



小兒藥品之非臨床安全性試驗

焦玉中¹

前言

醫藥相關知識尚未發達之時，兒童常被視為「縮小版的成人」，很多人直接把成人的藥品錠劑磨成粉，或剝半給兒童服用。但由於兒童器官尚未發育成熟，代謝藥品的能力也與成人不盡相同，因此常常出現用藥不當的事件。以美國為例，1997 年以前美國核准上市的藥品中，只有約 25% 提供了完整的兒科用藥資訊，而這個比例到 2008 年仍不到 30%^[1]。世界衛生組織(WHO)曾提出一項兒童用藥安全報告，指出兒童用藥錯誤的發生率約為成人的三倍，且以劑量錯誤為最大宗。兒童與成人的不同點，在於兒童使用藥品時，可能正處於快速生長或器官發育階段，藥品治療過程中，器官的成熟度會影響藥品的藥物動力學(pharmacokinetics, PK)、藥效動力學(pharmacodynamics, PD)與脫靶效應(off-target effect)，因此兒童用藥的安全性與功效性可能有別於成人。為了支持臨床試驗收納幼齡兒童為受試者的安全性，除了常規的非臨床安全性試驗外，幼齡動物試驗(Juvenile animal study, JAS)是一項重要的佐證。

許多國家的法規單位都針對小兒藥品，從開發、測試、製造到使用制定出各自的規範。為協調各國法規上的差異，國際醫藥法規協會(ICH)匯集各國代表與專家，於 2020 年公告了 S11: Nonclinical safety testing in support of development of pediatric pharmaceuticals^[2]。這個規範主要是針對是否須執行 JAS、執行的時機與試驗設計等提出看法與建議。國內實施已久的「藥品非臨床試驗安全性規範(第五版, 2014 年公告)」，於第一章總論與第五章抗癌新藥非臨床試驗規範中，提到為支持小兒族群臨床試驗所需的非臨床試驗，其精神雖與 ICH S11 規範無異，但並未詳細討論細節，建議廠商可以同時遵循 ICH S11 的內容來開發小兒藥品。

