



# 預防傳染性疾病之 mRNA 疫苗的 品質、安全與療效評估法規考量

第一版

中華民國 112 年 08 月 25 日

財團法人醫藥品查驗中心

# 序言

因應新冠肺炎(COVID-19)疫情在疫苗迫切需求刺激下，核酸疫苗相較於傳統疫苗的研發，有突破性的進展。而國內目前尚未有 mRNA 疫苗之專門法規或指引，故本指導原則參考 WHO 針對人用傳染病預防性 mRNA 疫苗的製造和品質管制以及非臨床和臨床評估的科學與法規考量。期望本指導原則能作為國內有意研發 mRNA 疫苗之產、學、研界參考，以利其研發之進展。

## 【撰寫團隊】

陳詠翰審查員、倪美惠審查員、周家瑋小組長、許巧縈小組長、陳筱筠副組長、盧青佑副組長、葉嘉新組長、詹明曉組長、陳可欣主秘、徐麗娟副執行長、林時宜執行長

## 目錄 (Table of Contents)

1	簡介.....	3
1.1	前言.....	3
1.2	指導原則適用範圍.....	3
1.3	一般考量事項.....	4
1.4	特別考量事項.....	5
2	mRNA 疫苗之製造與管制.....	6
2.1	mRNA 疫苗之製造.....	8
2.2	mRNA(原料藥)的製造與管制.....	10
2.2.1	mRNA(原料藥)的管制.....	10
2.2.1.1	鑑別.....	11
2.2.1.2	純度與不純物.....	11
2.2.1.3	定量與結構完整性.....	11
2.2.1.4	安全性.....	12
2.2.1.5	其它品質屬性.....	12
2.2.1.6	對照物質(reference materials).....	12
2.2.1.7	安定性.....	12
2.3	mRNA 疫苗組成成分資訊.....	13
2.3.1	mRNA 序列與結構.....	13
2.3.2	疫苗成品之配方及其組成成分.....	13
2.4	起始材料、原料與賦形劑管制.....	14
2.4.1	起始材料、原料與賦形劑之品質.....	14
2.4.2	起始材料、原料與賦形劑放行.....	15
2.5	製程開發與製程中管制.....	15
2.6	特性分析.....	16
2.7	製程一致性.....	17
2.8	最終疫苗(成品)的製造與管制.....	17
2.8.1	組成.....	17
2.8.2	LNPs 包覆 mRNA 之製造與管制.....	17
2.8.3	製造充填和包裝.....	18
2.8.4	疫苗成品的管制.....	19
2.8.4.1	鑑別.....	20
2.8.4.2	純度與不純物.....	20
2.8.4.3	含量與強度.....	20
2.8.4.4	安全性.....	20
2.8.4.5	其它品質屬性.....	20
2.8.4.6	效價.....	21
2.8.4.7	對照物質.....	21

2.8.4.8	安定性試驗、儲存和有效期限.....	22
2.8.4.8.1	安定性.....	22
2.8.4.8.2	儲存條件.....	23
2.8.4.8.3	有效期限(expiry date).....	23
2.9	批次記錄.....	23
2.10	保留樣品.....	23
2.11	標籤(Labelling).....	23
2.12	配送和運輸.....	24
3	mRNA 疫苗之非臨床評估.....	24
3.1	藥理學／免疫學／概念驗證.....	24
3.2	動物模式的安全性／毒性研究.....	24
3.3	於公共衛生緊急事件期間，針對優先病原體疫苗之快速開發的非臨床加速評估方案	26
4	mRNA 疫苗的臨床評估.....	27
4.1	安全性和免疫原性評估.....	27
4.2	療效評估.....	29
4.3	出現免疫逃脫(immune-escape)和其他變種導致緊急公共衛生情事下的療效評估	29
5	專有名詞注譯.....	29
6	參考文獻.....	32

本指導原則係參考世界衛生組織 WHO ” Evaluation of the quality, safety and efficacy of messenger RNA vaccines for the prevention of infectious diseases: regulatory considerations” (2022)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 簡介

### 1.1 前言

為因應新冠肺炎(COVID-19)疫情爆發，疫苗迫切需求刺激下，核酸疫苗相較於傳統疫苗的研發，有更突破性的進展。由於 mRNA 疫苗與其他疫苗(如 DNA 疫苗、病毒載體疫苗、不活化/去活化病毒疫苗，與基因重組製造之蛋白質次單元疫苗等)之製造技術平台不同，mRNA 疫苗可快速建構與製造，並可針對人畜共通流感病毒株、茲卡病毒，以及嚴重急性呼吸道症候群冠狀病毒二型(SARS-CoV-2，即新冠肺炎的病原體)等新興病原體，快速開發出疫苗。所以，世界衛生組織(World Health Organization, WHO)建議在評估預防傳染病的人用 mRNA 疫苗之品質、安全性與有效性時，下列因素應納入考量：(a) mRNA 的免疫學、生理化學和結構特性；(b) 以脂質奈米微粒(lipid nanoparticles, LNPs)等特殊配方確保 mRNA 在人體內的安定性和有效傳輸；以及(c) 使用新型無細胞的酵素製程。

廠商製造 mRNA 疫苗的方法可視為一種平台技術，當生產新產品而進行 mRNA 編碼區域的變更時，新產品的製程或管制措施均無需改變(除了鑑別(identity)的抗原特異性試驗、效價(potency)和安定性之外)，但這仍取決於疫苗成品的特性。若疫苗成品經重大變更，導致其關鍵品質屬性(critical quality attributes, CQA)和細胞交互作用改變，則需進一步考量產品製程和管制措施之合適性。

有鑑於 COVID-19 疫情使疫苗臨床試驗加速發展，而國內目前尚未有 mRNA 疫苗之專門法規或指引，因此，參考 WHO 於 2022 年發表之「Evaluation of the quality, safety and efficacy of messenger RNA vaccines for the prevention of infectious diseases: regulatory considerations」，期能提供國內有意研發 mRNA 疫苗之產、學、研界參考。然目前 mRNA 疫苗製程仍無標準化的管制措施來確保其安全性和有效性，故目前 mRNA 疫苗相關規範的科學方法仍需保持彈性。本指導原則適用於預防傳染病之人用 mRNA 疫苗，由於目前資訊未臻完善，僅作為暫時性之指導原則，如果未來有相關的科學證據，則會進一步修訂此指導原則。

### 1.2 指導原則適用範圍

本指導原則針對預防傳染病的人用 mRNA 疫苗，提供其製造和品質管制以及非臨床和臨床評估的科學與法規考量。雖然目前有數種傳遞劑(delivery agent)可選擇，例如魚精蛋白複合體(protamine complexes)、陽離子脂質體(cationic liposomes)、奈米微粒(nanoparticles)、脂質複合體(lipoplexes)等，但目前 LNPs 仍為 mRNA 疫苗傳遞劑的最佳選擇。故本指導原則的範疇僅限於 LNPs 包覆的 mRNA 和自我擴增 mRNA (Self-amplifying mRNA, sa-mRNA)，

其用於遞送目標抗原編碼序列至人體中，供啟動相關主動免疫來達到預防傳染病的效果。此指導原則的某些部分也可用於非 LNPs 包覆的 mRNA 和 sa-mRNA 產品。

包覆於病毒蛋白中的可複製病原(replicating agents)、病毒載體和 RNA 複製子(replicons)，或質體 DNA 疫苗不在本指導原則的討論範疇。此外，用於治療、緩解或治癒疾病(包括傳染病)；而非用於產生主動免疫達到預防傳染病目的之 mRNA 和 sa-mRNA 產品也不在本指導原則的討論範疇。表現單株抗體的 mRNA 產品(作為被動免疫疾病預防或治療用途)亦非本指導原則的討論範疇。

### 1.3 一般考量事項

如同所有疫苗，應確實說明 mRNA 疫苗的預期臨床用途，包括其目標病原體、所選擇的目標抗原、欲預防的疾病，以及目標族群。相較於已核准且較為熟悉的疫苗類型，mRNA 疫苗的結構和製程都相當新穎，對 mRNA 疫苗評估品質、安全性和有效性時，應考量以下事項：

- 應說明所採用的 mRNA 技術之相關生物特性，包括該 mRNA 誘發先天免疫反應(innate immune responses)和目標抗原特異性反應(target-antigen-specific responses)的能力、在體內的安定性(*in vivo* stability)，以及所誘發的免疫反應之特性、程度和差異(例如：第一型輔助 T 細胞或第二型輔助 T 細胞的表現型)。為了證明疫苗設計的合理性，應提供該病原體和疾病的相關免疫類型(保護性和免疫致病性)之相關資訊。
- 應清楚說明選擇目標抗原編碼和其它編碼(例如：細胞激素)，以及疫苗的預期作用模式或機制中所扮演的角色。同樣地，若有任何新增的編碼序列或目標抗原修飾(例如：可確保目標抗原摺疊為特定構形的修飾)，應提供相關說明。應辨識所有 open reading frame (ORFs) 並提供序列與註解(包括任何非預期的 ORFs)和所有其他序列單元(包括說明使用的原因)。應說明使用的任何特定或特別設計的非編碼序列(noncoding sequence)，包括聚腺苷酸尾(poly(A) tail)及結構單元(例如：5'端帽(5' cap)的結構或替代結構)。對於 sa-mRNA，應詳細說明疫苗組成中任何加入的病毒複製子基因。也應詳細說明 mRNA 編碼的每一組基因序列，包括其預期功能和目的，也包括非編碼單元和結構單元於作用模式或機制中所扮演的角色。
- 應提供疫苗成品的組成和所有賦形劑(excipient)的配方並說明使用的原因，包括用於組成 LNPs 的所有成分。應提出 LNPs 生產方法及疫苗成品的資訊，包括中間體(intermediates)和成品的關鍵品質屬性、製程中管制措施，以及滅菌程序。也應提供 LNPs 的毒理學和免疫原性數據。
- 對於新賦形劑，應說明其生產方法，包括起始材料、中間體和原料的詳細資訊和管制措施，以及安全性的非臨床和臨床試驗數據。若有需要，中央衛生主管機關可要求提供藥理安全性的數據。
- 應說明劑量和使用途徑，若有使用新型給藥裝置或稀釋劑，應提供使用的理由與相關資料。必要時，應執行相關的相容性試驗。
- 雖然以平台技術生產的 mRNA 疫苗只有在目標抗原序列上有所差別，但仍應個別考量每種疫苗的管制措施、非臨床試驗、臨床開發，以及疫苗特性之差異。
- 關於混合疫苗與多價疫苗的開發，可參考先前的疫苗，包括：(a) 季節性流感疫苗，為多價疫苗且每年皆會變更病毒株；(b) 人類乳突病毒疫苗、小兒麻痺三價疫苗、輪狀病毒多

價疫苗和肺炎鏈球菌多價疫苗等，用於同一(或相關)疾病的不同病原株之多價疫苗；或 (c) 白喉-破傷風混合疫苗和麻疹-腮腺炎-德國麻疹混合疫苗等，用於不同疾病的混合疫苗。

## 1.4 特別考量事項

目前最先進或最廣泛使用於對抗新冠肺炎的mRNA疫苗均透過酵素生產，而非以細胞生產。這種生產方法與大多數的生物製劑不同。製程可從細菌生產的線性化質體DNA開始，或由聚合酶連鎖反應(PCR)等酵素方法或其他合成方法生產的線性DNA分子開始。無論線性DNA分子的來源為何，mRNA的生產都採用體外(*in vitro*)方法，運用依賴DNA的RNA聚合酶(DNA-dependent RNA polymerase)將線性DNA模板轉錄為mRNA。該mRNA與一般細胞內mRNA的組成相同，包括編碼區域、調節mRNA轉譯的5'端和3'端非轉譯區(flanking untranslated regions, UTRs)、一組5' cap，以及一組3' poly-A tail。

製程中使用的核苷酸可能含有天然核苷、修飾或合成核苷。天然核苷的替代品包括使用假尿苷(pseudouridine)或 N1-甲基假尿苷來取代尿核苷(uridine)。此外，使用變更或優化的密碼子可能會影響安定性並增強 mRNA 在人體內的轉譯作用(例如：使用人類細胞中常見的 tRNA 密碼子)。另外，也可選用人類細胞中不常見的 tRNA 密碼子，以減緩轉譯速度，使蛋白質有足夠的折疊時間。有些對 mRNA 的修飾是為了增加 mRNA 的安定性，並適度活化先天免疫系統。應依據適應症的不同設計適合的 mRNA 疫苗，例如有些疫苗可能需要降低先天免疫反應，以避免產生體內發炎反應原性(inflammatory reactogenicity)；有些疫苗被認為須要引發先天免疫反應，才可增加疫苗的效果。抗原的 mRNA 基因序列應包含起始密碼子(start codon)和終止密碼子(stop codon)，兩側是 5'和 3' UTRs，包括 5' cap 和 3' poly-A tail。5' cap 可利用酵素方法加到 mRNA 上，或於體外轉錄(*in vitro* transcription, IVT)期間使用適當的類似物添加。同樣地，3' poly-A tail 可利用 DNA 模板編碼於 IVT 期間添加，或在 IVT 之後，再利用酵素方法添加。這些製程設計上的差異可能會影響 mRNA 原料藥及疫苗成品的製程與管制之關鍵品質屬性。

探討mRNA疫苗的安全性和有效性時，mRNA結構為相關考量之一。與一般雙股DNA不同，RNA通常為單股，且可能會形成短雙股部分和單股環交錯的複雜結構。由於雙股RNA(double-stranded RNA, dsRNA)為某些RNA病毒的基因體型態，可能會誘發細胞對於病毒感染的先天免疫反應。而內源性細胞mRNA雖帶有部分雙股，並無法誘發這種效應。因此，應於疫苗設計、非臨床研究和臨床試驗中探討mRNA候選疫苗的體內效應(*in vivo* effects)，包括誘發先天免疫反應的可能性。

以RNA為基礎的產品可能採用不同的形式。最先進的候選疫苗和最廣泛使用的新冠肺炎疫苗均以編碼目標抗原mRNA的形式。由於mRNA會因核酸酶作用而降解，因此目前最先進的mRNA候選疫苗和最廣泛使用的新冠肺炎疫苗均採用LNPs包覆，其有助於體內安定性和遞送。依據LNPs的組成、採用的脂質類型和製程，可將LNPs區分為許多不同類型。其中有些類型可能未曾用於遞送mRNA。在未來的mRNA遞送技術開發工作中，可朝向安定性佳的聚合物、多肽遞送系統(delivery systems)、其它脂質系統，或是結合聚合物和脂質的mRNA遞送系統邁進。必要時，這些藥品遞送系統可作表面修飾來達到所需的細胞交互作用。

mRNA疫苗的原料藥為mRNA，而用於製作LNPs的脂質則為疫苗成品的賦形劑。以不同脂質組成LNPs為製程的一部分。目前已知有些LNPs的組成，可能會產生免疫調節作用，有些

