

衛生福利部食品藥物管理署 函

地址：11561 臺北市南港區昆陽街161-2
號

聯絡人：蘇珮涵

聯絡電話：02-27877427

電子信箱：DoriSu@fda.gov.tw

受文者：台灣藥物臨床研究協會

發文日期：中華民國109年5月26日

發文字號：FDA藥字第1091405296號

速別：普通件

密等及解密條件或保密期限：

附件：

主旨：有關「人類基因治療製劑臨床試驗審查基準」預告草案，
請轉知所屬並卓賜意見，請查照。

說明：

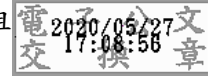
- 一、近年來生物醫學技術快速發展，基因治療領域已於國際間盛行，為促進我國相關領域之發展，及滿足我國醫療迫切之需求，本署依據基因治療產品特性，針對其製程與管制、非臨床試驗及臨床試驗等細節訂定相關規範，爰提出「人類基因治療製劑臨床試驗審查基準」之預告草案。
- 二、承上，本次預告草案內容將載於本署網頁(網址：
<http://www.fda.gov.tw/>) /業務專區/藥品/再生醫療製劑管理專區，敬請轉知所屬前往網頁下載參閱。
- 三、本次公告草案之內容倘有任何意見或修正建議者，請於發函日次日起60日內陳述意見，逾期視同無意見。

正本：台灣細胞醫療協會、台灣幹細胞學會、台灣再生醫學學會、台灣醫藥品法規學會、台灣藥學會、中華民國學名藥協會、社團法人台灣藥物品質協會、中華民國西藥商業同業公會全國聯合會、高雄市西藥商業同業公會、財團法人醫學研究倫理基金會、台灣臨床研究倫理審查學會、台灣醫院協會、台灣藥物臨床研究協會、社團法人臺灣臨床藥學會、中華民國醫師公會全國聯合會、中華民國藥師公會全國聯合會、中華民國製藥發展協會、中華民國開發性製藥研究協會、臺灣製

電子
文
騎

4

藥工業同業公會、台灣研發型生技新藥發展協會、台灣藥品行銷暨管理協會、中華民國西藥代理商業同業公會、台北市西藥商業同業公會、台北市西藥代理商業同業公會、台北市進出口商業同業公會、財團法人生物技術開發中心、財團法人醫藥品查驗中心、財團法人國家衛生研究院、財團法人醫藥工業技術發展中心
副本：衛生福利部醫事司、本署品質監督管理組、本署研究檢驗組



裝

訂

線



人類基因治療製劑臨床試驗
審查基準（草案）

衛生福利部食品藥物管理署

中華民國 一〇九年〇月〇日

目錄

第一章 總則.....	1
壹、 前言.....	1
貳、 適用範圍.....	1
第二章 臨床試驗審查基準－製程與管控.....	3
壹、 主成分.....	3
一、 一般資訊.....	3
二、 製造.....	6
三、 特性分析.....	16
四、 品質管制.....	20
五、 對照標準品.....	26
六、 容器封蓋系統.....	26
七、 安定性.....	26
貳、 產品.....	27
一、 配方組成.....	27
二、 開發/起源發現經過.....	27
三、 製造.....	28
四、 賦形劑.....	28
五、 產品管制.....	28
六、 對照標準品.....	30
七、 容器封蓋系統.....	31
八、 安定性.....	31
第三章 臨床試驗審查基準－非臨床試驗.....	32
壹、 緒論.....	32
一、 一般原則.....	32
二、 特性分析.....	34
三、 分析方法.....	34
貳、 動物物種/模式的選擇.....	35
參、 藥理學.....	40

一、主藥效學	40
二、次藥效學	42
三、安全性藥理	42
肆、藥物動力學.....	43
一、生體分布 (Biodistribution) 試驗.....	44
二、脫落 (Shedding)	48
三、其他藥物動力試驗.....	48
伍、毒理學	49
一、毒理試驗設計	50
二、基因毒性 (Genotoxicity)	52
三、致腫瘤性 (Tumorigenicity)	55
四、其他毒性試驗	57
五、生殖及發育毒性 (Reproductive and developmental toxicity)	58
六、局部耐受性 (Local tolerance)	59
陸、藥品交互作用	59
柒、藥物非臨床試驗優良操作規範 (GLP)	60
捌、首次人體臨床試驗申請應提供之非臨床試驗.....	61
 第四章 臨床試驗審查基準—臨床考量	63
壹、一般性考量.....	63
一、病患篩選條件	64
二、特殊族群	64
貳、藥物動力學試驗	65
一、脫落試驗	66
二、生體分布試驗	67
三、轉殖基因產物 (如表現蛋白或基因體標誌) 之藥物動力 學試驗	67
參、藥理學 (pharmacodynamic) 試驗	68
肆、劑量選用和時程	69
伍、免疫原性	70
陸、療效試驗	71

柒、 臨床安全性考量	72
捌、 病人安全監測	75
玖、 長期追蹤觀察計畫撰寫原則之臨床考量	81
參考資料	86
表一、 基因治療製劑/載體對宿主基因之影響	88
圖一、 評估基因治療相關延遲性不良反應的發生風險步驟	90

第一章 總則

壹、前言

為確保人類基因治療製劑臨床試驗合乎科學性、安全性及社會倫理性，並保障受試者之權益，爰制訂「人類基因治療製劑臨床試驗審查基準」，說明人類基因治療製劑申請臨床試驗時的科學性考量，以作為計畫主持人準備臨床試驗申請資料之參據。

本基準第二章至第四章之製程與管控、非臨床試驗、臨床試驗設計考量部分僅代表中央主管機關目前對人類基因治療製劑臨床試驗之審查考量，如果有任何符合法規之替代方法或科學證據，可以檢具資料向中央主管機關提出個案討論，另外，中央主管機關亦保留額外要求技術性資料之權利。

執行人類基因治療製劑臨床試驗另應符合醫療法、人體試驗管理辦法及藥品優良臨床試驗準則等相關規定。

貳、適用範圍

本指引適用於內含重組核酸序列之載體、基因修飾之微生物或病毒，以及含有基因修飾細胞（如CAR-T細胞）之基因治療製劑。本指

引所描述的原則也適用於用來修飾這些細胞的載體。涉及細胞之相關考量，可一併參照「人類細胞治療製劑臨床試驗申請作業及審查基準」。

雖然基因治療製劑定義不包含具治療之化學合成序列，然而本指引多項關於試驗設計與安全性考量主題仍可沿用。

第二章 臨床試驗審查基準－製程與管控

基因治療製劑的製造程序，可能無法依照一般生物藥品明確區分成主成分和產品的兩個階段，但在審查上，品質管控之技術性資料仍應包含主成分以及產品兩部分。

壹、主成分

一、一般資訊

申請者應提供文字及圖表詳述基因治療製劑及其命名方式，並說明該產品之作用機轉及預期的臨床適應症。另應詳述主成分的分
子結構及生物活性，包含轉殖基因 (transgene) 及各個調控功能序列 (regulatory element)，以及基因載體 (vector) 設計與結構等：

(一) 轉殖基因

轉殖基因為基因治療製劑之基因構築 (gene construct) 中，達到治療效果之必要基因組成。申請者應以圖示輔助文字描述轉殖基因之構築，包含轉殖基因、具功能性基因 [例如篩選標記 (selection marker)]、調控功能序列 [例如啟動子 (promoter)、增強子 (enhancer) 和內含子 (intron) 等]、基因連接處 (junction region) 以及限制內切酶切點等資訊。若轉殖基因之序列係參

考已發表之文獻資料，應特別說明與探討其適用性。若有修飾轉殖基因原始序列，如密碼子優化（codon optimization）、位點特異性突變（site-specific mutation）、刪除（deletion）和重新排列（rearrangement）等，則應詳細說明其修飾目的。若利用轉錄因子（transcription factor）控制轉殖基因的表現與否（例如暫時性或組織特異性的調控），應於特性分析時提供佐證並說明此轉殖基因如何達到預期的調控特性。

(二) 基因載體

基因載體為基因治療製劑中，協助轉殖基因之傳輸、轉導或標靶至目標位置之成分。申請者應盡可能提供基因載體（質體、病毒或細菌）來源的相關文件，例如原生（parental）病毒或原生細菌的培養歷史和生物特性。申請者應提供基因載體中除轉殖基因外，其他基因骨架和所有具調控功能的核酸序列，並說明其調控方式及採用之緣由。

申請者應提供基因載體適用於本臨床試驗的理由依據，例如作用機轉、臨床適應症和給藥方法等考量，並說明該載體對目標細胞或組織的選擇性、轉導能力以及轉導後轉殖基因的功能活性等。

依照目前常見的基因載體類型，建議申請者應至少提供之資料如下：

1. 複合核酸 (complexed nucleic acid) 載體

複合核酸載體為轉殖基因於特定質體中，與複合材料或媒介物 (vehicle) 進行混合或反應所製成之載體。例如將帶有轉殖基因之質體與多價陽離子 (polycation) 或蛋白質形成複合物，或包覆至微脂體 (liposome) 中，或聯結至攜帶子 (carrier) 或金屬顆粒等。申請者應提供質體骨架、篩選標記和其所有調控基因表現的調控功能序列之完整序列資料，亦應說明所採用複合材料之一般特性與結構，以及該複合材料如何提高基因治療製劑的傳輸、調控或表現之相關佐證資訊與文獻。

2. 病毒載體

應提供病毒載體的來源、修飾、組成與病毒特性等資料，包含基因體 [例如單股或雙股、DNA或RNA、自身互補 (self-complementary) 等]、殼體 (capsid) 和包膜 (envelope)、病毒學 [例如複製缺陷 (replication deficient)、條件複製 (replication-conditional) 型、感染細胞或組織向性 (tropism)、