¹ 財團法人醫藥品查驗中心 新藥科技組



執行 JAS 的考量

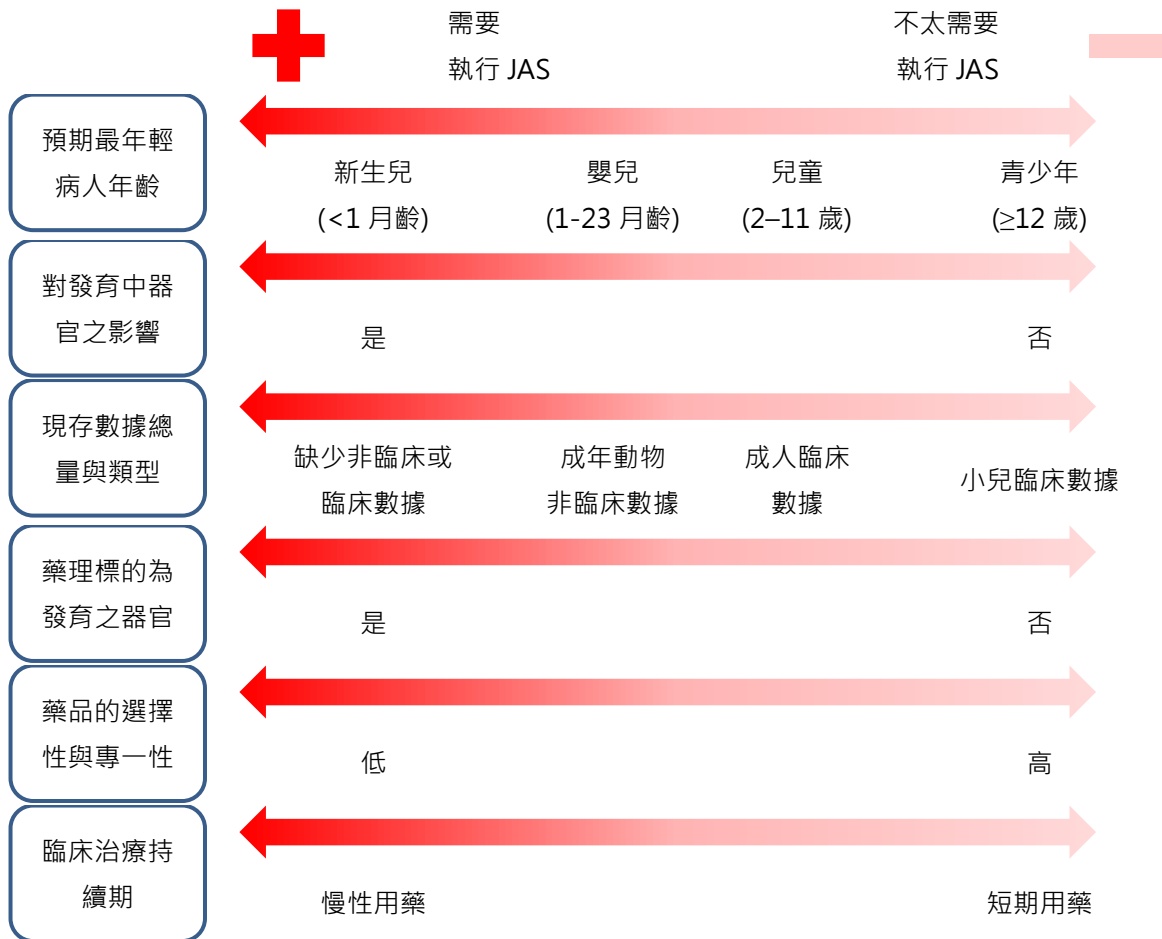
有鑑於絕大多數用於兒童的藥品也會用於成人，小兒藥品的臨床開發通常會先從成人臨床試驗開始。一般的非臨床重覆劑量毒理試驗，嚙齒類動物在初次給藥的週齡約為青春期（9 週齡前）^[3]，也就是可以支持人類在青春期以後給藥的初步安全性。是否建議執行額外的 JAS，與 JAS 的設計與執行時機，可以依據已知的安全性疑慮及小兒臨床用途來決定。ICH S11 規範建議以證據權重法則（weight of evidence，WoE）來評估這些因子（圖一）。在這些因子中，若愈多因子的判定結果偏向左側，則愈須要執行 JAS；反之，若愈多因子偏向右側，則可能不須要執行 JAS，並沒有一個清楚的界線來劃定需要或不需要。在 ICH S11 規範的附錄 B 中有提供若干範例，可協助藥廠等研發單位了解如何利用證據權重法則來評估。

若經過評估後，判定須要執行 JAS，即須開始考慮 JAS 的試驗設計。為確保試驗的品質，目前各國法規單位一致認為，JAS 的執行必須遵循藥物非臨床試驗優良操作規範（GLP）。

多數情況下，JAS 僅須使用一個物種，無須使用第二個物種去重複驗證第一個物種的試驗結果。然而，若首次人體臨床試驗即規畫納入兒童受試者，或對於藥品在產後發育期的安全性，有多項疑慮且難以用單一物種試驗結果加以釐清時，就必須使用兩個物種來執行 JAS（一項嚙齒類動物 JAS 及一項非嚙齒類動物 JAS），安全藥理試驗與基因毒性試驗通常仍使用成年動物。



WoE 因子



圖一、決定是否須執行非臨床試驗時，須考量之重要證據權重法則(WoE)因子

JAS 的實驗設計

選擇實驗動物品系是第一個須要考慮的重點，人類與動物出生時的相對成熟狀態、產後成熟速度與器官成熟的調控不盡相同，須要比較各物種的器官發育狀態，選擇與未來臨床使用年齡相當的動物年齡來執行試驗，才能有效的利用動物來評估藥品用於人類的安全性。ICH S11 規範的附錄 A 與美國 FDA 的規範中^[4]，描述常用的實驗動物的器官發育情形(見表一至表八)，雖然資料未臻詳盡，但已描述各物種之特性，可做為選擇合適動物物種之參考。



表一、人類與靈長類、犬、大鼠等物種神經系統發育時間的比較^[4]

發育事件	產後發育期			
	人類(年)	靈長類(週)	犬(週)	大鼠(天)
麩胺酸受體發育完全[5]	皮質(1-2) 下降至成年(2-16)			28 下降至成年(>28)
單胺系統[6]	最大受體密度(2-4)			成年的程度(21-30)
視覺優勢性[7]	0-3			21-35
小腦的持久性外胚層[7]	1.6-2			0-21
快速形成髓鞘終端[8]	2			25-30
認知的發育與延遲反應學習[9]	1-2	9-36	12-16	10-35