脂質可能會作為佐劑(adjuvant)而不被配製成LNPs。儘管如此，疫苗中具有免疫調節作用的佐劑也可視為賦形劑。同樣地，RNA本身可能也具有免疫調節作用。故mRNA和LNPs的脂質皆可能影響疫苗的作用機制，因此在關鍵品質屬性以及非臨床和臨床評估中，必須將此納入考量。

有些疫苗可能含有不同抗原編碼的mRNA。例如來自同一病原體的多種抗原、同一病原體不同病原株或血清型的同一抗原，或是不同病原體的不同抗原。如同其他混合或多價疫苗，每一種mRNA均應視為個別的原料藥，組合為一種疫苗成品。亦如同其他混合或多價疫苗，應於每種目標抗原mRNA的含量、抗原蛋白的表現效率以及其誘發的各種免疫反應之間取得平衡，以免目標抗原的表現與誘發的免疫反應受到干擾，並確保整體疫苗可引起的目標病原株或抗原的特異性免疫反應。此外，應藉由適當的非臨床毒性試驗，評估mRNA和LNPs的最大耐受劑量，並參考先前臨床經驗，來確保每個目標抗原的mRNA劑量均充分有效。另外，也應考量混合疫苗或多價疫苗的製造、管制和安定性，以確保每個原料藥和成品的品質，以及確保用來管制疫苗成品內每個mRNA成分(即每種原料藥)的分析方法之適用性。mRNA和LNPs之間的交互作用可能會隨mRNA的長度和二級結構，以及LNPs的脂質組成而有所不同。因此，以LNPs包覆mRNA時，其粒徑、型態、表面性質(如電荷)和包覆效率(encapsulation efficiency)都可能隨著包覆不同的mRNA而有所不同。所以，為了完整瞭解疫苗成品的性質，mRNA和LNPs的關鍵品質屬性和物化性質是相當重要的考量。

有些疫苗的mRNA帶有複製子(目前均來自 $\alpha$ 病毒)和目標抗原的基因序列，兩者可能位於同一個或不同的mRNA分子。這些mRNA稱為自我擴增mRNA (Self-amplifying mRNA, sa-mRNA)，其含有抗原編碼的mRNA可以在體內擴增，使目標抗原的表現量增加。目前常見的sa-mRNA產品均採用LNPs配方。sa-mRNA在設計上的差異，例如目標抗原與複製子位於同一個或不同的mRNA分子，可能會影響疫苗的安全性和有效性。LNPs的粒徑和型態特性也可能隨著包覆的mRNA大小而異。此外，不同設計的疫苗在表現效率、dsRNA的量、先天免疫反應，以及mRNA和sa-mRNA的半衰期等，都可能造成安全性上的差異，故不同設計的疫苗要達到相同效果所需的mRNA總量並不相同，從事疫苗設計和評估時，應將上述因素均納入考量。

相對於病毒複製子，sa-mRNA是經由LNPs或其他遞送系統來遞送。這代表攝入sa-mRNA的細胞和病毒複製子的細胞很可能並不相同，其原因在於病毒複製子是經由病毒受體進入宿主細胞，而sa-mRNAs須仰賴細胞內遞送系統。以RNA為基礎的產品與病毒載體疫苗和活病毒疫苗(RNA病毒)相比時，由於前者缺乏病毒載體與活病毒的結構蛋白。因此，就目前處於開發階段的這類產品而言，其差異主要在於生物學或設計上的不同。其他類似技術包括開發中的環形RNA產品、使用內部核糖體進入位點(internal ribosome entry site, IRES)來取代cap、使用其他聚合物和多肽藥品遞送系統(或結合聚合物和脂質的系統)來包覆RNA。

此外，目前市售的mRNA疫苗中，注射部位有多種細胞可攝入mRNA。未來的遞送系統可設計成選擇性地將mRNA送入特定細胞類型或組織，例如利用LNPs經表面修飾後，可於LNPs表面加上對應的配體/模體(ligand/motif)。若此物化性質的改變足以影響先天免疫反應時，則可能進而影響mRNA或sa-mRNA疫苗的安全性和有效性，惟此類疫苗超出本指導原則的討論範疇。

## 2 mRNA 疫苗之製造與管制



mRNA 疫苗如同其他生物藥品一樣，須對起始材料、原料、賦形劑、製程與最終產品進行適當管制，以及對原料藥與成品進行完整的特性分析與放行檢測。

生產過程中的品質管制，仰賴於品質系統(例如：藥品優良製造規範，good manufacturing practice, GMP)的實施，以確保商業規模疫苗批次生產的一致性。除了 mRNA 疫苗製造場所之設計、建立、操作、管制與維護，應符合 GMP 外，mRNA 疫苗最終成品的充填、製造紀錄、樣品保留、標籤、配送、運輸、儲存和有效期限也應符合 GMP，相關規範可參考我國及 WHO 之 GMP 相關指引。

在整個生產過程，應依據風險基礎方法(risk-based approach, RBA)建立製程中監控和/或管制(in-process monitoring and/or control tests)，包括設定可接受的允收標準，對每個批次的品質從開始生產到結束進行管控。原料藥與成品的放行規格應依據商業規模製程檢測結果與臨床試驗批次的檢測結果訂定。這些放行規格與特性分析方法應包括用來確保疫苗安全性、有效性的品質一致性之關鍵屬性，評估項目包括：含量、鑑別、純度、效價、品質與安全性以及安定性。

儘管在早期臨床開發階段，製程及管控方法也許無法完全符合 GMP，也未經確效，然用於臨床試驗的 mRNA 疫苗仍應在合適的 GMP 合規性(compliance)下製造。根據風險效益評估，可以接受使用未完全符合 GMP 製備的起始材料。然仍應考量製程中，使用的所有材料之品質，也應特別注意是否有使用動物或人類來源材料，及其可能帶來的潛在外來病原體。生物藥品品質控制的許多要求，例如內毒素、安定性和無菌試驗，均適用於 mRNA 疫苗。其商業規模之規格應依據可接受的臨床試驗批次之檢測結果來定義。關於由 LNPs 配製的 mRNA 或 sa-mRNA 疫苗，應描述並提供 LNPs 相關的管制資料，包括原料和賦形劑的管制與中間體的製程中管制。

中央衛生主管機關對於品質(製造和管制)技術性資料之要求，和所有藥品與疫苗一樣，隨著研發階段進展，皆會逐步增加對技術性文件詳盡度的要求。於臨床開發的初始階段，申請臨床試驗提供的技術性資料，應足以評估製程中的安全風險。例如：製程中使用的所有材料之鑑別、規格、生物來源材料的風險評估、製造設施的認證或合適的 GMP 合規性、製程和檢測的簡述、臨床試驗材料的試驗結果和最終疫苗的初步安定性試驗結果。

對於被認定為以平台技術(platform technology)製造的 mRNA 疫苗，若其製程(除了對每個候選疫苗的製程優化之外)、試驗(除了鑑別或效價)或規格無進行變更，新的候選 mRNA 疫苗可能可由早期的候選 mRNA 疫苗或已核准的產品得到支持性數據。例如：僅對序列進行變更，而這些變更不會改變新 mRNA 的大小、二級結構或其與 LNP 的相互作用。支持性數據可能包括在製程、試驗、規格、安定性和非臨床與臨床安全性方面獲得的數據。

若在臨床批次開發過程中對產品組成(例如：mRNA 序列、增價(enhanced valency)、賦形劑或添加防腐劑的含量)或製造(例如：製程、地點或規模)進行變更，應提供變更的相關資料。例如添加新賦形劑，可能須要進行新的非臨床研究。對於製程變更，例如規模放大或純化步驟的變更，應評估變更前後的原料藥與成品之可比性。比較性試驗可能包括來自動物模型的免疫原性數據、物理化學分析結果、製程和產品相關不純物(process-related and product-related impurities)之研究以及安定性試驗數據。在這方面，應符合 WHO 關於已核准疫苗變更的相關指引與國際醫藥法規協和會(International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use, ICH)關於藥品生命週期的相關指引。

## 2.1 mRNA 疫苗之製造

mRNA 疫苗的製造與傳統由細胞(或其它生物體)系統生產的疫苗不同，mRNA 係利用線性 DNA 模板進行 IVT 技術生產。生產過程，並透過重組技術生產的酶(recombinantly-produced enzymes)和核苷三磷酸(nucleoside triphosphate)進行依賴 DNA 的 RNA 轉錄(DNA-dependent RNA transcription)。對於所選擇的 ORF、UTRs、5' cap 和 3' poly-A tail 之序列或結構，應提供合理說明。

mRNA 轉錄後，模板 DNA 會在純化步驟前，先經由去氧核糖核酸酶(deoxyribonuclease, DNase)降解。如果 IVT 製程無添加 5' cap 和 3' poly-A tail 之步驟，或者須要更長的 3' poly-A tail，則可在合成後和純化前，經由其它酶的添加，以達到目的。純化步驟應儘可能去除所有和製程與產品相關的不純物，包括 DNA 模板、dsRNA、未連接的帽(unattached caps)、殘留的核苷以及製程中使用的酶等，應描述純化的方法及其目的並提供相關資料。所有純化步驟須經過製程確效且證明製程一致性，並對各種不純物的清除程度，提供相關資料說明。

大多數情況下，純化的 mRNA 會被認為可對應到其他抗原蛋白疫苗，儘管 mRNA 不是抗原蛋白，但其基因序列編碼對應著抗原蛋白。所以純化的 mRNA 也被認為是原料藥。製造商應確定原料藥的儲存和放行試驗之製程步驟，並提供製程流程圖，指出每個製程步驟與該步驟之採樣以及製程中管制，並闡明製造商對原料藥、中間體(例如：最終配方原液(final formulated bulk))、最終疫苗產品和充填疫苗之考量，包括其貯留(hold-time)或儲存的條件，應提供貯留時間/安定性研究相關資料說明。

因 mRNA 的不穩定性，目前的 mRNA 疫苗是以 LNPs 包覆，LNPs 既可以穩定 mRNA，又可透過主動或被動攝取來進入細胞並釋放 mRNA 到細胞質中。有些 LNPs 還可以提供佐劑的活性作用。為了使 mRNA 保持穩定免於被核酸酶降解，但必須能在進入細胞後釋放 mRNA，所以 LNPs 的大小須控制在適合細胞攝取的範圍。因此，製造商應仔細控制 mRNA 包覆到 LNP 中的過程，並提供生產方法和管制措施之相關說明。例如：應考慮不同脂質的濃度、mRNA-脂質比、緩衝液/溶劑的 pH 值、mRNA 包覆效率、脂質和 mRNA 的流速和混合速度，以及不同的成分的解凍溫度。以上這些條件都可能對最終疫苗的品質產生影響，應仔細控制 mRNA 包覆至 LNPs 的過程，並提供生產方法和管制措施之相關確效資料。

儘管 sa-mRNA 包含體內擴增其他蛋白質的編碼序列，但在 IVT 之後進行純化和包覆在 LNPs 中的製造方法與上述 mRNA 基本相同。

對於目標抗原與複製子位於同一個 mRNA 分子的 sa-mRNA 而言，製程所需的管制措施也許與 mRNA 疫苗的管制措施相似或相同。然而，若目標抗原與複製子位於不同的 mRNA 分子上，則可能需要額外的製程和品質管制來確保所需的 mRNA 充分包覆在相同的 LNPs 中，並且應該描述這些額外的製程並提供相關資料。也應說明並證明兩種 mRNA 被包覆的莫耳比(molar ratio)，並提供其分析方法確效資料。不同方法產生的 mRNA 表現效率可能不相同，所產生的 dsRNA 量也不相同，這可能對疫苗設計的預期安全性和有效性造成影響，包括誘發的先天免疫反應和 mRNA 的半衰期等，都可能不相同。若目標抗原與複製子位於不同 mRNA 分子，且兩種 mRNA 分子被分別包覆於 LNPs 之中(包覆前，兩種 mRNA 分子未混合)，這可能涉及額外的製程和品質管制措施，應確保最終疫苗中含有適當比例並充分混合

的兩種(或更多種)mRNA。這部分也應提供相關資料說明。同樣地，關於多價 mRNA 疫苗，應提供管制包覆前或包覆後的混合步驟之相關資料。對於複製子和目標抗原在不同 mRNA 分子上的 sa-mRNA，重點在於這兩種 RNA 需被共同包覆，以便它們在體內被同一個細胞攝取。因此，如果將兩種 RNA 分別包覆再混合，則需要證明這種方法的合理性。

關鍵管制點應包括下列各項：

- a. 起始材料、原料與賦形劑：(應包括但不限於)線性 DNA 模板，包括 PCR 產物或已線性化的質體 DNA(通常經過限制性核酸內切酶處理)、核苷酸、酶(例如：DNA 依賴性 RNA 聚合酶、加帽酶(capping enzyme)、聚腺苷酸聚合酶和 DNase)、緩衝液、溶劑、管柱樹脂(若純化步驟使用管柱層析法)、脂質。線性 DNA 模板被認為是生產原料藥的起始材料。其他上述(以及未包含於上述但也用於製程中)的項目將被認為是原料。賦形劑是疫苗成品中作為非活性成分的原料。對於賦形劑的生產，應符合賦形劑 GMP 製造相關指引。
  - 特別要注意的是，任何動物(包括人類)來源之起始材料、原料與賦形劑，或使用動物(包括人類)來源的原料生產之起始材料、原料與賦形劑，都應通過適當的來源管制試驗與風險評估。對於動物(包括人類)來源之材料，應符合傳染性海綿狀腦病(transmissible spongiform encephalopathies, TSEs)相關規範。
  - 亦應管制潛在的外來病原體、執行相關檢測並提供相關資料與風險評估結果。
- b. 製程和中間體的製程中管制：包括用於製造 mRNA 原料藥的製程、配方(LNP 製造和包覆步驟)、最終配方原液和最終配方原液的裝填(成品)；還包括管控或確效 LNP 配方的一致性(例如：大小和多分散性(polydispersity))、mRNA 包覆的一致性以及 mRNA 片段和 dsRNA 不純物的去除。
- c. mRNA 疫苗的原料藥與成品之放行檢測。
- d. 製程確效：應提供製程確效相關資料證實商業規模製造的成品之品質合規且具有一致性。目前 mRNA 疫苗尚未有標準的分析方法和允收標準。可參考下表 2.1-1 中的分析方法對各關鍵品質管制點進行特性分析或管制。

臨床試驗用之 mRNA 疫苗應在合適的 GMP 合規性下生產製造。臨床試驗疫苗放行時，應滿足適當的品質管制標準。

在臨床開發過程中進行的任何製程變更，都應提供相關資料說明，包括變更後之批次與已證實具有臨床有效性的批次之可比性研究資料。對於疫苗上市後變更，應符合關於已核准疫苗變更的相關指引與 ICH 關於藥品生命週期的相關指引。

