



運用奈米技術承載 siRNA 藥品之

指導原則

第一版

(草案)

中華民國 113 年 05 月 31 日

財團法人醫藥品查驗中心

序言

運用奈米技術包覆核酸藥品為近年來藥品開發上熱門之議題，自預防新型冠狀病毒疾病(COVID-19，嚴重特殊傳染性肺炎)的疫苗到ONPATTRO™(patisiran)等藥品皆採用此類技術，於國內制定相關法規仍有其必要性。

有鑑於我國尚未發布運用奈米技術承載 siRNA 藥品的指引，故制定本指導原則，期能提供製藥業者可遵循之方向。

【撰寫團隊】

林憶珊審查員、莊秉澄小組長、盧青佑副組長、葉嘉新組長、徐麗娟副執行長、林時宜執行長

目錄 (Table of Contents)

1	介紹.....	2
1.1	前言.....	2
1.2	適用範圍.....	2
2	品質考量.....	3
2.1	藥物動力學和遞送至目標細胞的相關品質考量.....	3
2.1.1	藥物動力學相關考量.....	3
2.1.2	遞送至目標細胞的相關考量.....	3
2.2	安全性的相關品質考量.....	3
2.2.1	優化載體成分.....	4
2.2.2	優化藥品特性.....	4
2.2.3	靶向遞送.....	4
3	非臨床考量.....	4
3.1	非臨床藥物動力學研究.....	4
3.2	非臨床毒性研究.....	4
3.2.1	siRNA 的毒性.....	5
3.2.2	載體的毒性.....	5
4	首次人體試驗考量.....	5
5	參考文獻.....	5

本指導原則係參考日本 MHLW 於 2016 年發佈之「Reflection paper on nucleic acids (siRNA)-loaded nanotechnology-based drug products」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。

若對此指導原則有任何建言，歡迎至 <https://forms.gle/qxJ3N9bwb9LHq8nk9> 留下您的寶貴意見，謝謝！

1 介紹

1.1 前言

目前各種以核酸為基礎之化合物(nucleic acid-based compounds)正被研發為藥品。其中，小干擾核糖核酸(small interfering RNAs, siRNAs)(亦稱為短干擾核糖核酸(short interfering RNAs)或靜默核糖核酸(silencing RNA))，為含有 21 至 23 個鹼基對的雙股 RNA 分子，可藉由促進標的 mRNA 的特異性降解，從而使特定序列的基因靜默(gene silencing)。由於 siRNA 具有強效的 mRNA 降解活性及序列特異性，因此被視為藥品開發應用的潛在候選者，並於 2018 年，由美國 FDA 核准了第一個 siRNA 藥品 ONPATTRO™ (Patisiran)。相較於小分子化學藥，siRNA 具有高分子量、帶有負電荷、且高度親水性。該些物理化學特性使得 siRNA 難以有效地被遞送至目標細胞，對於藥品研發具有挑戰。此外，當 siRNA 單獨注入血液中時，容易被快速降解，並經由腎臟的腎絲球過濾而被排除；這些特性也被視為其應用於製藥的主要障礙。為了克服這些挑戰，許多新穎的遞送技術，例如，運用奈米技術之載體(nanotechnology-based carriers)(例如，微脂粒與高分子微胞(polymeric micelles))正在研發中。siRNA 藉由與帶有正電荷載體的靜電作用(electrostatic interactions)或共價鍵結(covalent binding)與載體結合。此外，在部分製劑中則使用脂質及聚合物來改善其藥物動力學行為。在大多數的情況下，siRNA 被包覆在載體中，而其他情況則不然。大多數 siRNA 是以奈米粒(nanoparticles)載體的形式透過胞吞作用(endocytosis)進入細胞中。為了隨後能將 siRNA 運送至細胞質中，已有策略嘗試將藥品設計為具有胞內體釋放(endosomal release)機制，且必須在與溶酶體(lysosome)融合前進行，以避免被溶酶體降解。其他策略則包括導入經化學修飾的核酸以強化藥效動力學特性及體內安定性。

