



寡核苷酸藥品非臨床安全性評估

研發指導原則

第一版

中華民國 113 年 07 月 31 日

財團法人醫藥品查驗中心

序言

寡核苷酸藥品為精準醫療領域的新興科技項目之一。為鼓勵國內各界從事創新藥品之開發，考量我國尚無相關專門法規或指引，故制定本指導原則供各界參考。

本指導原則之制定，乃基於當前對於寡核苷酸藥品及相關技術之科學知識，倘若所使用的方法具有合理的理論基礎以反映科學上進展，則並非一定要遵循本指導原則所提及的方法。未來若有相關的科學進展，將再進一步修訂本指導原則。

【撰寫團隊】

倪美惠審查員、周家瑋小組長、詹明曉資深組長、陳可欣主秘、徐麗娟副執行長、林時宜執行長

目錄 (Table of Contents)

1	前言.....	1
1.1	目的.....	1
1.2	背景.....	1
1.3	適用範圍.....	1
2	非臨床安全性試驗.....	2
2.1	評估策略.....	2
2.2	動物物種的選擇.....	2
2.3	重覆劑量毒性試驗的試驗設計.....	2
2.3.1	劑量設計.....	2
2.3.2	投予途徑與給藥頻率.....	3
2.3.3	試驗時程.....	3
2.3.4	毒性可逆性.....	3
2.4	試驗執行時機.....	3
2.5	代謝物／降解產物.....	3
2.6	不純物.....	3
2.6.1	寡核苷酸類似物.....	4
2.6.2	其他.....	4
2.7	藥物傳輸系統 (Drug Delivery System, DDS)	4
3	個論.....	4
3.1	毒理動力學及藥物動力學.....	4
3.2	安全性藥理試驗.....	4
3.3	單一劑量毒性試驗.....	4
3.4	重覆劑量毒性試驗.....	5
3.5	基因毒性試驗.....	5
3.6	生殖與發育毒性試驗.....	5
3.7	致癌性試驗.....	5
3.8	局部耐受性試驗.....	5
3.9	免疫毒性試驗.....	5
3.10	光安全性.....	6
4	參考文獻.....	6

本指導原則係參考日本 MHLW 於 2020 年 3 月發佈之「核酸藥物非臨床安全性評估指南 (核酸医薬品の非臨床安全性評価に関するガイドラインについて)」規範，亦代表醫藥品查驗中心 (Center for Drug Evaluation CDE) 對此議題的當前想法。如果未來有相關的科學證據，則會進一步修訂此指導原則。本指導原則非審查基準，若有不同的研發方式，可透過諮詢管道與查驗中心討論。凡涉及政策方向及法規解釋與適用，仍應依中央衛生主管機關之指示為準。

1 前言

1.1 目的

本指導原則之目的在於針對寡核苷酸 (oligonucleotide) 製劑之非臨床安全性評估提出一建議之基本架構。

本研發策略指導原則旨在促進寡核苷酸藥品開發，並且藉由適當地使用試驗動物及其他資源保護病人免於藥品副作用的影響，同時遵循 3R 原則 (替代、減量、精緻化)，避免進行無助於瞭解人體安全資訊的試驗。

1.2 背景

自 1970 年代後期，寡核苷酸藥品的研發便已持續展開，而第一個寡核苷酸藥品亦於 1990 年代後期於美國首度獲准上市。隨著這類型藥品的開發進展，以及上市核准的案例增加，已累積了豐富的開發經驗。然而，截至目前為止，國內尚未針對寡核苷酸藥品的安全性評估，擬訂專門的指引或指導原則。

國際醫藥法規協和會 (ICH) 指引「Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals」[以下簡稱“ICH S6(R1)"] 提到：“本指引所示原則，亦可能適用於…(略)…寡核苷酸藥品”，然而，對於寡核苷酸藥品，尚須考慮其他在生物藥品較少討論的因素，例如細胞內作用以及化學修飾所造成的影響等。因此，在評估寡核苷酸藥品的非臨床安全性時，除了參考 ICH S6(R1)，還須考量寡核苷酸藥品特有的生物學特性，以及針對化學合成藥品 (以下稱“化學藥品”) 所制訂的其他指引。

基於上述背景，本指導原則提出寡核苷酸藥品非臨床安全性評估的基本原則，以及在規劃各種非臨床安全性試驗時所應考量的事項。

1.3 適用範圍

本指導原則適用於以直鏈形式結合之核糖核酸 (RNA)、去氧核糖核酸 (DNA) 或經人工修飾的核酸作為有效成分的藥品。根據鹼基序列，這些藥品藉由與 DNA 或 RNA 之間的特異性結合 [以下稱“雜交 (hybridization)"]，無須合成新蛋白質即可引起生物反應。這類藥品包含，例如，反義寡核苷酸 (antisense oligonucleotide, ASO)、siRNA、miRNA 等。這些藥品主要是利用天然核酸分子或經化學修飾的核酸分子，通常，但不限於，以化學合成的方式所製造。本指導原則所提出的安全性評估考量，亦可適用於核酸適體 (aptamer) 以及誘餌 (decoy) 核酸。