表二、人類與獼猴、犬、小鼠、大鼠等物種生殖系統發育時間的比較^[4]

發育事件	產後發育期				
	人類(年)	獼猴(年)	犬(天)	小鼠(天)	大鼠(天)
青春期[10]	11-12	2.5-3	180-240	35-45	40-60

表三、人類與猴、犬等物種骨骼系統發育時間的比較^[4]

發育事件	產後發育期					
	人類(年)	猴子(年)	犬(年)	兔(週)	大鼠(週)	小鼠(週)
次級骨化中心的融合 股骨遠端骨骺[11]	14-19	3-6	0.7-0.9	32	15-162	12-13

表四、人類與大鼠、小鼠等物種肺部發育時間的比較^[4]

發育事件	產後發育期		
	人類(天)	大鼠(天)	小鼠(天)
形成肺泡[12]			
開始	產前	1-4	1-2
結束	730	28	28

表五、人類與小鼠物種免疫系統發育時間的比較^[4]

發育事件[13]	產後發育期	
	人類(天)	小鼠(天)
B 細胞發育	產前	產前
T 細胞發育	產前	產前
NK 細胞發育	產前	21
T 細胞依賴性抗體反應	0	14 達到成年水準(41-56)



T 細胞非依賴性抗體反應	45-90	0 達到成年水準(14-21)
IgG 達到成年水準	1825	42-56

表六、人類與犬、兔等物種腎臟發育時間的比較^[4]

發育事件	產後發育期					
	人類(週)	犬(週)	兔(週)	大鼠(週)	小鼠(週)	豬(週)
解剖性指標	人類(週)	犬(週)	兔(週)	大鼠(週)	小鼠(週)	豬(週)
腎組織完全形成[11]	孕期 35	2	2-3	4-6	產前	3
功能性指標	人(天)			大鼠(天)		
腎絲球過濾[14]	產前			8-14		
GFR 達到成年水準 腎小管分泌[14]	45-180			15-21		

表七、人類與大鼠、兔之物種代謝功能發育時間的比較^[4]

酵素	第 I/II 階段代謝的發育		
	酵素活性成熟		
	人類(年)	大鼠(天)	兔(天)
CYP2D6[15]	0-3	NA	NA
CYP2E1[16]	0-1	4-17 離乳後下降·雄>雌	14-35 成年期的 2 倍(35)
CYP1A2[17]	0.5 >成年期(1)	低水準(7-100)	21-60
CYP2C8[15]	<1	NA	NA
CYP2C9[15]	<0.5 >成年期(0.5)	NA	NA
CYP3A4[16]	0-2	NA	NA
乙醯化反應[15]	成年水準的 35% (1)	NA	NA
甲基化反應[15]	成年水準的 50% (<1)	NA	NA
葡萄糖醛酸化反應[15]	>成年水準(0)	NA	NA
硫酸化反應[15]	0	NA	NA

表八、人類與犬、大鼠等在心臟發育時間的比較^[4,18]

心臟參數	產後發育期		
	人類(年)	犬	大鼠(週)
心電圖	5-7	NA	3-8
心輸出量與血流動力學	心搏：138 bpm (出生) · 85 bpm (成年)	從出生 1 週至 6 月齡 · 血 壓會逐漸下降 · 心搏逐漸	出生後心搏上升 · 隨後保 持穩定至成年

台灣藥物法規
資訊網法規公告台灣藥品
臨床試驗資訊TFDA 藥物
食品安全週報致力法規科學
守護生命健康

Regulatory Science, Service for Life

	<2 歲：心室體積·心指數、射出率皆比成年要小 血壓：62/40 (出生)· 85/47 (2 月齡)·舒張壓 58-62 (0.5-8 歲)	上升	高心輸出量與低 PVR 出生至青春期的收縮壓會 上升一倍·10 週至成熟期
心肌細胞	出生時為二倍體·成年時 約 60%是二倍體(40%是 多倍體)	NA	幼年與成年時都是二倍體
冠狀動脈	1 歲時動脈直徑增加 1 倍·30 歲為最大值·出生 後會新生微血管·隨著年 齡下降	出生後會新生微血管·隨 著年齡下降	出生後會新生微血管·1 月齡成熟
心臟的神經支配	神經細胞數量增加·孩童 時期到達成年水準	2-4 月齡內持續發育	交感神經在 3 週時成熟· 神經密度在 5 週時成熟· 副交感神經在產後成熟