本指導原則闡述評估運用奈米技術載體製備的 siRNA 藥品(以下稱為運用奈米技術承載核酸[siRNA]藥品)時，需要考慮的一些要點。

1.2 適用範圍

雖然本指導原則內容討論運用奈米技術承載核酸[siRNA]藥品的製劑開發，然而可能也適用於運用奈米技術承載核酸類的藥品。有關特定載體的考量，應參閱相關公告及指引。

針對每個藥品所需進行的研究及評估應根據個案情況決定，並以能反映當前學術及技術進

展，以及製造商所累積經驗的合理原因為依據。

2 品質考量

將 siRNA 承載於運用奈米技術之載體中，其目的是為了增進 siRNA 的體內安定性(*in vivo stability*)、幫助 siRNA 遞送到標的器官及/或組織，並於某些情況下控制 siRNA 的細胞內行為(*intracellular behavior*)。由於載體的組成成分具有各種功能，因此各組成成分的品質可能會影響藥品的整體品質。因此，應提供與原料藥相同詳盡程度之各組成成分的品質資訊。此外，除了識別可能會影響藥品安全性及療效的關鍵品質屬性(*critical quality attributes*)(特別是體內藥物動力學及藥效動力學特性)外，建立檢測方法來評估該些品質屬性也很重要。承上，由於 siRNA 的藥物動力學取決於載體，因此倘若藥物動力學特性預期於載體成分變更後會有所變化，則應於變更後再次進行詳盡的藥品品質屬性評估及非臨床相關評估。

2.1 藥物動力學和遞送至目標細胞的相關品質考量

2.1.1 藥物動力學相關考量

當運用奈米技術之載體作為遞送方式時，藉由修飾(例如，使用聚乙二醇(PEG))來控制載體的粒徑大小及表面特性相當重要，上述兩種屬性皆會影響 siRNA 於血液中的滯留狀態，進而提升血液中的滯留量，並影響其遞送至標的器官及/或組織的情形。一般而言，載體可能會與生物成分產生交互作用，因此應留意使用生物成分取代 siRNA，以及後續 siRNA 被酵素降解(*enzymatic degradation*)所造成的藥品安定性變化。將 siRNA 裝載至載體的效率可透過凝膠電泳(*gel electrophoresis*)、螢光標記(*fluorescent labeling*)或使用螢光染劑嵌入等方法進行評估。此外，為了確保 siRNA 具有一致的體內安定性及釋放概況(*siRNA release profile*)，應建立使用適當反映生理條件之檢測溶液的體外檢測方法，以評估 siRNA 自載體的釋放。某些藥品設計上藉由使用與載體接合之功能性分子(*functional molecules*)(例如，配體(*ligand*)或抗體)主動靶向遞送(*targeting delivery*)，將 siRNA 遞送至標的器官、組織或細胞。於此情況下，應優化功能性分子與載體的接合，使連接子(*linker*)不影響功能性分子的功能。此外，應注意功能性分子或連接子的特性可能會影響載體的整體特性。因此，連接子的安定性也很重要。

2.1.2 遞送至目標細胞的相關考量

為了確保有效地將 siRNA 遞送至標的細胞，控制載體的品質屬性及藥物動力學影響相當重要。

增進細胞內攝取(*intracellular uptake*)的技術包括控制粒徑大小及表面特性，例如增加 siRNA 載體的正電荷、增進細胞膜融合，以及功能性分子的接合。

2.2 安全性的相關品質考量

為了降低載體相關安全性問題導致的風險，應優化載體成分及藥品特性。需特別考量的項目如下：

2.2.1 優化載體成分

- 增進生物降解性(biodegradability)
- 使用具有已知安全性概況的成分
- 設計並優化陽離子脂質及/或聚合物

2.2.2 優化藥品特性

- 優化粒徑大小
- 正電荷的遮蔽
- 載體聚乙二醇化(PEGylation)以改善血液中 siRNA 的滯留情形，以及後續分布至標的器官及/或組織的情形
- 改善承載 siRNA 載體的安定性
- 優化與預定給藥途徑相關的藥品特性