表 2.1-1 對各關鍵品質管制點進行特性分析或管制的分析方法之參考範例

分析方法之參考範例	用途
DNA 模板定序；mRNA 定序	鑑別
定量反轉錄 PCR (qRT-PCR)	鑑別與定量
紫外光光譜；螢光檢測法	定量和純度
瓊脂糖 (agarose) 或丙烯醯胺 (acrylamide) 凝膠電泳，包括毛細管電泳	RNA 定量、RNA 大小、RNA 完整性、LNP 表面電荷和包覆百分比
層析法，例如：粒徑篩析層析法、陰離子交換、親和力或反相層析法	mRNA 定量、脂質定量、mRNA 的品質和奈米微粒的完整性

質譜	定量和奈米微粒完整性
dsRNA 墨點法；5' cap 百分比試驗；poly-A tail 的轉錄百分比	純度和其他品質屬性
基於細胞或無細胞之轉譯系統	效價與蛋白質表現
光散射技術，例如：動態或靜態光散射分析；奈米粒子追蹤分析；電子顯微鏡；粒徑篩析層析法	粒徑分佈(純度、一致性、安全性)
雷射都卜勒電泳；動態光散射分析	粒子表面特性分析(包括大小、多分散性和 zeta 電位)
電子顯微鏡；原子力顯微鏡；X 光繞射；差示掃描量熱分析	物理化學特性分析(包括表面和形態特性)
無菌檢測、內毒素含量檢測	安全性
pH 值；重量分析法、共沸法或滴定法檢測殘留水分	品質

## 2.2 mRNA(原料藥)的製造與管制

對 mRNA 開發和製造的描述應包括選擇使用目標抗原基因、mRNA 序列中的其他基因、UTRs、5' cap、3' poly-A tail 和調節區域的原因。也應描述任何基因表現或其他優化修飾。應提供 DNA 模板與 mRNA 的序列與註解。對於製程、製程中管制和放行檢測也應提供含註解的流程圖和敘述性描述。生產和管制方法與其可能影響 mRNA 疫苗品質、安全性和有效性的任何重大變更，應獲得中央衛生主管機關核可。

對 sa-mRNA 而言，若複製子和目標抗原在不同的 mRNA 分子上表現，則應在提供的流程圖中清楚說明，包括其額外的製程和/或品質管制試驗。例如：編碼複製子的 mRNA 分子與編碼目標抗原的 mRNA 分子的比率，或(若適用)應考量確認或控制兩種分子都被封裝到同一 LNP 中的方法。對於複製子和目標抗原在不同分子上編碼的 sa-mRNA，重要的是這兩種 RNA 被共同包覆，以便它們在體內被同一個細胞攝取。因此，若將兩種 RNA 分別包覆再混合，則需要證明這種方法的合理性。

### 2.2.1 mRNA(原料藥)的管制

應建立並說明 mRNA 原料藥的關鍵品質屬性之規格，包括鑑別、純度、含量、物理狀態、安全性以及品質。應描述和確效使用的分析方法並設定允收標準。皆應提供以商業規模生產的所有批次之試驗結果摘要。也應設定儲存條件下安定性試驗的規格。

早期開發階段，為了申請臨床試驗核可，應提供依據 GMP 生產的批次試驗結果，若有為了建立製造程序(manufacturing procedures)而執行的先導批(engineering runs)，請提供相關資訊。儘管規格的檢測項目可能不多，且允收標準較寬鬆，但從製程和分析方法獲得經驗之後，應在適當時機重新評估規格與允收標準之合理性。並非所有用於特性分析之試驗方法都須作為批次放行之檢

測項目；有些特性分析之試驗方法是為了獲得產品和製程的知識而僅對少數批次執行，以建立生產的方法和一致性。因此，應對早期的商業規模生產批次進行完整的特性分析，以確立原料藥的鑑別、純度、品質、安全性和安定性方面的一致性。之後，以有限的一系列試驗項目可能是合適的。對 mRNA(原料藥)所進行的試驗放行檢測與規格方法之適當性(appropriateness)，應逐案考量並證明其合理性。

### 2.2.1.1 鑑別

每個批次的 mRNA 原液(bulk purified mRNA)都應進行鑑別試驗。鑑別可透過直接對 mRNA 定序、定序 RT-PCR 的產物或高通量定序(high-throughput sequencing)，來確定 mRNA 的序列。若使用 RT-PCR 鑑定 mRNA 之序列，則所選擇的擴增子(amplicon)之序列，應為該 mRNA 產品獨有的序列，而非使用在相同設備製造的其他 mRNA 產品之相同序列。然而，或可選擇鑑定完整 mRNA 序列，並同時可檢測 mRNA 純度的分析方法。

### 2.2.1.2 純度與不純物

每個批次的 mRNA 原液都應進行純度試驗，檢測結果應符合允收標準。不純物的管制考量應包括製程中使用的材料，例如 DNA 模板、殘留的核苷酸、殘留的帽、酶、mRNA 片段和 dsRNA。可透過製程確效建立去除製程相關不純物或透過放行檢測來達成。對 dsRNA 檢測之必要性應依照製程設計而定，因為並非所有製程都會產生 dsRNA。分析方法的檢測，應包括對製程和產品相關不純物的靈敏度和可靠性，應確定不純物在 mRNA 原料藥中的含量並規定嚴格的上限。應建立並說明其最大允許限度。可考量使用層析檢測法。殘留的 DNA 模板可透過 qPCR 進行定量。重點在於，儘可能使用可檢測廣泛的物理化學、生物學和/或分子的性質之技術來檢測 mRNA 的純度和不純化。也應考量依據強制降解研究(forced degradation studies)的結果訂定產品相關不純物是否須於生產過程中、放行和/或安定性中執行檢測。

若在充分確效的製程中，證實可有效去除製程或產品相關不純物的殘留量且具有生產一致性，經中央衛生主管機關同意，可減少或停止該項目在品質管制之檢測。應說明定期重新執行製程確效的計劃和規格。完成確效之前，應對多個連續批次的的不純物進行檢測，其批次數量須經中央衛生主管機關同意。若有製程重大變更的情況，應重新執行製程確效或持續監控多個連續批次，其批次數量也須經中央衛生主管機關同意。應評估容器封蓋系統的合適性(compatibility)、可滲出物(leachables)和可浸出物(extractables)，並提供相關資料。

### 2.2.1.3 定量與結構完整性

mRNA 結構的完整性被認為是放行的關鍵品質屬性。因此，需要對 mRNA

完整性、加 5' cap 效率、3' poly-A tail 百分比或長度、完整 mRNA 百分比、mRNA 片段百分比、dsRNA 百分比等進行管制。是否需要測量 3' poly-A tail 的存在或長度取決於將該序列添加到 mRNA 的方式。若是編碼於在 DNA 模板中，則 mRNA 序列應包含 poly-A tail，但若是在 IVT 後使用酵素添加的，則可透過適當的檢測或製程確效來評估。同樣，dsRNA 的存在取決於所使用的製程。可考量使用凝膠電泳、PCR 或層析等方法進行檢測。mRNA 的定量是計算疫苗給藥劑量的基礎，mRNA 結構的完整性是疫苗作用機制的關鍵。因此，應描述並提供用於定量 mRNA(例如：紫外線光譜測定法)和定量完整 mRNA(例如：凝膠電泳)的相關資料。

#### 2.2.1.4 安全性

應描述安全性相關試驗，包括內毒素、細菌和真菌之無菌試驗(包括抑菌性及抑黴性試驗)或負荷菌(包括定量、微生物鑑別、無特定有害微生物)。若有需要，可進行熱原試驗(例如：單核球活化試驗(monocyte activation test, MAT))。考量 3Rs (Replace Reduce Refine) 之動物實驗倫理，若經中央衛生主管機關同意，可使用適當的體外替代方法進行安全性評估。

#### 2.2.1.5 其它品質屬性

應建立和管制其他重要的品質屬性，例如：外觀、pH 值和黏滯性(若有相關)。

#### 2.2.1.6 對照物質(reference materials)

應建立內部對照物質(即工作標準品)以作為分析試驗之標準化與可比性之依據。申請上市許可時，應提供用於檢測 mRNA 原液的對照標準品或對照物質之相關資料。

適用於查驗登記所建立 mRNA 原料藥之對照標準品批次，應為經過臨床驗證之批次，該批次應進行完整的特性分析包括但不限於其化學成分、純度、生物活性及全序列分析等。並保留足夠的數量作為化學和生物學對照物質。對照物質應以適當的形式配製，儲存於適當的條件下並證明該儲存條件可保持對照物質之安定性。應執行對照物質安定性之例行檢測。也應提供對照物質用盡時之變更計畫。

早期開發階段(例如：初步臨床試驗)，對照標準品可使用先導批次或用於樞紐性非臨床試驗(pivotal nonclinical studies)中，所使用的 mRNA 疫苗批次。待未來合適的臨床試驗批次確認並完成特性分析，則該批次可用於後期開發(例如：樞紐臨床試驗(pivotal clinical trials))和商業製造階段之對照標準品。因此，隨著研發階段的進展，可能需要製備新的對照標準品，可透過可信的和少變異的方式進行比較。無論採取何種方式，都應清楚地描述並提供相關資料。

#### 2.2.1.7 安定性

安定性評估應符合我國疫苗相關法規與安定性試驗基準及 WHO 疫苗安定性相關指引。所進行的安定性研究類型、計畫和安定性試驗結果應以適當的格式提供結果摘要，例如：表格、分析圖或敘述性文件。結果摘要應包括適合的儲存條件與架儲期的結果與討論。支持 mRNA 原液(或中間體)架儲期的安定性試驗數據及其未來的架儲期延長，應基於實際儲存條件下的長期安定性試驗結果。對於中間體和原料藥的運輸，應在適當的溫度和條件下進行確效。

## 2.3 mRNA 疫苗組成成分資訊

應詳細描述 mRNA 原料藥與疫苗的設計、序列和結構、組成成分(包括脂質與賦形劑)以及每個賦形劑的用量之相關資訊。也應說明每個賦形劑的基本原理與功能，包括脂質的結構與分子量以及它們在疫苗中所扮演的角色。

### 2.3.1 mRNA 序列與結構

- a. 應提供 DNA 模板的序列與註解(annotated sequence)。也應提供 mRNA 的序列，包括起始密碼子和終止密碼子、UTRs、調控區域(regulatory elements，例如：RNA 聚合酶的啟動子)、5' cap 和 3' poly-A tail，以及目標抗原的 ORF。若編碼包括其他蛋白質，例如用於自我擴增的構築體(construct)或細胞激素(cytokine)，也應提供相關序列、功能之說明。
- b. mRNA 疫苗可由天然的、修飾的或合成的核苷製造，應提供使用的核苷之相關資訊。
- c. 若使用優化的密碼子，而不是天然的密碼子，則應描述相關變更並證明其合理性。例如可使用人類細胞中常見的 tRNA 密碼子、用於獲得特定 mRNA 二級或三級結構的密碼子、降低先天免疫反應或增加 mRNA 的體內安定性的密碼子。
- d. 若使用 sa-mRNA，其基因編碼除了目標抗原之外，還包括病毒的 RNA 依賴性 RNA 聚合酶複合體。這種構築體形成複製子，可在疫苗接種者的細胞中產生多個 mRNA，目的在於提高疫苗的有效性。應提供此類複製子的序列並解釋其功能。若複製子和目標抗原位於不同的 mRNA 分子，則應詳細描述每個 mRNA 分子的製造與管制相關資訊。通常複製子和目標抗原會位於相同的 mRNA 分子，但如果是分開的，則可能需要額外的管制措施並應提供相關資料說明。
- e. 若 mRNA 疫苗之基因序列包含編碼其他免疫調節劑(immunomodulator，例如 cytokine)的序列，或非編碼序列擬作為免疫調節劑，則應提供其用途及序列之相關資訊。

### 2.3.2 疫苗成品之配方及其組成成分

- a. 批次配方(Batch formula)：應提供商業化生產的批次配方。應列出單次疫苗劑量中每種成分的含量。應定義批次的總體積。若成品(最終疫苗)中包含一個以

上的 mRNA 分子(原料藥)，包括不同的 mRNA 分子是同時包覆在單個 LNP 中還是分別包覆在不同 LNP 中再混合，則應提供相關資料說明。

- b. 遞送系統：配方之目的在於提高 mRNA 穩定性和幫助細胞攝取。雖然目前有數種傳遞劑可選擇，例如魚精蛋白複合體(protamine complexes)、陽離子微質體(cationic liposomes)、脂質、聚合物或脂質/聚合物奈米微粒(lipid-, polymer-, or lipid/polymer-based nanoparticles)，但目前 LNP 仍為 mRNA 疫苗傳遞劑的最佳選擇。應描述配方各成分之性質，包括化學性質、結構配方(例如：奈米微粒)的物理屬性、配方與最終產品的一致性和安定性。也應考量脂質的品質與成品的關鍵品質屬性。應對 mRNA-LNP 及其被細胞攝取之特性進行足夠的分析，並提供相關資料，包括 mRNA-LNP 的表面化學、大小、多分散性、形狀、電荷和蛋白質結合特性，以確保 LNP 對 mRNA 的保護能力和疫苗所需的安定性。若 LNP 具有免疫調節作用，則應提供其潛在的優缺點之相關數據。由於配方的特性可能影響疫苗安全性、免疫原性和有效性，所以在開發過程中應考量配方成份造成的正面或負面影響。
- c. 額外的免疫調節劑或佐劑：mRNA 可能編碼特定的免疫調節分子，例如 cytokine，也應提供相關說明。此外，未編碼於 mRNA 的佐劑或免疫調節劑(刺激或抑制)可以額外添加或作為 LNP 的一部分，應提供資料證明其對免疫原性的貢獻。也應提供佐劑的品質之相關資料。
- d. 額外的胜肽/蛋白質：如果疫苗中包含額外的胜肽/蛋白質可將 mRNA 靶向抗原呈現細胞(antigen-presenting cells)、其他特定細胞或增加 mRNA 從胞內體(endosome)的釋放，則需要描述這些添加的序列和功能，並提供證據證明其作用機制。
- e. 額外的賦形劑(例如：防腐劑)：應描述此類額外的賦形劑之組成、必要性和功能(例如：防腐劑效能試驗)，並證明其不會對 LNP 的性質產生不利影響。

## 2.4 起始材料、原料與賦形劑管制

與其它疫苗相同，應考量製程中使用的所有材料的來源和品質。從原料供應商採購的原料應通過製造商內部定義的品質系統。原料供應商應通過適當的資格認證。

### 2.4.1 起始材料、原料與賦形劑之品質

應提供起始材料、原料和賦形劑的相關資訊，包括用於製造 DNA 模板與 mRNA 的原料，例如核苷(包括修飾的核苷)、酶、緩衝液、溶劑、純化管柱、LNP 的脂質等，皆應提供其來源、品質、管制、安定性、作用與製程中使用之資訊。使用的起始材料、原料和賦形劑應適用於 GMP 製造，並提供其參考國際公認藥典或規格的詳細信息。

