



人類胞外體製劑非臨床藥毒理部分之 研發策略指導原則

第一版

中 華 民 國 1 1 5 年 1 0 月 5 日

財團法人醫藥品查驗中心

序言

胞外體製劑為再生醫療製劑藥品的新興科技項目之一。為鼓勵國內各界從事創新製劑之開發，考量國際間無論是 USFDA 或 EMA，尚無相關專門法規或指引，故制定本研發策略指導原則供各界參考，期能提供研發階段之策略參考，及闡述非臨床藥毒理相關法規科學建議。

本指導原則之制定，乃基於當前對胞外體製劑及相關技術之科學知識。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】

蔡岸圻、周家瑋、吳彥慧、詹明曉、陳可欣、徐麗娟、劉明勳

目錄

1	前言.....	3
1.1	目的.....	3
1.2	適用範圍.....	3
2	藥理試驗.....	4
2.1	主藥效學.....	4
2.2	次藥效學試驗.....	4
3	非臨床安全性試驗.....	4
3.1	一般考量.....	4
3.2	安全性藥理試驗.....	5
3.3	一般毒性試驗(單一劑量/重覆劑量毒性試驗).....	5
3.3.1	動物物種的選擇.....	5
3.3.2	投予途徑與給藥頻率.....	6
3.3.3	組別與劑量範圍.....	6
3.3.4	毒性可逆性.....	6
3.4	基因毒性試驗.....	6
3.5	致癌性/致瘤性試驗.....	6
3.6	生殖與發育毒性試驗.....	7
3.7	局部耐受性試驗.....	7
3.8	免疫原性及免疫毒性試驗.....	7
3.9	毒理動力學.....	7
3.10	不純物.....	7
4	藥物非臨床試驗優良操作規範 (GLP).....	7
5	參考文獻.....	8

本研發策略指導原則係參考 TFDA: 「人類胞外體製劑臨床試驗申請指引」(草案); PMDA: エクソソームを含む細胞外小胞(EV)を利用した治療用製剤に関する報告書 (2023 年 1 月 17 日); MFDS: Guideline on Quality, Non-clinical and Clinical Assessment of Extracellular Vesicles Therapy Products (Guidance for Industry) 及國際上相關規範，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疑問，歡迎來信至 feedbackbox@cde.org.tw

1 前言

1.1 目的

本指導原則旨在就胞外體製劑的非臨床藥毒理研發策略提出建議，協助開發者於規劃非臨床藥毒理試驗時有所依循，並作為非臨床藥毒理評估之參考，以支持該類製劑之人體臨床試驗申請。

本指導原則意在促進胞外體製劑於非臨床階段之開發，內容涵蓋藥理學與毒理學，幫助說明其作用機制與提供有效性證據、確立其藥理特徵及毒理特性(如標靶器官、暴露量-反應關係與可逆性)，以指引臨床風險評估方向與臨床監測參數，保障受試者免於不必要的不良反應。同時，強調 3R 原則(減量、精緻、取代)，以降低動物使用及製藥研發資源消耗。

適當情況下，胞外體製劑亦應參考其他非臨床研究相關指導原則。

1.2 適用範圍

胞外體製劑係指經一系列分離與純化步驟，自活細胞所產生胞外體經製備之製劑。本指導原則僅適用於由人源細胞製成之胞外體製劑。

使用非人源細胞所製之胞外體製劑、未經分離或純化之細胞培養液、細胞裂解物，或經人為操作破壞細胞而產生之囊泡，皆不在本指導原則的適用範圍。若胞外體主要係作為藥物載體，或產品屬於本原則未涵蓋之範疇(如由非人源細胞製成)，則應以個案討論，建議於研發階段及早諮詢中央衛生主管機關。

由於胞外體源自於細胞，相關法規除了應參照「藥品臨床試驗計畫—技術性文件指引」，亦須參考「人類細胞治療製劑臨床試驗申請作業及審查基準」。若以基因修飾細胞製造，則應同時參考「人類基因治療製劑臨床試驗審查基準」。若胞外體內含有化學藥品或生物技術藥品，亦須參考「ICH M3(R2): 藥品人體臨床試驗與上市許可申請所需之非臨床安全性試驗指引」及問答集、「ICH S6(R1): 臨床前生物技術藥品安全性評估指引」、「藥品非臨床試驗安全性規範(第五版)」等，作為試驗規劃之依