2.2.3 靶向遞送

- 使用配體分子(例如，上皮生長因子受體(epidermal growth factor receptor) [EGFR]、葉酸受體(folate receptor)或運鐵蛋白受體(transferrin receptor))進行靶向遞送
- 使用穿膜胜肽(cell membrane-permeable peptides)

3 非臨床考量

3.1 非臨床藥物動力學研究

為了適當地評估以載體遞送之 siRNA 的療效及安全性，定量使用藥品後的血液濃度與器官及/或組織分布相當重要。

- 可用的含量(assay)分析方法包括螢光標記、放射性同位素標記(radioisotope labeling)、聚合酶連鎖反應(polymerase chain reaction, PCR)或質譜測定法(mass spectrometry)。應根據標記方法的特性或分析技術的敏感度來選擇適當的含量分析方法。
- 應測量載體上未被承載的 siRNA (unloaded siRNA)、被載體承載的 siRNA，以及總 siRNA 濃度。根據血液中 siRNA 的安定性，可能難以測量未被承載之 siRNA 的濃度。

3.2 非臨床毒性研究

原則上，運用奈米技術承載核酸[siRNA]藥品的毒性研究，應與低分子量化合物的毒性研究

相同。具體來說，應評估運用奈米技術承載核酸[siRNA]藥品對標的器官的影響及毒性作用(例如，體內細胞激素的生成)。動物物種的選擇與試驗設計應根據 siRNA 或載體性質的具體特徵(specific characteristics)。當 siRNA 自載體中釋放時，經化學修飾以增進體內安定性的 siRNA 可能會累積在腎臟中，因而有毒性的疑慮。因此，必要時，應針對 siRNA 進行單獨的毒性研究。

關於 siRNA 及其載體的毒性研究，應考量下列因素：

3.2.1 siRNA 的毒性

為改善 siRNA 的藥物動力學，已有策略針對 siRNA 進行化學修飾及/或使用載體，來改善其體內安定性並增強其靶向遞送。另一方面，應留意 siRNA 在血液與器官及/或組織中停留時間的延長，可能會增加 siRNA 相關的毒性，以及載體及生物成分之間相互作用的毒理學疑慮。一般而言，應考量下列類型的毒性。

- 免疫毒性(Immunotoxicity)：由某些類型的類鐸受體(toll-like receptors, TLR)媒介的免疫系統活化、補體活化與免疫細胞變異
- 血液毒性(Hematotoxicity)：溶血、凝血與血小板聚集

此外，siRNA 可能會造成其他類型的毒性：

- 藉由對目標序列之作用所致的毒性
- 藉由對非目標序列之作用所致的毒性。

應採用適當的檢測方法來評估該些毒性。

3.2.2 載體的毒性

應說明與載體相關的安全性問題(例如，載體與生物成分之間交互作用導致的毒性)。此外，在多劑量及/或長期給藥後的積蓄(accumulation)可能會引起安全性問題。

4 首次人體試驗考量

針對運用奈米技術承載核酸類[siRNA]藥品的首次人體試驗，建議可參考日本厚生勞動省(MHLW)及歐洲醫藥品管理局(EMA)於 2014 年 1 月 10 日，針對嵌段共聚物微胞(block copolymer micelle)醫藥品之研發共同發表的文件中，第 3.3 節「首次人體試驗考量」所說明的原則。

5 參考文獻

1. 日本 MHLW: Reflection paper on nucleic acids (siRNA)-loaded nanotechnology-based drug products; March 2016
2. 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; March 2020

3. Castanotto D, Rossi JJ. The promises and pitfalls of RNA-interference-based therapeutics. *Nature*, 2009; 457, 426-433.
4. Cabral H, Kataoka K. Progress of drug-loaded polymeric micelles into clinical studies. *J Control Release*, 2014; 190, 465–476.
5. Joint MHLW/EMA reflection paper on the development of block copolymer micelle medicinal products; January 2014, PFSB/ELD Notification No.0110-1
6. Xue HY, Liu S, Wong HL. Nanotoxicity: a key obstacle to clinical translation of siRNA-based nanomedicine. *Nanomedicine (Lond)*, 2014; 9, 295-312.
7. Miyakawa S. *J Clin Exp Med.* (in Japanese), 2011; 238, 519-523.