儘管以 GMP 製造 mRNA 疫苗的起始材料是線性 DNA 模板，但該模板可能來自上游材料，例如從重組細胞庫中生產的質體 DNA。故應提供線性 DNA 模板的製程相關資料，其細胞庫的建立和質體 DNA 的製造應適用於後續的 GMP 製造。



應建立、描述和測試細胞庫系統的純度(不受細菌和真菌污染)、鑑別與基因安定性(genetic stability)。若 poly-A tail 的編碼位於質體 DNA 中，則應測試質體 DNA 上的該區域的重組率(rate of recombination)。也需進行純化以減少質體 DNA 中的不純物(例如：RNA、宿主細胞 DNA、蛋白質、脂質和多醣類)。製程的設置需要考量將微生物污染的風險降至最低。

質體 DNA(若用於生產線性 DNA)和線性模板的檢測應包括透過定序檢測基因鑑別(genetic identity)、完整性(包括確認所需編碼的抗原序列和調節/控制序列)、線性 DNA 百分比、殘留的基因體 DNA、RNA 和蛋白質、無菌試驗或允許的負荷菌(bioburden)和內毒素等檢測(應使用適當的對照標準品(reference standards))。在早期開發階段，可能僅檢測質體 DNA(若適用)或線性 DNA。

關於 LNP，對製程中使用的脂質來源、安全性和品質，特別是未在非臨床和臨床研究使用過的新型脂質，進行評估並提供詳細的相關資料與合適的規格。對於新賦形劑(例如：陽離子脂質)，應在可行的情況下提供其製程的詳細資料以及新型脂質(包括起始材料和中間體)的管制措施。若有相關，應考量對(陽離子)脂質進行亞硝胺(nitrosamine)風險評估。

應提供起始材料、原料(例如：酶、緩衝液和溶劑)、中間體和賦形劑(例如：脂質和鹽類)之製造廠和製程、製程管制與規格相關資料。也應考量溶劑的使用與管制，以及元素不純物污染的可能性。若使用回收材料/溶劑，應進行適當管制並證明其合理性。賦形劑的不純物也應進行適當管制並提供純化與分離步驟之相關資料。為確保新賦形劑的品質，其製造商應掌握用於材料的特性分析、安定性監控和批次分析的分析方法之相關資訊。由於聚乙二醇化脂質(PEGylated lipid)在提供 LNPs 之體內安定性和增強 LNPs 與細胞的交互作用具有關鍵作用，因此應該對 PEGylated lipid 進行適當的管制(例如：分子量、多分散性和莫耳百分比)。關於賦形劑的製造，應符合賦形劑 GMP 製造相關規範。新賦形劑、新脂質與新佐劑應檢附完整資料，包括製造、特徵及結構鑑定、管控等技術性資料，應符合我國藥品新賦形劑品質技術文件送件指引之相關規範。

#### 2.4.2 起始材料、原料與賦形劑放行

與其它疫苗相同，應提供所有原料的合規證書(certificates of compliance)(若適用)和檢驗成績書(certificate of analysis, COA)。其內容應包括描述 mRNA 製造商進行之試驗或是否根據原料製造商提供的 COA 接受該原料。也應依據關鍵風險等級(criticality risk ranking)來定義內部檢測(in-house testing)與原料放行。起始材料應依據規格放行，以供後續 GMP 製程使用。

### 2.5 製程開發與製程中管制

應提供商業製程開發史，包括制定與證明製程關鍵步驟設定的警戒與啟動門檻(alert and action limits)的試驗和允收標準之合理性，以確保並回饋於製程管制。若使用平台技術，則可參考從已核准的產品中所獲得的知識。

製程確效應顯示其可符合關鍵參數，並有一致性的生產出預定品質屬性的產品。也應證明

製程和產品相關不純物的清除效果，可達到人用生物藥品之標準。

用於早期臨床試驗的候選疫苗通常不需要製程確效，但成品之關鍵步驟，例如無菌操作 (aseptic processing) 和無菌試驗，應確效或於生產臨床試驗用疫苗前詳加管控。

## 2.6 特性分析

應提供製程中和批次放行檢測以及 mRNA(原料藥)和最終疫苗(成品)特性分析之摘要。完整的特性分析應使用正交的(orthogonal)化學、分子、物理和生物學方法執行。與製程中和批次放行檢測不同，特性分析不須對每個批次都執行，但製造商可從特性分析中獲得有關產品的結構、功效和安全性相關之重要知識，確定這些特性是否應作為關鍵品質屬性進行管制，以引導製程和試驗的開發與進展。故應考量選擇使用於測定各種屬性的分析方法之合理性，特別是當使用替代技術可能獲得不同結果時，例如：使用不同方法測量粒徑。因此，建議使用正交的方法進行特性分析。

特性分析包括但不限於以下之重點項目：應測定 mRNA 序列之族群(population)，以及序列之一致性程度。應鑑定分析 mRNA 加帽(capping)和聚腺苷酸化(polyadenylation)製程之一致性程度。應證明 mRNA 所表現之全長蛋白質並無截短(truncated)或其它替代的形式存在，若發現有目標抗原之截短形式，或有其它替代形式的蛋白，而這些替代形式的蛋白可能會導致新抗原(neo-antigens)或有害的免疫反應，則可能須重新設計 mRNA 的序列。應分析 mRNA 包覆於 LNP 中的一致性程度。微粒攝取研究(particle-uptake studies)可以透過識別攝取微粒的細胞類型、攝取模式或機制以及攝取效率來幫助分析潛在的效價量測，從而選擇最適合的無細胞或體外方法進行評估。在特性分析過程中，應確定何種特性應作為關鍵品質屬性和/或安定性指標屬性(stability-indicating attributes)並進行管制。

應提供 LNPs 之詳細資料，包括以不同分析技術測定的粒徑，以探索含有 mRNA 的 LNPs 之形態和尺寸特性。LNPs 中 PEG 的密度和分佈也有助於瞭解 mRNA-LNP 的表面特性。表面電荷的測量(例如：zeta 電位)也應被視為分析 LNP 的一種方法。這些特性將影響產品的體內安定性、細胞交互作用和免疫反應；此類資訊也將有助於確認所生產疫苗的一致性。由 mRNA 編碼的目標抗原誘發的免疫原性是產品的關鍵特性，為了瞭解產品，應在非臨床研究中將其進行特性分析。此外，若 LNPs 本身具有免疫調節作用，也應該對其進行特性分析。若 mRNA 中包含其他免疫調節區域(immunomodulatory elements)或基因時，其對 mRNA 編碼目標抗原的作用方式(例如：免疫原性)之貢獻也應在非臨床研究中確定並證明其特性符合產品的設計。考量以上因素對瞭解產品並優化其設計和開發適當的管制方法非常重要。應描述與研究在 mRNA 中可能由起始材料、製程和產品相關不純物而引入的潛在不純物。可能包括殘留的宿主細胞蛋白(若用於製造 DNA 模板)、內毒素、殘留的細菌宿主細胞 RNA 和染色體 DNA(若用於製造 DNA 模板)、酶(例如：DNA 和 RNA 聚合酶和限制酶)、殘留的核苷酸、錯誤折疊或 dsRNA 和製程中使用的其他材料。應提供有關純化 mRNA 過程中不純物之數據，並設定最大可接受值或可達到的最低標準。對於已知或具有潛在毒性的不純物，應進行毒理學風險評估。降解的 mRNA 可作為分析程序的一部分進行評估，例如使用聚丙烯醯胺(polyacrylamide)或瓊脂糖凝膠(agarose gel)電泳、高效液相層析(high-performance liquid chromatography, HPLC)和/或毛細管凝膠電泳。應確認 mRNA(原料藥)在序列、結構以及體外轉染細胞時產生的蛋白質之一致性程度。

任何由成品配方中的脂質來源之潛在不純物，包括製程和產品相關不純物，都應該被分析和研究。這將有助於提出適當的規格並使不純物得到適當的管制，以達在臨床上可接受的範圍之內。

## 2.7 製程一致性

上市前，應使用經確效的方法對數個連續批次進行特性分析，從這些研究中獲得的數據，以及不同批次的臨床試驗結果，應作為產品規格訂定之依據。若批次間有超出製程參數之可接受範圍，應特別注意並展開調查。

早期開發階段，生產的批次很少，製程一致性的證明有限。然隨著產品開發過程中獲得的製造經驗，將可提供足夠數據證明製程之一致性。批次一致性的特性分析，通常在後期開發階段完成，此時製程大都已按比例放大為商業製造規模。然而，在某些情況下，可能會在臨床試驗規模的產品尋求上市許可的同時，進行商業製造規模的放大。每次進行製程變更時，應證明變更前後之可比性，尤其是樞紐性試驗(pivotal studies)使用的批次和商業製造規模的批次之間應具有可比性。用於證明可比性的比較性試驗計畫書與策略，可參考 WHO 關於已核准疫苗變更的程序和數據要求之指引。

## 2.8 最終疫苗(成品)的製造與管制

對疫苗開發和製造的描述應包括製程、製程中管制與放行檢測，並提供含註解的流程圖和敘述性描述。應詳細說明形成 LNPs 的方法。所有配方原液(bulk formulation)或 LNPs 原液(bulk LNPs)都應訂定適當的貯留時間，且應執行確效以確保在貯留時間內的物理化學安定性和微生物管制合規。還應描述用於最終配方、充填和完成(fill and finish)的方法並進行適當的確效。對於成品製造廠或充填與包裝廠變更，應評估變更前後成品之可比性。比較性試驗應包括變更前後的成品之批次分析數據以及安定性試驗數據。在這方面，應符合 WHO 關於已核准疫苗變更之相關指引。

### 2.8.1 組成

應描述疫苗的最終成分、原料藥(mRNA)和所有賦形劑(例如：脂質)。若有多種劑型，應描述每種劑型中各成分的含量。也應描述每個成分的功能。

### 2.8.2 LNPs 包覆 mRNA 之製造與管制

應詳細說明形成 LNPs 的方法並提供開發數據，以支持配方和製程的基本原理。應研究 LNPs 與 mRNA-LNPs 的所有關鍵品質屬性。在合適的情況下，可以採用實驗設計法(Design of Experiments, DOE)。mRNA-LNPs 的大小、多分散性和安定性都受到脂質和水相的流體力學(flow dynamics)以及製程中引起的剪應力(shear stress)的影響。因此，應研究優化的 mRNA-LNP 配方和最終配方疫苗安定性的關鍵製程參數及其操作範圍，以確保品質一致性。所有 LNPs 原液、配方原液和中間體都應訂定適當的貯留時間並加以管制與執行確效，以確保在貯留時間內的物理化學安定性和微生物管制合規。

應描述脂質的製備、將 mRNA 包覆於脂質中形成 LNPs、稀釋和純化步驟以及

隨後的充填到合適容器中的過程，並確效以符合製程中管制之規格。應考量使用各種過濾技術(例如：切向流過濾(tangential flow filtration, TFF))來去除製備 LNPs 使用的原料。應特別注意在 mRNA 包覆到 LNPs 期間和 LNPs 與最終 mRNA-LNP 疫苗的製程中儘量減少 mRNA 的降解(例如：mRNA 解凍與 LNPs 或 mRNA-LNPs 的冷凍速率的影響)。若是凍乾的產品，則應考量並證明凍乾和回溶(reconstitution)的條件。若適用，應描述並提供稀釋劑或回溶溶液(reconstitution solutions)之相關資料。

應對 LNPs 設定適當的管制措施，包括(a) 脂質的鑑別、定量和純度(包括不純物)；(b) 粒徑和分佈(多分散性)；和(c) RNA 包覆效率/包覆比例。某些情況下，可能需要考量表面性質(例如：電荷)、脂質莫耳比(lipid molar ratio)或陽離子脂質與 mRNA 的比率(例如：氮與磷酸鹽的比率)以確保產品的一致性和安定性。

應考量對 mRNA 原料藥的變更(例如：序列、長度或二級結構的改變)可能會對 LNPs 的關鍵品質屬性(例如：粒徑、分佈、形態和表面特性)和最終疫苗產品(例如：包覆百分比和細胞交互作用/攝取作用)產生影響。開發相關數據可證明產品一致性並支持產品優化過程。若以平台數據支持新候選疫苗的開發，則應測定新 mRNA 原料藥對最終疫苗產品的關鍵品質屬性之影響。

### 2.8.3 製造充填和包裝

應提供含註解的流程圖和敘述性描述，以說明從 mRNA 原液到最終疫苗成品的製程步驟。該流程圖應包括所有步驟(即單元操作(unit operations))，例如：最終配方原液的稀釋、材料和中間體之鑑別以及製程中管制和品質管制之測試。流程圖應提供每個製程步驟之說明，包括規模、緩衝液和其他添加劑、主要設備、製程中管制與關鍵製程操作參數之允收標準，也包括滅菌程序與微生物管制相關資料。

生物藥品 GMP 規範中關於充填和容器的要求，應適用於以最終形式充填的疫苗。mRNA-LNP 的無菌充填過程(aseptic fill process)應經過充分確效，以確保所有關鍵品質屬性符合規格。應注意確保容器、封蓋與轉移裝置(transfer devices)(若適用)的材料不會對疫苗的品質產生不利影響。為此，包裝完整度試驗(container closure integrity test)和最終容器封蓋系統的可滲出物和可浸出物之評估，是必須的，且可能需要作為安定性評估的一部分。

若疫苗成品為多劑量容器包裝且不含防腐劑時，則應訂定使用時間的限制。此外，多劑量容器在打開後應防止內容物受到微生物污染。可能需要對容器封閉系統進行相關的模擬研究(例如：多次穿刺測試(multi-puncture tests))來證明其適用性。多劑量容器的設計應符合標籤上宣稱的劑量，可接受適度過量填充(overflow)以達到正確的劑量。應評估多劑量容器的最大穿刺次數，以評估損害容器完整性的風險和容器污染的可能性。也應確效多劑量容器的可提取體積(extractable volume)。若多劑量疫苗最終產品係以濃縮物形式提供，則應使用建議的回溶溶液進行合適性研究，並建立適當的稀釋後貯留時間。也應提供並說明稀釋前和稀釋後的規格。製造商應向中央衛生主管機關提供足夠的數據，以

證明產品在適當的儲存和運輸條件下，仍具有與出廠相當的品質及安定性。當最終疫苗包含一種以上的 mRNA(例如：混合或多價疫苗、由不同的 mRNA 分子組成的 sa-mRNA)時，在最終疫苗的製造中可能需要考量其他因素。例如：應確保配方中不同 mRNA 的適當比例，以優化每種 mRNA 的表現並減少免疫干擾(在混合疫苗或多價疫苗的情況下)；也應考量多種 mRNA 在包覆於 LNP 之前是否先混合，或者是否將每種 mRNA 各別包覆到 LNPs 中，然後再製備兩種或更多種 mRNA-LNPs 的混合物。無論使用何種方法，皆應提供說明與相關數據資料。