另一方面，本指導原則不適用於 mRNA、用於基因體編輯 (genome editing) 的 RNA、

DNA/RNA疫苗，以及CpG寡核苷酸等。

2 非臨床安全性試驗

寡核苷酸藥品的非臨床安全性試驗目的在於確認寡核苷酸藥品的藥理學及毒理學特性，評估標的器官、劑量依存性、與暴露量之間的關係，以及可逆性等。執行寡核苷酸藥品非臨床安全性試驗通常必須符合非臨床試驗優良實驗室操作規範 (GLP)。

若所開發的寡核苷酸藥品係針對目前尚無有效療法之危及生命或嚴重疾病，視個案情況，特定試驗或可予以精簡、延後或省略。若應用於治療晚期癌症，建議參照 ICHS9「Non-clinical Evaluation for Anticancer Pharmaceuticals」指引。

2.1 評估策略

進行寡核苷酸藥品非臨床安全性評估時，須充分了解產品的特性，並從寡核苷酸藥品的角度去考慮評估策略。也就是說，除了核酸適體以及誘餌核酸，其他許多寡核苷酸藥品通常是透過與標的鹼基序列進行雜交進而發揮藥理作用 [以下稱“靶向目標 (on-target)效應”]，並且可能因靶向目標效應的過度藥理作用，而引起靶向目標毒性的不良反應。在評估這類靶向目標毒性時，由於這類毒性具有高度物種特異性及標的專一性，此時建議可參考 ICHS6(R1)的相關說明。

除了預期的靶向目標效應，尚須考慮非預期的不良影響 [以下稱“脫靶 (off-target)毒性”]，這包括與具有類似鹼基序列之非標的進行雜交而引起的毒性 (以下稱“因雜交而引起的脫靶毒性”)、和非因雜交所引起，而是因寡核苷酸的結構、物理和化學性質所引起的毒性 (以下稱“非因雜交引起的脫靶毒性”)。

關於“因雜交而引起的脫靶毒性”評估，因人類和動物基因體序列不同，因此建議不應僅以動物試驗評估人體的安全性，仍應利用人類基因體 DNA 和 RNA 資訊進行電腦模擬 (in silico)分析，或使用人類細胞進行體外 (in vitro)基因表現分析。另外，考量“非因雜交引起的脫靶毒性”時，由於這類毒性是因寡核苷酸的物理性質(例如經過化學修飾等)所引起，以化學藥品的方式進行非臨床安全性評估可能會有幫助。此外，已有相關報告指出，具有類似結構及物理化學性質的寡核苷酸可能引起類似毒性(同類效應; class effect)，因此，在進行寡核苷酸藥品非臨床安全性評估時，這些資訊皆應納入考量。

2.2 動物物種的選擇

與其他類型藥品相同，寡核苷酸藥品的非臨床安全性試驗通常應使用兩種動物物種進行評估。

對於脫靶毒性，與評估化學藥品時的建議相同，應使用啮齒類和非啮齒類動物進行評估。在這兩種物種當中，若兩種或者其中一種能顯示藥理作用，則可考慮一併進行靶向目標毒性評估。若無合適的動物物種可用以評估靶向目標毒性時，應考慮在一種物種中利用可呈現靶向目標效應的同源核酸 [以下稱“替代物 (surrogate)”]進行試驗。

2.3 重覆劑量毒性試驗的試驗設計

2.3.1 劑量設計

a. 高劑量的選擇

進行劑量設定時，須考量寡核苷酸藥品的靶向目標毒性及脫靶毒性。對於靶向目標毒性的評估，應參考 ICHS6(R1)的建議，利用 PK-PD 方法，將非臨床試驗物種中可達到最大預期藥理作用的劑量設訂為高劑量。另一方面，對於脫靶毒性的評估，建議參考「Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals」指引 [以下稱“ICHM3(R2)”]，以①最大耐受劑量(MTD)、②達飽和暴露量之劑量、③最高可投予劑量(MFD)、④達 50 倍臨床暴露量之劑量、或⑤上限劑量(1000 mg/kg)作為高劑量選擇的參考。

前述預期可達最大藥理作用的劑量，或在上述①~⑤選項中，除非有選擇使用較低劑量的合理依據，否則應將最高劑量設為重覆劑量毒性試驗的高劑量。

b. 多重劑量選擇

理想情況下，建議設計三個劑量組別，以觀察劑量反應關係。此外，若需使用替代物來進行評估時，只須在三個劑量組之外，額外增加一組使用替代物的試驗組，以確認替代物引起的過度藥理作用所造成的影響即可，無須進行單獨的試驗。