此外，原則上應優先考慮使用成年動物樞紐重覆劑量毒性試驗之相同物種，通常最推薦使用嚙齒類動物，且為避免造成誤判，不建議使用與藥理作用無關的物種執行試驗。選擇試驗動物物種時，應評估該動物之藥理與毒理作用標的器官的發育與人類的比較、與人類 ADME 之相似度、試驗技術是否可行等因素。

對許多生物製劑而言，非人靈長類(NHP)具有藥理學上的相關性，但對於 JAS 來說，使用離乳前 NHP 進行試驗將面臨親代的哺乳育嬰行為及管理親代與子代的配對，使試驗變得相當困難；而使用離乳後 NHP 則因為其器官系統，相對於人類兒童來說更為成熟，故僅能提供有限的資訊。此時可參考 ICH S6 規範的建議，使用動物的同源蛋白(homologous protein) 做為人源蛋白藥品之替代，於幼齡嚙齒類或其他非嚙齒類動物進行 JAS。當所使用的動物品種無法觀察所有的指標時，可使用兩個物種來進行 JAS，這兩個物種皆應為藥理相關物種。若藥品在開發時，須要以幼齡動物進行藥理試驗時(例如以先天缺乏某種酵素的疾病動物模式，來研究做為酵素補充療法的藥品，從動物出生後不久即開始給藥)，可以同時觀察合適的安全性指標，如此將有機會不用再執行 JAS，以符合 3R 的精神，減少實驗動物的使用量。

動物在開始給藥時的年齡，應相當於臨床上預期最年輕病人的年齡，並比較動物與人類的器官發育期。由於各物種的器官發育期可能不一致，應特別注重具有潛在安全性



疑慮的標的器官或預期病人族群特別脆弱的發育中器官。JAS 的給藥期不一定要與人類臨床治療期一致，通常應針對有疑慮的器官發育關鍵期與活躍期來給藥。有時候即使臨床上的治療期很短，但仍可使用動物進行長期給藥試驗，以觀察其他發育時間不同或發育較慢的器官或系統對藥品的反應。此時嚙齒類動物的優勢就立刻凸顯，因為牠們可以在數週就進入青春期，減少試驗藥品的使用量，降低業者的成本。

離乳前的幼崽需要母獸的哺育，母獸的哺育行為若發生異常，會影響幼崽的生長，甚至造成死亡，因此試驗中操作給藥時，必須盡可能避免對母獸的哺育行為產生影響。母獸在哺育幼崽時，會保持高度的警戒性，常見因為幼崽身上沾染人類氣味或其他不明的氣味而棄養，甚至殺害幼崽，這在 JAS 的操作上是一大挑戰。實務上雖然可以利用帶有母獸氣味的墊料來減輕人類的氣味，但若是試驗藥品本身即具有明顯的異味，則試驗的操作必須格外小心。由於 JAS 的觀察重點是幼崽而非母獸，設計試驗時必須考慮每窩幼崽的數目以及母獸是否能妥善哺育，為使各試驗組的幼崽數目能相近以方便統計分析，試驗前常常須要將幼崽分配至各窩的母獸，這個動作稱為「幼崽窩的標準化」。須先遴選健康狀況良好的母獸與幼崽，分配時兼顧幼崽數量與性別比例，視情況採取「完全領養」或「最少領養」的策略來配對母獸與幼崽。「完全領養」是指隨意混合所有幼崽窩，不在意幼崽是否為母獸所親生；「最少領養」是指盡可能維持幼崽窩的原始完整性，僅為了調整數量與性別比例而挪動少量幼崽。兩種策略各有優劣，試驗單位應視動物的習性與自己的操作技術能力來決定採取何種策略，並將分配的方法記載於試驗計畫書與試驗報告中。