#### 2.8.4 疫苗成品的管制

應從每個最終疫苗之批次評估並建立疫苗成品的檢測項目與證明其規格之合理性。原則上，疫苗成品規格及其允收標準之訂定，應依據臨床研究中具有良好效果的批次試驗結果來訂定，並提供分析方法的描述與確效相關資料。建議規格應包括：鑑別、純度、含量、安全性、其它品質屬性、效價，並提供規格訂定之合理性，以取得中央衛生主管機關認可規格之檢測項目及採用之分析方法。也應建立安定性試驗以證明產品有效期限(expiry dating)之合理性。

儘管早期開發階段，規格之檢測項目可能較少且允收標準可能較為寬鬆，但隨著開發過程中，累積由製程與分析方法中獲得的經驗之後，應在適當的時候重新評估允收標準之合適性。

應提供以商業規模生產的所有批次之試驗結果摘要。早期開發階段，為了支持臨床試驗核可，應提供符合 GMP 生產的批次之試驗結果摘要，以及為建立製造程序而執行的先導批之摘要(如果有)。

並非所有在產品開發過程中執行的試驗項目，都必須於商業規模生產的每個批次執行；有些試驗是為了獲得產品和製程的知識而僅對少數批次執行，以建立生產的一致性。應使用經確效的方法，對最終疫苗成品的數個連續批次進行特性分析，以確定製程之一致性。若批次間之數據有任何異常，應特別注意並展開調查。從這些研究中獲得的數據，以及不同批次的臨床試驗結果，應作為訂定常規放行規格和允收標準之依據。因此，應對早期的商業規模生產批次進行完整的分析，以確立 mRNA 疫苗的鑑別、純度、強度/含量/數量、安全性、其它品質屬性、效價和安定性方面的一致性，之後，以有限的一系列試驗項目可能是合適的。對最終疫苗成品所進行的試驗放行檢測與規格方法之適當性，應逐案考量並證明其合理性。

當最終疫苗包含一種以上的 mRNA(例如：混合或多價疫苗、由不同的 mRNA 分子組成的 sa-mRNA)時，在最終疫苗的管制可能需要考量其他因素。例如：多種 mRNA 被作為混合物而同時包覆於 LNP 之中，或將每種 mRNA 各別包覆到 LNPs 中，再混合不同的 mRNA-LNPs。這可能會影響 LNPs 的大小、電荷與多分散性。此外，對每種 mRNA 以適當比例混合之步驟應執行確效，以證明其一致性。確保最終疫苗總 mRNA 含量非常重要，因為總 mRNA 含量是給藥的基礎。鑑別檢測應有能力區別疫苗中每種 mRNA，並同時可區別同設施中生產的

其他產品。若一種原料藥或成分(例如：編碼複製子的 mRNA)被使用於該設施生產的其它疫苗或產品，則這種鑑別檢測就非常重要，可用於防止混淆。

#### 2.8.4.1 鑑別

每批疫苗都應進行適當的試驗以鑑別最終產品，並將其與在同一設施或使用相同設備生產的其他產品區分開來。若疫苗中包含一種以上的 mRNA(例如：混合或多價疫苗、由不同的 mRNA 分子組成的 sa-mRNA)時，使用的分析方法應具有鑑別疫苗中每一種 mRNA 之能力。應考慮透過序列分析進行鑑別。

#### 2.8.4.2 純度與不純物

評估每批最終疫苗的純度且應符合允收標準。應考量由遞送系統成分產生的潛在不純物，並加以管制，例如：最終疫苗的氧化和降解。單一的檢測項目可能不足以偵測所有潛在不純物，應考量檢測 mRNA 完整性、LNP 之粒徑大小、脂質/聚合物不純物和 LNPs 包覆 mRNA 的比例與效率，證明檢測結果符合其規格所訂定的允收標準。也應評估容器封蓋系統的合適性、可滲出物和可浸出物，並於申請查驗登記時提供相關資料。

#### 2.8.4.3 含量與強度

除了評估效價之外，還應以定量方法測量 mRNA 含量。若疫苗包含一種以上的 mRNA(例如：混合或多價疫苗、由不同的 mRNA 分子組成的 sa-mRNA)時，應量測每種 mRNA 之含量，並確認每種 mRNA 之間的比例符合預期，且所有 mRNA 的總合未超過預期的疫苗劑量。

#### 2.8.4.4 安全性

每批最終疫苗都應進行細菌和真菌之無菌試驗(包括抑菌性及抑黴性試驗)。如果疫苗是透過非注射的(non-parenteral)給藥途徑，則可不必進行無菌試驗，但須有適當的負荷菌試驗，並提供適當資料證明。此外，應對每批進行內毒素檢測，並訂定適當的規格。若有需要，可進行熱原試驗(例如：單核球活化試驗)。考量 3Rs 之動物實驗倫理，若經中央衛生主管機關同意，可使用適當的體外替代方法進行安全性評估。

#### 2.8.4.5 其它品質屬性

應建立及管控其他重要的品質屬性，包括外觀(例如：目視可見與非目視可見微粒物質(visible and sub-visible particulate matter)、可提取體積和 pH 值。依據產品特性，其他屬性(例如滲透壓或黏度)的管制可能很重要。對於最終疫苗(成品)而言，其它的屬性應包括：脂質/聚合物鑑別和含量、奈米微粒大小、mRNA-脂質比和多分散性指數(polydispersity index)。使用於檢測奈米微粒的粒徑大小之分析方法，應採用與管制奈米微粒相關

治療產品(nanoparticle-based therapeutic products)類似的多點管制(multiple point control)方法，因為檢測結果將取決於所採用的分析方法。LNP 對 mRNA 的包覆程度(degree of encapsulation)也應被視為關鍵品質屬性，因為未被包覆的 mRNA 是不穩定的。應確認最終產品的結構不會因凍融(freeze-thawing)和稀釋而改變。此外，某些品質屬性可以透過用於評估純度或鑑別的方法來評估，例如：凝膠或毛細管電泳和/或 HPLC 等技術。若有需要，應增加其他試驗，例如：若疫苗為冷凍乾燥保存，應測定疫苗的水分殘留，以確認產品和配方之物理特性。且應對所使用的分析方法執行確效並提供相關資料，以確保對關鍵品質屬性進行管制。

#### 2.8.4.6 效價

每批疫苗的效價應使用適當的定量方法和經確效的檢測方法來確定。不同疾病的疫苗可能需要不同的檢測方法來管制效價的各個面向(包括功能性)。疫苗接種者的免疫原性顯示出最終疫苗特性的複雜功能，包括透過其配方傳遞至目標細胞以及表現 mRNA 編碼的蛋白質(可能包括自我擴增的複製子)。因此，可以使用體外效價試驗，例如細胞轉染系統(cell-based transfection systems)或無細胞之檢測方法(cell-free assays)。此類方法可證明從 mRNA 表現的蛋白質具有正確的特性與大小。然而，效價的分析不僅要依據 mRNA 疫苗的種類，更須依據預防的疾病之臨床適應症，所以目前無法明確列出可用來衡量效價的檢測方法。與其它品質管制試驗一樣，應說明選擇用於管制效價的方法之科學依據，並提供其與疫苗臨床表現之關聯性資料。

當開發針對新病毒株的新候選疫苗時，應考量所使用的效價檢測方法是否也適用於新病毒株。

mRNA 疫苗的效價規格，應依據用於證明臨床試驗療效(efficacy)的最小劑量，與考量人類免疫原性數據來訂定。還應依據可用的人體安全性數據，來訂定上限。

動物實驗往往變化很大且難以確效。因此，應考量使用適當的體外替代方法進行效價評估。也許未來，可以像質體 DNA 疫苗(plasmid DNA vaccine)一樣，以生物化學量測的組合，例如核酸含量和 mRNA 完整性，用以建立並量測 mRNA 疫苗的效價。鼓勵疫苗製造商應努力實現透過以適當定量和評估疫苗功能的體外效價試驗之目標。然而，這些生物化學量測的組合只考量到 mRNA 本身，並沒有考量到配方、佐劑、免疫調節劑等的影響。因此，目前建議此方面之相關檢測，仍須個案考量並與中央衛生主管機關討論。

#### 2.8.4.7 對照物質

經臨床評估的最終疫苗之合適批次，應在其化學成分、純度、生物活性和全序列方面進行充分的特性分析，並保留做為內部對照物質(internal

reference material)。該對照物質應用於評估商業生產批次的產品品質。將來若 WHO 可提供國際標準品(international standards, IS)，則使用 IS 校正內部或國家對照物質(internal or national reference material)將會很重要。所以每當需要製備新的對照物質時，就可以更可靠的方式進行可比性研究。此外，在適當的情況下，以通用單位(例如：international unit, IU)表示也將有利於比較不同實驗室來源的檢測結果，以及比較針對使用相同或相似技術生產的相同病原體的不同產品(例如：不同的 COVID-19 mRNA 疫苗)。

#### 2.8.4.8 安定性試驗、儲存和有效期限

生物藥品 GMP 規範、無菌藥品 GMP 規範和相關的疫苗安定性評估指引亦適用於 mRNA 疫苗。標示於初級和次級包裝上的儲存溫度和有效期限，是基於安定性試驗證據且須中央衛生主管機關核准。有關疫苗瓶監控器(vaccine vial monitors, VVM)，應參考 WHO 疫苗瓶監控器入門指南和相關的 WHO 指南。

##### 2.8.4.8.1 安定性

安定性研究是疫苗開發過程中很重要的部分。為了支持商業用途，應測定最終產品在容器中的安定性，並將結果用於判定適當儲存條件下的架儲期。應量測安定性指標屬性，這些屬性可能包括外觀(例如：目視可見與非目視可見微粒物質)、mRNA 含量、效價、mRNA 完整性、包覆程度、粒徑、多分散性以及與 mRNA 和脂質相關的雜質。應訂定安定性試驗規格並提供相關資料。應執行實際時間安定性研究(Real-time stability studies)；而加速安定性研究可作為產品安定性的支持性數據，以及確認用於檢測安定性指標性質之分析方法。若考量產品將長期儲存(例如：大於 6 個月)於高於冰點的溫度下，則可能需要額外的分析試驗來評估潛在的脂質氧化或其他此類的變化以及這些變化可能對效價造成的影響。

此外，可考量使用加速和壓力試驗數據以及平台數據來支持架儲期。應提供支持臨床使用的安定性數據，例如：短期儲存和調配(dispensing)時的溫度之相關安定性數據。對於多劑量瓶(multi-dose vials)，應提供使用中安定性數據(in-use stability data)，以確保疫苗在使用條件下的微生物含量和安定性符合標準。

在早期臨床開發階段，能提供的安定性資料有限。平台技術上的安定性數據可以用於支持該平台的新候選疫苗。然在申請臨床試驗時，須經由中央衛生主管機關核准。

若產品的長期儲存條件建議為超低溫冷凍(deep-freeze)，則應研究替代的短期儲存條件，例如冷凍和/或冷藏，以支持配送和調劑時之產品安定性。同樣地，也應考量執行溫度偏離研究(temperature excursion studies)或運輸模擬研究(transportation simulation studies)。也應評估和



討論容器封蓋系統的相容性，包含可滲出物和可浸出物。安定性評估應符合我國疫苗相關法規與安定性試驗基準及 WHO 疫苗安定性評估相關指引。若可行，應考量開發更耐熱(thermostable)的疫苗以利全球使用。

#### **2.8.4.8.2 儲存條件**

儲存條件應經過確效。疫苗在從生產商配送之前或從儲存地點發出之前，其儲存時間和/或溫度應保持在將效價損失降到最低的條件下。最長儲存期限(maximum duration of storage)應依據安定性試驗結果並經由中央衛生主管機關核准，以確保最終產品的品質符合規格，包括容器或包裝上規定的最低效價直到架儲期結束。在臨床試驗期間，理想情況下，儲存期限應至少等於完整臨床試驗中疫苗接種階段的預期持續時間。

#### **2.8.4.8.3 有效期限(expiry date)**

有效期限應以最終容器執行之真實時間安定性研究結果來支持，且須經中央衛生主管機關核可。有效期限的判定，是以最終配方原液的混合日期、最終批次(final lot)的充填日期或是第一次效價檢測日期，應視情況而定並經由中央衛生主管機關核可。

### **2.9 批次記錄**

開發階段的疫苗亦應符合規範，可參考藥品 GMP 規範之建議。

### **2.10 保留樣品**

應保留足夠數量的樣品以供將來的研究和需要，包括但不限於製程研究與開發、非臨床研究或未來的橋接臨床試驗(bridging clinical trials)。樞紐臨床試驗中使用的疫苗批次可作為對照物質，應保留足夠數量並保存在合適的條件之下。須提前規劃用以保留樞紐臨床試驗批次的容器之數量。

### **2.11 標籤(Labeling)**

標籤內容應參考生物藥品 GMP 規範中提供的標籤建議，包裝單個或多個最終容器的外盒標籤與內附的說明文件，須經由中央衛生主管機關同意。

標籤與內附的說明文件內容應包括疫苗名稱；製造商和批發商的名稱和地址；批號；原料藥的性質與含量；產品成分與賦形劑清單；單人使用劑量性質聲明(若適用)；劑型和外觀；免疫計畫(immunization schedule)和推薦的給藥途徑；劑量數(若為多劑量疫苗)；防腐劑的名稱和濃度(若適用)；抗生素的性質和含量或上限之聲明(若適用)；臨床相關之微量其它殘留物的聲明；儲存和運輸過程中推薦的溫度；容器封蓋相關說明；有效期限/再驗期；特殊的給藥時間表(若適用)；使用時的特別注意事項，例如：處理多劑量瓶時必須戴手套以防止產品接觸 RNase，或內容物混合的安定性；禁忌症、警告和預防措施，以及有關併行疫苗

(concomitant vaccine)和不良事件之訊息。

## 2.12 配送和運輸

生物藥品 GMP 規範中提供的建議也適用於 mRNA 疫苗。應參考我國 GMP 及 WHO 對時間和溫度敏感藥品的儲存和運輸指引，藥品的運輸過程應保持在規定的溫度範圍內，並且應包含冷鏈監控器(若適用)。

## 3 mRNA 疫苗之非臨床評估

候選 mRNA 疫苗的非臨床評估，應以特定產品為基礎，並酌其預期的臨床使用方式來進行考量。有關產品的非臨床試驗設計、執行和分析，包含選擇合適的“藥理學”試驗(就疫苗而言，即免疫原性和研究概念驗證)以及“毒理學”試驗，應參照並符合我國及 WHO 疫苗非臨床評估相關指引。

