的做法，各地區之建議不同。在美國通常並不建議進行這樣的試驗(一個例外的例子是透過脊髓腔內給藥的硬脊膜外途徑)。在日本和歐盟則建議針對 i.v.途徑進行單一劑量靜脈旁給藥。其他非口服途徑則應視個案的情況進行評估。

九、 基因毒性試驗

一項針對基因突變的檢測通常被認為足以支持所有的單一劑量臨床開發試驗之進行。欲支持多劑量的臨床開發試驗，則須另外完成一項能夠偵測到哺乳類染色體損傷的評估(參考文獻 10)。在第二期臨床試驗啟動之前，即應完成一套完整的基因毒性試驗群測試(參考文獻 10)。若發現陽性結果，則須進行評估，並且可能需進行其他測試， 以決定是否仍適合於人體繼續投予(參考文獻 10)。有關用以支持探索性臨床試驗的基因毒性試驗的建議，可參閱第七章之討論。

十、 致癌性試驗

與致癌性試驗的執行有關的情況在 ICH S1A 指引中有相關討論(參考文獻 11)。若建議針對某項臨床適應症執行致癌性試驗，則應完成相關試驗以支持上市許可之申請。唯在有明顯致癌風險疑慮的情況下，才需提交致癌性試驗的結果以支持臨床試驗的進行。光僅臨床試驗之長期時程的單一條件，並不被視

為具有明顯疑慮。為治療成人或兒童之特定嚴重疾病所開發的藥品，若經建議須執行致癌性試驗，可於取得上市許可後再進行。

十一、 生殖毒性試驗

應視接受藥品暴露的族群對象，合宜地執行生殖毒性試驗評估(參考文獻 3)。

(一) 男性

由於重複劑量毒性試驗中已對男性生殖器官進行評估(註 2)，因此男性可以在執行男性生育力試驗前即被納入臨床試驗第一、第二期的受試對象。

男性生育力試驗(參考文獻 3)應在展開大規模或長期臨床試驗(例如第三期臨床試驗)前完成。

(二) 不具生育力之女性

在已完成相關重複劑量毒性試驗(須包含對女性生殖器官之評估)的情況下，不具生育力之女性(即已永久絕育以及停經後婦女)即可被納入臨床試驗而無須執行生殖毒性試驗。停經的定義是在沒有其他醫學上的原因的情況下無月經達 12 個月。

(三) 具生育力之女性(women of childbearing potential，WOCBP)

在取得藥品的潛在效益與風險相關資訊前，若發生胚胎或胎兒在無意中接受藥品暴露將有極大的安全疑慮。在所有採行 ICH 指引的地區，對於用以支持將 WOCBP 納入臨床試驗的生殖毒性試驗的執行時機之建議相似。

若欲將 WOCBP 納入臨床試驗，針對在無意中使胚胎或胎兒受到藥品暴露之風險予以鑑別並降至最低程度是非常重要的。達成此目的之其中一個做法是執行生殖毒性試驗以鑑識出藥品本身的風險，同時對參與臨床試驗的 WOCBP 採取適當的預防措施。第二種做法是在臨床試驗期間採取避孕的預防措施，以降低風險。避免懷孕的預防措施包括驗孕(例如：檢測 HCG 的 βCG 當的預防措施)、使用高效率的避孕方法(註 3)、以及僅在經確認過經期後才可進入試驗等。

在試驗期間驗孕並對受試者進行教育應達到充足程度，以確保受試者對於藥品暴露期間所設計的避孕措施之遵從性(時間可能超過試驗長度)。為支持這些做法，知情同意書之內容應該基於任何已知的生殖毒性相關資訊，例如：對

一些具有相關結構或藥理作用的藥品之潛在毒性的整體評估資訊。若無法取得生殖相關評估資訊，則述明胚胎或胎兒所可能承受的潛在未知風險。

在所有採行 ICH 指引的地區，在某些情況下，尚未執行非臨床發育毒性試驗(non-clinical developmental toxicity studies；例如：胚胎－胎兒試驗)的早期臨床試驗可以收納 WOCBP。其中一種情況是在短期(例如 2 週)臨床試驗期間對懷孕風險加強控管。另一種情況則是當該疾病好發於女性，而若未收納 WOCBP 將無法有效達成臨床試驗之目標，並且有足夠的預防措施避免懷孕發生時(見上文)。

在尚未執行非臨床發育毒性試驗的情況下，以 WOCBP 進行臨床試驗尚有額外考量，包括對藥品作用機轉的認識、藥品類型、胎兒接受藥品暴露的程度、或在合適的動物模式進行發育毒性試驗的困難度等。例如，根據現有科學知識，若單株抗體在人類器官形成期僅會對胚胎與胎兒造成低度的暴露，則其發育毒性試驗可在第三期臨床試驗期間再進行。應該在上市許可申請時一併檢附完整試驗報告。

一般而言，若已有兩個物種適當的初步生殖毒性試驗數據(見註 4)，並在臨床試驗採取了預防措施避免懷孕(見上文)，則在執行確定性生殖毒性試驗前，在執行期相對較短(至多 3 個月)的臨床試驗可收納 WOCBP(至多 150 人)。這是基於在此等規模與試驗時程的臨床試驗，在受到良好控制下，發生懷孕的比率非常低(見註 5)，並且經適當設計的初步生殖毒性試驗應可偵測到大部分令招募 WOCBP 參與臨床試驗產生疑慮的發育毒性。WOCBP 的人數與試驗時程會受到可改變懷孕率的族群特性(例如：年齡、疾病)影響。

在美國，利用在臨床試驗中對 WOCBP 採避免懷孕的預防措施，即可將胚胎－胎兒發育試驗延遲到第三期臨床試驗前執行。在歐盟和日本，除以上段落中所述之情形外，在使 WOCBP 接受藥品暴露前皆應完成確定性非臨床發育毒性試驗。

在所有採行 ICH 指引的地區中，WOCBP 可在執行女性生育力試驗前被納入第一及第二期的重複劑量臨床試驗，因為在重複劑量毒性試驗中已針對女性生殖器官進行評估執行(見註 2)。應完成特別針對女性生育力進行評估的非臨床試驗(參考文獻 3)，以支持在大規模或長期臨床試驗(如第三期臨床試驗)中納入 WOCBP。

在所有採行 ICH 指引的地區，申請上市許可時須檢附產前產後發育試驗結果。任何臨床試驗在納入並未使用高效避孕措施(見註 3)或懷孕狀態不明的 WOCBP 前，應完成所有的女性生殖毒性試驗(參考文獻 3)以及標準的基因毒性試驗組(參考文獻 10)。

(四)　孕婦

在臨床試驗納入孕婦前，應完成執行所有的女性生殖毒性試驗(參考文獻 3)以及標準的基因毒性試驗群(參考文獻 10)。此外，先前的人體暴露安全數據亦應加以評估。

十二、　在兒童族群執行臨床試驗

當臨床試驗欲收納兒童病人時，來自先前成人經驗的安全數據通常代表最相關的資料，並且通常應該在兒童臨床試驗開始前取得相關資料。成人數據的適當性與範圍須逐案審視。大規模的成人資料也有可能無法在兒童接受暴露前取得(例如：針對兒童特有的適應症)。

在兒童族群的臨床試驗開始前，於成年動物執行試驗時程適當的重複劑量毒性試驗(見表 1)、安全性藥理核心試驗群、以及標準基因毒性試驗群等試驗的結果即應可取得。與所研究的兒童族群之年齡與性別相關的生殖毒性試驗對於提供直接的毒性或發育風險相關資訊(例如：生育力以及產前產後發育試驗)也很重要。胚胎－胎兒發育試驗對於支持男性或青春期前女性的臨床試驗並不重要。

唯有當先前的動物數據與人體安全性資料，包括相同藥理分類的其他藥品反應，經判斷後認為不足以支持兒童試驗進行時，才應考慮進行幼齡動物毒性試驗。若有必要進行一項幼齡動物毒性試驗，通常認為使用一個相關物種，且最好是嚙齒類，即已足夠。當有科學性論述支持時，也可接受以非嚙齒類動物進行試驗。

一般來說，幼齡動物毒性試驗對於兒童族群的短期 PK 試驗(例如 1 到 3 劑)並不被認為是重要的。

視適應症、兒童族群年齡、以及來自成年動物與人體暴露後的安全性數據等因素，應考量在短期多劑量藥效與安全性臨床試驗開始前進行幼齡動物試驗的合適性。試驗受試者年齡和臨床試驗時程的關係(亦即臨床試驗受試者接受藥品暴露的時間佔重要發育階段的比例)是最重要的考量之一。這項考量能夠決定是否需要執行幼齡動物試驗，以及若須執行時，在時機上與臨床試驗之間的關係。

對於已建議執行幼齡動物毒性評估的兒童族群長期臨床試驗，應於臨床試驗開始前先完成非臨床試驗。

有可能在某些以兒童族群作為臨床試驗主要族群的情況下，從現有的動物試驗已經發現藥品對目標器官的發育具潛在疑慮(毒理學或藥理學)。其中的

部份情況，執行長期幼齡動物毒性試驗可能是適當的。以在合適年齡與物種執行具有相關評估指標的長期試驗，以釐清前述發育上的疑慮，例如狗的 12 個月試驗或嚙齒類的6個月試驗，可能是適當的做法。為期12個月的試驗可以涵蓋狗的完整發育週期。對於這兩個物種，在某些情況下，這樣的設計可用以取代對應的標準長期試驗以及一項單獨進行的幼齡動物試驗。

須在長期兒童臨床試驗進行前，針對致癌性試驗的適當性加以說明。然而，除非有明顯疑慮(例如：在多次測試中顯示基因毒性證據，或根據作用機轉考量或一般毒性試驗結果推論具有致癌性風險疑慮)，否則不建議為了支持兒童臨床試驗之執行而進行致癌性試驗。