抗病毒藥敏感性等〕、生物物理（例如分子量和顆粒大小）和生物化學等資訊。

3. 細菌載體

應提供細菌載體之物化特性、生長特性、篩選標記等資料，若有導入任何外來基因或調控功能序列，應提供其所在位置與相關資料。

二、製造

(一) 製造廠

應提供主成分製造廠的廠名與廠址，若有委外製造廠（含執行製造、檢測和儲存之場所）亦須提供其廠名廠址，並說明各自所負責的製程內容。

(二) 製程及製程管制之描述

申請者應提供流程圖並闡述從細菌、病毒及（或）細胞庫或核酸來源到產出主成分的整個製造過程，包含細胞培養、轉染、接種、發酵、擴增、收成（harvesting）、澄清化（clarification）、混合（pooling）、純化、濃縮、充填和儲存等。另應清楚定義主成分的批次，包含批次大小和生產規模的細節資料。若在製

程中必須混合多批次之收成物或中間物，則建議混合前應進行品質檢測，以確保每批混合物具有一定之品質。

申請者應提供每個製程之步驟、參數與管制程序等資訊，包含製造規模(例如生物反應器體積或製程操作容量等)、培養基、添加物和主要儀器設備，並提供各製程製造參數〔例如細胞密度、培養時間、貯留時間(holding time)、細胞代數、pH值、溶氧量和溫度等〕，以及製程中檢測項目〔例如病毒濃度、產率、不純物、存活率和無菌性(sterility)等〕。

若基因物料(genetic material)係透過細胞內分子機制進行基因重組，而形成最終基因載體的基因組成時，應描述基因物料至最終載體之基因重組演變過程，並提供基因載體中間體和最終基因載體的基因圖譜。

若為複合核酸載體，則應提供所有複合材料的完整生產過程、製造參數以及管制項目。

若主成分中添加稀釋劑、穩定劑或任何賦形劑時，應說明其添加目的及適當性。若主成分將與其他產品製備成複合性產品，應提供該製程之完整資料。

(三) 物料管制

1. 起始物

基因治療製劑之起始物，依產品性質而有不同的考量：

- (1) 若產品為病毒載體，則起始物為製備病毒載體所用到的成分，包含包裝細胞（packaging cells）的細胞庫系統，以及病毒庫系統或轉染包裝細胞之質體；
- (2) 若產品為細菌載體，則起始物為質體和宿主細菌，或經重組後（攜帶質體）細菌的細胞庫系統；
- (3) 若產品為複合性產品，則起始物為各主成分之起始物。例如經基因修飾的細胞，則起始物為製備基因載體的起始物（可參考上述(1)或(2)），以及被修飾細胞的細胞來源。

製程中所有起始物都應列表，並提供其來源、品質和控管等相關資訊。若起始物細胞、細菌或病毒可建立庫系統（banking system），則建議以庫系統管控品質，並說明起始物之來源物種、培養歷史和庫系統建置過程〔例如挑選單一細胞或限數稀釋（limiting dilution）方式、病毒庫所用的細胞來源等〕，若該起始物有經過基因修飾（例如包裝細胞株），則須提供基因修飾之相關資料。

庫系統應進行特性分析和品質檢測，並確保無微生物、真菌及病毒之污染，亦須驗證在最初和最終培養製程下，庫系統之基因穩定性與生產效率一致性。相關規範可參考ICH Q5A(R1) 「Viral safety evaluation of biotechnology products derived from cell lines of human or animal origin」、Q5B 「Quality of biotechnological product: analysis of the expression construct in cells used for production of R-DNA derived protein products」和 Q5D(R1) 「Derivation and characterization of cell substrates used for production of biotechnological/biological products」等指引之內容。

若起始物使用非庫系統之基因物料（例如質體），則應有合適的檢測及規格作為品質控管，確保用於製程之起始物具有批次間一致性。若該基因物料之序列正確性會影響或決定基因治療製劑中的基因組成、療效或安全性，則須確認該基因物料之全基因序列受到適當的管控。

若起始物製備過程中使用動物來源試劑，則應檢測種系特异性病毒。若試劑源自反芻類動物，另應提供文件證明該動物來源非源自發生牛海綿狀腦病變（bovine spongiform encephalopathy, BSE）或有相當風險存在有牛海綿狀腦病變

的國家。

起始物應根據製備過程與生物特性採取合適的品質管制，可參考下列說明：

(1) 基因物料

基因物料如質體或人工染色體等檢測，可包含基因鑑別和基因完整性（含轉殖基因和調控功能序列）、無外來物質污染、無菌性、內毒素、純度〔例如質體超螺旋結構（supercoiled structure）的比率，以及宿主細胞DNA、RNA和蛋白質之殘留量〕等。另應使用合適方法檢測特定基因特徵，尤其是已有科學證據顯示其可能對基因治療製劑之安全療效有所影響之基因特徵（例如CpG序列）。若以基因物料為起始物，且整個基因治療製劑製程中，未採用庫系統或製程管制確保全序列正確性時，即應於基因物料檢測中進行全基因序列分析。

(2) 病毒庫

病毒庫可用於生產病毒載體，或是作為輔助病毒以製備病毒載體，並確保製程中病毒來源的品質一致性。主病毒庫（master virus bank）的檢測，可包含鑑別（基因和

免疫學鑑別)、病毒濃度或感染力價(titer)、基因體完整性、轉殖基因的轉錄或表現、轉殖基因衍生之生物活性、無菌性、無黴漿菌〔若為昆蟲細胞來源則為螺原體(spiroplasma)〕、無外來物質〔(含體外(in vitro)和體內(in vivo)試驗之病毒檢測,及種系特異性病毒檢測)〕污染、無具複製能力病毒(replication competent virus)和抗病毒藥物敏感性等。此外,病毒載體應進行全基因序列分析;若病毒載體大於4萬鹼基對,則臨床試驗階段應至少針對轉殖基因和其毗鄰區域(flanking regions),以及病毒載體中經過修飾或可能發生重組的區域進行基因定序。

(3) 細菌細胞庫

細菌細胞庫通常是製備質體的起始物,亦可直接用以生產細菌載體。若作為製備質體的細菌細胞庫,則主細胞庫(master cell bank)的檢測項目,可包含細菌鑑別(表現型和基因型)、質體鑑別(限制內切酶)、質體套數、質體的全基因序列分析、含有質體的細胞比率以及無其他細菌、真菌、質體及噬菌體的污染等。若細菌細胞庫

是用以生產細菌載體，則應再檢測轉殖基因的表現及其活性、免疫鑑別（如血清分型）以及抗生素之敏感性等。

(4) 真核細胞庫

在挑選病毒載體之生產及包裝細胞株前，應考量該細胞特性是否會影響最終產品的安全性，例如細胞株是否具有致癌基因序列等，特別是當病毒載體可能會共同包裝（co-package）非載體部分的基因序列時。主細胞庫的檢測項目，可包含鑑別、純度、細胞數量、細胞存活率、細胞株特性分析、基因型與表現型、質體與轉殖基因及輔助序列結構的驗證（可採用如限制內切酶分析法或定序法）、基因穩定性以及設計嵌入之基因序列的鑑別、基因套數和完整性。外來物質檢測應包含外源性、內源性和種系特異性病毒的病毒檢測，以及分析反轉錄酶活性和電子顯微鏡之鏡檢，確認是否有反轉錄病毒的污染，亦須確保無細菌、真菌及黴漿菌（若使用昆蟲細胞來源則為螺原體）之污染。

(5) 複合材料或載體

複合核酸載體之複合材料或載體（例如奈米粒子或微脂粒等）的品質和純度，對於基因治療製劑的品質十分重要，須依其預期用途有合適的品質管制，包含合適的製程中管制、特性分析和規格檢測。應提供的資訊取決於該複合材料及主成分之性質，若複合材料取自多種來源（例如動物、植物、合成物）或多個供應商，則須提供每項來源或供應商的資訊，並且應提供這些不同來源成分的特性分析，並進行比較評估，以說明不同來源或不同供應商之複合材料所製成的主成分之相似性（物理化學特性、純度及複合後基因產品表現之效果）。

2. 製程物料

製程物料係指主成分製備過程使用的材料、試劑或耗材，但不構成活性物質的一部份，例如培養基、生長因子等。製造過程所有材料和試劑，應完整描述其來源（例如化學合成、人來源、動物來源等）、特性、檢測和使用時機，並以表格方式整理相關資料（例如材料名稱、供應商、來源和使用時機等），亦應依據材料與試劑之使用目的提供合適的品質證明文件（例如規格或檢驗成績書），若該文件提供的資訊不足，無法評估該物料之品質與安全性，則須提供該物料之製

程和製程中管制的相關資料，亦可自行檢測物料以確保品質。

另外，製程中如使用到會與主成分接觸之耗材，亦須提供相關品質資訊，例如培養袋、培養瓶和層析基質（chromatography matrices）等。

若製程有使用輔助（associated）病毒，應詳述輔助病毒的設計、建構、生產和庫系統建置過程，應提供輔助病毒之資料與品質管制項目比照前述起始物的內容。

製程物料如由動物組織或體液所製備，或含有動物來源物質，皆應檢測微生物與種系特異性病毒，並評估傳染性海綿狀腦病的風險。

特定製程物料〔例如盤尼西林、其他乙內醯胺類抗生素（ β -lactam antibiotics）以及鏈黴素〕可能會引起部分個體的過敏反應，故應避免使用於製程中。如須使用抗生素，應以臨床上較不會造成過敏反應之抗生素為主，或於產品放行規格中設定允收標準，限制抗生素於人體之暴露量。此外，臨床試驗計畫書中應排除對該抗生素過敏之受試者，以及於受試者同意書中告知產品可能含有該抗生素。製程中亦應避免使用有毒試劑，例如溴化乙錠（ethidium bromide）等，若必須使