2.3.2 投予途徑與給藥頻率

試驗建議使用預計的臨床投予途徑，給藥頻率則依預測的人體藥物動力學概況 (profile)進行設定。若使用臨床途徑以外的方式給藥，須說明其合理性。

2.3.3 試驗時程

重覆劑量毒性試驗的試驗時程，可參考 ICH M3(R2)之建議。

2.3.4 毒性可逆性

關於可逆性之評估，可參考 ICH M3(R2) Q&A 之建議。

2.4 試驗執行時機

寡核苷酸藥品之非臨床安全性試驗的執行時機，應參考 ICHM3(R2)之建議。

2.5 代謝物／降解產物

對於被核酸酶 (nucleases)降解的天然核酸成分，並無特殊安全上的疑慮。然而，若代謝物/分解產物含有化學修飾部分，則與傳統的化學藥品相同，必須參考 ICH M3(R2)之建議進行非臨床安全性評估。

2.6 不純物

關於寡核苷酸藥品中的不純物，可分類為寡核苷酸類似物、低分子量有機不純物、殘餘溶劑及元素不純物等。在寡核苷酸藥品的製程中，必須盡可能降低不純物含量，並根據品質、非臨床試驗結果以及公開資訊，評估其在人體的安全性。

2.6.1 寡核苷酸類似物

寡核苷酸類似物通常與寡核苷酸具有類似的物理化學性質，難以將其單獨分離，在大多數的情況較難根據「Impurities in New Drug Substances」指引（以下稱“ICH Q3A”）確認其安全性。因此，寡核苷酸藥品所含寡核苷酸類似物的安全性，須根據原料藥或成品的非臨床安全性試驗結果報告（內含不純物概況及毒性概況資訊等）進行評估。

以 *in silico* 方式分析雜交依存性的脫靶基因時，若此分析有包括錯誤配對序列時，則可將此分析視為已有針對主要寡核苷酸類似物的雜交依存性脫靶基因進行評估。此外，在每一種寡核苷酸類似物相對於活性成分含量夠低的前提下，則針對每一種寡核苷酸類似物進行因雜交而引起的脫靶毒性評估的意義有限。

2.6.2 其他

根據原料藥或成品的不純物概況 (profile)，建議參考以下指引進行安全性評估：低分子量有機不純物係參考 ICH Q3A(R2)、ICH Q3B(R2)「Impurities in New Drug Products」以及 ICH M7(R2)「Assessment and Control of DNA Reactive (Mutagenic) Impurities in Pharmaceuticals to Limit Potential Carcinogenic Risk」等指引；殘餘溶劑係參考 ICH Q3C(R8)「Impurities: Guideline for Residual Solvents」；而元素不純物則參考 ICH Q3D(R2)「Guideline for Elemental Impurities」。

2.7 藥物傳輸系統 (Drug Delivery System, DDS)

評估共軛 (conjugate) 製劑和微脂體 (liposomes) 製劑等藥物傳輸系統的安全性極為重要，應利用現有資訊，考量風險層級，針對構成載體的組成分 (例如，蛋白質、脂質、醣類等) 執行適當的毒性試驗進行安全性評估。

3 個論

3.1 毒理動力學及藥物動力學

有關寡核苷酸藥品毒理試驗中的全身暴露量評估，應遵循 ICH S3A「Toxicokinetics: The Assessment of Systemic Exposure in Toxicity Studies」指引之建議實施。

3.2 安全性藥理試驗

針對重要生理功能 (中樞神經、心血管、以及呼吸系統) 的非預期藥理作用，應參考 ICH S7A「Safety Pharmacology Studies for Human Pharmaceuticals」指引之建議進行評估，但不一定需要執行單獨的試驗。此外，由於寡核苷酸藥品與 hERG 等離子通道發生交互作用的可能性不高，因此執行體外 hERG 分析等類似之體外試驗的意義不大。然而，若目的是進一步探討關於體內心血管功能的知識，則也可以考慮進行體外試驗評估。

3.3 單一劑量毒性試驗

當急毒性資訊可由劑量調升試驗、短期劑量探索試驗、藥理試驗、以及重覆劑量毒性試驗等試驗中獲得時，則不建議再執行個別的單一劑量毒性試驗。

3.4 重覆劑量毒性試驗

執行重覆劑量毒性試驗之目的在於評估寡核苷酸藥品經重覆投予後，於特定器官累積的情況以及毒性概況。關於建議試驗時程以及試驗的執行時機，應參照 ICH M3(R2)之建議。

