

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 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 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：離乳前齧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。

證據權重因子



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 ICHE11 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 ICHE11)。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。在齧齒類動物，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，通常偏好使用啮齒類動物。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齧齒類動物(大鼠、小鼠)或非齧齒類動物(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)來達到於幼齡齧齒類動物或非齧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中，通常會使用齧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 進入青春期中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齧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。

對於非齧齒類動物，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)量測非齧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(尤其是齧齒類動物)，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)被認為對幼齡啮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 評估通常會使用齧齒類動物進行，若齧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。

對於雌性齧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。對於雄性齧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。在雌性齧齒類動物中，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齧齒類動物，但若非齧齒類動物於 JAS 期間達到性成熟期，亦可考量使用非齧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。

對於多產非齧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啮齒類動物及非啮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、 参考文献

- 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 ICHE11 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

里程碑：

出生

首次食用
固體食物

離乳

青春期

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)		青春期的 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	<ul style="list-style-type: none"> • 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	<ul style="list-style-type: none"> • 出生時，大多數腺體已發育完整，有助於生長 					
眼球	<ul style="list-style-type: none"> • 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	<ul style="list-style-type: none"> • 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	<ul style="list-style-type: none"> • 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	<ul style="list-style-type: none"> • 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	<ul style="list-style-type: none"> • 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	<ul style="list-style-type: none"> 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	<ul style="list-style-type: none"> 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	<ul style="list-style-type: none"> 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	<ul style="list-style-type: none"> 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	<ul style="list-style-type: none"> 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	<ul style="list-style-type: none"> • 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	<ul style="list-style-type: none"> • 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	<ul style="list-style-type: none"> • 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	<ul style="list-style-type: none"> • 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	<ul style="list-style-type: none"> • 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	<ul style="list-style-type: none"> • 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	<ul style="list-style-type: none"> • 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	<ul style="list-style-type: none"> • 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 					

	<ul style="list-style-type: none"> 約於 PND18 至 28，快速發展認知並進入快速學習發展期 					
肺	<ul style="list-style-type: none"> 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	<ul style="list-style-type: none"> 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	<ul style="list-style-type: none"> 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	<ul style="list-style-type: none"> 於 1 至 10 週齡，形成長骨骨化中心(ossification center) 					

	<ul style="list-style-type: none">• 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	<ul style="list-style-type: none"> • 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	<ul style="list-style-type: none"> • 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	<ul style="list-style-type: none"> • 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	<ul style="list-style-type: none"> • 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	<ul style="list-style-type: none"> • 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	<ul style="list-style-type: none"> • 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	<ul style="list-style-type: none"> • 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	<ul style="list-style-type: none"> • 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	<ul style="list-style-type: none"> • 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	<ul style="list-style-type: none"> • 出生後至~第3週，形成腎元 • 功能約於3月齡時成熟化 					
生殖	<ul style="list-style-type: none"> • 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	<ul style="list-style-type: none"> • 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