用，應以定量方法確認最終產品之殘留量，並設定合適的允收標準來管控。

應提供最終基因治療製劑中所有製程物料殘留量之相關資料。

(四) 關鍵步驟及中間體管制

為確保主成分有良好的管制與品質一致性，應於製程中之關鍵步驟和關鍵中間體設定合適之允收標準來管控。中間體可能是中間暫存物、收成物 (harvest) 或是純化中間物，每個生產步驟及其中間體應執行相關參數之監控與記錄，這些資料的收集與評估可協助了解製程，亦可依相關數據來設定合適的製程參數，以利未來進行製程確效。

基因治療製劑的關鍵中間體可能是製備基因載體所需的DNA質體，應根據質體之製程和使用之物料設定適合的品質檢測，可包含無菌性、內毒素、純度 (質體超螺旋的比率、宿主細胞DNA、RNA和蛋白質之殘留量) 和鑑別 (例如限制內切酶圖譜等)。

收成物之品質管制，可包含鑑別 (轉殖基因和載體部分)、純度、產量、微生物、內毒素和外來物質檢測。若外來物質檢測

會受到基因載體干擾，則應使用中和載體的抗體移除干擾。亦應考慮以靈敏度高的分析方法（如：核酸擴增法）測定特異性病毒之序列。

若收成物為病毒載體，則應再檢測病毒載體力價，或分析病毒顆粒對感染力的比值，並應訂定病毒量之最低允收標準。另外，若為複製缺陷型病毒載體和條件複製型病毒載體，應於製程中之生產細胞上清液或病毒分層（viral fraction）步驟時，執行具複製能力病毒檢測。

三、特性分析

基因治療製劑的各個開發階段，可藉由主成分的特性分析探討基因治療製劑的整體特性。進行主成分特性分析時，應考慮到整體製程（例如起始物、物料、中間體以及製程品質管制等），並應清楚說明所使用之主成分批次資訊（例如開發、試量產或實際生產規模等）。

主成分特性分析可包含鑑別（基因型和表現型）、純度、效價、轉殖基因活性、感染性、轉染效率以及可達預期作用之分析等。應以多個先進技術（state-of-the-art）進行特性分析，並可應用分子、生物或免疫等不同原理之方法來檢測。

(一) 特性鑑定與活性分析

應分析轉殖基因與調控功能序列之序列完整性，並確認其中無已知致癌基因之序列。應以圖示說明序列之相關功能與資訊〔例如限制內切酶圖譜、調控功能序列與蛋白質編碼框（open reading frame）等〕。其他物理化學特性分析項目，例如顆粒（分子）粒徑之平均值及分布，以及聚集（aggregation）程度等。

依基因載體類型進行之特性分析，以下提供參考：

1. 複合核酸載體

應分析載體之攜帶子或支撐體（support）等材料與帶負電荷DNA之間的交互作用，並應在複合狀態下分析複合核酸載體的特性，包含形態、粒徑分布、表面電荷、在既定條件或生物環境下（如轉染步驟時之溶液）的穩定性，以及複合結構體中核酸含量的差異分布。此外，亦應證實複合核酸於生理狀態下具有預期傳輸之生化作用或生物反應。

2. 病毒載體

應分析組織向性、感染性（各類型細胞之感染力）、病毒性（virulence）、複製能力、感染性與非感染性病毒顆粒的比值、免疫特性、平均粒徑以及聚集體（aggregates）等。

若使用可嵌入基因體之病毒載體，應鑑別病毒載體嵌入基因體之位點，並詳盡評估嵌入突變 (insertional mutagenesis) 之可能性與其相關之風險。

3. 細菌載體

應檢測細菌載體之鑑別 (表現型和免疫鑑別)，並分析轉殖基因與調控功能序列之序列、質體套數以及含質體的細菌比率。

生物活性之驗證分析，應確認基因載體可將轉殖基因和調控功能序列傳輸至目標細胞，並達到預期作用機轉，例如某個基因序列的調控、修復、取代、添加或刪除，亦應分析其後續的生物活性以及其持續的狀況。

若基因治療製劑具組織選擇性，應提供相關資料，例如病毒載體的宿主範圍和組織向性、複合核酸載體之傳輸或轉殖基因表現的選擇性等。

(二) 不純物

應根據載體本身特性和生產系統評估可能存在的不純物，而不純物的特性分析結果應作為主成分或產品規格之不純物管制考量。

1. 產品相關不純物

轉染效率差的質體型式、聚集體、具複製能力病毒、缺陷病毒顆粒（具有刪除、重新排列、混合或突變序列）、包裝外源DNA序列之載體、無感染力病毒載體或空的病毒載體、其他影響載體重要特性（例如感染力之改變、質體型式改變而降低轉染效率，或因氧化或去聚合作用造成核酸複合體的降解等）之降解產物。

2. 製程相關的不純物

起始物的殘留物（宿主殘留DNA或蛋白質）、非預期之外來核酸序列、製程物料〔抗生素、細胞激素、培養試劑、純化試劑、儀器材料、輔助病毒之殘留物（病毒、病毒DNA和蛋白質）〕、外來物質以及來自製程的可溶出物（extractables）與可浸出物（leachables）。

若使用具致腫瘤或反轉錄病毒基因序列之生產或包裝細胞，應將DNA片段大小儘可能降低至無法表現其生物活性，並降低DNA殘留量；

如使用不具致腫瘤性的連續細胞株，建議每劑所含有之宿主DNA殘留量應小於10 ng，其片段應小於200個鹼基對；若使

用具有腫瘤細胞特性之生產或包裝細胞（例如Hela或HEK293T細胞株），應另於基因治療製劑設定相關轉形序列（relevant transforming sequence）之允收標準，以管控人體暴露量，以HEK293T細胞製備的基因治療製劑為例，利用具有專一性及靈敏度的方法，檢測產品中腺病毒E1及SV40 large T antigen序列之含量。

若基因治療製劑為複合核酸載體，則應分析複合材料或載體在生產過程可能產生的不純物或副產物，並評估這些基因治療製劑的不純物或副產物在投予病患時對安全性及效能的影響。

四、品質管制

(一) 規格

應提供主成分規格並說明規格訂定之合理依據，規格內容包括品質屬性（attributes）、分析方法和允收標準。建議應使用可達到分析目的之方法，依據製程與特性分析資料評估主成分品質屬性之管控參數，另綜合非臨床試驗和/或臨床試驗批次、證明製程一致性的批次、安定性試驗批次之品質資料，以及其他研發時期之相關資料訂定合適的允收標準。

主成分的規格（放行與架儲期）通常包括以下檢測：鑑別與完整性（identity and integrity）、含量（content）、效價（potency assay）、純度、具複製能力病毒（若主成分為複製缺陷或條件複製型之病毒載體）、無菌性、內毒素和黴漿菌等，將於分析方法段加以說明。

（二）分析方法

應提供製程中管制和放行檢測的所有分析方法，並充分說明該方法及其用途上之效能分析（例如標準作業程序、所使用之標準品、專一性和靈敏度等）。

臨床試驗階段之分析方法雖尚未確效，但為確保基因治療製劑於劑量調升試驗的安全性，應使用經驗證（qualified）的分析方法，並提供相關詳細資料（例如檢品、標準品、陽性與陰性對照組、操作員、試劑、儀器以及操作流程等），其資料應顯示分析方法具有專一性、靈敏度、準確度與再現性等。其他安全性相關檢測項目包含外來物質、微生物和具複製能力病毒之檢測，若使用收載於藥典中之方法，應於第一期臨床試驗時符合藥典規範，並確認該方法之適用性；若非依據藥典方法，則應提供適當資料說明該方法之專一性、靈敏度與耐變性。

基因治療製劑之檢測項目因產品特性和製程而有所不同，以下提供一般應執行的檢測項目，但不限於此，可依據個案考量。

1. 鑑別和完整性

基因鑑別和完整性應確認轉殖基因和載體之正確性，轉殖基因可用DNA定序或限制酶圖譜來分析；載體則可用免疫原理等方法分析。鑑別方法亦可透過分析載體感染/轉染能力以及偵測轉殖基因表現/活性來確認（詳見以下「3. 效價測定」之敘述）。

2. 含量

含量分析為可定量基因載體的分析方法。若為病毒載體，可分析感染力價、感染性顆粒濃度、顆粒數（感染性/非感染性）、載體基因體數之定量（PCR檢測）、DNA或質體的量或濃度等，若有必要，可根據主成分的特性合併多個分析方法。若顆粒對感染力的比值與基因治療製劑的療效有關聯性，其應為主成分含量分析方法之一。若為細菌載體，可分析菌落形成單位（colony-forming units, CFU）或細菌數（活細菌/死細菌）等；若為複合核酸載體，可分析核酸量或濃度等。

3. 效價測定

效價測定之品質參數，應能顯示出預期之作用機轉或基因治療製劑的藥理反應。效價分析一般應評估基因傳遞效率（感染性/轉染效率/傳輸效率）、轉殖基因的表現量以及表現的時間長短等。若可行，效價分析應測量轉殖基因的生物活性或基因產物，例如以免疫化學法評估轉殖基因之蛋白質產物的完整性和表現量。

若以測量生物活性以外之替代方法（例如核酸擴增方法）作為放行檢測，應提供替代方法與生物活性/臨床療效結果的關聯性資料。若體外（*in vitro*）試驗無合適的效價方法，可考慮使用離體的動物組織或動物個體進行效價分析，例如轉殖基因動物或移植人體組織的動物（須為合適的異種移植模型）。

效價測定應有合適且可量化表達的方法，亦應有合適的對照標準品進行校正以呈現相對之效價結果。

4. 純度/不純物

應根據特性分析結果評估須管制之不純物，於規格中設定限量（limit）標準以排除或限制不純物的含量，並說明限量標準訂定的合理依據。應管制之不純物，包括內毒素、細胞來

源污染物的殘留量，例如宿主細胞蛋白質、來自細菌或包裝細胞株的DNA，以及製程所使用之物料〔例如全能核酸酶 (benzonase)、動物血清蛋白(如牛血清白蛋白)或樹脂等〕，以及其他製程相關不純物(例如載體製備時之外源性核酸或輔助病毒等)。