十三、 免疫毒性

如 ICHS8 指引(參考文獻 14)所述，應利用標準毒性試驗以及依證據權重(weight-of-evidence)評估，包括考量在標準毒性試驗所觀察到的免疫相關訊號，酌情執行額外的免疫毒性試驗，對所有新的人用藥品產生免疫毒性的可能性加以評估。若須進行額外的免疫毒性試驗，則應在大量受試者接受暴露(例如：第三期臨床試驗)前完成。

十四、 光安全性測試

與人體暴露量有關的光安全性測試的合適性以及時機受到以下因素影響：(1)分子的光化學特性(例如：光吸收與光穩定度)；(2)化學相關物質的光毒性潛力資訊；(3)組織分布；(4)顯示具有光毒性的臨床或非臨床證據。

應根據藥品的光化學特性與藥理/化學分類，對光毒性潛力進行初步評估。若評估所有現有數據以及預定的臨床計畫顯示可能對人體有顯著的光毒性風險，在進行門診臨床試驗時，必須採取適當的保護措施。此外，應完成皮膚與眼睛的非臨床藥品分布的後續評估，以對人體的風險以及後續檢驗的必要性提供進一步資訊。之後，若合適，應在大量受試者接受藥品暴露(第三期臨床試驗)前，進行光毒性潛力的實驗評估(非臨床的、體外或體內、臨床的)。

或者，若不採行上述的逐步作法，也可以在非臨床或臨床試驗中直接就光毒性潛力進行評估。若試驗結果未顯示潛在光毒性，則不需要求進行眼部/皮膚分布的早期評估以及臨床防護措施。若光毒性評估顯示有潛在光致癌性的風險，病人承受的風險通常可以透過防護措施而得以適當地控管，包括在臨床試驗受試者同意書以及上市產品資訊(仿單)中加註警語(註 6)。

十五、 非臨床濫用傾向評估

對於會產生中樞神經系統活性的藥品，無論其適應症，均應考量是否須進行藥品濫用傾向評估。非臨床試驗應能支持臨床濫用傾向評估的設計、符合主管機關的分類/調度以及仿單所載資訊，可能對設計特定的濫用傾向相關實驗能有所幫助。

在藥品開發過程早期所蒐集的非臨床數據，對於濫用傾向的早期指標的鑑定可能是有用的資訊。這些早期指標通常在首次人體給藥前即已知，包括可辨識反應持續時間的 PK/PD 資訊、與已知的受濫用藥品的化學結構的相似度、與受體結合的情形、以及在非臨床體內試驗中所顯示的行為/臨床表徵等。若從這些早期試驗並未發現明顯的濫用傾向可能性，則在非臨床濫用傾向模式進行詳細測試應該是不必要的。一般而言，若活性物質顯示出與已知的濫用傾向型態有關的訊號，或具有對中樞神經系統的全新作用機轉，則建議執行非臨床試驗以支持大規模臨床試驗的執行(例如：第三期臨床試驗)。

當嚙齒類動物的代謝物概況(profile)及藥品活性標的與人類一致時，應利用嚙齒類動物執行非臨床濫用傾向評估。非人類靈長類(Nonhuman primates)應保留給少數有明顯證據指出可用以預測人類濫用傾向，而嚙齒類動物模式不適合的情形使用。經常用於濫用傾向評估的試驗有以下三種：藥品辨別(drug discrimination)、自行投藥(self-administration of the compound)以及戒斷評估(assessment of withdrawal)。

在執行試驗時，藥品辨別與自行投藥試驗通常是單獨執行的。戒斷評估則有時可合併至重複劑量毒性試驗的可逆性評估的設計之中。對於這些非臨床濫用評估，最大劑量設定為可以產生比臨床有效劑量高出數倍的藥品血中濃度的劑量，被認為是適當的。

十六、 其他毒性試驗

對於在先前的非臨床或臨床試驗已顯示藥品或相關藥品具有特定之特殊安全性疑慮時，執行額外的非臨床試驗(例如：辨識具潛力的生物標記、提供作用機制相關知識)可能是有幫助的。

針對不純物與降解物進行驗證的方法可參閱 ICH Q3A、Q3B 指引(參考文獻 12、13)。若有必要進行特定試驗以驗證某不純物或降解物，則通常這些試驗無須在第三期臨床試驗前執行，除非發生了導致不純物概況(profile)明顯改變的變化(例如：新的合成路徑，或配方組成物之間的交互作用形成新的降解物)。若出現後面這種情況，為了支持第二期或更後期的臨床試驗開發，進行適當的驗證研究可能是必要的。

十七、 複方藥的毒性評估

本章節內容涵蓋共同包裝或單一劑型(“固定配方”)形式的複方藥。此處所述及之原則亦可應用於產品資訊中擬建議與特定藥品併用的藥品開發(即使不是固定配方的形式)，以及關於合併使用的臨床資料極少的情況。
所涵蓋的組合情況包括：

(1)兩種以上的開發後期產品[定義為已有許多臨床應用經驗(即來自第三期臨床試驗及/或上市後經驗)的化合物]；(2)一種以上的開發後期產品以及一種以上的開發早期產品[定義為臨床應用經驗有限(即來自第二期臨床試驗前或更早階段)的化合物]；或(3)一種以上的開發早期產品。對於多數由兩種開發後期產品組成，並有足夠的臨床併用經驗的複方藥，除非有明顯的毒理學方面的疑慮(例如：目標器官毒性相似)，通常不建議進行複方藥的毒性試驗以支持其臨床試驗或上市申請。此種疑慮可能會依安全極限值(margins of safety)以及監控人體發生不良反應的能力而改善。用來探討產生明顯毒理學疑慮之原因的試驗，通常應該在以該複方藥進行臨床試驗之前完成。

當兩種產品皆屬於開發後期，而兩者的臨床併用經驗不足時，但根據現有的資料，並沒有會導致明顯毒理學疑慮發生的原因，在此情況下，通常不建議執行複方的非臨床試驗來支持小規模且時程相對較短的臨床試驗(例如：最長 3 個月的臨床二期試驗)。然而，建議在進行複方藥的大規模或長期試驗以及上市申請之前，完成複方藥的非臨床試驗。

對於將已有臨床經驗的開發早期產品搭配開發晚期產品，而且並未發現明顯毒理學疑慮的複方藥，不建議執行複方的毒理試驗來支持最長 1 個月的臨床概念驗證試驗。該複方的臨床試驗時程不應比個別單方的臨床經驗長。較後期或時程較長的臨床試驗應該利用複方的非臨床毒性試驗來支持。

對於兩種開發早期產品的複方，建議利用複方的非臨床毒理試驗來支持其臨床試驗的進行。

為支持複方的臨床試驗，提供個別單方執行中的完整非臨床開發計畫，以及一項複方的非臨床毒性試驗是必要的。非臨床複方試驗的時程應與臨床試驗之時程相當，最長至 90 天。一個 90 天的複方毒性試驗亦可用來支持上市申請。視該複方預期在臨床使用的時程長短而定，試驗時程較短的複方毒性試驗亦可能可以支持上市申請。用以評估複方藥的非臨床試驗建議考量個別單方之藥理學、毒理學、PK 特性、所宣稱之適應症、目標病人族群以及現有的臨床數據進行設計。

複方的非臨床試驗通常應限於使用單一相關物種。若發現非預期毒性，執行額外的測試可能是適當的。

若未針對個別單方執行完整的非臨床試驗計畫，則僅以複方執行完整的非臨床毒理學計畫可能是合適的，但僅能支持其個別單方限用於該複方的情況。

若個別單方已根據現行規範完成相關測試，通常不建議為了支持臨床試驗或上市申請再執行複方的基因毒性試驗、安全性藥理試驗或致癌性試驗。當有病人族群包含 WOCBP，且在個別單方的試驗已顯示出胚胎－胎兒風險的情況時，因為已經發現對人體發育的潛在危害，故不建議再進行複方的試驗。若非臨床胚胎－胎兒試驗結果呈現各單方都不具有潛在的人體發育風險，除非基於個別單方的性質，推測其組合複方將對人體產生危害時的疑慮無法排除，否則不建議進行複方的非臨床試驗。當出現個別單方已完成胚胎-胎兒試驗，但須進行複方的胚胎-胎兒試驗的情況時，此(些)複方試驗應該在上市許可申請之前完成以支持其申請。

十八、 持續促進協和之努力

有關為支持藥品人體臨床試驗所執行的非臨床安全性試驗的執行時機方面的協和已達成顯著進展，且已於本指引中予以詳述。然而，少數區域仍存在差異。主管機關與業界將持續正視這些差異並攜手合作，以進一步改善藥品開發流程。

十九、 註釋

註**1**：本指引中「暴露量」通常係指組平均AUC。某些情況下(例如：當化合物或同類化合物已知會造成急性心血管系統功能變化或與中樞神經系統相關之臨床症狀時)，以組平均C_{max}值代表暴露量臨界值比用組平均AUC為宜。

註**2**：在試驗時程至少2週的重複劑量毒性試驗(一般使用嚙齒類動物)中，針對睪丸與卵巢進行徹底的標準組織病理檢查，用以評估雄性與雌性生育力，此評估方法被認為與生育力試驗對雄性與雌性生殖器官中毒性反應的偵測同樣敏感(參考文獻3、15、16)。

註 **3**：高效避孕方法定義為無論單獨或合併使用，當持續並正確使用時，失敗率很低(每年低於 1%)的方法。對於採用荷爾蒙避孕法的受試者，須提供待評估產品與其對避孕效果之潛在影響的資訊。