據。

2 藥理試驗

2.1 主藥效學試驗

胞外體製劑的主要藥效試驗應著重於概念驗證 (Proof of Concept, POC)，以評估其於目標族群之治療原理與可行性，提供支持臨床療效的非臨床證據與生物作用機制資訊。應依所申請之適應症，選擇適當動物模式或疾病模式進行。所謂適當動物模式，指能反映人類疾病的病因、病理以及對治療的反應性模式，且胞外體製劑能於該物種抵達預定之標靶器官或組織，並展現出預期藥理或功能活性。倘無合適動物模式或缺乏體內疾病模式，應提出合理說明，並以體外 (*in vitro*) 試驗來補充概念驗證資料。

概念驗證試驗應探討：(1) 胞外體製劑於人體潛在療效及有效劑量範圍 (如可行，應尋找最低或最適劑量)；(2) 劑量-反應關係評估；(3) 確認給藥途徑使產品能達標靶；(4) 給藥時機與方案最佳化；(5) 胞外體製劑預期標靶器官之藥理、生物功能及作用機制。

若胞外體製劑的活性成分/功能分子為蛋白質或核酸，應選擇使用可展現預期藥理作用的動物物種進行試驗。若無適合之動物物種，則建議使用實驗動物來源並具有靶向效應之同源胞外體製劑作為替代，以此說明其生物作用，並盡可能蒐集整理相關的文獻資訊，以支持該胞外體製劑可用於治療其目標疾病之潛力。

2.2 次藥效學試驗

由於胞外體製劑可能分布至非預期部位/組織/細胞並釋出具有生物活性的物質，以致於產生非預期或脫靶效應，故應針對這些潛在作用進行適當之評估。

3 非臨床安全性試驗

3.1 一般考量

非臨床安全性試驗旨在確認其胞外體製劑的毒理特性，並評估其所針對的標靶器官及毒性效應、劑量依存性、暴露量關係及可逆性。如胞外體製劑係用於治療目前尚無有效療法且危及生命之嚴重疾病，並已有充足的資料說明胞外體製劑的治療潛力及安全性，則可視個案情況，精簡、延後或省略部分的非臨床安全性試驗。

細胞外囊泡含有多種異質性內含物 (如蛋白質、脂質、核酸)，其組成受細胞來源、狀態及培養條件影響，故胞外體製劑之生物特性及多樣來源可能帶來潛在毒性風險。因此，除了需評估靶標效應引發的不良反應，亦須考慮非預期之脫靶毒性。

安全性數據可於概念驗證的疾病/損傷動物模式中收集，但須有充足評估指標，方能作為支持臨床試驗執行之主要依據。若缺乏合適的體內動物模式，應盡量開發可反

映疾病狀態之體外及/或離體 (*ex vivo*) 模式，以替代或補充所缺少的體內數據。

進行非臨床安全性試驗時所使用的試驗物質應盡可能代表臨床試驗中將使用的產品。若存有差異，應說明其可能影響。

為協助試驗設計及解讀非臨床安全性試驗結果，建議應探討胞外體製劑於體內的分布情形。

3.2 安全性藥理試驗

胞外體製劑可能因降解，導致其內外組成分子（如蛋白質、脂質、核酸等）分布至不同器官，對生理功能（如中樞神經、心血管、呼吸系統及相關組織器官）產生非預期藥效，除非有充分證據排除其潛在影響，原則上，應針對胞外體製劑進行安全性藥理試驗，並於人體暴露前提供相關試驗數據。此外，為減少動物使用，可將安全藥理的相關指標納入一般毒性試驗中一併評估。

3.3 一般毒性試驗(單一劑量/重覆劑量毒性試驗)

一般毒性試驗旨在評估胞外體製劑於短期或長期重覆暴露下，可能引起的全身性或局部性不良反應，包括器官功能損傷、組織病理變化及免疫反應等。此試驗用以識別潛在毒性、確定標靶器官毒性之性質與嚴重程度、劑量（曝露）反應關係及無觀察到不良影響劑量（NOAEL），並作為臨床試驗安全起始劑量及安全監測之依據。

若臨床的使用方式為單次給藥，應進行延伸性單一劑量毒理試驗，適當延長觀察期，並納入重覆劑量毒性試驗所有評估指標。

若臨床採多次給藥，除有充分科學理由（如免疫原性限制重覆給藥）外，均應進行重覆劑量毒性試驗，且給藥模式與時程規劃應反映臨床使用情形。如反覆給藥不會產生體內蓄積，亦無毒性累加之疑慮者，則可視個案情況設計一般毒性試驗，並建議於研發階段及早諮詢中央衛生主管機關。