3.5 基因毒性試驗

僅由天然核酸所組成的核酸藥品，不需要進行基因毒性試驗。

然而，對於經過化學修飾的寡核苷酸藥品，則應參考 ICH S2(R1)「Genotoxicity Testing and Data Interpretation for Pharmaceuticals Intended for Human Use」指引進行基因毒性評估。

3.6 生殖與發育毒性試驗

應根據臨床應用方式及擬治療之疾病，考量是否須執行生殖與發育毒性試驗。原則上，應遵循 ICH S5(R3)「Detection of Reproductive and Developmental Toxicity for Human Pharmaceuticals」指引進行相關試驗。在評估生育力、著床前的早期胚胎發育、產前與產後發育、以及對母體影響時，通常會使用啮齒類動物進行相關試驗；而在胚胎-胎兒發育相關試驗，則通常採用啮齒類動物及兔子進行。若上述物種無法呈現臨床候選藥物的藥理作用時，在考慮執行生殖與發育毒性試驗的動物物種合適性時，可以不必執著於使用非人類靈長類等藥理相關物種，而應優先考慮使用在胚胎-胎兒發育相關試驗的常用物種(啮齒類或兔子)進行臨床候選藥物的評估，並利用替代物評估靶向目標毒性。關於各種試驗的執行時機，可參考 ICH M3(R2)之建議。

若已有足夠的科學根據(例如，作用機轉、基因改造動物的表現型、同類效應)顯示生育力受損，或對胎兒具有危害，並且能提供生殖發育風險溝通 (risk communication)所需要的充分資訊的情況下，則不一定需要執行非臨床試驗。

3.7 致癌性試驗

關於是否需要執行致癌性試驗以及執行時的考量，可參考 ICH S1A「Guideline on the Need for Carcinogenicity Studies of Pharmaceuticals」)、ICH S1B「Testing for Carcinogenicity of Pharmaceuticals」以及 ICH S1C(R2)「Dose Selection for Carcinogenicity Studies of Pharmaceuticals」等指引之建議。若從作用機轉研判具有致癌性疑慮(因免疫抑制的影響等)，或基因毒性試驗、重覆劑量毒性試驗、因雜交而引起的脫靶毒性評估結果顯示有致癌性疑慮時，再執行非臨床安全性試驗可能亦難以消除此疑慮。在此情況下，並不一定要執行致癌性試驗，而應考量臨床風險與效益，進行適當的風險溝通。

3.8 局部耐受性試驗

若可在重覆劑量毒性試驗中進行給藥局部反應的相關評估時，即無須單獨執行局部耐受性試驗。

3.9 免疫毒性試驗

如果可以在重覆劑量毒性試驗或其他類似試驗中進行評估，則不建議再執行單獨的免疫毒性試驗。如有執行免疫毒性試驗的必要時，可參考 ICH S8「Immunotoxicity Studies for Human Pharmaceuticals」指引之建議。

3.10 光安全性

若對於經過化學修飾的核酸存有光安全性方面的特別疑慮時，應參考 ICH S10「Photosafety Evaluation of Pharmaceuticals」指引，進行光安全性的評估。

4 參考文獻

1. 日本MHLW: 核酸医薬品の非臨床安全性評価に関するガイドラインについて，2020
2. ICH M3(R2): Guidance on Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals; June 2009
3. ICH M3(R2) Q&As (R2): Questions & Answers: Guidance on Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals; March 2012
4. ICH S6(R1): Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals; June 2011
5. ICH S9: Nonclinical Evaluation for Anticancer Pharmaceuticals; October 2009
6. ICH Q3A(R2): Impurities in New Drug Substances; October 2006
7. ICH Q3B(R2): Impurities in New Drug Products; June 2006
8. ICH M7(R2) - Assessment and Control of DNA Reactive (Mutagenic) Impurities in Pharmaceuticals to Limit Potential Carcinogenic Risk; April 2023
9. ICH Q3C(R8): Impurities: Guideline for Residual Solvents; April 2021
10. ICH Q3D(R2): Guideline for Elemental Impurities; April 2022
11. ICH S3A: Note for Guidance on Toxicokinetics: The Assessment of Systemic Exposure in Toxicity Studies; October 1994
12. ICH S7A: Safety Pharmacology Studies for Human Pharmaceuticals; November 2000
13. ICH S5(R3): Detection of Reproductive and Developmental Toxicity for Human Pharmaceuticals; February 2020
14. ICH S1A: Guideline on the Need for Carcinogenicity Studies of Pharmaceuticals; November 1995
15. ICH S1B(R1): Testing for Carcinogenicity of Pharmaceuticals; August 2022
16. ICH S1C(R2): Dose Selection for Carcinogenicity Studies of Pharmaceuticals; March 2008
17. ICH S8: Immunotoxicity Studies for Human Pharmaceuticals; September 2005
18. ICH S10: Photosafety Evaluation of Pharmaceuticals; November 2013