註 **4** ：適用於達成此目的的初步胚胎－胎兒試驗須規劃有足夠的劑量；其評估項目包括胎兒存活率、體重、外觀與內臟檢查；每組最少使用六隻母獸；並且母獸須在器官形成期持續接受藥品暴露。執行此項初步非臨床試驗應遵循高品質之科學標準，須備有數據紀錄可供隨時查閱，或符合 GLP 規範。

註 **5**：初次試圖懷孕的女性在每次經期之懷孕率約為 17%。從收納 WOCBP 的第三期臨床試驗所預估的每次經期懷孕率為<0.1%。在這些試驗執行期間，皆鼓勵受試者避孕並且設置了避免懷孕的措施。從早期第二期臨床試驗的資料可顯示，其懷孕率較第三期臨床試驗為低，但因為收納婦女人數有限，進一步降低的程度可能無法明確估計。根據上述第三期臨床試驗的經驗，在第二期臨床試驗收納 150 名 WOCBP 進行 3 個月試驗，預期對於每項開發中藥品，懷孕率將顯著低於 0.5 人。

註 **6**：通常不建議利用現有的模式(例如無毛囓齒類動物)進行光致癌性測試，因為其並不被視為可以用來支持藥品開發的進行。若光毒性評估結果顯示有光致癌性風險，且有適當的試驗方法可用以評估，則應在上市申請前完成該試驗，且試驗結果應納入人體風險評估之中。

二十、 參考文獻

1. ICH S6 Guideline: Preclinical Safety Evaluation for Biotechnological-Derived Pharmaceuticals; July 1997.
2. ICH E8 Guideline: General Considerations for Clinical Trials; July 1997.
3. ICH S5(R2) Guideline: Detection of Toxicity to Reproduction for Medicinal Products and Toxicity to Male Fertility; June 1993.
4. ICH S1C(R2) Guideline: Dose Selection for Carcinogenicity Studies of Pharmaceuticals; March 2008.
5. ICH S7A Guideline: Safety Pharmacology Studies for Human Pharmaceuticals; November 2000.

6. ICH S7B Guideline: The Nonclinical Evaluation of the Potential for Delayed Ventricular Repolarization (QT Interval Prolongation) By Human Pharmaceuticals; May 2005.

7. ICH S3A Guideline: Note for Guidance on Toxicokinetics: The Assessment of Systemic Exposure in Toxicity Studies; October 1994.

8. National Centre for the Replacement, Refinement and Reduction of Animals in Research. Challenging Requirements for Acute Toxicity Studies: Workshop Report; May 2007.

9. Robinson S, Delongeas JL, Donald E, Dreher D, Festag M, Kervyn S et al. A European pharmaceutical company initiative challenging the regulatory requirement for acute toxicity studies in pharmaceutical drug development. Regul Toxicol Pharmacol 2008;50:345-352.

10. ICH S2B Guideline: Genotoxicity: A Standard Battery for Genotoxicity Testing for Pharmaceuticals; July 1997.

11. ICH S1A Guideline: Guideline on the Need for Carcinogenicity Studies of Pharmaceuticals; November 1995.

12. ICH Q3A(R2) Guideline: Impurities in New Drug Substances; October 2006.

13. ICH Q3B(R2) Guideline: Impurities in New Drug Products; June 2006.

14. ICH S8 Guideline: Immunotoxicity Studies for Human Pharmaceuticals; September 2005.

15. Sakai T, Takahashi M, Mitsumori K, Yasuhara K, Kawashima K, Mayahara H et al. Collaborative work to evaluate toxicity on male reproductive organs by 2-week repeated-dose toxicity studies in rats. Overview of the studies. J Toxicol Sci 2000;25:1-

ICH M3(R2)：藥品人體臨床試驗與上市許可申請所需之非臨床安全性試驗指引問答集

(草案)

(Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization or Pharmaceuticals Questions & Answers)

衛生福利部食品藥物管理署

中華民國 113 年 O 月

前言

國際醫藥法規協和會(International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, ICH)於 2012 年發布 ICH M3(R2) Questions & Answers (Guidance on Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals Questions & Answers)指引，為確保 M3(R2)指引可順利執行，ICH 專家建立了一系列的問答集。

目錄

1. 毒性研究劑量限制 1
2. 代謝產物 6
3. 毒性可逆性 11
4. 組合藥品毒性試驗 14
5. 安全藥理學 20
6. 探索性臨床試驗 21
7. 生殖毒性 28
8. 幼年動物研究 29

1. 毒性研究劑量限制

核定日期		問題	答覆
1	2011 年 6 月	是否可定義 50 倍臨床暴露限值的計算方法以及其與預計治療臨床暴露量或第一期試驗中達到之最大暴露量間的關聯？	一般來說，暴露限值應透過動物在最高試驗劑量以及人體在預計治療暴露量時之組別/世代曲線下面積(Area Under Curve, AUC)平均值來計算。在某些特殊情況下，根據現有對化合物類別的理解，亦可以 C_{max} 為基礎，確立暴露量上限(例如：認為藥品可能導致癲癇時)。 使用 50 倍暴露量的方法時，毒性研究之高劑量選擇應可產生比在第二、三期研究中最高劑量預計所達臨床暴露量高 50 倍的暴露限值。有關第三期試驗之例外情況請見相關規範(ICH M3(R2))以及問題 2、問題 3 的答覆。至於第一期臨床試驗，則認定使用劑量通常會超過治療暴露量，因此可使用較小的限值(請見問題 2、3 的例子)。

2	2011 年 6 月	當使用 50 倍暴露量方法且在嚙齒類和非嚙齒類毒性研究中沒有觀察到不良結果時，假若臨床劑量已達適當的上限值(動物研究最高劑量所達暴露量的 1/50)，且沒有在人體中觀察到不良結果，是否能夠進一步增加臨床劑量？	在這類情況中，若臨床劑量已達動物研究最高暴露量的 1/50，且沒有在自願受試者/病患中發現與治療相關的不良影響，則可透過短期臨床研究(例如：14 天的研究期間)謹慎地繼續增加臨床劑量，並在以下其一情況發生時停止劑量增加：暴露量達動物研究最高暴露量的 1/10 或劑量開始會對人體產生不良影響。這是合理的做法，因為探索性臨床試驗方法 (非以評估最高耐受劑量為目的)可支持透過相同的首次用於人體(first-in-human)毒性研究，執行長 14 天的給藥直至達到無明顯不良反應劑量(No Observed Adverse Effect Level, NOAEL)暴露量的 1/10。
3	2011 年 6 月	若透過 50 倍暴露量方法選擇毒性研究劑量，且已在一個(含)以上的毒性研究中發現不良結果，但該結果不具有劑量限制性，那臨床暴露量的上限值為何？	臨床研究可以無明顯不良反應劑量為基礎增加劑量，以此觀察在毒性研究中發現的不良結果。在這類情況中，臨床劑量不受 50 倍限值的限制，但應以標準風險評估方法為基礎(例如：結果是否可逆和/或可監測、適應症嚴重程度、臨床研究觀察到的不良影響等)。

4	2011 年 6 月	50 倍暴露量限制是否只適用於小分子？	是，50 倍暴露限制值只適用於小分子。如 ICH M3(R2)中適用範圍章節所述，本指引在探討非臨床研究相對於臨床開發的執行時機時,只適用於生物製藥。非臨床生物製藥研究的高劑量選擇與小分子高劑量選擇不同(見 ICH S6(R1))。
5	2011 年 6 月	在提供最高可投予劑量(maximum feasible dose)論述時，試驗委託者應該要提供到什麼程度的理由才能證明其最高可投予劑量之合理性？	最高可投予劑量應以最大化毒性研究劑量為目的，而非最大化給予的劑量。然而應根據試驗物種的解剖、生理屬性以及配方的特性來決定可給予的配方量，且給予量會影響最大可投與劑量。另外,配方的化學和物理穩定性是決定該配方是否適合毒性研究時很重要的指標,也會對確立最大可投與劑量的載體選擇有所限制。可溶性限制可能會對某些給藥途徑(如靜脈注射)的劑量有所限制，對於吸入式或口服等其他給藥途徑來說,可溶性限制通常不足以構成最大可投與劑量選擇的充分理由。在對動物給藥前，應探討受試藥品不同配方的多種特性(例如：水性與非水性、不同黏度)。應評估在動物體內最可能使用的配方(通常會有三種)，以確認可產生最大暴露量的配方。使用載體的特徵應已在科學文獻中有適當程度的確立，或是根據先前經驗(試驗委託者或法規單位提供的資訊)來選擇載體，確保載體在

			特定使用情況下不會造成顯著毒性。
6	2011 年 6 月	若未在任何物種中發現劑量限制毒性，且在第三期研究前只存在每個物種一篇非臨床毒性研究的話，應該怎麼做？	該情況適用於一般性毒性研究的高劑量選擇指引，無論藥品開發範例的時長或複雜度為何。根據相關建議(見 ICH M3(R2))，應以找出毒性為目的來評估高達最高耐受劑量、最高可投予劑量或上限劑量的劑量水準。
7	2011 年 6 月	高劑量選擇與 50 倍臨床 AUC 限值的指引是否適用於非口服給藥途徑(例如：皮膚用、吸入式)？	對於所有預計會產生全身性暴露之藥品來說(包含經皮藥品)，使用 50 倍限值是適當的做法。對於產生局部效果的外用藥品來說，外用毒性研究的高劑量通常應以最高可投予劑量或最高耐受劑量為基礎做選擇，且可能無法達到臨床可達之高局部濃度或高全身性暴露量。在這樣的情況下不適合使用 50 倍全身性限值。 以全身性作用的吸入式藥品來說，吸入式毒性研究可將高劑量設定為可產生高於臨床全身性暴露量 50 倍或與其相等的 AUC 值，且比預估肺部沉積劑量高 10 倍的劑量。對於在肺部局部作用的吸入式藥品來說，可將高劑量設為肺部沉積劑量高出預估臨床肺部沉積劑量 50 倍，且 AUC 比人體在臨床劑量下所達 AUC 高出 10 倍的劑量。