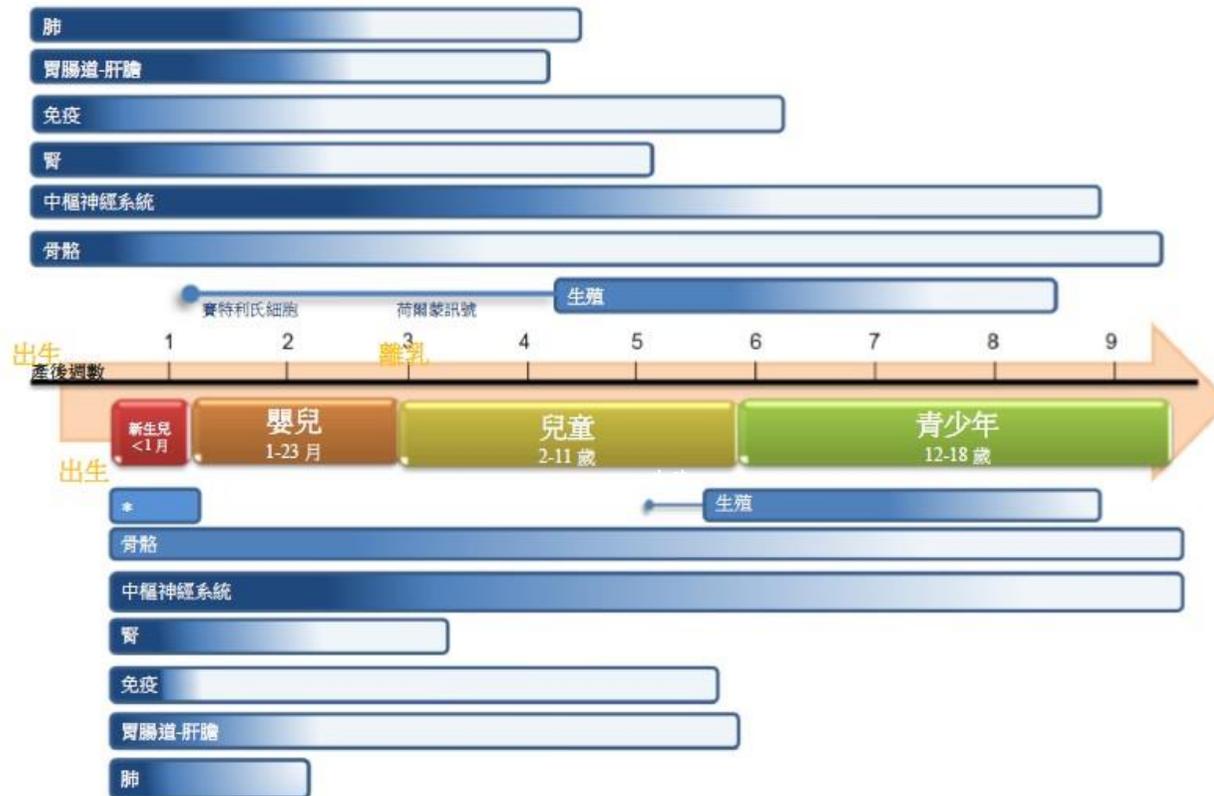
系統	一般考量	新生兒 (<1 月)	首次食用 固體食物 (~3 月)	離乳 (~6 月)	青春期 (~3-4 年)	成年期 (~4 年)
心血管	<ul style="list-style-type: none"> • 新生兒關鍵生理過渡期(肺臟及全身血管阻力) • 心肌及血管適應性改變 • 心肌細胞增生至 3 月齡，並隨之逐步生長 					
內分泌	<ul style="list-style-type: none"> • 出生時，大多數腺體已發育完整，有助於生長 • 腎上腺皮質之網狀層(zona reticularis)於 3 至 6 月齡擴增(腎上腺皮質功能初現〔adrenarche〕) • 性腺之內分泌功能，於青春期擴增 					
眼球	<ul style="list-style-type: none"> • 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	<ul style="list-style-type: none"> • 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	<ul style="list-style-type: none"> • 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	<ul style="list-style-type: none"> • 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	<ul style="list-style-type: none"> • 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	<ul style="list-style-type: none"> • 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	<ul style="list-style-type: none"> • 出生時結構已成熟，並逐步生長 					
腎	<ul style="list-style-type: none"> • 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	<ul style="list-style-type: none"> • 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	<ul style="list-style-type: none">• 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	<ul style="list-style-type: none"> ● 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 	<ul style="list-style-type: none"> ● 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

	<ul style="list-style-type: none"> ● 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	<ul style="list-style-type: none"> ● 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 	<p>相似於大鼠，其他事項如下述：</p> <ul style="list-style-type: none"> ● 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	<ul style="list-style-type: none"> ● 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 	<ul style="list-style-type: none"> ● 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

<p>迷你豬/ 豬</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● 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)，相對於其他大型非齶齒類動物更容易運送及飼養 	<ul style="list-style-type: none"> ● 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，相較於齶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	<ul style="list-style-type: none"> ● 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 	<ul style="list-style-type: none"> ● 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)

<p>兔子</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● 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 	<ul style="list-style-type: none"> ● 與其他非齧齒類動物相較，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
-----------	---	--