5. 具複製能力病毒檢測(若主成分為複製缺陷或條件複製型之病毒載體)

應以易受感染 (permissive) 或經設計之細胞株，於足夠的細胞培養時間或培養代數來擴增潛在之具複製能力病毒。擴增後的具複製能力病毒，應考量病毒載體產生具複製能力病毒之可能情況，設計或選擇合適的偵測法，例如指示細胞法、反轉錄酶產物增量分析法 (product-enhanced reverse transcriptase, PERT)、核酸擴增分析法 (polymerase chain reaction, PCR) 或酵素結合免疫吸附分析法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 等。

方法應有足夠的專一性、靈敏度與耐變性，以避免具複製能力病毒(如反轉錄病毒等)危害病患健康，並應根據病毒載體的類型評估基因治療製劑中具複製能力病毒的臨床風險。

儘管已有足夠科學或臨床資料支持其風險可評估或管控，亦應根據具複製能力病毒含量相近之批次所執行之非臨床和（或）臨床試驗的相關資料，訂定規格中具複製能力病毒允收標準的上限，並提供安全性評估與合理性說明。

6. 物理化學性質

pH值和其他相關物理化學性質的測量，例如乳白光（opalescence）、折射率、顆粒數量和分子大小之平均值/分佈等。

7. 藥典方法

其他放行所需檢測之項目應參照藥典方法進行檢測，例如外來物質試驗法、無菌試驗法、內毒素和黴漿菌試驗法等。

(三) 批次分析

應以表格方式整理各批次放行檢測之分析結果，並比對批次間品質的變異狀況。表格中應呈現批次所對應之製程資訊（例如製程編號或製造批量等）和製造用途（例如用於非臨床、臨床試驗或安定性試驗等）。

(四) 規格合理性之依據

應根據製造、非臨床安全性資料和臨床試驗經驗評估合適的允收標準，並提供規格訂定的合理性說明。雖然早期臨床試驗之允收標準可較有彈性，但應隨著製程開發與產品臨床療效資訊之建立，逐步限縮允收標準，以確保批次間之品質一致性。

五、對照標準品

應描述分析方法中所用的對照標準品及其使用目的。對照標準品應有完整地特性分析，且應確認標準品可保持安定性及活性的期限，以決定須更新標準品的時間。若可行，內部生產之實驗用或產品特定對照標準品，應以國際公認的對照標準品校正。

六、容器封蓋系統

應提供容器封蓋系統的相關資訊（例如供應商、材料和規格等），以及主成分與容器封蓋系統之相容性試驗評估（例如吸附和可溶出物等）。相容性試驗評估可藉由安定性試驗過程或過往使用經驗來說明。

七、安定性

應提供主成分之容器封蓋系統、儲存條件、安定性試驗計畫書和既有的安定性資料。應參考 ICH Q5C 內容執行長期安定性試驗，而加速安定性試驗可協助評估產品安定性狀況。苛酷試驗（forced

degradation study) 可提供降解產品的重要資訊，確定安定性指標項目 (stability indicating test)。

一般架儲期規格來自放行規格，但著重於安定性指標項目之檢測以及降解產物之限量。載體完整性、生物活性 (包含轉導能力) 及含量為產品之重要品質屬性，皆須納入安定性試驗規格。

若主成分之製程設計係經短暫儲存或直接進行後續製劑充填之製程，則可不須執行主成分之長期安定性試驗。

貳、產品

大部分對於主成分的考量都適用於產品，此部分內容將著重於產品的特殊考量。

一、配方組成

應提供產品與配方組成之描述，除了應以表格方式呈現所有成分，亦應提供該成分於每單位產品中之含量、功能與試劑等級 (例如藥典個論或製造商規格) 之相關說明。

二、開發/起源發現經過

應提供產品的定義以及產品開發的描述，包含起源、鑑別、物理化學和功能的特性分析，以及產品中所有成分的預期功能。若於

產品製造階段合併醫療器材，須評估該合併分別對於醫療器材與基因治療製劑兩者之既有臨床作用的影響，並應分析合併後之產品特性。

三、製造

應清楚描述產品的製造程序以及製程中所採取的管制措施，且應提供流程圖來描述從主成分至產品的整個製造過程，包含配製、過濾、充填以及冷凍乾燥或冷凍（若有使用）步驟。此外，應提供產品製程各階段的相關資訊，例如：貯留時間、溫度以及其他相關參數等，並應定義製程中間體以及製程參數/步驟，以確保生產條件一致性。

四、賦形劑

應提供所有賦形劑的規格，若為人類或動物來源，試劑應有相關病毒檢測資料；若為反芻動物來源，試劑應有證明文件說明動物非源自牛海綿狀腦病變風險之國家。若使用新賦形劑，應提供完整之製造、特性分析、品質管制、規格以及安定性資料，並應提供可支持該用法（例如使用量和使用途徑等）之安全性資料。

五、產品管制

(一) 規格

若欲以主成分放行檢測結果代表產品階段之品質管制，應說明其合理性。一般產品規格的檢測項目如下：

1. 主成分的品质屬性，包括鑑別、含量和效價。
2. 產品的外觀和物理化學特性（例如pH值、乳白光、折射率、滲透度等）。
3. 無菌性、內毒素、微粒物質（particulate matter），以及其他藥典所收載方法且適合納入產品規格之檢測項目。
4. 依據風險考量（risk-based approach）訂定合適的允收標準（如：具複製能力病毒之檢測），以確保產品的安全性。
5. 重要的賦形劑（例如白蛋白或複合材料），特別是該賦形劑之含量與載體之生物活性或安定性有關，應有合適的測定方法檢測其含量。
6. 產品階段之製程相關不純物，應評估是否納入規格管控。

(二) 分析方法

應提供且充分地敘述製程中管制和品質管制的所有分析方法（例如標準作業程序、方法之標準品、專一性和靈敏度等），以供評估該方法在其用途上的分析效能與合適性。產品分析方

法的相關要求可參考本基準「第二章一壹、主成分一四、(二)分析方法」之內容。

(三) 批次分析

應以表格方式整理各批次放行檢測之分析結果，並比對批次間品質的變異狀況。表格中應呈現批次所對應之製程資訊（例如製程編號或製造批量等）和製造用途（例如用於非臨床、臨床試驗或安定性試驗等）。

(四) 規格合理性之依據

應根據製造、非臨床安全性資料和臨床試驗經驗評估合適的允收標準，並提供規格訂定的合理性說明。雖然早期臨床試驗之允收標準可較有彈性，但應隨著製程開發與產品臨床療效資訊之建立，逐步限縮允收標準，以確保批次間之品質一致性。

六、對照標準品

應描述分析方法中所用的對照標準品及其使用目的。對照標準品應有完整地特性分析，且應確認標準品可保持安定性及活性的期限，以決定須更新標準品的時間。若可行，內部生產之實驗用或產品特定對照標準品，應以國際公認的對照標準品校正。

七、容器封蓋系統

應提供容器封蓋系統的相關資訊(例如：供應商、材料和規格等)，以及主成分與容器封蓋系統之相容性試驗評估(例如：吸附和可溶出物等)。相容性試驗評估可藉由安定性試驗過程或過往使用經驗來說明。

八、安定性

應提供產品之容器封蓋系統、儲存條件、安定性試驗計畫書和既有的安定性資料。應參考 ICH Q5C 內容執行長期安定性試驗，而加速安定性試驗可協助評估產品安定性狀況。苛酷試驗可提供降解產品的重要資訊，確定安定性指標項目。

一般架儲期規格來自放行規格，但著重於安定性指標項目之檢測以及降解產物之限量。載體完整性、生物活性(包含轉導能力)及含量為產品之重要品質屬性，皆須納入安定性試驗規格。

若產品製劑使用攜帶子和支撐材料，應探討與主成分組成複合物的安定性。若有必要，應探討藥品〔例如回溶(reconstitution)或解凍(thawing)〕的使用中安定性(in-use stability)。

第三章 臨床試驗審查基準－非臨床試驗

壹、緒論

一、一般原則

非臨床試驗的主要目的是為了提供基因治療製劑充足的資訊，以便評估此類產品用於人體之風險及效益。

非臨床階段的法規要求會因為基因治療製劑的獨特性及多樣性而有所變動。這些獨特性及多樣性包括產品所含之轉殖基因或其他重組核酸序列潛在的體內作用、載體骨架（即病毒、細菌或質體產生之序列）以及賦形劑〔包括任何所使用的攜帶子（carrier）或支持性醫療器材〕等，皆會影響基因治療製劑在非臨床開發之要求。

基因治療製劑非臨床開發的性質與程度，須依據基因治療製劑的種類和可獲得的相關模式、臨床用途、臨床目標族群、預期的給藥途徑和治療方案等考量而決定。非臨床開發可依風險為考量，設計合適的評估指標，並應基於對載體之瞭解來選擇合適的對照組別（例如使用沒有轉殖基因的載體、空載體，或含無功能轉殖基因之載體來作為控制組）。試驗設計還應考慮轉殖基因對於動物品種的特異性、病毒載體的感染性、動物生理差異性，亦可考

慮使用與人體疾病型態相類似的動物模式，將有助於提供進入臨床試驗前所需的安全性及有效性資料。若產品的開發過程中，執行非臨床試驗的試驗物質與臨床使用的產品有所差異，則應註明其差異處，並討論這些差異的可能影響。

非臨床試驗可以個別獨立執行，若可行，亦可以合併試驗方式執行。

一般而言，建議使用相同的動物模式進行毒理試驗和藥物動力學試驗，尤其當觀察到載體相關的毒性訊號時，更應使用相同的動物模式。若認為重要且需監測任何變化者，可於試驗設置期中犧牲組（interim sacrifice groups），例如在發炎反應最強烈時（例如腺病毒載體）或當基因表現程度達最高時，應考慮設置期中犧牲組，以利即時觀察。