8	2011 年 6 月	50 倍限值是否適用於幼年動物研究？是否可將 50 倍限值用於選擇生殖毒性研究的最高劑量？	以暴露限值為基礎來限制最高劑量的類似原則應可適用於部分其他類別的毒性試驗，如預計不會產生毒性的幼年動物毒性研究。針對在生殖毒性研究中以 50 倍限值選擇高劑量的做法目前還未有相關探討，不過現有的 ICH 指引指出，高劑量預計會在母體產生最小毒性，但劑量也可能會受其他因素所限制(見 ICH S5(R2))。
9	2012 年 3 月	當非臨床研究的最高劑量為第一章第(五)節所述之上限劑量(如 1000 mg/kg 或 2000 mg/kg)或是最高可投予劑量，且未於該劑量發現毒性時，臨床開發研究應該使用何種暴露限制？	可以保守方式增加臨床劑量，直至劑量水準產生之血漿 AUC 暴露量達到使上限劑量或最高可能投與劑量之動物暴露量達最低的血漿 AUC 暴露量的 1/2 倍。若該臨床暴露對人體沒有產生不良影響，可在根據風險/效益考量提供充分理由後，進一步謹慎地增加劑量。

2. 代謝產物

核定日期		問題	答覆
1	2011 年 6 月	在「只有在人體代謝物的暴露量為總藥品相關暴露量的 10%以上時，且人體暴露量顯著高於毒理試驗中的最大暴露量時，才須針對人類的代謝物進行非臨床分析」中「顯著高於」的意思為何？	「顯著高於」一詞並非意指在統計上顯著較高的劑量。一般來說高於等於 2 倍(平均)的 AUC 差異即是有意義的毒物動力學評估。因此，只要動物暴露量為人體暴露量的 50%(含)以上，就會認定代謝產物毒性的特徵確立是有效的。在某些情況中，像是當代謝產物構成人體大部分的暴露量時，讓動物對代謝產物的暴露量超過人體對其之暴露量就會是適當的做法(見問題 12)，在這個例子中，在動物體內產生較高的代謝產物暴露量是很重要的，因為該代謝產物構成一大部分的人體暴露量。
2	2011 年 6 月	10%的定義以及計算方法為何？	該 10%門檻意指人體代謝產物構成超過測得藥品與代謝產物總暴露量 10%的情況，通常以組別 AUC 平均值為基礎計算(例如：$AUC_{0\text{-}inf}$)。
3	2011 年 6 月	需要確立代謝產物毒性的特徵時，達到足夠全身性代謝產物暴露量對哪些種類的體內非臨床研究來說是重要的？	在以下研究物種體內達到足夠代謝產物暴露量是非常重要的：一個一般性毒性評估物種、一致癌性研究物種(需要進行致癌性評估的情況下。不需要該評估時，應以一體內微核研究物種替代)、一胚胎胎兒發育研究物種。

4	2011 年 6 月	是否建議對代謝產物執行體外遺傳毒性研究？ 需要對代謝產物執行遺傳毒性評估時，定量構效關係評估是否可有效評估遺傳毒性？或者是否需要執行遺傳毒性研究？	本問題不在 ICH M3(R2)的範疇內。
5	2011 年 6 月	單次給予放射性標記藥品的人體吸收、分布、代謝、排除研究所提出之代謝暴露量數據是否足以在沒有評估穩態水準(該評估無法透過臨床放射性標記給藥執行)的情況下與動物毒性研究中觀察到的暴露量進行比較？	可根據人體單次給藥數據來評估代謝產物是否構成藥品有關總暴露量的 10%以上。以非放射性方法測量所有代謝產物的 AUC 通常不是可行的做法，特別是對於具有許多種不同代謝產物的藥品來說。在這類情況下，單劑量放射性標記研究可合理預測人體的藥品相關總暴露量，且可在計算代謝產物暴露量是否超過 10%時提供有效依據(若非放射性標記方法顯示代謝產物在母藥品或任何藥品相關成分中的佔比少於 10%，則代謝產物不可超過藥品相關總物質的 10%。舉例來說，P+M1+M2+…Mn = 總數，若 M1 少於 P 的 10%或少於任何 M 的 10%，則 M1 會少於總數的 10%。在此情況下，無需再對該代謝產物執行進一步的評估。) 在藥品開發期間，若正常透過多次給藥人體研究所得之暴露量數據顯示代謝產物的穩態水準超過 10%，則應考慮對該代謝產物執行額外

			的非臨床評估。 一般來說，可透過比較非臨床研究與單劑量臨床研究之暴露量數據來確認是否需要進一步確認代謝產物的毒性特徵。對於只有在重複給藥後才會在人體藥品有關物質中佔比超過10%的代謝產物來說，應使用其穩態水準(臨床與非臨床)來評估暴露限值的適切性。
6	2011 年 6 月	指引中提到：「只有在人體代謝產物暴露量高於藥品相關總暴露量的10%且顯著高於毒性研究中的最大暴露量時，才需要對該代謝產物執行非臨床特徵確立。」 將人體代謝產物暴露量與該代謝產物在毒性研究中的最大暴露量做比較時，最大暴露量是否一定是動物研究中達到的最大暴露量？或者在某些情況中，無明顯不良反應劑量、無效應劑量(no observed effect level)或最高耐受劑量是否會是更合適的選擇？	因為母藥與代謝產物會增強在最高耐受劑量時於動物體內所觀察到的標靶器官毒性特徵，所以在比較物種間的暴露量時，假設具疑慮的毒性可有效在人體內監測且劑量不會造成無法接受之風險，將動物在最高耐受劑量時之暴露量與人體在治療劑量時之最大暴露量做比較。若在最高耐受劑量產生之毒性無法在人體內監測或會造成無法接受的風險，則因為該毒性疑慮，應以無明顯不良反應劑量進行暴露比較。
7	2011 年 6 月	開發藥品期間，何時應獲取非臨床的代謝產物數據？	如 ICH M3(R2)第三節第一段所述，應在人體臨床試驗開始前評估動物與人體體外代謝數據。試驗物種與人體之體內代謝數據應在使大量人體受試者接受暴露或長時間治療前獲取(通常在第三期試驗之前)。

8	2011 年 6 月	請說明可能不具有毒理學疑慮的代謝產物。「大多數的穀胱甘肽共軛物」中「大多數」的意思為何？可化學重排之醯基葡糖苷酸是否是具毒理學疑慮的其中一個例子？面對化學反應性代謝產物時該怎麼做？	雖然特例相對較少，大多數穀胱甘肽共軛物都是透過與反應性代謝產物之間的共軛作用形成，進而形成不具有毒理學疑慮的排泄代謝產物。大多數的葡糖苷酸並不會產生疑慮，但會化學重排的葡糖苷酸除外(例如：反應性醯基葡糖苷酸)。具高度化學反應性之代謝產物雖然會產生毒理學疑慮，但因其半衰期較短，所以通常不會蓄積在血漿中。一般來說，因具高度化學反應性之代謝產物較不穩定，對此類代謝產物執行獨立測試不可行，但該代謝產物被認為會增強藥品整體的非臨床毒性。
9	2011 年 6 月	是否應對需要進行非臨床特徵確立之代謝產物執行安全藥理學研究？	評估安全藥理學終點之臨床研究通常在第一期研究期間執行，這些終點的人體評估應該在對代謝產物執行完整特徵確立之前完成。因此在確立代謝產物特徵時，通常無需對其執行非臨床安全藥理學研究。然而若在人體中發現未於母藥非臨床研究中預測到的安全藥理學訊號，則可考慮對該人體代謝產物執行額外的安全藥理學研究，增加對其機制的理解(見 ICH S7A、S7B)。
10	2011 年 6 月	ICH M3(R2)第三章第一段中的「體外生物化學資訊」是什麼意思？	體外生物化學資訊包含標準體外代謝評估(例如：細胞色素 P450 抑制、孕烷 X 受體測定等)，

			亦包括含有肝微粒體/肝細胞的研究或是針對經藥品轉運子產生之潛在交互作用執行的研究。
11	2011 年 6 月	代謝產物之非臨床研究應該如何設計(物種、時長、研究種類等)？	這樣的細節通常不在 ICH M3(R2)的範疇內，應依照個案狀況、使用科學判斷並諮詢法規單位來設計研究。亦可參考對其他問題的答覆(例如：問題 3、9)。
12	2011 年 6 月	ICH M3(R2)對代謝產物之相關指引是否適用於前驅藥品(即當代謝產物提供大部分的藥理學活性時)？	本指引並無針對前驅藥品做探討。若動物物種將前驅藥品轉換為代謝產物的方式與人體相似，則可使用 ICH M3(R2)中所建議之標準試驗方法。若動物物種中沒有產生足夠的活性代謝產物，則該活性代謝產物應為毒理學評估之目標分子，因此除建議試驗外，可再對代謝產物執行額外的試驗。在這類情況中，應根據 ICH M3(R2)之一般性時間軸來決定活性代謝產物的非臨床試驗執行時機，而非使用第三章所述之代謝產物試驗執行時機。

3. 毒性可逆性

核定日期		問題	答覆
1	2011 年 6 月	可逆性評估的適當執行時機為何？是否一定要證明完全可逆性？或者是只需證明具有完全可逆性之潛力即可？	ICH M3(R2)一般性原則的說明如下：「非臨床安全性評估的目標通常包括探討標的器官的毒性效應、劑量依存性、與暴露量之間的關係，以及潛在的可逆性。」。 當非臨床研究觀察到具有潛在不良臨床影響的嚴重毒性時，應對毒性之可逆性潛力(即回到原始或正常狀態)執行評估，可以可逆性研究或科學評估為基礎進行評估。 可逆性之科學評估包含病理性病變的程度和嚴重度、產生毒性作用之器官系統的再生能力、對其他也會造成相同作用的藥品之理解。因此在確立不良反應是否具有可逆性時，恢復組或研究的使用沒有絕對的必要性。研究無需證明完全的可逆性，一般來說只需展示出可逆性趨勢(發生率或嚴重度減少)並提出毒性最終會達到完全可逆性的科學評估即可。若預測毒性不具有完全可逆性，則應將該其不可逆特性納入臨床風險評估中。 無法透過科學評估預估毒性是否具有可逆性且滿足以下其一條件時，通常會需要執行包含終結性