常規的毒理試驗會於停藥後繼續觀察一段恢復期，以便了解藥品所造成的反應是否可在停藥後恢復？如果在成年動物的試驗中已發現某些變化是不可逆的，則無須在 JAS 再次證明。此外，若 JAS 的停藥後觀察期是在動物成熟之前，器官發育狀況也可能會影響藥品反應的回復，亦可能會干擾試驗結果的解釋，需要格外小心。

在給藥途徑上，與常規毒理試驗一樣，原則上應與臨床上的使用情形一致。但有些給藥途徑在幼齡動物(尤其是離乳前的幼崽)難以操作，這時須考慮改用其他給藥途徑，



此時藥品的曝露量就是非常重要的指標數據，改變給藥途徑後，可能須調整劑量使藥品能達到足夠的曝露量^[19]。

在劑量的選擇上，ICH S11 規範建議 JAS 應對不良反應找出劑量與反應之間的關係。劑量範圍最好能與成年動物試驗有部分重疊，這樣才能比較幼齡與成年動物的反應。美國 FDA 與歐盟 EMA 皆建議最高劑量應該要能引起一些毒性^[4,20]，但不要對生長發育產生干擾，否則將難以評估反應是歸因於藥品的直接作用還是因發育減緩所導致。低劑量組則盡可能不要產生毒性，以求出幼齡動物的無明顯不良反應劑量(NOEL)。如果可能的話，應該至少一個劑量能達到臨床上的預期曝露量。至於決定劑量的依據，小分子藥品可以參考 ICH M3^[21]，生物藥品則可以參考 ICH S6^[22]。JAS 可能須等待最終試驗結果才能得知該如何調整試驗設計，建議先以少量幼齡動物執行劑量探索試驗，藉由初步的劑量-反應與毒物動力學數據，盡可能妥善地規劃正式試驗的劑量、給藥頻率、採樣策略等關鍵要素。

JAS 的觀察指標

基本上，成年動物的常規毒理試驗所觀察的指標，在 JAS 中都應該要觀察，包括死亡率、臨床觀察、攝食量(只限離乳後)、血液學與血清生化學檢測、解剖病理學與毒物動力學等。然而針對幼齡動物，仍有些地方須要注意：

1. 幼齡動物由於生長迅速，體重可能急遽增加，測量體重的間隔時間可能要比成年動物的毒理試驗更短，才能及時的依據體重來調整劑量。
2. 如果試驗期持續到進入青春期的後，應觀察動物進入青春期的指標(例如嚙齒類可觀察母鼠陰道開啟與公鼠陰莖與包皮分離)。
3. 由於幼齡動物血量較少，評估毒物動力學時應尋求微量檢體的分析方法、將同組的數隻動物樣本混合或採取稀疏採樣模式(sparse sampling，不同時間點的樣本來自同組內的不同動物，以降低動物採血量)等手段。



4. 評估毒物動力學時，如果發現幼齡動物對藥品的代謝速率與成年動物不同，導致在相同的劑量下，曝露量卻明顯與成年動物不同，那麼可能需要調整給藥的劑量與頻率，這對於未來設計臨床試驗來說相當重要。
5. 由於人類眼球結構在產前即已發育完成，通常 JAS 不須做常規眼科檢驗。但若有眼部毒性之疑慮，就仍必須觀察。
6. 通常只有在已有數據顯示試驗藥品會影響神經系統的發育時，才須要在 JAS 中評估神經毒性。評估中樞神經系統時，目前認為完整的功能觀察 (functional observational battery, FOB) 與修改過的 Irwin 測試(modified Irwin test) 對幼齡齧齒類動物的敏感性不高，但仍可藉由臨床觀察時注意動物的行為。
7. 對於生殖系統。若臨床用藥族群的年齡涵蓋青春期之前的階段，應評估藥品是否會延遲性成熟；若臨床用藥族群只限於青春期之前，則 JAS 可以只使用尚未性成熟的動物來給藥，停藥後繼續讓動物達到性成熟再來評估。原則上不須在 JAS 中評估配種能力，因為透過組織病理學的觀察，已可發現藥品對生殖器官的影響。
8. 通常只有在已有數據顯示試驗藥品會影響免疫系統的發育時，才須要在 JAS 中評估免疫毒性，技術上可以藉由分析淋巴球數量或 T 細胞依賴性抗體反應來達成。不過如果藥品已確認有免疫毒性，那麼並不需要在 JAS 中再去評估。
9. 通常只有在已有數據顯示試驗藥品會影響腎臟的發育時，才須要在 JAS 中評估腎臟的發育。