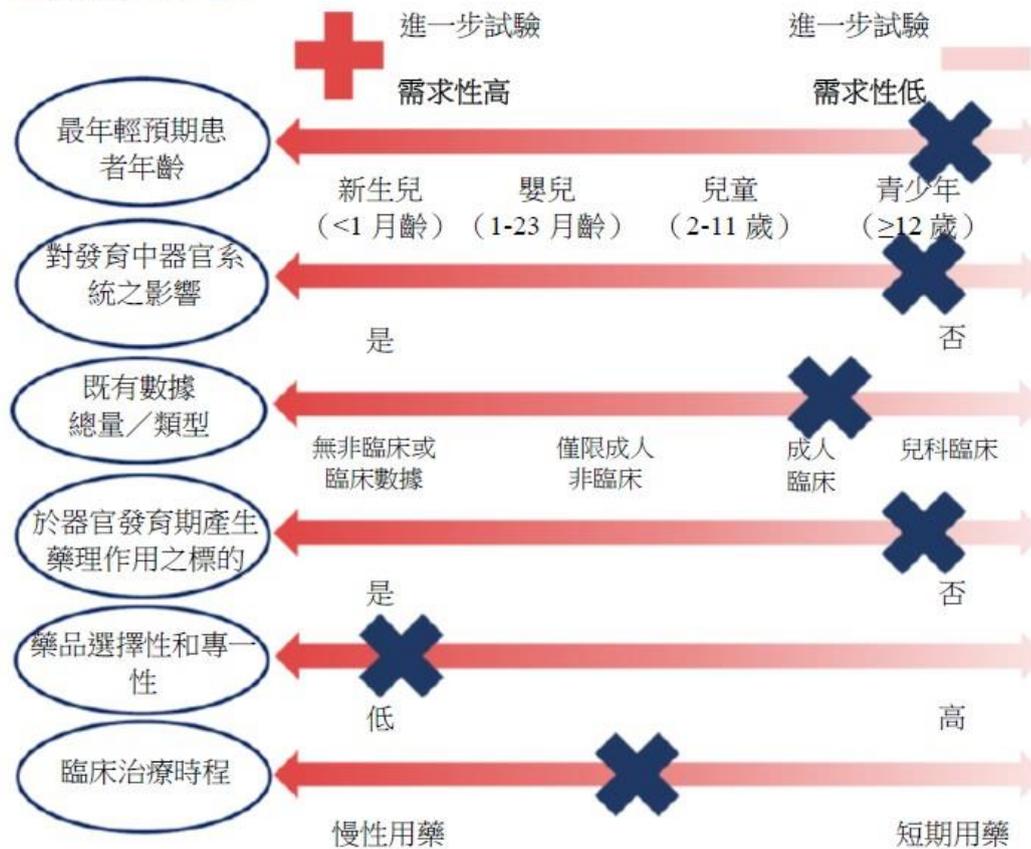
物種	優點	優點
其他物種	<ul style="list-style-type: none"> ● 可考量其他具有藥理學和毒理學相關性之物種，其他哺乳類動物試驗系統包括倉鼠、天竺鼠、樹鼯(tree shrew)、貂、貓、綿羊及山羊等。 ● 優點大多為物種或試驗計畫的特異性，但通常由於該物種之特定基因模型或疾病模型才考量使用該物種，或是存在數據得以支持判讀及轉移特定指標至人類時。 <p>缺點包括：</p> <ul style="list-style-type: none"> ● 與大鼠、小鼠、犬、迷你豬/豬、以及 NHP 相較，發育里程碑建立較不完整 ● 未被常規使用/完全接受於(成體)一般毒性試驗 ● 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。

證據權重因子



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。

證據權重因子



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。

證據權重因子



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。

證據權重因子



附錄 C：離乳前齶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。

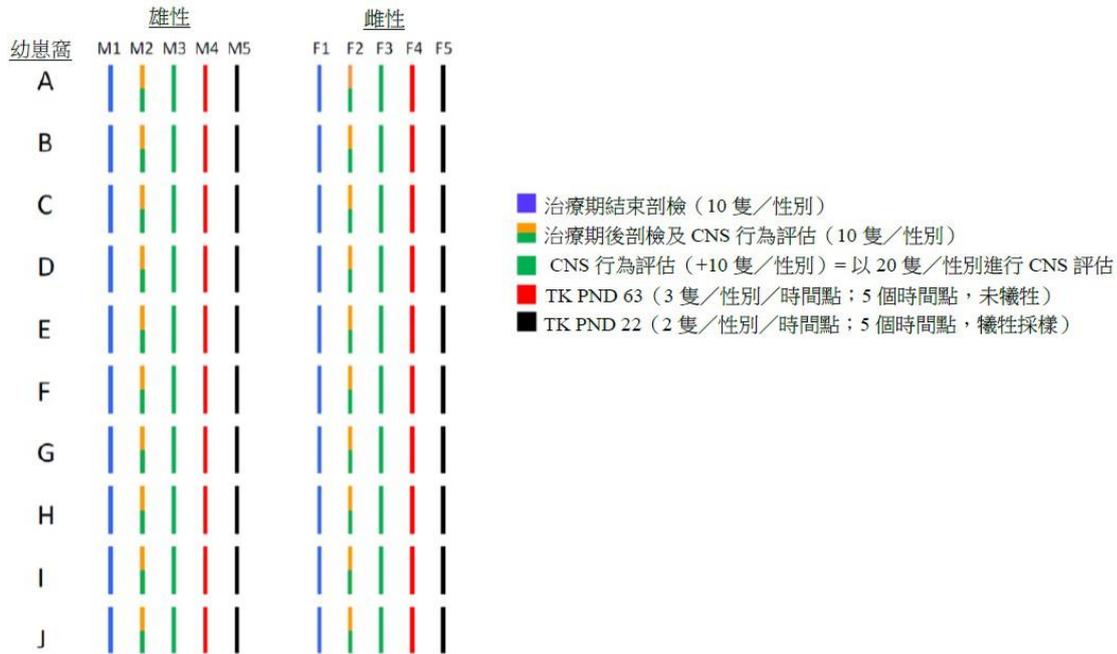
一種可以達到平均分配潛在干擾因子的方法是

- 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。