			不給藥期間(terminal non-dosing period)的毒性研究： 1. 臨床相關暴露量會產生嚴重毒性(例如：小於等於臨床暴露量的 10 倍) 2. 毒性只有在人體病理生理晚期階段以及預期器官功能會有顯著下降時才可測得。(在這類情況中，即使在暴露量大於臨床暴露量 10 倍時仍可考慮執行可逆性評估) 當毒性滿足以下其一條件時，無需執行含有終結性不給藥期間的毒性研究： 1. 在未變嚴重前的早期階段就已於人體內監測 2. 已知與人體相關性不大(例如：嚙齒類哈氏腺(Harderian gland)毒性) 3. 只在不具臨床相關性的高暴露量時才觀察得到(特例請見以上第 2 點) 4. 與有關藥劑誘發之毒性相似，且根據先前對這些藥劑的臨床經驗，認定毒性的風險是可掌控的 需要執行可逆性研究時，該研究應可支持臨床研究，其研究時長與非臨床研究觀察到不良影響的時長相等。然而當臨床試驗時長與非臨床試驗未觀察到不良影響的期間相當時，通常不需要透過

			可逆性研究來提供支持。 若特定病變在短期研究中(例如：2 週或 1 個月)顯示可逆性，且在較長期研究中沒有變嚴重的趨勢，通常無需再透過較長期毒性研究來重複評估其可逆性。 需要執行可逆性研究時，較有效率的做法是將其作為慢性研究的一部份來執行，這個作法使所有具有疑慮的毒性都可以透過單一研究來評估，但前提是該可逆性研究沒有因為要為特定臨床試驗提供支持而需要提前執行。

4. 組合藥品毒性試驗

核定日期		問題	答覆
1	2011 年 12 月	將兩種(含)以上的晚期實體(late stage entity)做組合時，若其中一實體對人體的劑量/暴露量會比核定的水準還高，是否需要進行組合毒性研究？或是現有較低劑量的非臨床數據與臨床經驗就足以進行非臨床評估？	若先前在臨床上已經有將該兩實體一起使用的經驗，通常就不建議針對其一實體的劑量/暴露量增加執行組合毒性研究，除非該增加可能會造成顯著的毒理學疑慮。疑慮的嚴重程度取決於其新的暴露限值、個別藥劑已建立之安全性特徵、同時給予該實體之經驗多寡、監測所有人體潛在不良反應的能力。若劑量/暴露量增加會產生相關疑慮，且欲透過執行研究來解決該疑慮，則一般來說研究應在該組合藥品的臨床研究開始前完成執行。若還未有在臨床上同時使用該實體的經驗，請參考 ICH M3(R2)。
2	2011 年 12 月	ICH M3(R2)第十七章提到：「若非臨床胚胎－胎兒試驗結果呈現各單方都不具有潛在的人體發育風險，除非基於個別單方的性質，推測其組合複方將對人體產生危害時的疑慮無法排除，否則不建議進行複方的非臨床試驗。」雖然該論述符合歐洲藥品管理局的指引，但牴觸了美國食品藥品管理局指引的說明：「應對藥品組合執行胚胎胎兒發育研究，除非已有證據指出該市售藥品物質或新分子實體具有顯著的發育毒性風險(例如：市售藥品被分類為懷孕等級「D」或	ICH 指引之論述都是在各個參與方的共識下所提出，反映了每個法規單位對給定議題的現行建議。

		「X」)。」請說明在 ICH 指引與地區指引在內容上有出入時應以何為主。	
3	2011 年 12 月	根據本指引所述，若組合之晚期藥品已經在臨床上有足夠的同時給藥經驗，則通常不建議執行組合毒性研究，除非其組合會產生顯著的毒理學疑慮。在這個論述中，要如何判定藥品是否「在臨床上有足夠的同時給藥經驗」？進一步地說，要如何在還未執行組合毒性試驗的情況下，使藥品組合達到「足夠」的臨床經驗？此指引似乎只適用於曾同時使用過的市售藥品。這是否是指引想表達的意思？	本指引章節並非只適用於市售藥品。在 ICH M3(R2)中，足夠臨床經驗被定義為第三期臨床研究和(或)銷售後使用的相關數據。足夠的臨床經驗可能是在臨床上大量使用藥品組合的結果。 同時給予兩種(含)以上的晚期實體在許多常使用標準照護附加治療(add-on therapy)或組合治療的臨床開發治療領域中是常有的做法，如高血壓、糖尿病、人類免疫缺乏病毒、C 型肝炎、癌症治療等。
4	2011 年 12 月	若固定劑量組合(fixed-dose combination)中其中一個藥劑的類別已有多個藥品經過核定，是否需要對該類別的所有藥品執行組合毒性研究的試驗？	一般來說，欲組合(以單一劑量的形式共同包裝或同時給藥)特定藥品或是其中一個藥品資訊建議與其他給定藥品同時使用時，建議執行組合毒性研究。對於問題中所述的情況，本指引並無建議執行組合毒性研究。當其中一個藥劑會產生特定疑慮時，應對該藥品進行組合毒性試驗。當出現與藥品類別有關的疑慮時，對該類別代表性藥劑執行組合毒性研究可提供有用資訊(見問題 3 之答覆)，並應解釋選擇特定藥品來執行試驗的原因。
5	2011 年 12 月	組合毒性研究之劑量、時長、終點要如何選擇？	ICH M3(R2)的主要目的為探討非臨床研究相對於臨床開發的執行時機點與時長。需要執行非臨床組合毒性研究來支持組合臨床試驗時，研

			究時長應與欲支持之臨床試驗時長相等，且不超過 90 天(該時長亦可為藥品銷售提供支持)。根據臨床使用而定，長度較短的組合研究也可以用來支持藥品的銷售。根據對個別藥劑的經驗，以探討特定毒理學疑慮為目的之組合毒性研究應使用可適當探討該疑慮之時長。 組合毒性研究應納入終點以評估對已知毒性的相加和協同作用，該作用可從個別藥品已知的藥理學、毒理學、藥品動力學特徵以及現有臨床數據和一般性毒性研究常使用的標準終點預估之。對實驗設計之深度探討(即物種選擇、劑量與給藥頻率之合理性證明等)不在本指引的範疇內，但應選擇可適當解決已發現疑慮或提供臨床相關暴露限值之劑量(例如：對兩種早期藥劑執行研究時)。
6	2011 年 12 月	當同時使用多種實體(例如：超過兩種)有可能會造成疑慮時，要如何透過毒性研究對多種實體的組合執行評估？	因為執行和解讀兩種實體以上的組合毒性研究可能有較高的複雜度，對初始研究來說，一般較可行的作法是評估不超過兩種實體的組合。額外試驗的必要性則取決於該研究結果、個案情況，並諮詢相關的法規機關。
7	2011 年 12 月	若化合物之開發目的為減少另一個化合物的副作用，其組合效果將會透過臨床或非臨床藥理學研究來評估。那麼該藥理學研究是否能夠取代組合毒性研究？	當組合毒性研究有執行的必要性時，一般來說無法以組合藥理學研究取代，但抗癌藥品除外(見 ICH S9)。組合毒性研究的目的為評估可能導致非預期人體危害的毒性終點。這類毒性終點在藥理學研究中通常都沒有受到足夠的評

			估。無需執行組合毒性研究的情況如本指引第十七章所述。
8	2011 年 12 月	第十七章中提到，當藥品組合有潛在人體發育風險的疑慮，且需要執行組合胚胎胎兒發育研究時，必須透過該研究來支持藥品銷售的申請。請說明在什麼情況下會需要在開始納入具生育能力婦女的臨床試驗前執行該研究。	如本指引所述，藥品的銷售必須透過組合胚胎胎兒毒性研究來支持。任何在組合胚胎胎兒發育研究完成前納入具生育能力婦女的試驗都應採取適當的預防措施(包含知情同意)，以令產生第十一章中所述之胚胎或胎兒意外暴露的風險最小化。
9	2011 年 12 月	ICH M3(R2)之適用範圍章節提到：「對於針對尚無有效治療方法的危及生命或嚴重疾病適應症(例如：晚期癌症、抗藥性人類免疫缺乏病毒感染、先天性酶缺乏症)而開發之藥品來說，需根據個案情況執行毒理學評估與臨床開發以最佳化並加快藥品之開發。」雖然在該 ICH M3(R2)章節中並沒有特別說明晚期癌症與人類免疫缺乏病毒藥品之組合毒性研究必要性，但普遍接受的做法是無需針對該藥品執行組合毒性研究。這個論述是否正確？這個論述是否可以如美國食品藥品管理局最近發布的 C 型肝炎病毒指引所述，延伸適用至 C 型肝炎病毒藥品，或是其他將藥品雞尾酒(cocktail)當作標準臨床操作的治療領域？	針對晚期癌症、肺結核、人體免疫缺乏病毒之藥品，一般來說無需執行組合毒性研究，但在臨床相關條件下可能會產生疑慮者除外。治療 C 型肝炎的抗病毒藥劑通常也無需執行組合毒性研究。上述原則可能也適用於藥品組合作為標準臨床操作來治療尚無有效治療方法之嚴重或危害生命疾病的情況或是類似做法。
10	2011 年 12 月	對於含有至少一種生物技術藥品之藥品組合來說：第十七章組合藥品毒性試驗中的內	對於生物技術藥品來說，如何執行合適的非臨床安全性研究應參考 ICH S6(R1)，但該指引並

