

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 0 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(NOAE)。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 and 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。

若產品在啮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，應考慮使用單一啮齒類物種。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(一嚙齒類與一非嚙齒類動物)，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嚙齒類動物的情況下，應選擇對嚙齒類動物進行研究。不適合在兩個非嚙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，則在齧齒類或非齧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。候選藥品在齧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，可以在其中一種齧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。超音波有助於追蹤妊娠的維持情況，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。如果齧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；如果該產品中的齧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，則無需進行齧齒類動物生物測試。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。

齧齒類動物生物測試(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，最好使用齧齒類動物作為實驗物種，除非毒素在齧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。

齧齒類動物與非人靈長類動物和人類的差異在於，齧齒類動物中的 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，齧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.