3.3.1 動物物種的選擇

若胞外體製劑係源自於正常人類細胞的上清液，並僅經由分離與純化，未經修飾者，則可將其視為天然型胞外體製劑。若此天然型胞外體製劑源自於已被廣泛使用於細胞治療製劑之人類細胞，給予之頻率或次數未超過該細胞製劑，投予途徑相同，且已知該細胞治療製劑對於人體不具有重大安全性疑慮，則可推論其衍生之胞外體製劑的脫靶毒性風險不高，可僅選用一種與人體具有相似生物反應（能表達預期藥理作用）之動物物種進行一般毒性試驗。

若不屬於上述情況時，選擇動物物種及數量時，須能涵蓋靶向目標毒性及脫靶毒性之評估，該部分可參考 ICH M3(R2)之建議。

若無合適動物物種以評估靶向毒性，建議可使用於動物來源並具有靶向效應之同源胞外體製劑進行試驗。

不論選用何種動物物種或模式，皆須說明其科學依據。

3.3.2 投予途徑與給藥頻率

所採用之劑量、投予途徑及給藥頻率，應能代表臨床使用情形。原則上，給藥途徑應與臨床一致，頻率亦應等同或高於臨床使用頻率。如採用與臨床不同的途徑給藥，必須充分說明其合理性以及其對安全性評估之影響。

3.3.3 組別與劑量範圍

除了對照組外，用藥組建議設計三個劑量組，以觀察其劑量反應關係。原則上，最高劑量宜模擬生物體最大暴露情境（worst-case scenario），以取得胞外體製劑一旦出現明顯毒性反應時的相關資訊。最高劑量之設定得視動物模型、給藥體積、途徑及高濃度製劑穩定性等條件而定，建議可選用最大耐受劑量（maximum tolerated dose, MTD）或最高可投予劑量（maximum feasible dose, MFD）。

3.3.4 毒性可逆性

有關毒性可逆性之評估，可參考 ICH M3(R2) Q&A 之建議。

3.4 基因毒性試驗

胞外體製劑可能攜帶多種異質性物質（如蛋白質、脂質、核酸），無法事先排除其誘發基因或染色體畸變之可能。原則上，應評估其潛在基因毒性風險。若胞外體製劑係由基因修飾細胞製造，建議可同時參考「基因治療產品非臨床藥毒理研發策略指導原則」進行評估。

3.5 致癌性/致瘤性試驗

應依個案評估致癌性/致瘤性試驗之必要性，以下初步列舉幾種可能需要進行致癌性/致瘤性試驗之情況：

胞外體製劑係源自於永生化細胞或基因轉殖細胞，因其可能含有致癌基因或致癌蛋白，應視其來源細胞類型與所使用之轉殖基因評估是否需進行致癌性/致瘤性試驗。胞外體製劑攜帶有核酸或其他活性分子，可能促進癌症發生或加速腫瘤增殖，亦應考慮致癌性試驗。

胞外體製劑含有毒性未明之化學物質，亦應進行致癌性評估。

若重覆劑量毒性試驗結果顯示其可能具有致癌性，或預計臨床將長期使用，則須執行致癌性試驗。

建議可參考 ICH S1A、S1B (R1)及 S1C (R2)指引。

3.6 生殖與發育毒性試驗

生殖與發育毒性試驗之需求，應依產品特性、臨床適應症及預定患者族群決定。若無法排除對於生殖功能或發育之潛在影響，應於大規模臨床使用前，提供相關的生殖和發育毒性試驗數據。建議可參考 ICH S5(R3)指引。

3.7 局部耐受性試驗

應評估胞外體製劑之局部耐受性。試驗時應以與臨床相同之給藥途徑及部位進行，並觀察局部反應。如無法模擬臨床給藥途徑，須提出替代方式及科學依據。若一般毒性試驗（單次或重覆劑量）已足夠評估其局部不良影響，則無需另行進行局部耐受性試驗。