		容是否完全適用？或者是否如指引適用範圍所指，只適用於其執行時機？若為後者，哪些指引(仍)可適用於決定哪些是建議執行的研究種類？	未探討組合毒性研究的議題。當藥品組合同時含有生物技術以及非生物技術藥品時，任何非臨床組合研究的設計與可行性都很複雜，應以個案情況而定，並應根據 ICH S6(R1)與 ICH M3(R2)的原則為所做決定提供合理的科學解釋。
11	2011 年 12 月	本指引在是否將具生育能力婦女納入組合藥品開發的討論中提到：「當[...]個別藥劑的結果顯示可能具有胚胎胎兒風險時，不建議執行組合研究，因為已經發現潛在的人體發育危害。」其中「結果顯示可能具有胚胎胎兒風險」的意思為何？	顯示可能具有胚胎胎兒風險的結果包含所有在相關暴露倍數時觀察到的(約臨床暴露量的一個數量級內)或是與藥品之藥品動力學直接相關的生殖危害。在這些情況中，即使研究顯示藥品的組合會強化藥品作用，對於病患可用來降低危害的建議作為通常會維持不變，因為先前就已經觀察到個別藥品會對病患產生顯著風險。因此當藥品組合中已經有個別藥劑的結果顯示具有胚胎胎兒風險時，不建議執行組合生殖研究，無論該藥劑之懷孕等級為何，該結果皆應在風險溝通過程中提供給病患與醫師作參考。舉例來說，若組合中其中一個藥劑的研究顯示在約臨床暴露量 10 倍時出現胎兒死亡或畸形，則即使只在一個物種中觀察到，都無需再執行組合研究，但前提是該資訊必須已於該單一藥劑的藥品標示中提供。
12	2011 年 12 月	第十七章中未提到藥理學研究及藥品的藥效學或藥物動力學交互作用研究。請說明這些研究是否有執行的必要性及何時該執行。	個別藥品的藥效學活性、藥物動力學特徵(包含對細胞色素 P450 之作用)通常會是在藥品組合之前已知的資訊。因為實體間的藥效學交互作

			用可根據個別實體或其組合的非臨床或臨床經驗推斷之，因此無需執行非臨床藥效學交互作用研究。若藥理學資訊顯示實體間交互作用可能會導致毒性產生，則可能會需要執行非臨床組合毒性研究。 與藥物動力學交互作用有關的疑慮通常可透過將初始給予劑量降低至比個別藥品適當劑量還低的水準，或是透過執行臨床藥物動力學藥品交互作用研究來解決。

5. 安全藥理學

核定日期		問題	答覆
1	2012 年 3 月	ICH M3(R2)指出，應考慮盡可能將體內安全藥理學評估納入毒性研究。這是否代表作為一般性毒性研究一部份執行的安全藥理學評估可以不需像獨立安全藥理學研究中的評估這麼仔細？	否。作為一般性毒性研究一部份執行的安全藥理學評估應與獨立安全藥理學研究有同等的嚴謹度。可透過現有技術來確保評估嚴謹度，但前提是使用方法必須已經過充分評估。

6. 探索性臨床試驗

核定日期		問題	答覆
1	2012 年 3 月	為什麼在探索性臨床研究可能只會在單一個性別執行的情況下，還需要透過對兩個性別皆執行延伸的單一劑量研究來支持探索性臨床研究？	探索性臨床研究不代表能夠達到完整的臨床開發。因此當只以對單一性別執行探索性臨床研究為目的時，單一劑量毒性研究可只針對該性別執行。然而在這類情況中，需增加第 2 日終結的動物數量，因為在辨識與確立非性別特定的毒性特徵時，合併兩性別動物的藥品作用是常有的做法。對於針對單一性別執行的延伸性單一劑量毒性研究來說，第 2 日接受終結的動物數量通常應為每組 15 隻(嚙齒類)或 5 隻(非嚙齒類)，第 14 日終結的數量則應為每組 7 隻(嚙齒類)或 3 隻(非嚙齒類)。
2a	2012 年 3 月	是否可說明方法 3、4、5 之間的差異？	方法 3 對人體執行單次給藥，受單次給予高達動物最高耐受劑量、最大可投與劑量或上限劑量的延伸性嚙齒類與非嚙齒類毒性研究支持。 方法 4 使用多次給藥的臨床試驗(最長 14 天)，受長 14 天、動物劑量使用為探索性臨床研究建議人體暴露量數倍的毒性研究(嚙齒類與非嚙齒類)支持。若在兩物種體內皆未觀察到毒性，則建議最大臨床劑量不超過在最高試驗劑量時兩物種之中較低暴露量(AUC)的 1/10。若已觀察到毒性，請見以下問題 2b 之答覆。 方法 5 使用多次給藥的臨床試驗(最長 14 天)，

			受到長 14 天、劑量高達最高耐受劑量、最大可投與劑量或上限劑量的嚙齒類研究以及顯示非嚙齒類物種敏感度並無較嚙齒類物種高的證實性非嚙齒類研究(時長應至少與探索性臨床試驗相同)所支持。在此情況下，應根據毒性研究結果來決定探索性臨床試驗適當的最高暴露量水準。 因此，方法 4 和方法 5 間的差異在於修改標準非臨床毒性研究建議的方法以及確立臨床暴露上限的方法等。 方法 5 使用的藥品量可能較方法 4 少，但在辨識安全性風險時對嚙齒類的依賴性較高。在方法 4 中，嚙齒類與非嚙齒類有同等的重要性，但有可能在兩類物種都無法找出標靶器官毒性。在這樣的情況下，若已知合理的安全限值存在，即可為臨床進程提供支持。 提供這些範例的目的為使試驗委託者在執行探索性臨床試驗時，在方法選擇上能有一定彈性，選擇最符合其需求的作法。這些方法只是其中的一些例子，試驗委託者可提出與這些方法不完全相同的替代方案。
2b	2012 年 3 月	為什麼方法 4 的最高臨床劑量比方法 3 和方法 5 還來得嚴格？	方法 4 是這些方法中唯一在至少一個物種中不依賴第一章第(五)節中所述標準高劑量條件(最高可耐受劑量、最大可投與劑量、50 倍暴露量、上限劑量)的方法。

			方法 4 在嚙齒類與非嚙齒類研究使用的高劑量均是以建議人體暴露量的倍數為基礎，因此兩物種皆不適用於第一章第(五)節中的高劑量選擇建議。不同於此，方法 3 要求兩物種皆需要滿足標準高劑量條件，而方法 5 則要求嚙齒類需要滿足該條件。在方法 3 和方法 5 中，使用標準高劑量選擇條件可減少尚未發現但與人體相關之潛在毒性可能存在的不確定性。 因為方法 4 使用了暴露量倍數來做兩物種的高劑量選擇，很可能在兩物種體內都無法發現潛在的毒性。在這樣的情況下，建議使用較保守的臨床暴露量上限(例如：兩物種在低劑量時所達暴露量的 1/10)，因為還未發現任何對臨床監測會產生潛在疑慮的劑量限制毒性。若已在其中一物種發現毒性，則應在發現毒性物種無明顯不良反應劑量時的暴露量或未發現毒性物種無明顯不良反應劑量時暴露量的 1/2 之中，選擇較低的數值作為臨床暴露量上限。與在兩物種都沒有發現毒性的情況相較，這個做法可提高方法 4 的暴露量上限。當方法 4 的臨床暴露量上限以毒性為基礎時，與方法 5 的臨床暴露量上限相近。若在方法 4 的兩物種都發現劑量限制毒性，代表兩物種均符合或超過第一章第(五)節之高劑量建議，則可根據第一期試驗使用的標準風險評估來決定最高臨床劑量，並探索臨床最高可耐受劑量為何。

2c	2012 年 3 月	當出現毒性時(例如：方法 3、5)，為什麼最高人體可用劑量(無明顯不良反應劑量或其 1/2)會與一般實際使用的劑量不同？即(1)毒性嚴重性低且(或)可監測時，人體劑量通常可以超過無明顯不良反應劑量、(2)毒性嚴重性高且不可監測時，通常會將最大人體劑量限制在無明顯不良反應的 1/10。	探索性臨床試驗最大暴露量上限較第一期試驗嚴格的情況符合非臨床研究要求較 ICH M3(R2)內所述標準毒性研究要求更受限制的情況。以方法 3 來說，會建議執行延伸性單一劑量研究，與往常建議執行時長至少 2 週的研究(見表一、方法 5)有所不同，非嚙齒類研究在本質上是證實性的研究，可限制只對 3 隻動物以欲設立為無明顯不良反應劑量的水準進行單次給藥。在最高人體暴露量可增加至高達無明顯不良反應劑量暴露量 1/2 的建議中，其假設定義無明顯不良反應劑量的毒性嚴重性不高且可監測。若實際情況與該假設不符，則可根據劑量限制毒性的本質來調整暴露限值。
3	2012 年 3 月	為什麼方法 3 和方法 5 在探討探索性臨床試驗的最高臨床暴露量時，將最高可投予劑量當作最高可耐受劑量使用？兩物種在最高可投予劑量下皆沒有觀察到毒性時，不是應該要比照方法 4 中兩物種皆無毒性的情況處理嗎(意思是將臨床暴露量上限設在最高試驗劑量時暴露量的 1/10，而非 1/2)？	毒性研究把最高可投予劑量當作最高劑量使用時，就無法再測試更高的劑量/暴露量。將最高可投予劑量當作最高劑量使用且沒有觀察到任何毒性時，這與使用上限劑量且未發現毒性的情況類似(即上限劑量為無明顯不良反應劑量)，在這類情形中，可使用高達無明顯不良反應劑量所產生 AUC 的 1/2 的臨床暴露量(見 M3(R2)第一章第(五)節、上限劑量問答集 9)。1/10 的暴露量上限不適用於高劑量受最高可投予劑量上限的情況，因為該上限使用可能會導致無法在探索性臨床試驗的概念下對藥品進行足夠的臨床試驗。當方法 4 沒有發現任何毒性時，建議使用更嚴格的