進行 mRNA 疫苗的安全性和概念驗證評估時，必須考量幾個潛在問題。基於此種產品類型的新穎性，以下探討的議題可能會與任何特定 mRNA 疫苗皆相關，而未來也可能會發現其它需要考量的議題；然而，視產品之設計，並非所有這些議題必然與任一特定 mRNA 疫苗相關。疫苗開發商／製造商應提供科學性證據，呈現其候選疫苗之安全性以及概念驗證(例如：免疫原性以及利用合適的動物模式進行攻毒保護力測試)。有關預計進行的試驗類型、設計和數量，應與中央衛生主管機關達成共識。

### 3.1 藥理學／免疫學／概念驗證

除了在疫苗非臨床評估相關指引中所提到的試驗類型外，中央衛生主管機關有可能針對以下議題要求執行額外的非臨床試驗，包括：

- a. 免疫反應的持久性，或是可反映免疫反應持久性的免疫細胞類型，特別是預期與候選疫苗所誘發之保護力相關的免疫反應與細胞類型。為評估免疫反應的持久性，可針對免疫細胞表現型、及／或細胞激素的表現情況進行特性分析，這些特性分析可有助於探討免疫反應的持續性以及記憶效應。
- b. 研究指出，RNA 所誘發的先天免疫反應(例如：誘發第一型干擾素生成)會減少目標抗原的轉譯，可能會影響追加劑(boost)或後續劑量之需求或時間點。

### 3.2 動物模式的安全性／毒性研究

除了前述相關指引所提及之要求外，也應考慮是否須設計試驗探討以下問題：

- a. **生體分布(biodistribution)與持續性(persistence)**：針對此一潛在疑慮建立研究證據資料庫，將可加速未來候選疫苗之開發。此潛在議題可能取決於疫苗是否會移動至特定細胞或組織而定；因此，中央衛生主管機關可能會要求執行非臨床試驗，以釐清 mRNA 和 LNPs(或脂質成分)是否會從注射部位組織向外分布、分布至哪些組織，以及持續的情況。有關這些試驗之要求必須與中央衛生主管機關取得共識。
- b. **發炎**：RNA 可經由多種路徑機制引起發炎，尤其會經由具有許多 RNA 偵測器的先天免疫系統而引起發炎反應。mRNA 疫苗成分中的 mRNA 分子和 LNPs(能使輸送和細胞攝入更有效率)都具有可影響與誘發先天免疫系統反應之特性。儘管其中有些活性可能對

疫苗的免疫反應有益，監控全身性和局部毒性以及發炎反應仍是極為重要的一環。非臨床試驗的設計必須考量任何可能做為預測人體發生嚴重不良事件或特殊不良反應的免疫指標，包括任何可能發生的免疫反應、反應原性(reactogenicity)或毒性。此外，添加其它用於幫助輸送的成分，例如 PEG，雖然相對無害，但仍能對疫苗的物化性質和安全性造成影響。因此，充分了解產品的整體特性十分重要，包括應了解製劑配方成分以及其物化性質(可能會改變)如何對發炎和安全性造成影響。動物模式的選擇一向極為關鍵，從過去經驗可知，在動物模式所觀察到的對抗 RNA 的先天免疫反應，通常比在人類中的反應明顯較輕微。

- c. **修飾核苷的非預期嚴重毒性**：有些含有構形改變的特定非天然核苷類似物的抗病毒藥物和抗癌藥物會引起粒線體毒性，導致發生肌病變、多發性神經病變、乳酸中毒、脂肪肝(liver steatosis)、胰臟炎、脂肪代謝障礙(lipodystrophy)，甚至死亡；然而，這些在臨床上所觀察到的毒性，有部分是無法在所使用的非臨床動物模式中顯現。雖然目前多數最先進的 mRNA 疫苗(新冠肺炎疫苗)所使用的修飾核苷是天然存在的，不排除未來的候選疫苗可能含有非天然的修飾核苷。因此，當 mRNA 疫苗含有尚未在其他已開發之核酸類產品中經過完整特性分析的非天然核苷修飾時，須特別仔細思考如何在安全性評估中，利用適當的動物模式和非臨床試驗來觀察相關潛在毒性。
- d. **新脂質和新 LNPs**：由於 LNPs 製劑中所使用的脂質會影響微粒的電荷，當以新脂質製作的 LNPs，或是 LNPs 本身經過修飾(例如：變更比例或製程)，而這些 LNPs 在過去未曾以 LNP 包裹 mRNA 的產品形式，進行過非臨床和臨床測試，則可能須針對含有新脂質(或任何新賦形劑)的新配方進行毒性評估。此外，如同在疫苗非臨床評估相關指引中針對新佐劑的要求，及／或 ICH S2(R1)指引中對於全新化學成分(new chemical entities)之要求，中央衛生主管機關可能會要求針對新脂質成分的基因毒性和全身毒性評估。
- e. **新配方**：同樣地，對於含新賦形劑的製劑配方(LNPs 以外的成分)，中央衛生主管機關亦可能要求評估該配方之全身毒性和基因毒性的相關數據。

必須注意的是，基於以下原因，在質體 DNA 疫苗開發中可能發生疫苗核酸嵌合至宿主基因體的潛在理論疑慮，並不適用於 mRNA 疫苗：

- 目前所知 RNA 嵌合至宿主基因體的唯一機制，必須存在含有反轉錄酶(reverse transcriptase)和嵌合酶(integrase)的複合體才會發生。
- 另外，設計候選 mRNA 疫苗序列時，應考量使其不帶有反轉錄酶啟動轉錄所需要的引子之專一性 RNA 結合位點；此外，RNA 必須於反轉錄作用完成後重新移入細胞核中，才可能發生嵌合。
- 最後，如同細胞本身的 mRNA，疫苗中的 mRNA 一旦被身體的細胞攝入後，會在相對短暫的時間內降解。在這短暫的時間內，mRNA 疫苗預期會停留在細胞質內進行轉譯，之後才經由正常細胞代謝機制被分解。

所以，無需執行非臨床試驗來說明 mRNA 疫苗發生基因嵌合或基因毒性風險。

如同任何預期會廣泛使用於孕婦或具生育能力婦女的疫苗，mRNA 疫苗的相關非臨床試驗規劃應參照並符合我國及 WHO 疫苗非臨床評估相關指引之建議。這些試驗的必要性取決於疫苗的臨床適應症之目標族群；如有執行相關試驗的必要，這些試驗通常會在以商業製程和規模所生產的候選疫苗進行樞紐性臨床試驗期間或結束後執行。所以，當疫苗的適應

症包含具生育能力婦女，在提出上市許可申請之時，相關試驗數據即已完備；此外若臨床試驗預計會納入懷孕婦女，這些試驗數據應在納入懷孕婦女前即完成評估。

若源自相同技術平台的類似候選疫苗已有臨床數據，則應就這些臨床數據在科學上是否足以用來免除進一步的非臨床試驗，與中央衛生主管機關取得共識。若已有源自相同技術平台的類似候選疫苗的非臨床安全性資料，也應針對這些數據在科學上是否足夠用以免除進一步的非臨床試驗，與中央衛生主管機關達成共識。同樣地，若成品採用相同的 LNP(有相同 mRNA-脂質比例與莫耳數)，而且多價成品配方中所有 mRNA 的總量未超過以單價疫苗執行的非臨床安全性試驗所得出的最高安全劑量時，則單價疫苗配方的非臨床安全性資料(以及臨床數據，如果有的話)，可以用來支持多價成品(例如：包含針對不同株的同一疾病抗原)或組合疫苗(針對不同疾病抗原)的臨床開發。

### 3.3 於公共衛生緊急事件期間，針對優先病原體疫苗之快速開發的非臨床加速評估方案

對於在公共衛生緊急事件期間，針對優先病原體進行疫苗加速開發，並且當新候選疫苗是出自特定製造商的技術平台時，可考慮以下層面來簡化非臨床試驗規劃：

- 若是新 mRNA 疫苗係針對已經過臨床測試的 mRNA 疫苗中目標抗原的 mRNA 序列進行變更(例如：對於引起大流行的流感病毒株而言，過去已經測試過季節性流感病毒株或其他可能引起大流行的病毒株的抗原；或是當 SARS-CoV-2 棘蛋白出現變異)，且使用相同的 LNPs(也就是含有相同的脂質成分和 mRNA-脂質比例，且每一劑的 mRNA 和 LNPs 總量等於或少於臨床測試劑量)，並且採用已經核准的製程的情況下，視中央衛生主管機關的要求，非臨床試驗項目或可縮減為僅執行一個(或多個)免疫原性試驗，或進行一個(或多個)攻毒-保護力試驗(若存有相關動物模式的話)。儘管此類非臨床概念驗證試驗通常不會完全遵循藥品優良實驗室操作規範(good laboratory practices, GLP)，在這些免疫原性或攻毒-保護力試驗中，仍應儘可能地收集安全性資料。如果可取得表現相關抗原的動物用疫苗的安全性資料，也可能對評估有利，應該一併提供審查。任何其他關於所採用技術平台的安全性資料，例如先前的毒理學以及生體分布試驗數據，也應提供給中央衛生主管機關作為審查時的參考。
- 當 LNPs 曾與另一不相關的 mRNA 進行過臨床測試，意即疫苗針對的是全新的目標抗原(也就是與另一種曾進行臨床測試的抗原無關)時，若將非臨床試驗縮減為僅執行免疫原性或攻毒-保護力試驗，可能是不足夠的。至於需要哪些非臨床安全性／毒理學資料，可能須考量對於疾病自然病程的病理學知識與理解程度而定。如果疾病的自然病程與因交叉反應性(cross-reactivity)、分子相似性(molecular mimicry)、自體免疫、致敏性(allergenicity)，或是免疫相關疾病增強(immunity-associated disease enhancement)等原因而導致的免疫病理變化有關，則執行毒理學試驗可能是必要的，以確保新的目標抗原與上述這些效應無關。必須注意的是，自體免疫問題可能是無法藉由非臨床試驗來探討的。當疾病的自然病程與免疫病理學不具關聯性，或對於疾病自然病程所知有限的情況下，應與中央衛生主管機關討論如何精簡非臨床試驗項目。
- 最後，當 LNPs 和所編碼的目標抗原皆為全新(亦即 mRNA 結構和序列是全新的)的情況

下，非臨床評估可能會更為複雜，且可能需要更大規模的研究；此時應與中央衛生主管機關討論試驗規劃，而且可能無法大幅簡化非臨床試驗項目。然而，或許可考慮先開始執行臨床試驗，而將某些必要的非臨床試驗與臨床開發同時(或稍微提前)進行。

決定如何精簡非臨床試驗時，始終必須考量從相關產品以及先前已經過測試的產品所獲得的知識，特別是來自同一技術平台產品的知識。如果已可取得相關產品的臨床數據，這些相關產品的臨床數據用來評估候選疫苗的人體安全性，可能比從任何特定動物模式或體外模型所獲得的候選疫苗數據更具意義。

## 4 mRNA 疫苗的臨床評估

關於臨床試驗執行許可或產品上市許可的核准，其臨床評估的預期要求主要取決於 mRNA 疫苗開發的目標疾病，以及疫苗的作用模式(或作用機制)。如該疾病之疫苗研發已建立保護力相關的免疫反應(Immune Correlate of Protection, ICP)，則在預期的要求上，會與尚未建立 ICP 的情況有所不同。臨床試驗應遵循國內外相關指引之原則，包括 WHO 及我國的藥品優良臨床試驗(good clinical practice, GCP)準則、我國的新疫苗產品之臨床研發策略指導原則以及 WHO 疫苗臨床評估之法規要求指引。前述第三份指引亦有探討上市後的藥物安全監視工作。此外，這些指引提供在評估使用劑量、臨床開發計畫、追加劑、安全性數據收集、樞紐性療效試驗設計(包括可能的評估指標)、免疫反應檢測方法的標準化(包括使用內部標準和以 IU 通報數據)、以及用免疫橋接(immunobridge)來推論其療效等方面的考量。另外，這些指引也包括執行孕期試驗的考量。

如同任何其他類型的疫苗，臨床試驗中應收集安全性、免疫原性和療效數據，惟相較於已獲藥證且主管機關可能較熟悉的其他類型疫苗，對於 mRNA 疫苗較具意義且應特別留意的可能疑慮如下所述。

### 4.1 安全性和免疫原性評估

應從初期臨床試驗取得充分數據，以評估下列對於 mRNA 疫苗特別具意義的安全性和免疫學面向：

#### a. 不良免疫效應(Adverse immune effect)

一項 mRNA 新冠肺炎疫苗的臨床試驗期中報告中，曾通報在接種後幾天內出現淋巴球數量暫時減少(第 1-3 級)。參與者的淋巴球數量減少現象皆在 6-8 天內回歸基線值，且並無觀察到相關的臨床症狀。這種淋巴球數量暫時減少的現象也曾在其他疫苗接種後觀察到，對於免疫反應並未產生顯著的有害影響。由於 RNA 可誘發第一型干擾素，目前已知該干擾素與淋巴球暫時移動至組織有關。在研發初期臨床試驗中，可能需要特別留意對血液中淋巴球數量的任何影響。儘管如此，考量到此現象對於候選疫苗的免疫反應可能相當重要，務必留意白血球及其分類在數量上的變化是否與任何不良的臨床徵候或症狀有關。因此，在接種後立即監控適當的反應原性參數至關重要。關於安全性評估的一般性原則，請參見我國及 WHO 之疫苗臨床評估指引中的相關章節。

#### b. 免疫反應的類型和範疇

除了我國及 WHO 之疫苗臨床評估指引中所建議之免疫原性指標的種類及範疇以外，mRNA 疫苗的免疫原性試驗需額外注意的安全性和免疫原性面向可能包括：

- mRNA 候選疫苗是否過於偏向特定類型的免疫反應，取決於對疾病的自然反應和疫苗作用模式的認知。截至目前為止，有兩項新冠肺炎 mRNA 疫苗臨床試驗均觀察到 Th1 型免疫反應的偏誤。此資訊有助於預測和理解免疫反應對於特定疾病的影響。
- 如同任何新疫苗，發生任何特殊關注不良事件(adverse events of special interest, AESI)，或任何其他新的不良事件，都應在臨床試驗和上市後評估中收集相關發生率及證據。接著則應調查關聯性和可能原因，例如是否有對疫苗成分(如 RNA 或脂質)產生不必要的免疫反應，或，若疫苗接種者對疫苗成分已有預先存在的免疫反應，是否增加或惡化此不必要的免疫反應。此外，還可能需要調查對於所表現抗原的免疫反應是否有產生表位擬態(epitope mimicry)現象。

在 mRNA 疫苗的開發過程中決定最大耐受劑量(maximally tolerable dose, MTD)時，除了考量 mRNA 總量(特別是多價或混合疫苗，或是採用分離式 mRNA 設計的 sa-mRNA 疫苗)，也應考量 LNPs 的總量。就平台技術而言，特定族群的 MTD 或可參考先前由相同平台生產的疫苗(或候選疫苗)所認定的劑量。