當基因治療製劑與醫療器材結合使用時，其醫療器材應遵循醫療器材適用的相關法規；根據過去關於傳輸裝置及（或）賦形劑的經驗多寡，可能需要執行相關非臨床試驗來探討這些裝置或賦形劑對於基因治療製劑活性的貢獻程度。

執行樞紐性非臨床安全性試驗（pivotal non-clinical safety studies）時，應遵循藥物非臨床試驗優良操作規範（Good Laboratory

Practices, GLP) 執行，若因科學上之限制無法符合時，建議可先與法規單位討論是否有合理的替代方案，再進行試驗之規劃與執行。

二、特性分析

在進入到非臨床開發階段前，申請者應審慎考量產品品質的發展程度，並給予產品 (Drug Product, DP) 適當的定義。非臨床試驗使用的產品應經過充分的特性分析，以確保非臨床試驗所使用的材料足以代表未來用於人體臨床試驗的產品。在開發過程中，任何製造過程和試驗物質的變動，都應考量其對於未來使用動物試驗結果推論人體風險時的潛在影響。任何核酸序列的變動或是任何影響最終產品特性的其他序列變動，均可能會產生額外的安全性評估需求。此外，應說明所選用之評估方法的科學依據。

三、分析方法

非臨床試驗使用的分析方法應使用含有合適基質的試驗物質進行確效。申請者應說明選擇這些測定方法之理由，並說明其專一性和敏感性，亦應以適當的確效程序，訂立所用測定方法的敏感性限制範圍。

當開發非臨床試驗所使用的分析方法時，應先謹慎考慮如何取得細胞或組織，同時也應考慮準備用於測定之樣本的品質和合適性。

例如，在使用核酸擴增檢測法(Nucleic Acid Amplification Testing, NAT)的情況下，由於此方法的專一性取決於引子(primers)和探針(probes)的選擇與設計、反應條件以及偵測方法，因此應仔細說明選擇此引子和探針序列的理由。且由於核酸擴增檢測法具有高敏感性，很容易發生交叉汙染以及假陽性結果，因此需要特別謹慎。此外，亦應說明測定方法的細節，並說明使用哪些陰性與陽性對照物。

當以 NAT 為基礎的測定方法來測量嵌入型載體之載體套數(copy number)時，其偵測極限和定量宜以「載體套數/基因體(vector copy number/genome)」的單位來表示；對於附加型載體(episomal vector)的偵測極限和定量則宜以「套數/ μg 分析的宿主細胞 DNA (copy number / μg host cell DNA analyzed)」的單位來表示。

若進一步開發出原位核酸擴增和雜交技術，或許可在細胞或組織內，明確定位載體 DNA 或轉殖基因之位置。

貳、動物物種/模式的選擇

非臨床試驗應使用最適當且可取得之藥理相關體外 (*in vitro*) 及體內 (*in vivo*) 試驗來執行。有關非臨床開發的理由和試驗模式挑選的標準，應在非臨床概述中論述並說明理由。若缺少可滿足所有非臨床試驗要求的合適動物模式，申請人應基於科學方面的理由，盡可能開發此類模式，或使用能適當反映疾病狀態的體外模式進行評估。

選擇動物模式時應考慮以下幾個觀點：

1. 應考量欲使用的載體，是否能在所選擇的動物物種/模式中有效的轉染 (transfection) /轉導 (transduction) 和感染 (infection)。以複製缺陷型病毒為載體者，動物模式應對病毒感染具有敏感性；若以有完整複製能力病毒或微生物為載體者，選擇動物模式時應考慮其在動物體內之複製能力。至於被歸類為基因治療製劑的溶瘤病毒 (oncolytic viruses)，為了在非臨床試驗中評估病毒在腫瘤細胞內複製的作用，可能須使用免疫缺陷或免疫缺損之異種腫瘤移植 (tumor-bearing human xenograft) 或同種腫瘤移植 (syngeneic animal tumor model) 動物模式。

2. 應檢視病毒或細菌的受體(receptors)在動物模式的表現量和組織分布，受體的表現量和組織分布可能會影響宿主的攝取效率以及載體在細胞和組織的游離程度。根據載體的類型，基因治療製劑可能會具有組織特異性或是藉由其他方式達到組織表現特異性，包含在組織或器官中的選擇性表現、選擇性傳染細胞/組織或選擇性表現治療基因。當為這些基因治療載體選擇動物模式時，應對所採用的動物模式和人體之間的組織特異性進行比較，並提供論述和合理性說明。
3. 轉殖基因之調控因子的活性與轉殖基因如何調控組織表現特異性及表現程度。
4. 應檢視所選用動物模式對於轉殖基因產物之生物反應，包含其目標基因的表現、分布、受體結合能力與佔據受體的比例、功能性結果等（包含細胞訊息傳遞及相關基因的調控）。
5. 應考量所選用動物的免疫狀態、免疫反應及既存的潛在免疫力。在選擇動物模式時，亦應考量到人體的免疫狀態和既存免疫力。攝入之核酸於生物體內之持久性和清除率

(clearance) 大多取決於免疫監控機制，因此，動物模式的免疫狀態應盡可能模擬病人的免疫狀態。對於用來驅動基因治療製劑表現的原生病毒 (parental virus) 或細菌，應考量試驗動物對它們所產生的免疫反應。若在適當的情況下，任何會潛在影響試驗結果或其解讀者皆須進行評估。可預先對動物給予載體，藉此模擬人體內既存免疫力對載體 (vector vehicle) 及 (或) 載體基因產品 (vector gene products) 的情形。

6. 應考量所使用的動物基因/基因產物是否與治療基因/基因產物具有同源性。例如，若是表現人類細胞激素，最好能測試該細胞激素對於動物受體及人類受體結合之親和性是否具有差異，評估此細胞激素在動物所誘發的藥理反應是否與人體內預期作用相似。
7. 若使用基因轉殖動物來模擬不同的人類疾病，須適當討論轉殖基因動物模式的選擇依據。
8. 在必要的情況下，應檢視動物模式的代謝及其他藥物動力學參數。依據基因治療製劑的特性、投予途徑，或是選用的傳輸系統 (例如腦內給藥) 可能需要使用大型動物或疾

病動物模式，來模擬基因治療製劑在臨床條件下的生體分布情形。

9. 應考量基因治療製劑的個別成分，在所選用物種體內的生物特性，尤其是應考量在試驗動物中，該治療產品各組成成分的劑量與投予體積的安全性。
10. 應檢視病毒/載體在所選用生物模式體內的主動與（或）被動分布，以及基因治療製劑（或基因治療製劑部分組成）與宿主內源性病毒發生重組的可能性。

若單一個動物模式無法同時滿足上述所有層面的考量，則應採用多種不同的動物模式來進行這些試驗。所選擇的動物模式可包含野生型、免疫缺陷、基因剔除/增加（knock-out/knock-in）、自然發生基因變異的動物模式、人源化或基因轉殖的動物，動物實驗亦可考慮使用疾病模式或同源模式。

小型啮齒動物模式包含轉殖基因、基因剔除和自然疾病模式等，或許可為具相關性的模式，但應考量此類動物有體型小及壽命短之限制。另需注意每一劑量組的動物隻數會影響毒性偵測能力，若樣本數過少，可能無法觀察到低發生率的毒性事件（無論此事件嚴重與否）。樣本數量所導致的限制，如同在非人類靈長

類試驗中經常會發生的情況，或許可藉由增加臨床監測頻率和延長監測時間來部分彌補。一般情況下，試驗應同時使用兩種性別的動物，若僅使用單一性別，則應提供合理說明。為加強安全議題的評估，應特別考量對照組的樣本大小，尤其是當所選用的動物模式/物種的歷史資料缺乏，或相關資料極為有限時，更需考量對照組的樣本大小的問題。

參、藥理學

一、主藥效學

概念驗證試驗

概念驗證試驗（proof of concept studies）之目的係瞭解基因治療製劑使用於目標病人群體之基本原理與可行性。概念驗證試驗應產出可支持具潛在臨床療效之非臨床證據，或至少提供相關生物作用或分子作用機制之資訊。當使用體外（*in vitro*）或體內（*in vivo*）試驗進行概念驗證試驗時，應選用合適物種或模式執行，於此物種或模式中，其基因治療製劑的核酸序列需可到達目標器官或細胞、表達預期之基因產物，並產生預期功能，藉以探討基因治療製劑的最有效劑量且無毒性作用之劑量範圍。此外，同時亦應考

量動物體內是否可能存有與該基因治療製劑互相抗衡的機制而使其功能減損。若有助於概念驗證，鼓勵使用同源動物模式 (homologous animal models) 來探索基因治療製劑可能的生物作用。

概念驗證試驗應探討之說明如下：

- (1) 所設計之核酸序列是否表現出正確的轉殖基因產物、表現時間、生物活性、作用機制等相關治療作用，以及藥理學有效劑量範圍（即最小有效劑量和最佳生物劑量）；
- (2) 基因治療製劑到達作用目標部位、組織、細胞及其表現程度與調控；
- (3) 給藥途徑；
- (4) 相對於疾病進程所設計之合理給藥時機與給藥方案設計；
- (5) 基因治療製劑其基因表現程度、功能活性與療效，提出可作為選擇並測試與疾病和安全性相關之評估指標等項目。

若預期基因治療製劑作用機制係藉由嵌入宿主染色質達到其療效，因嵌入表現的載體〔例如 γ 反轉錄病毒 (gamma retrovirus) 及慢病毒 (lentivirus)〕會留在染色質環境中，進而影響到宿主之表觀遺傳調控機制 (host epigenetic regulatory machinery)，在設計載體

時，應探討表觀遺傳調控機制對於最終基因治療製劑療效和安全性之影響。因此，鼓勵在早期研發階段利用離體 (*ex vivo*) 試驗分析此類產品於宿主基因體中之分布，將可依據目標細胞的基因體和表觀遺傳狀態，提供關於「宿主影響載體」的重要資訊。