結語

過去累積的用藥經驗告訴我們，不管是療效或是安全性，都不能預期成人的數據能完全套用在兒童身上。由法規科學的角度，一個藥品想要使用在小兒族群，必須要有小兒的臨床試驗數據來支持；而展開一項小兒族群的臨床試驗，則必須考慮是否須要有幼齡動物的非臨床試驗來支持。廠商應遵循這樣的思考邏輯去確立研發的時程，然後才去



討論各項試驗的設計細節。

參考文獻

1. 陳文吟. 由美國立法經驗探討促進兒科試驗暨兒科用藥研究之合理措施. 高大法學論叢. 9: 107-166. 2013 Sep.
2. International Council for Harmonisation S11: Nonclinical Safety Testing in Support of Development of Paediatric Pharmaceuticals. 2020 Apr.
3. OECD: OECD Guidelines for the Testing of Chemicals: Repeated Dose 28-Day Oral Toxicity Study in Rodents. 2008 Oct.
4. US FDA CDER: Guidance for Industry: Nonclinical Safety Evaluation of Pediatric Drug Products. 2006 Feb.
5. Ikonomidou C, et al. Blockade of NMDA Receptors and Apoptotic Neurodegeneration in the Developing Brain. Science. 283: 70-74. 1999.
6. Rice D and Barone S Jr. Critical Periods of Vulnerability for the Developing Nervous System: Evidence from Humans and Animal Models. Environmental Health Perspectives. 108: 511-533, 2000.
7. Sidhu RS, et al. Low-Dose Vigabatrin (gamma-vinyl GABA)-Induced Damage in the Immature Rat Brain. Experimental Neurology. 144: 400-405. 1997.
8. Radde IC. Mechanism of Drug Absorption and Their Development, Textbook of Pediatric Clinical Pharmacology. PSG Publishing Co. p.17-43. 1985.
9. Wood SL, et al. Species Comparison of Postnatal CNS Development: Functional Measures, Birth Defects Research. 68: 391-407. 2003 Oct.
10. DeSesso JM and Harris SB. Principles Underlying Developmental Toxicity, Toxicology Risk Assessment. Marcel Dekker. 1995.
11. Zoetis T. Species Comparison of Anatomical and Functional Renal Development. Birth Defects Research. 68: 111-120. 2003.



12. Burri P. Structural Aspects of Prenatal and Postnatal Development and Growth of the Lung, Lung Growth and Development. Marcel Dekker. 1997.
13. Holladay SD and Smialowicz R. Development of the Murine and Human Immune System: Different Effects of Immunotoxicants Depend on Time of Exposure. Environmental Health Perspectives. 108: 463-473, 2000.
14. Travis LB. The Kidney and Urinary Tract Morphogenic Development and Anatomy. Rudolph's Pediatrics, 19th Ed. p.1223-1236. 1991.
15. Kearns LK and Reed MD. Clinical Pharmacokinetics in Infants and Children. A Reappraisal, Clinical Pharmacokinetics. 17: 29-67. 1989.
16. Leeder JS and Kearns GL. Pharmacogenetics in Pediatrics: Implications for Practice, New Frontiers in Pediatric Drug Therapy. Pediatric Clinics of North America. 44: 55-77. 1997.
17. Ding X, et al. Cytochrome P450 NMa (2G1) and LM4 (1A2) are Differentially Expressed During Development in Rabbit Olfactory Mucosa and Liver. Molecular Pharmacology. 42: 1027-1032. 1992.
18. Hew KW and Keller KA. Postnatal Anatomical and Functional Development of the Heart: A Species Comparison. Birth Defects Research. 68: 309-320. 2003.
19. Hoberman AM and Lewis EM. Pediatric Non-Clinical Drug Testing: Principles, Requirements, and Practices. John Wiley & Sons Inc. 2012.
20. EMEA: Guideline on the Need for Non-Clinical Testing in Juvenile Animals of Pharmaceuticals for Paediatric Indications. 2008 Jan.
21. International Council for Harmonisation M3(R2): Guidance on Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals. 2009 Jun.
22. International Council for Harmonisation S6(R1): Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals. 2011 Jun.