如因疫苗效益衰減而考慮在基礎劑後施打追加劑，應謹慎評估局部或全身反應的頻率或嚴重度是否有提升。如同所有疫苗，建議在初期臨床試驗中審慎探索疫苗接種的劑量、時間和次數(基礎劑及視需要的追加劑)，以及免疫反應的動力學和持久性，以作為疫苗療效試驗設計上的依據。相關討論亦請參考我國及 WHO 之疫苗臨床評估指引。在特定情況下，直到收集到充足上市後數據(如顯示免疫力或保護力下降)後，方可決定需要追加劑。有關已上市疫苗的追加劑，例如已上市疫苗擬開發作為追加劑而可能須變更改用法用量的情形和保護力下降時考量追加劑的必要性等，亦請參考我國及 WHO 之疫苗臨床評估指引。有關疫苗抗原和野生流行株之間的差異，包括可能需要加入或變更病原株的情形，建議參考其他討論流感疫苗(需經常變更病原株)之相關內容。

在臨床試驗或廣泛使用新冠肺炎 mRNA 疫苗期間，曾發生需特別注意的免疫相關不良事件(如過敏性休克或類過敏反應)。目前已知過敏性休克為所有疫苗的極罕見反應，並非僅見於 mRNA 疫苗。目前仍未得知疫苗配方的哪些部分和免疫不良事件相關，故建議依循其他疫苗的原則，應避免將疫苗施打於已知對疫苗中的特定成分過敏者。新冠肺炎 mRNA 疫苗的藥物安全監視曾觀察到心肌炎和心包炎案例且應與疫苗有關，即使其生物學機轉以及相關疫苗成分仍不明朗。建議持續關注國內外重要的法規主管機關在公開發表的著作中，提出相關的重要資訊。

根據我國及 WHO 之疫苗臨床評估指引，建議制定藥物安全監視計畫並實行之，並考量 mRNA 疫苗技術的經驗較有限，鼓勵採主動監測(active surveillance)系統方式進行。對於新冠肺炎或其他疫苗在公衛緊急事件下的使用，應考慮向大眾進行可能不良事件的宣導活動。如同任何新疫苗，目前針對所有與新冠肺炎疫苗可能有關的不良事件，仍持續在藥物安全監視活動中進一步評估。

由於新冠肺炎 mRNA 疫苗在被廣泛使用前，安全性試驗合併於療效試驗中觀察，其時間較短且規模及觀察面向較有限，且 mRNA 疫苗所採用的 LNPs 成分在人類族群大量使用的長期安全性影響仍為未知，故須持續監控並記錄所有罕見不良事件，儘管其與此類疫苗的相關性尚未可知。主管機關應依不同製造商的疫苗分析相關數據，以增加對於現行 mRNA 疫苗配方設計在臨床表現的理解以及取得更精確的安全性數據。此外，疫苗製造商和公共

衛生機關應考慮執行施打後的疫苗效益(vaccine effectiveness)試驗，以探討對特定高風險族群之效益、保護力持續時間，以及對抗感染和傳播之效益等方面的問題。如前文所述，此為發展相當迅速的領域，應持續關注不斷更新的重要數據。

如疫苗臨床評估所採用的免疫檢測方法，已有國際標準以 IU 表示來作免疫檢測的標準化，則應以國際標準來調校內部標準或其他參考數據，並應以 IU 呈現結果報告，以增進不同疫苗、不同試驗和不同檢驗平台間所得結果的可比性。

## 4.2 療效評估

療效評估取決於候選疫苗用於提供保護的特定疾病，以及經臨床試驗認定的臨床適應症。疫苗療效評估所應考量的因素可參見我國及 WHO 之疫苗臨床評估指引。

對於目前已廣泛使用新冠肺炎 mRNA 疫苗的國家，於試驗中使用安慰劑對照需要有特殊考量。在 2020 年 12 月舉行的公開會議中，就曾討論於尚在執行中的新冠肺炎疫苗試驗裡使用安慰劑對照的倫理考量。前述我國及 WHO 指引有述及試驗設計的議題，包括選擇適當的對照組。如同所有的候選疫苗，試驗設計中須兼顧科學價值以及倫理考量，且必須就擬取得上市許可國家的現階段利益風險比來作出決策。此外，我國及 WHO 皆有針對特定疾病用的疫苗發表指引和建議，皆應可為 mRNA 疫苗提供相關指引。

## 4.3 出現免疫逃脫(immune-escape)和其他變種導致緊急公共衛生情事下的

### 療效評估

在原候選疫苗(或後續上市疫苗)已有臨床療效結果情況下，同製造商以相同平台技術製造針對變種株的 mRNA 候選疫苗，考慮透過與原候選(或已上市)疫苗進行免疫橋接來推論變種 mRNA 候選疫苗的療效，或許是可行的。須提供如何將原型株疫苗和變種株疫苗相當的抗體效價轉譯至療效相近之合理性說明，以支持免疫橋接的進行。請務必考量以下不同情境：(a) 變種候選疫苗將取代原候選疫苗；或 (b) 變種和原候選疫苗將合併使用(成為雙價或多價疫苗)，或是同時或依序施打。在此類免疫橋接試驗中，預期應收集比較性安全數據。整體而言，免疫橋接試驗的考量可能取決於如疾病、病原體和所誘發免疫反應等因子。因此，應按個案逐一決定試驗設計和數據的要求。

針對新冠肺炎疫苗的考量，得參照 WHO 以及國內外主管機關所提供的指引。

現階段對抗流感病毒的 mRNA 疫苗仍處於開發階段，任何擬進行的病原株變更，可將去活化或減毒活流感病毒疫苗的現行實務納入參考。

## 5 專有名詞注譯

本指導原則採用下述詞彙定義。這些詞彙在不同情況中可能會有不同的意義。

特殊關注不良事件(Adverse event of special interest, **AESI**):

已知在接種此類型疫苗後可能會發生(如熱痙攣)，或基於對試驗疫苗本質及/或疫苗與宿主免疫系統相互作用之認知而預期有可能會發生(如抗體依賴增強疾病)之臨床重要不良情況。

佐劑(Adjuvant):

一種用於增強相關疫苗免疫反應，以及其後續臨床療效的物質。

**生物製劑或生物藥品(Biological or biological product)：**

一種由生物系統生產的藥品，不同於單純由化學反應生產的藥品。這些包括傳統生物製劑（例如：活疫苗）以及生物技術生產藥品（例如：單株抗體或人類乳突病毒等次單元疫苗）。在其他文件中，這些可能都可稱為生物製劑或生物藥品。

**候選疫苗(Candidate vaccine)：**

一種處於研究或臨床開發階段的試驗疫苗，在欲取得授權或藥證的國家中，仍未獲其主管機關給予上市授權或藥證。

**實驗設計(Design of experiments)：**

一種有結構與組織的方法，用於瞭解可影響製程之因素和其與製程輸出之間的關係。

**成品(Drug product)：**

請參照最終疫苗(final vaccine)。

**原料藥(Drug substance)：**

經純化而未製成最終配方的 mRNA。為單一勻質生產批次，保存於一個或多個指定的容器中，用於製備最終劑型（最終疫苗或成品）。

**雙股 RNA (dsRNA)：**

某些病毒的基因體由全雙股 RNA 組成，而非只有特定區段（例如：mRNA 的二級結構）。細胞內受體(intracellular receptors)可偵測到這種雙股 RNA，並引發先天免疫反應。視各種 mRNA 疫苗製造方法，雙股 RNA 可能為 IVT 製程的副產物，部分區段仍可能呈單股形式。這種雙股 RNA 屬於不純物，應與製程取得的 mRNA 分離，或至少須測定並管控其含量。如生產方法並未生產出雙股 RNA 時，便無需採取措施來管控此不純物。

**先導批(Engineering run)：**

一種為了設計製造方法並加以改善或確認其符合 GMP 所採取的行動。先導批次製造的成品不得供人類使用。

**賦形劑(Excipient)：**

藥品中除了原料藥以外，基於特定目的添加的成分。大多數賦形劑並不具活性，有些則具有已知的作用和效應。賦形劑的資訊必須清楚列於藥品標籤和仿單上，確保其使用安全。在本指導原則中，形成 LNPs 的脂質稱為賦形劑，但若 LNPs 形成時未包含 mRNA，則此 LNPs 稱為中間體。

**最終配方原液(final formulated bulk)：**

一種疫苗成品製程的中間體，由原料藥和賦形劑按指定比例均勻混合而成，並充填至最終容器中。最終配方原液也可能以較高濃度形式儲存，並在充填前再行稀釋。在本指導原則中，本詞彙是指以 LNPs 及其它必要賦形劑調製的 mRNA。若添加不只一種原料藥時（例如：多價或混合疫苗），混合作業應作為最終配方原液製備工作的一部分。

**最終批次(final lot)：**

由均勻混合的產品，以避免遭受污染的充填方式，將產品密封於最終容器中的批次。因此，最終批次必須以最終配方原液在單一連續作業流程中(one continuous working session)充填。一批最終配方原液可能會被充填於不只一個最終批次。

**最終疫苗或成品(Final vaccine or drug product)：**

含有一種或多種原料藥的最終劑型（例如：小瓶裝冷凍、懸浮液或凍晶乾燥），添加賦形劑調



製後，放入包裝供使用。在本指導原則中，本詞彙指以 mRNA、LNPs 及其它必要賦形劑所調製，並充填至最終容器的製劑。若以濃縮液或凍晶型態充填，則需要稀釋劑。否則，最終容器應填入臨床劑量（每一容器中可能含有多劑）。亦稱為最終成品(finished product)。

**藥品優良製造規範(GMP)：**

一套用於確保產品製造和管控符合其預期用途和上市許可要求的品質標準之系統。

**保護力相關的免疫反應(Immune correlate of protection, ICP)：**

與疫苗誘發保護力(即預防傳染病)相關的特定種類及數量的免疫反應，且可用以預測疫苗療效。

**免疫原性(Immunogenicity)：**

疫苗誘發可被測量免疫反應的能力。

**體外轉錄 mRNA (*in vitro* transcribed mRNA)：**

從線性 DNA 模板，利用 DNA 依賴 RNA 聚合酶（例如：T7、T3 或 Sp6 噬菌體 RNA 聚合酶）加上核苷三磷酸或修飾的核苷三磷酸，所生產的 mRNA。

**脂質奈米微粒(LNP)：**

一種由不同脂質成分組合而成的遞送配方(delivery formulation)，以確保 mRNA 可包覆於其中、維持穩定，同時促進細胞攝取，將內容物釋放至細胞質中。脂質組成可能包括但不限於離子化／陽離子脂質、輔助脂質（例如：磷脂及／或膽固醇），以及經聚乙二醇化(polyethylene-glycol-ylation, PEGylation)的脂質。LNPs 及／或脂質成份也可能具有佐劑活性。

**上市許可或核准(Marketing authorization or approval)：**

藥品（包括疫苗）的正式許可。一旦中央衛生主管機關許可或核准新藥上市後，該藥品得由醫師開立處方並用於公共衛生用途。新藥在獲得許可或核准後，其製造、管控和標示均應依照許可或核准之檔案所述內容生產。

**傳訊 RNA(messenger RNA, mRNA)：**

一種單股 RNA 分子，可於細胞質內轉譯其編碼的蛋白質。其可能包含一個或多個 ORFs，其編碼可能包括蛋白質（在疫苗中稱為目標抗原）、UTRs、5' cap（或其替代物）與 3' 序列（例如：poly-A tail）。

**作用模式(mode-of-action)和作用機制(mechanism-of-action)：**

由疫苗誘發後天免疫反應(adaptive immune response)的作用方式，可保護接種者不受細胞（模式）或分子（機制）層級的病原體侵害。例如：中和抗體的中和作用(neutralization)、調理抗體的調理作用(opsonization)，或是 T 細胞的細胞毒性作用(cytotoxicity)。

**修飾核苷(modified nucleosides)：**

製備 mRNA 疫苗時，自然界存在的修飾核苷（例如：假尿苷）可用來取代尿核苷，降低其發炎活性(inflammatory activity)和／或提升體內安定性。另一種修飾為甲基化(methylation)。用於製作 mRNA 疫苗的核苷也可能帶有非自然的修飾。

**mRNA 完整性(mRNA integrity)：**

具有正確大小且包括 5' cap 和 poly(A) tail 的 mRNA 之比例。此外，也應確認 mRNA 的序列是否正確。

**新賦形劑(novel excipient)：**

新賦形劑（例如：脂質）係指未使用於國內或藥品查驗登記審查準則所指之十大醫藥先進國

家核准藥品之賦形劑、使用量超過已核准之範圍、或經由新使用途徑使用者。

#### **平台技術(platform technology)：**

一種可作為開發其他應用、製程或技術的基底技術。就 mRNA 疫苗而言，製造商可能會使用一個或多個平台來開發針對各種疾病（個別疫苗或混合疫苗）或同一疾病的不同病原株（單價或混合多價疫苗）的疫苗（或療法）。該詞彙也可用於表示使用相同脂質、濃度、製備和純化方法等相同生產條件的特定藥品遞送系統（例如：含有 mRNA 的 LNPs）。「平台技術」一詞適用於以下場合：(a) 製造方法基本上無變更（但可針對每種候選疫苗進行優化）者；(b) 檢測方法（鑑別、效價和安定性除外）及允收標準未變更者；(c) 免疫調節劑或區域並未變更者；以及 (d) 符合 GMP 的狀況未改變者。使用平台技術開發新候選疫苗時，所獲得的經驗和知識、產生的（製造、管制、安定性和非臨床）數據，以及未變更的方法之確效均可作為更快速評估、開發新候選疫苗的支持性數據。從平台取得的臨床和非臨床數據，例如：安全起始劑量(safe starting doses)或耐受劑量(tolerable doses)，也可能用於支持以已知耐受劑量的平台啟動的新候選疫苗之臨床試驗。若平台技術的各面向與 mRNA 序列皆經過變更，則應提供以原平台所得數據可支持新候選疫苗之合理說明。由於各個製造商在 mRNA 疫苗的生產和管制方法尚未標準化，故從其它製造商取得的資訊應無法為平台技術提供支持。然而，如理由充分且具說服力，該資訊可考量視為與某種產品類似，並評估是否可提供支持。此外，由於目前平台科技的運用也尚未標準化，規範 mRNA 疫苗的科學方法仍應具備相當程度的彈性。因此，目前建議此方面之相關議題，仍須個案考量並與中央衛生主管機關討論