二、次藥效學

基因治療製劑可能會因為分布至目標以外的其他解剖部位/組織/細胞，產生其他生物活性物質或合成出非預期的基因產物，而造成非預期的生理作用，這些可能性皆應進行適當之評估。如果基因治療製劑合成出異常或非預期之基因產物，且無法由品質管控方式排除，則應探討此異常或非預期產生之基因產物可能之生物影響。

三、安全性藥理

安全性藥理試驗可依據該產品的生體分布資訊而評估是否需要執行。若評估結果為需執行，投予劑量建議參考 ICH S7A，於相當於治療劑量或以上的劑量區間，探討基因治療製劑潛在的不良藥效作用對生理功能的影響，此生理功能包括中樞神經系統、心血管系統、呼吸系統和其他與該產品生體分布相關的系統。

原則上應執行適當的安全性藥理學試驗，若未執行，應提供科學性理由說明，並得到主管機關的同意，始得減免。評估是否可准予免除之依據將視個案具體情況而定，包括對病人的預期給藥途徑、載體類別及其現有可獲得的資訊及其生體分布，以及轉殖基因產物的作用機制等資訊。可運用風險為基礎的方法進行上述評估。

安全性藥理試驗通常為單一劑量給予。因此，安全性藥理試驗的評估指標可與單一劑量毒性試驗和生體分布試驗（例如來探討藥品的持久性）合併同時監測。然而，若基因治療製劑投予後，藥效作用需要較長時間才能發揮，或者重覆劑量試驗以及人體使用的結果顯示會有安全藥理作用的疑慮，則安全性藥理試驗的期程設計應據此進行適度調整。

肆、藥物動力學

傳統標準的藥品吸收、分布、代謝和排泄試驗未必可完全適用於基因治療製劑。基因治療製劑之藥物動力學試驗應著重其分布、持久性、清除與驅動（mobilization），且應探討其種系傳遞（germline transmission）之風險。此類試驗可與非臨床安全性試驗做整合。

藥物動力學試驗是以偵測所使用的核酸（載體及/或轉殖基因）為基礎，應分析包括目標器官組織在內的所有相關的器官和組織。此外，應針對其表現之基因產品，探討其持續時間與表現和（或）作用的位置等相關藥物動力學行為。

針對基因治療製劑之藥物動力學試驗，應使用經過確效的方法（例如核酸擴增檢測法）來探討其組織分布和持久性。申請者應說明選擇這些檢測法的理由，以及其專一性和靈敏度。

一、生體分布（Biodistribution）試驗

（一）生體分布、持久性和清除

生體分布試驗之劑量應模擬臨床劑量，並設定適當之安全係數，例如於動物模式中使用10倍的臨床劑量。給藥途徑和給藥方案應能代表臨床使用的情況。此外，可藉由在單次給予基因治療製劑後評估其生體分布的方式，進一步瞭解其清除狀況。在特定情況下，可使用全身性最高暴露濃度的給藥途徑（例如靜脈注射等）執行生體分布試驗，以模擬基因治療製劑於生物體最大暴露之情況，即「worst-case-scenario」。

基因治療製劑應以能夠確認在目標和非目標位置的最高分布程度，以及隨著時間的清除變化狀況為目標，來選擇生體分布

試驗之取樣時間點和頻率。生體分布試驗之觀察時間應持續至偵測不到任何訊號或訊號維持長期穩定為止。取樣時應採集所有相關器官和組織，以探討基因治療製劑存在和清除的情形。

若以核酸擴增檢測法來偵測非預期的組織/器官中所投予的核酸序列，則應依個案考量，選擇使用反轉錄聚合酶鏈鎖反應法〔Reverse Transcriptase(RT)-PCR〕、免疫學測定(immunological assays)和(或)偵測功能性蛋白質等合適的測定方法，進一步瞭解基因產物的表現量和持續時間。

若使用具複製能力之載體，為評估被偵測到的核酸是否具有感染潛力，以核酸擴增檢測法進行檢測到非目標位置中的病毒序列之後，應另進行適當的定量感染性試驗。前述之感染性試驗方法應經確效，且申請者應說明該試驗方法具有足夠的專一性與靈敏度。生體分布試驗之設計應涵蓋載體於體內複製後所造成的第二次病毒血症。若載體/病毒無法在所使用的動物模式中進行複製，應藉由重複投予基因治療製劑的方式來模擬載體複製情況。在設計生體分布試驗時，應考慮到基因治療製劑任何可能影響生體分布的特殊性質，例如潛伏、再活化或載體DNA之驅動。

當已有相同載體但轉殖基因不同之基因治療製劑的生體分布資料時，若申請者可將這些資料與擬開發之基因治療製劑適當地連結與銜接，則可依個案考量對於擬開發基因治療製劑生體分布試驗之需求與內容。

(二) 預期之基因體嵌入

若要以病毒整個載體（例如反轉錄病毒或慢病毒）或載體部分組成 [例如含有反轉錄病毒 (retroviral) /慢病毒 (lentiviral) 部分基因序列的嵌合載體] 嵌入宿主基因體中，應使用離體組織培養 (ex vivo tissue culture) 或體內嵌合試驗探討此載體特性。除非提供合理的科學性說明可減免之合理性，否則嵌合試驗應至少（但不限於）探討（1）嵌合發生的組織/器官。不僅要監測預期作用之目標，也應將所有觀察到具有生體分布的組織納入分析。（2）於宿主基因體中，嵌入載體的套數以及其嵌入的位置。應提供潛在可能之脫靶嵌入事件 (off-target integration events) 的發生頻率和位置。（3）所嵌入載體的結構完整性 [尤其是與轉殖基因調控相關的基因序列 (transgene expression cassette of interest)]，以偵測任何可能基因重新排列/重組事件。（4）隨著時間演進，載體嵌入基因體後的穩定性與平均

載體套數的持久性。(5) 預測靶向目標 (on-target)、脫靶 (off-target) 的嵌入情形。

測定載體存在及其在基因體套數之適當測定方法，可包括核酸擴增法和定序測定。應說明任何所使用之嵌入測定法的理論基礎，包括該方法的可能缺點，此外，申請者應提供該測定方法的靈敏度極限，以及所使用的正負對照組。除了探討將核酸嵌入宿主細胞基因體的可能性，可藉由使用適當的細胞株和初代目標細胞進行體外試驗，研究嵌入事件對細胞型態、功能和行為造成的改變，以瞭解其致癌的可能風險。

若核酸具有嵌入之性質，應將之視為嵌入型載體需進行規範。若使用非嵌入型載體，但卻有長時間維持其基因表現之跡象，申請者應評估是否可能發生了非預期的嵌入。基因治療製劑可依個案情況，以風險考量為基礎的方式來探討基因治療製劑嵌入基因體情形，並提供充分的理由與說明。

(三) 種系傳遞 (Germline transmission) 之風險

需探討施予病人/受試者某些基因治療製劑時，是否會造成載體DNA在親子間的垂直種系傳遞。除非能提供符合科學的合理性說明，例如臨床適應症和/或病人族群顯示無需進行此類

研究，否則應從生體分布程度的角度探討種系傳遞之風險（生殖腺的訊號、配子的訊號、精液分離試驗和嵌入分析）。

二、脫落 (Shedding)

脫落的定義係載體/病毒藉由分泌物和/或排泄物散播 (dissemination)，此現象應在動物模式中探討。脫落不應與生體分布混淆（生體分布係指載體/病毒從施藥位置於體內散播）。脫落試驗可納入生體分布試驗或其他非臨床試驗中一併觀察。

脫落試驗的目的是要決定病毒/載體的分泌/排出之特性。可藉由非臨床脫落試驗所取得的資訊，來預測病毒/載體在人體中脫落的可能性和程度，以此作為臨床脫落試驗的設計指引。如果已知基因治療製劑的可能脫落模式，則無須進行額外的非臨床評估。因為提供這些信息足以協助設計人體的脫落試驗。

三、其他藥物動力試驗

基因治療製劑應探究任何器材或結構組成所造成的藥物動力學特性。例如，應研究用於輸送非病毒或病毒載體的材料（例如陽離子脂質複合材料和用來控制載體釋出的材料）之分布和清除。在可行的情況下，也應分析這些成分對載體於時間和空間的分布影響情況。

伍、毒理學

基因治療製劑的非臨床安全性評估，有助於探討其在臨床試驗可接受的風險—效益比（risk-benefit ratio）。安全性評估應足以完整鑑別、描述和量化潛在之局部和系統性毒性、發作時間（急性或延遲）、毒性回復的可能性，以及不同劑量觀察到的毒性結果。應針對完整的基因治療製劑（病毒/載體顆粒/傳輸系統、核酸序列等）和轉殖基因產物進行毒性評估，以確認載體分布與持續性、載體感染/轉導/轉染，及治療基因和載體基因的表現和生物活性所造成非預期的後果。若可行，應評估其引發免疫反應和非預期藥理作用。

非臨床安全性評估的範圍和安全性試驗之設計，不僅應依產品類型，還應取決於基因治療製劑的組織向性（tropism）、生物分布和持久性。與野生型病原體基因重配（reassortment）和/或重組的可能性亦應納入考量。毒理試驗採用的劑量、投予途徑和方法應足以代表臨床使用情況，此外，於動物體內探討合適的安全係數是執行毒理試驗重要的目的之一。在所使用的動物模式中，應選擇適當的觀察終點與生物標記以預測毒性。另根據基因治療製劑的特性，應考量增加可模擬造成全身性最高暴露濃度的給藥途徑（例如靜脈注射等）組別。