3.8 免疫原性及免疫毒性試驗

胞外體製劑之免疫原性及免疫毒性試驗需求，應依產品特性及作用模式評估，提供免疫原性與免疫毒性之評估結果。

若來源於同種異體細胞、基因轉殖細胞、製程牽涉動物成分，或經人工改造，也應進行相關評估。

如一般毒性試驗顯示有免疫系統異常之疑慮，亦須執行獨立之免疫毒性試驗，可參考 ICH S8 及 ICH S6(R1)指引。

3.9 毒理動力學

毒理動力學用以評估動物於毒性試驗中之全身曝露量及重覆給藥後曝露量之變化，以協助毒性試驗結果之解釋及臨床安全性試驗之設計。然而，胞外體製劑不盡然完全均質，且現階段尚缺乏成熟方法針對特定胞外體進行分析，故難以評估其毒理動力學。此外，因物種間生物活性存在差異，所獲毒理動力學資訊用以推估人體安全性之意義可能相當有限。

如胞外體製劑所用之化學成分尚未確定人體安全性或經過化學修飾，除非有充分證據可排除其安全疑慮，否則應針對該成分進行毒理動力學評估。

3.10 不純物

應分析並控管胞外體製劑與療效相關成分中可能存在之不純物，依非臨床安全性試驗結果與公開資料予以評估。關於不純物的評估，建議可參考不純物的相關指引及細胞外囊泡製劑製造與管制研發策略指導原則之規範。

4 藥物非臨床試驗優良操作規範（GLP）

胞外體製劑之樞紐性非臨床安全性試驗（包括安全性藥理試驗及毒理試驗）應符合非臨床

試驗優良實驗室操作規範 (GLP)，並須提供試驗符合 GLP 規範之聲明。未依 GLP 進行之非臨床試驗，應明確說明並闡述原因。

如因科學上之限制無法符合 GLP 規範，建議先與主管機關討論可行的替代方案，確認後再規劃及執行試驗。例如，於疾病／損傷動物模式之療效驗證研究中需收集毒理學數據時，可能因特殊動物照護或專業技術需求，致 GLP 試驗單位無法執行，或 GLP 試驗單位無法提供所需之檢驗儀器或技術。

一般而言，體外及體內藥理學試驗（包括主要及次要藥效試驗）無須遵循 GLP 操作。但若於此類試驗中同時蒐集安全性相關評估指標（如組織病理學），並預計將其作為評估人體潛在不良影響之主要依據時，則建議該等安全性評估項目應依 GLP 規範執行。

5 參考文獻

- (1) Welsh JA., et.al. Minimal information for studies of extracellular vesicles (MISEV2023): From basic to advanced approaches. J Extracell Vesicles. 2024 Feb;13(2):e12404.
- (2) PMDA エクソソームを含む細胞外小胞(EV)を利用した治療用製剤に関する報告書 (2023年1月17日)
- (3) MFDS: Guideline on Quality, Non-clinical and Clinical Assessment of Extracellular Vesicles Therapy Products (Guidance for Industry), 2024
- (4) 衛生福利部食品藥物管理署：藥品臨床試驗計畫-技術性文件指引，2015
- (5) 衛生福利部食品藥物管理署：人類細胞治療製劑臨床試驗申請作業及審查基準，2020
- (6) 衛生福利部食品藥物管理署：人類基因治療製劑臨床試驗審查基準，2020
- (7) 衛生福利部食品藥物管理署：藥品非臨床試驗安全性規範（第五版），2014
- (8) 衛生福利部食品藥物管理署：預告「人類胞外體製劑臨床試驗申請指引」(草案)，2025
- (9) 財團法人醫藥品查驗中心：細胞外囊泡製劑製造與管制之研發策略指導原則（第二版），2025
- (10) ICH M3(R2)：Guidance on Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals; June 2009
- (11) 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
- (12) ICH S1A: Guideline on the need for carcinogenicity studies of pharmaceuticals; November 1995
- (13) ICH S3A: Note for Guidance on Toxicokinetics: The Assessment of Systemic Exposure in Toxicity Studies; October 1994
- (14) ICH S1B(R1): Testing for Carcinogenicity of Pharmaceuticals; August 2022
- (15) ICH S1C(R2): Dose Selection for Carcinogenicity Studies of Pharmaceuticals; March 2008
- (16) ICH S5(R3): Detection of Reproductive and Developmental Toxicity for Human Pharmaceuticals; February 2020
- (17) ICH S6(R1): Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals;

June 2011

(18) Immunotoxicity Studies for Human Pharmaceuticals; September 2005