			安全上限，因為可透過提高動物試驗的劑量來確立藥品的毒性特徵。
4	2012 年 3 月	本指引提供建立探索性臨床試驗最高許可劑量(曝露量)之相關建議，但有關標準第一期試驗或臨床開發試驗最高劑量的建議並不多。是否可將探索性臨床試驗的相關原則(ICH M3(R2)表三)套用至標準第一期試驗的最高劑量使用？	當非臨床研究符合 ICH M3(R2)第五章第(一)節的一般性建議時，可依據標準風險評估(例如：毒性結果是否可以和(或)可監測、適應症嚴重度、臨床研究觀察到的不良反應等。請見 ICH M3(R2)第六章以及地區相關指引)來設定第一期研究臨床開發之最高臨床劑量。這個方法通常可支持比探索性臨床試驗建議劑量還高的臨床劑量，然而試驗委託者可選擇將第一期研究最高臨床劑量設在較低的水準(例如：以探索性方法的相關原則為基礎)。
5	2012 年 3 月	在對生物技術藥品執行探索性臨床試驗時，有哪些合理策略可使用？	探索性臨床試驗方法可適用於生物技術藥品。該藥品的分子結構與標靶種類多(例如：胜肽、多肽、治療性蛋白、單株抗體)。生物技術藥品的探索性臨床試驗與提供支持的毒性研究應可反映該藥品之特徵，如 ICH S6(R1)所述。特徵包含暴露時長、動物或人體免疫原性潛力以及劑量限制毒性是由與藥效學有關的靶向機制所致的可能性。如 ICH S6(R1)建議，應與相關的法規機關討論欲使用的探索性臨床試驗方法。 對於某些在嚙齒類動物體內不具有活性的生物技術藥品(例如：單株抗體)來說，可使用非人靈長類物種作為單一相關物種來進行毒性試驗，在這樣的情況下，與方法 5 類似的方式並不適用，

			因為其需執行嚙齒類毒性研究以及證實性非嚙齒類研究。另外，對生物技術藥品執行標準毒性研究時，高劑量選擇的例行做法是根據暴露量倍數來決定(即最高臨床暴露量的 10 倍)，而非根據最高可耐受劑量、最大可投與劑量(但劑量水準較前述倍數低者除外)或上限劑量來做決定。因此方法 4 的高劑量建議水準與生物技術藥品的標準建議相差不大。
6	2012 年 3 月	在使用<100 μg 劑量的探索性方法 1 和方法 2 中，為什麼靜脈注射給藥的跨物種暴露量轉換是以 mg/kg 為單位，而不是像口服給藥一樣使用 mg/m^2 為單位？	在靜脈注射給藥時使用 mg/kg 並允許以無明顯不良反應劑量 1/100 的劑量水準進行給藥，反映了在考量給藥劑量較低下較保守的風險減緩策略。微劑量研究在決定靜脈注射與口服給藥的劑量倍數時，分別使用了 mg/kg 和 mg/m^2 為單位，這反映了認為相較於靜脈注射，應對口服給藥使用較保守換算係數(scaling factor)的想法。探討口服給藥比靜脈注射來得更複雜，複雜的原因在於不同物種的吸收能力可能不同，因此會使用較保守的 mg/m^2 為單位，而非靜脈注射所使用的 mg/kg。
7	2012 年 3 月	本指引說明方法 1 時提到： (1)總劑量≤ 100 μg(劑量間的間隔無限制)，總劑量≤無明顯不良反應劑量的 1/100 且≤藥理學活性劑量的 1/100(靜脈注射與口服給藥分別以 mg/kg 與 mg/m^2 單位作換算)	動物無明顯不良反應劑量 1/100 的水準是可用來限制臨床劑量的條件之一。論述(2)所指的是微劑量動物試驗方法的上限劑量，而非臨床的劑量限值。

		但指引也提到： (2)透過預計使用的給藥途徑搭配毒物動力學數據或是透過靜脈注射對單一物種(通常為嚙齒類)執行延伸性單一劑量毒性研究(見註腳 c、d)。可使用臨床劑量 1000 倍的水準作為最高劑量，並根據靜脈注射與口服給藥分別使用 mg/kg、mg/m^2 為單位。 請釐清暴露限值應該設定在無明顯不良反應劑量的 100 倍或是 1000 倍。	
8	2012 年 3 月	對於正子斷層掃描(positron emission tomography)的示蹤劑來說，無論是口服或是靜脈注射途徑，使用方法 1 和方法 2 時都不需要執行毒物動力學評估，這個說法是否正確？	為支持臨床微劑量試驗而執行的非臨床毒性研究必須包含毒物動力學評估，但透過靜脈注射給藥者除外。該評估可確保是否已達到全身性暴露。然而某些正子斷層掃描示蹤劑的臨床微劑量可能非常低，在這樣的情況下，可能就無法完整確立其毒物動力學特徵。
9	2012 年 3 月	探索性臨床試驗的化學、製造、管制(Chemistry, Manufacturing and Control)需求為何？	ICH M3(R2)中並沒有探討探索性臨床試驗的化學、製造、管制需求，請諮詢相關的法規機關並參考地區指引。
10	2012 年 3 月	對潛在誘變雜質的評估(例如：構效關係或試驗)是否可為探索性臨床試驗提供支持？	從化學、製造、管制角度來看，該藥品物質應是合適的。以方法 1、2 來說，不建議對母藥或雜質進行構效關係評估或遺傳毒性試驗。至於其他使用較高劑量和治療時間較長的探索性臨床試驗方法，應遵照現有針對誘變雜質的相關指引。

7. 生殖毒性

核定日期		問題	答覆
1a	2012 年 3 月	後註 4：在初步胚胎胎兒發育研究中：「足夠劑量水準」的定義為何？是否意指至少要有一個劑量水準會導致母體毒性？若只有 1 個或 2 個劑量水準有存活的胎兒，是否就是足夠的劑量水準？	初步研究應使用與決定性胚胎胎兒發育研究相同的劑量選擇標準(見 ICH S5(R2))。
1b	2012 年 3 月	後註 4：本文件提到一個動物組別至少需要有 6 個母體。這是否代表每個組別至少需評估 6 個窩幼？	否。懷孕動物有時會有流失整個窩仔的情況。應該在每組至少有 6 隻懷孕動物後再開始給藥，並對所有存活的窩仔進行評估。
2a	2012 年 3 月	男性專用藥品是否必須接受胚胎胎兒發育研究或證明該藥和(或)代謝產物不會進入精液？	ICH M3(R2)並沒有對男性專用藥品的胚胎胎兒發育研究提供建議。應依個案狀況決定是否對男性專用藥品執行胚胎胎兒發育研究。
2b	2012 年 3 月	男性專用藥品的研究在尚未執行生殖風險評估之前，是否應採取避孕措施？	一般而言會對雄性動物/男性受試者採取避孕措施，直至解除潛在的生殖和發育風險為止。

8. 幼年動物研究

核定日期		問題	答覆
1	2012 年 3 月	對使用幼年動物來解決特定疑慮的毒性研究來說，適當的治療時長為何？	幼年動物毒性研究的具體設計細節不在 ICH M3(R2)的範疇內。然而一般來說，該研究的時長取決於欲探討的毒性與器官系統，以及先前研究已提供的資訊。研究之設計和時長應足以解決藥品可能影響目標臨床族群器官系統的疑慮。 為減少動物的使用，某些時候可透過將發育終點納入一般性重複劑量毒性研究或出生前後毒性研究，並在研究中提供幼仔足夠的藥品暴露量來評估特定疑慮。
2	2012 年 3 月	請說明何時會需要對第二物種執行研究。本指引指出，當需要執行幼年動物毒性研究時，通常只需對一相關物種(最好是嚙齒類)執行研究即可。預先說明大多數有科學根據可支持對第二物種執行研究的情況可能有其困難度，但可否說明不可作為科學合理性根據的參數？	除缺少成人數據(即兒童專有適應症)或存有多個無法透過單一物種完整解決的特定發育疑慮的情形外，在其他幾個少數情形發生時亦會建議對兩物種執行幼年動物研究。而不需要對第二物種執行幼年動物研究的情況包含:只因為受試藥品為首創(first-in-class)的治療藥品、為驗證對單一物種執行幼年動物研究的不良結果、或進一步檢視藥劑已知或預期會產生的行為影響。
3	2012 年 3 月	請說明在探討兒童專有適應症時會需要哪些研究？當不存在任何成人數據時，是否就會需要執行幼年動物研究來支持對兒童族群執	一般而言，即使成人不在受試藥品的開發目標內，還是需要在兒童臨床試驗開始前取得成年自願受試者數據以及支持性非臨床數據

		行的藥物動力學研究？是否會需要對第二物種執行研究？	(從兩物種獲取)。ICH M3(R2)第十二章「在兒童族群執行臨床試驗」提供了需要在兒童試驗前先執行成人臨床試驗的情形，並指出幼年動物毒性研究無法為兒童族群的短期藥物動力學試驗提供重要支持。然而在無法取得成人數據，且藥品只針對兒童族群開發的情況下，可透過對兩物種執行幼年動物研究為兒童藥物動力學試驗提供適當支持。

ICH S1A：藥品致癌性試驗之必要性指引

(草案)

(The Need for Carcinogenicity Studies of Pharmaceuticals)