針對最終產品中潛在不純物（例如任何未預期的異常基因產物和載體轉譯蛋白所造成之毒性結果），申請者應考慮納入相關指標，採用以風險為基礎的方法進行安全性評估。

一、毒理試驗設計

應使用對基因治療製劑具有與人類相似生物反應的動物物種進行毒理試驗，並需一併提供說明選用該物種的理論依據。可從自家或相似產品之藥理概念性驗證試驗所獲得的結果，作為選擇毒理試驗劑量和給藥期間之參考，並綜合這些非臨床數據作為臨床試驗設計的指引。一般而言，單一和重覆劑量試驗使用一相關物種可能即足夠，除非另有特殊的安全考量，方需使用第二個物種之動物。與傳統的毒理試驗一樣，應說明毒理試驗劑量選擇與設計的依據，劑量組應盡可能涵蓋擬執行臨床試驗的給予劑量與頻率，若無法涵蓋則應提出符合科學性之說明。若需要時，建議在試驗中設置一衛星（satellite）對照組，以幫助蒐集所選用物種的歷史資料。

若基因治療製劑的臨床使用為單次投藥，應進行延伸性(extended)單一劑量毒理學試驗，適當延長投藥後的觀察時間，並納入「重覆劑量毒性試驗」所有的評估指標，例如，剖檢、組織病理學結

果、臨床生化血液、毒性持續時間與可逆性等觀察，並應著重於與該基因治療製劑特性相關的評估指標，及其他與基因治療製劑特性相關且可能具潛在毒性的觀察項目，包含體液性與細胞性的免疫反應、載體生物分布與持久性、重要器官/系統安全性觀察、以及輸入過程可能的潛在性風險等。另外，應考量在生體分布的高峰期設置期中犧牲之組別。基因治療製劑的單一劑量毒性試驗不應類似急性毒性試驗設計，不應以動物的死亡作為最終評估指標。

若基因治療製劑人體使用採多次給藥方式，則應進行重覆劑量毒性試驗，給藥的模式和時程規畫應能適當地反映臨床之給藥方式。若於人體(非在動物模式中)單次給藥，就足以使核酸序列及(或)其產物發揮長時間的功效，而動物體內載體的複製能力無法反映人體的狀況時，則應考慮於動物進行重覆劑量毒性試驗來模擬人體情況。

與其他生物藥品相較，基因治療製劑在單一劑量或重覆劑量試驗的持續時間，可能會比其他生物製劑的標準毒性試驗更長，這取決於基因治療製劑的持續性、表現程度和位置以及預期之潛在風險等因素。申請者應根據載體和轉殖基因表現的持久性，以此說明設定這些試驗的時間長短以及恢復期時間長短的理由。

基因治療製劑在毒理試驗的給藥途徑，應盡可能模擬臨床試驗使用方式。預定用於臨床試驗的傳輸/醫療器材（delivery/medical device），應於毒理試驗一併評估。若此傳輸器材未能於毒理試驗中評估，則需合理說明。關於此傳輸器材及藥品輸送過程的安全性可能需要額外的非臨床試驗評估。

二、基因毒性（Genotoxicity）

依據基因治療製劑的性質，可能會需要進行基因毒性試驗。可藉由下述之三步驟方法，達成執行這些試驗的目的：

1. 探討是否發生基因體修飾之現象，並偵測後續任何異常的細胞行為。
2. 評估嵌入性突變所導致的毒性議題，並探討造成這些毒性的作用機轉；還應評估脫靶修飾（off-target modifications）而導致的毒性問題。
3. 鑑別並描述基因體嵌入位點之特性，並評估轉殖基因和鄰近序列可能產生的交互作用。

（一）嵌入性突變

基因毒性議題包括嵌入性突變和後續的致癌作用等，應於合適的體外/體內模式中審慎評估。倘若出現陽性結果，則應在基因治療製劑首次投予至人體之前，進行額外的測試，以確保此產品之安全性。應根據擬開發與使用之產品類別，明確說明可達成上述目標的試驗計畫。

標準的基因毒性試驗一般較不適合用來評估基因治療製劑之基因毒性風險，但若須釐清特定不純物或產品傳輸系統中成分（如複合材料）的基因毒性風險疑慮時，仍可能需要執行標準的基因毒性試驗。需特別注意的是，可能會需進行ICH S2(R1)中某些類型的基因毒性測試，以利基因治療製劑首次投予至人體之前，排除任何可能歸因於最終產品配方中可能引發基因毒性作用之成分。

載體DNA嵌入基因體所導致的嵌入性突變可能會造成多種情況，例如改變宿主基因的表現（活化/抑制）、使宿主基因失去活性（破壞了open reading frame, ORF）、活化/抑制鄰近的沉默/活化基因、或是轉譯出新類型的活性融合蛋白等。嵌入性突變可能造成多種不同的結果，這可能不會影響細胞生長，也可能會造成細胞的生長優勢或劣勢。為了探討此類基因修飾所誘發的任何不良反應，建議可藉由體外及（或）體內試驗探討嵌

入性突變的影響。應考慮在已建立之細胞株、初代細胞或動物模式中執行基因毒性試驗，藉此評估基因治療製劑的安全性。

(二) 載體特定的考量

若是載體會嵌入宿主基因體以表現相關之轉殖基因，應探討其嵌入宿主基因體可能產生之風險，無論是依循預期的嵌入表現方式〔例如當使用反轉錄病毒/慢病毒（retroviral/lentiviral）載體時〕，或是預期不會發生嵌入（例如當使用腺病毒、腺相關病毒或質體載體時），皆應進行研究及討論。

對於具有嵌入宿主DNA能力的基因治療製劑，依據最終產品的投予方式（局部投予或系統性投予）、標的目標組織/器官，以及目標細胞的生物狀態，來決定是否需要進行基因毒性試驗。即使基因治療製劑所含之活性藥物成分預期不會嵌入宿主DNA，仍須視產品特性決定是否需要進行體內或體外試驗以偵測嵌入情形之發生，以排除任何安全性的疑慮。例如：若治療基因的表現會持續很久時間，則應謹慎探討基因治療製劑的持久性，以及DNA載體嵌入基因體的可能性。如果確定有嵌入情形，則應確定嵌入之套數和鑑別嵌入位置，並監測後續不良的生物效應和細胞行為變化。另外，根據所使用的載體特性（例

如，使用會嵌入人類基因體之載體），在首次投予基因治療製劑至人體之前，可能需要進行延伸性之體外及體內試驗，來說明該產品是否有因嵌入造成腫瘤形成（insertional oncogenesis）的問題。

僅依據載體的選擇和細胞的嵌入總量（total integration load），是無法用來預測基因治療製劑的基因毒性風險，需對帶有基因毒性嵌入風險的細胞是否仍然在體內形成，以及細胞過度增生是否最終會惡化成腫瘤的所有因素，來做全面通盤瞭解。因此，必須將有關載體嵌入人類基因體及其可能產生之相關風險列入考量。

由於微生物不太可能造成DNA轉移和嵌入宿主細胞基因體的安全問題，因此針對噬菌體（bacteriophages）和基因修飾之微生物（genetically modified microorganisms；如乳酸桿菌、沙門氏菌），可無須考量其是否具有基因毒性。

三、致腫瘤性（Tumorigenicity）

基因治療製劑通常不須進行啮齒類標準全生命週期之致癌性試驗。然而，根據不同的產品類別，仍應藉由相關的體內/體外模式，檢

測腫瘤訊號、致癌基因活化或細胞增生等指標，以探究基因治療製劑致瘤和致癌的可能性。

應根據證據權重（Weight of Evidence）方法，來決定是否需要探討基因治療製劑的致瘤或致癌風險，並且亦應將以下幾個結果納入考量：〔可同時參考 ICH S6（R1）及 ICH S1 致瘤性試驗相關建議內容執行〕

1. 有關藥物作用標的或訊息傳遞路徑的藥理知識（例如，轉殖生長因子基因的爭議）；
2. 作用標的或訊息傳遞路徑相關的作用機轉，及已知的次藥效學特性是否與致癌性試驗的結果相關，或是否與預測人體潛在致癌基因有關；
3. 基因嵌入性突變的試驗結果；
4. 重覆劑量毒理試驗的組織病理學評估，是否出現細胞增生（cellular hyperplasia）、瀰漫性及（或）局部細胞增生、持續性組織損傷和（或）慢性發炎、癌症先期變化和腫瘤等組織病理學結果；
5. 干擾荷爾蒙之證據；

6. 免疫抑制（免疫抑制是人類的腫瘤致病因子之一）；
7. 特殊的試驗和評估指標（特殊的染色技術、新的生物標記、或其他有助於解釋或預測動物及人類致瘤性機轉的新穎技術或替代測試體系）。

四、其他毒性試驗

免疫原性和免疫毒性（Immunogenicity and immunotoxicity）

基因治療製劑傳輸至體內時，可能導致先天性免疫反應（系統性的細胞激素上升、多重器官發炎）與適應性免疫反應（產生抗體對抗載體和轉殖基因產物、毒殺性T淋巴球攻擊基因轉殖之細胞、分泌細胞激素的T淋巴球，針對轉殖基因進行攻擊）。許多因素會嚴重影響人體對於基因治療製劑的先天和適應性免疫反應，例如來自宿主的因素（宿主過去曾暴露於病毒和/或轉殖基因產物、免疫系統的狀態等）、基因轉移的步驟（傳輸系統的類型、轉殖基因的傳輸途徑、標的作用組織）、轉殖基因傳輸載體（病毒載體的類型、血清型、載體劑量和轉殖基因啟動子的種類、存在選擇標記或自殺基因可能具有潛在免疫原性）和轉殖基因產物本身。

申請者進行非臨床開發時，應將這些因素都納入考量。

應特別注意補體 (complement) 的活化及其後續影響，亦應考量交叉反應或旁觀者效應引起的自體免疫 (bystander autoimmune responses) 風險。若重覆劑量的投藥會引發補體活化，則應於動物和人類血清中探討補體活化的相關指標。

五、生殖及發育毒性 (Reproductive and developmental toxicity)