#### **自我擴增 mRNA(self-amplifying mRNA, sa-mRNA)：**

一種 mRNA 疫苗，包含編碼特定病毒非結構蛋白質（例如： $\alpha$  病毒），其所在的 mRNA 分子可能與抗原相同，也可能不同，其目的用於擴增目標抗原。於細胞內表現時，這些 ORFs 可生產病毒複製過程所需的蛋白質，進而生產出更多包含編碼抗原蛋白的 mRNA。藉由增加產生的蛋白質抗原，自我擴增 mRNA 可增強 mRNA 疫苗的體內效價。此類 mRNA 疫苗亦有其他用詞，惟本指導原則中採用「自我擴增 mRNA」一詞。

#### **目標抗原(target antigen)：**

經由 mRNA 疫苗內 mRNA 編碼之蛋白質或其一部分，預期其所誘發的免疫反應可產生對一種或多種病原體或病原株的保護力。意即經接種疫苗後，目標抗原所誘發的免疫反應可保護人體，免於病原體引起的疾病（或感染）。

#### **療法(therapeutic)：**

獲證實可治療某一疾病或狀態（或其徵候、症狀）的治療方法，而非接觸病原體前（極少數案例為發生接觸後、出現徵候和症狀前使用）作為預防措施者。本指導原則不將預防用疫苗視為治療方法。此處所定義的療法非本指導原則討論之範疇。

#### **轉移 RNA(transfer RNA, tRNA)：**

核糖體使用的 RNA 分子，在 mRNA 密碼子轉譯為蛋白質的過程中扮演運送胺基酸的角色。

## **6 參考文獻**

1. Pardi N, Hogan MJ, Porter FW, Weissman D. mRNA vaccines – a new era in vaccinology. *Nat Rev Drug Discov.* 2018;17(4):261–79

2. Guideline on the chemistry, manufacture and control (CMC) of prophylactic COVID-19 mRNA vaccines (current version). Center for Drug Evaluation. Beijing: National Medical Products Administration; 2020
3. Health product and policy standards. Vaccine standardization [website]. Geneva: World Health Organization; 2021
4. Main outcomes of the meeting of the WHO Expert Committee on Biological Standardization held from 24 to 28 August 2020. Geneva: World Health Organization; 2020
5. Main outcomes of the meeting of the WHO Expert Committee on Biological Standardization held from 9 to 10 December 2020. Geneva: World Health Organization; 2020
6. WHO guidelines on nonclinical evaluation of vaccines. In: WHO Expert Committee on Biological Standardization: fifty-fourth report. Geneva: World Health Organization; 2005: Annex 1
7. Guidelines on the nonclinical evaluation of vaccine adjuvants and adjuvanted vaccines. In: WHO Expert Committee on Biological Standardization: sixty-fourth report. Geneva: World Health Organization; 2014: Annex 2
8. Guidelines on clinical evaluation of vaccines: regulatory expectations. In: WHO Expert Committee on Biological Standardization: sixty-seventh report. Geneva: World Health Organization; 2017: Annex 9
9. WHO good manufacturing practices for pharmaceutical products: main principles. In: WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations: forty-eighth report. Geneva: World Health Organization; 2014: Annex 2
10. Good manufacturing practices: supplementary guidelines for the manufacture of pharmaceutical excipients. In: WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations: thirty-fifth report. Geneva: World Health Organization; 1999: Annex 5
11. WHO good manufacturing practices for biological products. In: WHO Expert Committee on Biological Standardization: sixty-sixth report. Geneva: World Health Organization; 2016: Annex 2
12. WHO good manufacturing practices for sterile pharmaceutical products. In: WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations: forty-fifth report. Geneva: World Health Organization; 2011: Annex 6
13. Guidelines for good clinical practice (GCP) for trials on pharmaceutical products. In: WHO Expert Committee on the Use of Essential Drugs: sixth report. Geneva: World Health Organization; 1995: Annex 3
14. WHO guidelines on transmissible spongiform encephalopathies in relation to biological and pharmaceutical products. Geneva: World Health Organization; 2003
15. Guidelines on stability evaluation of vaccines. In: WHO Expert Committee on Biological Standardization: fifty-seventh report. Geneva: World Health Organization; 2011: Annex 3

16. Model guidance for the storage and transport of time- and temperature-sensitive pharmaceutical products. In: WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations: forty-fifth report. Geneva: World Health Organization; 2011: Annex 9
17. Guidelines on the stability evaluation of vaccines for use under extended controlled temperature conditions. In: WHO Expert Committee on Biological Standardization: sixty-sixth report. Geneva: World Health Organization; 2016: Annex 5
18. Guidelines for independent lot release of vaccines by regulatory authorities. In: WHO Expert Committee on Biological Standardization: sixty-first report. Geneva: World Health Organization; 2013: Annex 2
19. Guidelines on procedures and data requirements for changes to approved vaccines. In: WHO Expert Committee on Biological Standardization: sixty-fifth report. Geneva: World Health Organization; 2015: Annex 4
20. WHO policy statement: multi-dose vial policy (MDVP). Handling of multi-dose vaccine vials after opening. Revision 2014. Geneva: World Health Organization; 2014
21. Sahin U, Muik A, Derhovanessian E, Vogler I, Kranz LM, Vormehr M et al. COVID-19 vaccine BNT162b1 elicits human antibody and TH1 T cell responses. *Nature*. 2020;586(7830):594–9
22. Jackson LA, Anderson EJ, Roupheal NG, Roberts PC, Makhene M, Coler RN et al. An mRNA vaccine against SARS-CoV-2 – Preliminary report. *N Engl J Med*. 2020;383(20):1920–31
23. Technical and regulatory considerations for pharmaceutical product lifecycle management – Q12. ICH Harmonised Guideline. Final version: 20 November 2019. International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use; 2019
24. Guidance on the use of International Nonproprietary Names (INNs) for pharmaceutical substances. Geneva: World Health Organization; 2017
25. Impurities: guideline for residual solvents – Q3C(R6). ICH Harmonised Guideline. Final version: 20 October 2016. International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use; 2016
26. Guideline for elemental impurities – Q3D(R1). ICH Harmonised Guideline. Final version: 22 March 2019. International Conference for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use; 2019
27. ICH guideline S2 (R1) on genotoxicity testing and data interpretation for pharmaceuticals intended for human use. Step 5. London: European Medicines Agency; 2012 (Document EMA/CHMP/ICH/126642/2008)
28. Getting started with vaccine vial monitors. Geneva: World Health Organization; 2002
29. Bar-codes, QR codes and Vaccine Vial Monitors in the context of COVID-19 vaccines. Geneva: World Health Organization; 2020
30. Stokes A, Pion J, Binazon O, Laffont B, Bigras M, Dubois G et al. Nonclinical safety assessment of repeated administration and biodistribution of a novel rabies self-amplifying mRNA vaccine in rats. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2020;113:104648

31. Lou G, Anderluzzi G, Schmidt ST, Woods S, Gallorini S, Brazzoli M et al. Delivery of self-amplifying mRNA vaccines by cationic lipid nanoparticles: the impact of cationic lipid selection. *J Control Release*. 2020;325:370–9
32. Pardi N, Tuyishime S, Muramatsu H, Kariko K, Mui BL, Tam YK et al. Expression kinetics of nucleoside-modified mRNA delivered in lipid nanoparticles to mice by various routes. *J Control Release*. 2015;217:345–51
33. Bahl K, Senn JJ, Yuzhakov O, Bulychev A, Brito LA, Hassett KJ et al. Preclinical and clinical demonstration of immunogenicity by mRNA vaccines against H10N8 and H7N9 influenza viruses. *Mol Ther*. 2017;25(6):1316–27
34. Liang F, Lindgren G, Lin A, Thompson EA, Ols S, Röhss J et al. Efficient targeting and activation of antigen-presenting cells in vivo after modified mRNA vaccine administration in rhesus macaques. *Mol Ther*. 2017;25(12):2635–47
35. Assessment report. Comirnaty. Common name: COVID-19 mRNA vaccine (nucleoside-modified). Procedure no. EMEA/H/C/005735/0000. Amsterdam: European Medicines Agency; 2021
36. Obeid MA, Tate RJ, Mullen AB, Ferro VA. Lipid-based nanoparticles for cancer treatment. In: Grumezescu AM, editor. *Lipid nanocarriers for drug targeting*. Norwich (NY): William Andrew Publishing; 2018;313–59
37. Marlowe JL, Akopian V, Karmali P, Kornbrust D, Lockridge J, Semple S. Recommendations of the Oligonucleotide Safety Working Group’s Formulated Oligonucleotide Subcommittee for the safety assessment of formulated oligonucleotide-based therapeutics. *Nucleic Acid Ther*. 2017;27(4):183–96
38. CHMP Safety Working Party’s response to the Paediatric Committee regarding the use of PEGylated drug products in the paediatric population. London: European Medicines Agency; 2012
39. Turecek PL, Bossard MJ, Schoetens F, Ivens IA. PEGylation of biopharmaceuticals: a review of chemistry and nonclinical safety information of approved drugs. *J Pharm Sci*. 2016;105(2):460–75
40. Liu G, Li Y, Yang L, Wei Y, Wang X, Wang Z et al. Cytotoxicity study of polyethylene glycol derivatives. *RSC Adv*. 2017;7(30):18252–9
41. Turecek PL, Siekmann J. 4 - PEG–protein conjugates: nonclinical and clinical toxicity considerations. In: Pasut G, Zalipsky S, editors. *Polymer-protein conjugates*. Elsevier; 2020;61–101
42. Johnson AA, Ray AS, Hanes J, Suo Z, Colacino JM, Anderson KS et al. Toxicity of antiviral nucleoside analogs and the human mitochondrial DNA polymerase. *J Biol Chem*. 2001;276(44):40847–57
43. Moyle G. Toxicity of antiretroviral nucleoside and nucleotide analogues: is mitochondrial toxicity the only mechanism? *Drug Saf*. 2000;23(6):467–81

44. Nucleoside analogues. In: *LiverTox: clinical and research information on drug-induced liver injury*. Bethesda (MD): National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; 2012
45. Mulligan MJ, Lyke KE, Kitchin N, Absalon J, Gurtman A, Lockhart S et al. Phase I/II study of COVID-19 RNA vaccine BNT162b1 in adults. *Nature*. 2020;586:589–93
46. Bovay A, Speiser DE, Marraco SAF. Early drop of circulating T cells negatively correlates with the protective immune response to Yellow Fever vaccination. *Hum Vaccines Immunother*. 2020;16(12):3103–10
47. Faguet GB. The effect of killed influenza virus vaccine on the kinetics of normal human lymphocytes. *J Infect Dis*. 1981;143(2):252–8
48. Alberer M, Gnad-Vogt U, Hong HS, Mehr KT, Backert L, Finak G et al. Safety and immunogenicity of a mRNA rabies vaccine in healthy adults: an open-label, non-randomised, prospective, first-in-human phase 1 clinical trial. *Lancet*. 2017;390(10101):1511–20
49. Richner JM, Jagger BW, Shan C, Fontes CR, Dowd KA, Cao B et al. Vaccine mediated protection against Zika virus-induced congenital disease. *Cell*. 2017;170(2):273–283.e12
50. Heidenreich R, Jasny E, Kowalczyk A, Lutz J, Probst J, Baumhof P et al. A novel RNA-based adjuvant combines strong immunostimulatory capacities with a favorable safety profile. *Int J Cancer*. 2015;137(2):372–84
51. Shimabukuro TT, Cole M, Su JR. Reports of anaphylaxis after receipt of mRNA COVID-19 vaccines in the US – December 14, 2020-January 18, 2021. *JAMA*. 2021;325(11):1101–2
52. Klein NP, Lewis N, Goddard K, Fireman B, Zerbo O, Hanson KE et al. Surveillance for adverse events after COVID-19 mRNA vaccination. *JAMA*. 2021;326(14):1390–9
53. Regulatory approval of Pfizer/BioNTech vaccine for COVID-19 [website]. London: Medicines and Healthcare products Regulatory Agency
54. Castells MC, Phillips EJ. Maintaining safety with SARS-CoV-2 vaccines. *N Engl J Med*. 2021;384(7):643–9
55. Sellaturay P, Nasser S, Ewan P. Polyethylene glycol-induced systemic allergic reactions (anaphylaxis). *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2021;9(2):670–5
56. Moderna COVID-19 vaccine Emergency Use Authorization. Review Memorandum. US Food and Drug Administration; 2020
57. Gargano JW, Wallace M, Hadler SC, Langley G, Su JR, Oster ME et al. Use of mRNA COVID-19 vaccine after reports of myocarditis among vaccine recipients: update from the Advisory Committee on Immunization Practices – United States, June 2021. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2021;70(27):977–82
58. Høeg TB, Krug A, Stevenson J, Mandrola J. SARS-CoV-2 mRNA vaccination-associated myocarditis in children ages 12–17: a stratified national database analysis
59. Spikevax (previously COVID-19 Vaccine Moderna). European Medicines Agency; 2021
60. Regulatory approval of Spikevax (formerly COVID-19 Vaccine Moderna) [website]. London: Medicines and Healthcare products Regulatory Agency; 2021

61. Comirnaty [website]. US Food and Drug Administration; 2021
62. Goodman S. Considerations for placebo-controlled trial design if an unlicensed vaccine becomes available. Presentation to the U.S. Food and Drug Administration Vaccines and Related Biological Products Advisory Committee, 10 December 2020
63. Goodman S. Considerations for placebo-controlled trial design if an unlicensed vaccine becomes available. Presentation to the U.S. Food and Drug Administration Vaccines and Related Biological Products Advisory Committee, 17 December 2020
64. Expert consultation on the use of placebos in vaccine trials. Meeting report. Geneva: World Health Organization; 2013
65. Guideline on influenza vaccines – non-clinical and clinical module. London: European Medicines Agency; 2016
66. Weir JP, Gruber MF. An overview of the regulation of influenza vaccines in the United States. *Influenza Other Respir Viruses*. 2016;10(5):354–60
67. Coronavirus disease (COVID-19) [website]. Geneva: World Health Organization
68. COVID-19 vaccines [website]. Geneva: World Health Organization
69. Reflection paper on the regulatory requirements for vaccines intended to provide protection against variant strain(s) of SARS-CoV-2. Amsterdam: European Medicines Agency; 2021
70. Access Consortium’s guidance on strain changes in authorised COVID-19 vaccines [website]. Singapore: Health Sciences Authority
71. ICMRA COVID-19 Virus Variants Workshop [website]. International Coalition of Medicines Regulatory Authorities, 10 February 2021
72. Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of influenza vaccines (human, live attenuated) for intranasal administration. In: WHO Expert Committee on Biological Standardization: sixtieth report. Geneva: World Health Organization; 2013: Annex 4
73. Recommendations for the production and control of influenza vaccine (inactivated). In: WHO Expert Committee on Biological Standardization: fifty-fourth report. Geneva: World Health Organization; 2005: Annex 3
74. 藥品優良臨床試驗作業準則；中華民國 109 年
75. 藥品新賦形劑品質技術文件送件指引；中華民國 106 年
76. 藥品查驗登記審查準則；中華民國 110 年
77. 西藥藥品優良製造規範；2018