衛生福利部食品藥物管理署

中華民國 113 年 O 月

前言

國際醫藥法規協和會(International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, ICH)於 1995 年發布 ICH S1A(Guideline on The Need For Carcinogenicity Studies of Pharmaceuticals)指引，提供確認藥品/試驗物質在動物體內產生腫瘤的情況，並據以評估其在人類產生癌症的風險。

目錄

一、緒論----------1
二、歷史背景----------1
三、指引目的----------1
四、執行致癌性試驗之考量因素----------2
(一)用藥持續時間與暴露量----------2
(二)有致癌性的疑慮----------2
(三)基因毒性----------2
(四)適應症與病人族群----------3
(五)暴露途徑----------3
(六)全身暴露量程度----------3
(七)內生性胜肽與蛋白質或相似物----------4
五、額外研究之必要性----------4
附註----------4

ICH S1A：藥品致癌性試驗之必要性

一、 緒論

致癌性試驗目的在於確認藥品/試驗物質在動物體內產生腫瘤的情況，並據以評估其在人類產生癌症的風險。實驗室研究、動物的毒理試驗及臨床數據所衍生之任何疑慮皆可能引發執行致癌性試驗之需要。在嚙齒類動物進行致癌性試驗係為了預期病人會長期規律使用之藥品制定。致癌性試驗之設計及其結果解讀仍凌駕於現有的基因毒性測試技術及全身性暴露量評估技術之近期進展，亦超出現今對於某些非基因毒性藥品產生腫瘤的理解，亦即致癌性試驗能提供更多資訊用於解釋與人類相關之安全性。目前基因毒性試驗、藥物動力學及作用機轉研究的結果，已經普遍應用於臨床前安全性評估，這些結果對於是否執行致癌性試驗的決策及人體相關風險評估亦非常重要。由於致癌性試驗耗時且耗資源，因此只有當人體暴露量證實需要以實驗動物終身試驗資料評估潛在致癌性風險時，方可進行該試驗。

二、 歷史背景

依據日本 1990 年發布藥品毒理試驗手冊指引(Guidelines for Toxicity Studies of Drugs Manual)，若藥品預期於臨床連續使用 6 個月或更長，必須執行致癌性試驗，若對連續使用少於 6 個月的藥品有任何疑慮時，亦可能需要執行致癌性試驗。在美國，多數藥品廣泛使用於人體前，都已先於動物進行致癌性試驗。根據美國食品藥物管理局(Food and Drug Administration, FDA)規定，一般藥品於臨床使用 3 個月或更長，必須執行致癌性試驗。在歐洲依據歐洲共同體藥品管理規則(the Rules Governing Medicinal Products in the European Community)，在連續使用至少 6 個月的藥品，或經常間歇性用藥而有相似的總暴露量的藥品，必須執行致癌性試驗。

三、 指引目的

本指引之目的係定義判斷是否執行致癌性試驗的決策條件，以避免不必要地使用動物進行試驗，以及提供對全球各地動物試驗之一致性的法規評估標準。期望此類試驗能依據當前具有共識的科學性標準執行。

評估是否執行致癌性試驗的基本考量是病人預期的治療持續時間及任何其他研究中所揭露之疑慮。此外，其他因子也可納入考量，例如：適應症與病人族

群、先前之潛在致癌性評估、全身性暴露程度與內生性物質之相似或差異程度、研究設計的合適性，或相對於臨床開發之試驗時機點等。

四、 執行致癌性試驗之考量因素

(一) 用藥持續時間與暴露量

任何擬在臨床連續使用達6個月以上的藥品,皆應執行致癌性試驗〔附註1〕。某些種類的藥品可能不會連續使用達6個月，但可能會間歇性的重複使用，科學上很難斷定臨床藥品使用多久會引起致癌性風險，尤其是針對長期間歇性使用之藥品,但對於此類長期間歇性使用藥品,一般認為還是需要執行致癌性試驗,例如:治療過敏性鼻炎、憂鬱及焦慮的藥品。對於某些特別途徑投藥並且會造成長時間暴露量的藥品，亦須執行致癌性試驗。但對於低使用頻率或短期使用之藥品，例如：麻醉藥品、輻射顯影劑等，除非有特別疑慮成因，否則一般認為不需要執行致癌性試驗。

(二) 有致癌性的疑慮

某些藥品有潛在致癌性疑慮時，建議執行致癌性試驗。應謹慎地考慮某些藥品是否存有潛在致癌性疑慮的判定標準，因為就多數類型藥品而言，這些判定將是執行致癌性試驗最重要的理由。必須慎重評估的考量因素可能包含：

(1)同類藥品是否先前已證實具有與人類相關致癌性風險。

(2)藥品的結構–活性關係(structure activity relationship, SAR)是否指出可能有致癌性。

(3)重複劑量毒性試驗中，是否出現不正常增生、其他病變或具有疑慮之病灶等腫瘤前病變的證據。

(4)藥品或其代謝物長期累積於組織內,是否有造成局部組織反應或其他病理變化。

(三) 基因毒性

若無其他資料，具有明確基因毒性的藥品通常被預設為跨物種的致癌物質，也隱含著這類藥品對於人類是一種危害，通常無需針對這類型藥品執行長期致癌性試驗。然而若此類藥品擬長時間投予人體時，仍可能需執行最長一年的慢性毒性試驗，以偵測其早期腫瘤形成之作用。評估藥品的基因毒性試驗結果時，應考量整體資訊，並瞭解體外與體內試驗的核心價值和侷限性。體外與體內基因毒性

的試驗群方法(請參閱 ICH S2(R2))，係用於降低可能具有基因毒性之物質出現偽陰性結果之風險，所以單一基因毒性試驗結果呈陽性反應時，不一定表示試驗物質會對人體產生基因毒性危害。

（四） 適應症與病人族群

藥品若需要執行致癌性試驗，一般必須於申請藥品查驗登記前完成。除非對於病人族群有特殊考量，在執行大型臨床試驗之前無須完成囓齒類致癌性試驗。對於治療某些嚴重疾病之藥品，致癌性試驗無需於藥品查驗登記前執行，只需於藥品上市後執行，如此可加速取得治療危及生命及嚴重衰弱疾病之藥品，尤其是沒有其他令人滿意地替代治療方法時。若擬治療之病人族群的預期壽命很短時(即短於 2~3 年)，可能不需要執行長期的致癌性試驗。例如，治療晚期全身性癌症的抗癌藥品通常不需要執行致癌性試驗(請參閱 ICH S9)。在抗癌藥品能成功治療且能顯著延長生命的情況下，後續應評估發生繼發性癌症的可能性。當這類藥品擬用於腫瘤清除病人之輔助療法或非癌症適應症的長期使用，皆應進行致癌性試驗。

（五） 暴露途徑

一般來說，若可行，致癌性試驗的投藥途徑應考慮使用相同或相近臨床投藥途徑(請參閱 ICH S1C)若不同的投藥途徑可呈現相似的代謝情況及全身暴露量時，在認知到試驗物質可在臨床投藥途徑之相關器官(例如：肺臟之於吸入式藥品)產生足夠的暴露時，致癌性試驗應以單一途徑進行。暴露量之數據可藉由藥物動力學數據取得(請參閱ICH S3B)。

（六） 全身暴露量程度

局部投予(例如：皮膚、眼睛)的藥品亦可能需要執行致癌性試驗。若局部投藥途徑之藥品引起全身暴露量非常低，則可能無須藉由口服途徑之試驗來評估內臟器官的潛在致癌性風險。若有光致癌性之疑慮，則可能須執行經皮投藥之致癌性試驗(通常使用小鼠)。除非有其他特殊安全性疑慮或顯著引發全身性暴露，從眼睛投予之藥品一般不需要執行致癌性試驗。

針對具有相同有效成分(therapeutic moiety)的不同鹽類、酸類或鹼類的藥品，若先前曾有致癌性試驗資料，則應提供證據證明兩者之藥物動力學、藥效學或毒性未有顯著改變。若暴露量發生改變且衍生毒性時，則可進行額外的銜接性試驗(bridging studies)，以評估是否需要進行額外的致癌性試驗。針對酯類與複雜的衍生物，相似的資料對於評估執行額外致癌性試驗之必要性可能極有價值，但仍要

以個案為基礎進行考量。

（七） 內生性胜肽與蛋白質或相似物

藉由化學合成、萃取/純化自動物/人類來源、或藉由生物技術方法(例如：重組DNA 技術)所產生的內生性胜肽或蛋白質或其相似物，可能需要特別的考量。

一般使用於替代療法(恢復正常生理狀態)的內生性物質，通常不需要進行致癌性試驗，尤其是類似產品已有臨床使用經驗者(例如：動物來源的胰島素、腦下垂體分泌之生長激素及降血鈣素)。

儘管通常不需要，但如果治療持續時間、適應症及病人族群有所指示的話(且假設重複劑量毒性試驗被中和抗體干擾，導致無效結果)則應考慮針對上述生物技術藥品進行嚙齒類動物的長期致癌性試驗。進行致癌性試驗可能在以下情況中具有重要性：

(1)相對於其自然對應物，生物技術藥品之生物效應有顯著差異者，

(2)生物藥品經修飾後，產生顯著結構差異者，

(3)生物技術藥品使人體產生明顯高於既有之全身性血液或局部器官的濃度。

五、 額外研究之必要性

使用動物致癌性試驗結果評估人體安全性之相關性，常常是爭議的焦點。因此，可能需要進一步研究，探討其作用機轉，或可用以確認該藥品是否存在與人類相關之致癌性風險。機制性研究亦有助於評估動物致癌性試驗結果是否與人體安全性具有相關性。

附註

附註 1. 多數建議使用 3 個月的藥品，經常會被預期能使用 6 個月。一項針對藥品的研究及法規單位團隊的調查指出，目前未有藥品僅指示使用 3 個月。