生殖/發育毒性之風險，需要根據產品類型、作用機制、分布和脫落特性以及病人族群來綜合評估。可依據 ICH S5 最新版指南所提供之生殖毒性檢測一般性原則進行評估。若無法確定基因治療製劑是否具有種系傳遞的風險，則應進行繁殖試驗 (breeding studies) 來直接評估在親代所投予的核酸是否會傳遞至子代，並且，當執行此試驗時，應謹慎考量精子生成和卵母細胞成熟的時程。此外，除非有根據產品類型提供合理的說明，否則皆應進行胚胎發育和週產期前後之毒性試驗，以及種系傳遞試驗。

同樣地，若具有生育能力的女性將暴露到基因治療製劑，也必須根據其臨床用途和臨床使用族群，進行胚胎發育和週產期前後生殖毒理試驗，以探討此類產品對胎兒的影響 (例如局部細胞激素產生的胎盤轉移情形)。此類動物試驗可能不需於早期開發階段即執行，然而仍應提供合適的安全性評估，並於臨床試驗採用適

當的安全性設計，保護受試者；並於執行晚期臨床試驗前提供這些生殖毒性試驗之試驗結果。

依據 3R 原則，在任何情況下，均應彈性地採用科學、經確效，且可有效轉譯成臨床結果的測試策略。雖然常規非臨床生殖毒性試驗對於某些產品類型可能缺乏預測性，但對於人體風險評估而言，闡述這些非臨床生殖毒性試驗的限制、不確定性和數據缺口仍十分重要。

六、局部耐受性 (Local tolerance)

依據基因治療製劑不同的類型、投予途徑和流程（例如，眼內投藥、肌肉注射、靜脈注射、腫瘤內注射…等），局部耐受性試驗對於特定基因治療製劑可能是必要的執行項目。假使已在其他動物試驗中使用擬用於臨床之劑型和給藥途徑並評估過局部耐受性，且試驗結果經法規單位評估後可接受，則無需再分別進行試驗。若需要的話，局部耐受性試驗可在一般毒性試驗中評估。

陸、藥品交互作用

如同其他藥品一樣，應依個案情況，探討基因治療製劑併用其他藥品之影響，包括是否會影響載體的轉染/轉導/感染、載體向性和效

果、治療基因之表現、表現蛋白的生物活性，以及載體的組織分布。舉例來說，合併免疫抑制劑的治療可能會改變載體/病毒的清除率，因此應針對此點有所描述。此外，基因治療製劑若會造成肝臟發炎或細胞激素釋放情況，可能會影響併用藥品在肝臟的代謝。例如，如果預期併用免疫抑制劑會改變載體/病毒的清除，或者如果基因治療製劑引起肝臟炎症或細胞激素釋放，並可能影響併用藥物在肝臟的代謝，則必須針對藥品交互作用進行探討。

柒、藥物非臨床試驗優良操作規範（GLP）

根據藥物非臨床安全性試驗規範的規定，所有非臨床安全性試驗均應遵循 GLP 進行。但由於某些毒理學評估可能無法完全符合 GLP 規定。例如，有時需於在疾病/損傷動物模式的療效驗證研究中收集基因治療試驗藥品的毒理學數據，可能需要獨特的動物照護和專業技術知識，無法由 GLP 試驗單位提供。同樣地，毒理學試驗中的某些終點指標，例如載體生物分布、細胞動力學或特定免疫終點指標，GLP 試驗單位可能無法提供所需的檢測儀器或技術。一般而言，體外和體內藥理學/概念驗證的試驗研究不需要遵循 GLP，但如果計畫在這些試驗中同時蒐集安全性相關評估指標（例如組織病理學），則建議依照 GLP 規範，檢測試驗中的這些安全性項目。

捌、首次人體臨床試驗申請應提供之非臨床試驗

對一般藥品而言，其非臨床試驗之項目與內容係隨著臨床試驗的進展逐步增加。然而，為支持首次人體試驗起始劑量之安全性、生物活性、給藥途徑與給藥策略設計之合理性，並提供臨床安全性監測設計之參考，基因治療製劑於首次暴露人體之前，即需要完成並提供多項主要的非臨床試驗數據與報告送審。基因治療製劑首次進入人體試驗前，至少應提供之非臨床試驗如下：

1. 概念驗證試驗。
2. 安全性藥理試驗或評估（中樞神經、心血管、呼吸系統）。
可合併於毒理試驗中同時評估安全性藥理相關之評估指標。
3. 生體分布試驗（包括生體分布、持久性和清除）。雖然在早期臨床試驗階段，可接受尚未經過確效的偵測方法，但仍須提供可支持此方法具有充分專一性及敏感性之資訊。
4. 脫落試驗或評估。針對新穎的基因治療製劑，脫落試驗須於首次進入人體前提供。
5. 單一/重覆劑量毒性試驗。於設計良好之概念驗證試驗中，同時納入合適的安全性評估指標，是可接受的。若欲規劃於概

念驗證試驗中同時觀察安全性，建議與法規單位申請諮詢，
經同意後再執行為佳。

6. 基因毒性試驗：應提供嵌入性突變試驗或評估。

7. 致腫瘤性試驗或評估。傳統標準的嚙齒類動物終身致癌性試驗通常不適用於基因治療製劑。然而於早期臨床試驗階段須依產品特性（例如，載體特性與轉殖基因之生物活性及表現情形…等），說明試驗產品的致腫瘤風險性。

8. 免疫原性和免疫毒性。

上述試驗或評估項目為基因治療製劑首次進入人體試驗前必要提供，除此之外，仍可能會依個案情況與臨床試驗進展，要求其他的非臨床試驗項目，或是於臨床試驗階段設計合適的保護措施。原則上，於早期臨床試驗階段未完成之非臨床試驗，需於執行樞紐性臨床試驗前提供完整試驗報告，或者提供合理的論述，並經法規單位審查同意後，方可減免。此外，應於臨床試驗計畫或仿單資訊中提供相關的安全性資訊及保護措施。

第四章 臨床試驗審查基準—臨床考量

壹、一般性考量

基因治療臨床試驗跟其他藥品的臨床試驗原則相同，皆須依照藥品優良臨床試驗準則執行，且須根據所宣稱之適應症特性與各研發階段目的來設計。

由於基因治療的複雜性與可能風險，開發新的基因治療製劑時，其相對於現有傳統治療的可能優勢與相對風險，應分別討論與說明。

應依照野生型病毒/細菌的組織向性 (tropism)，合理說明選擇載體的理由，因為此選擇會受到適應症、治療概念以及目標器官/細胞的影響。

具有嵌入 (intergration) 能力、基因編輯 (genome editing) 活性、載體具複製能力可造成持續感染，以及具潛伏性 (latency) 或再活化 (reactivation) 特性之基因治療製劑，造成延遲性不良反應的風險較高，也就是不良反應可能在臨床試驗的主動監視期過後才發生，需特別注意長期追蹤觀察 (Long-Term Follow-Up observations, LTFU) 之規劃。所有的臨床試驗都應有良好設計，以評估基因治療的可行性和風險。在無法進行隨機對照臨床試驗的情況下，可能可以接受其他替代方法 (如具有充足文獻之疾病自然史資料或讓病人做為自

身的對照組)，但須提出適當的合理性說明，並討論使用這些替代方法的應注意事項。在臨床試驗設計中未使用對照組時，應根據試驗的目標、所欲探討之疾病和基因治療製劑提供合理說明。

建議申請者在臨床開發的過程當中，盡早發展並於技術上驗證病人監測方法。使用替代性指標來監測臨床療效時（如分泌蛋白質的被取代程度），必須被證實具有臨床意義。

一、病患篩選條件

基因治療製劑的臨床試驗，原則上以特定病人為試驗對象。應該要在治療之前評估病人的免疫狀態，如免疫力不全或免疫力健全，以及病人對該載體的既有免疫力。

二、特殊族群

在開發基因治療製劑時，應考慮到孩童或老年人等特殊族群。例如，孩童和成年病人可能對病毒載體擁有不同的免疫原性（immunogenicity），取決於他們是否先前已與該病毒有接觸。然而，由於基因治療製劑的發展具有適應症和產品專一性，對於應從孩童和老年病人身上獲得多少資料，目前尚無特定準則可供參考。

目標族群可能特別脆弱，像是孕婦、兒童、老人和免疫不全病人。若基因治療製劑在這些族群上有特別重要的潛在臨床價值，且有合適的動物模型存在時，則應提供非臨床開發計畫的有力證據，以支持在這些目標族群使用的安全性。臨床開發計畫需要考慮疾病的流行病學以及欲宣稱適應症族群的特殊性。

若基因治療製劑的適應症特別針對孕婦，即在孕期中使用，應謹慎進行母體和胎兒的產前監測；此外，也應針對母親與孩子進行產後的長期性追蹤。

應特別考量孩童投予基因治療製劑後的長期影響，並應進行適當的追蹤。

貳、藥物動力學試驗

傳統的藥物動力學試驗，也就是吸收、分布、代謝和排除等特性，通常不適用於基因治療製劑的開發，但這些試驗在某些特定基因治療製劑可能是必要的（例如該基因產品為分泌至血液循環中的蛋白質）。

原則上在開發過程中應進行以下試驗：

1. 基因治療製劑的排除通常需要藉由脫落試驗（shedding studies）來說明。除非根據產品類別提出合理理由，否則都應探討載體的脫落及傳播至第三者的風險，並進行環境風險評估。
2. 若可行，建議可探討基因治療製劑在體內的散播（dissemination），包括探討基因治療載體的持久性（persistence）、清除（clearance）和驅動（mobilization）。另外也建議於生體分布（biodistribution）試驗中額外評估造成種系傳遞（germline transmission）的風險。
3. 應進行基因治療製劑和轉殖基因產物（例如表現蛋白）的藥物動力學試驗。

一、脫落試驗

應進行脫落試驗，探討基因治療製劑的排除。若有觀察到載體脫落的情況時，必須探討載體傳播至第三者的可能性，特別是在相關的情況下（如使用具複製能力的載體/溶瘤病毒時），若不執行脫落試驗則需提出合理說明。這些臨床資料也有助於長期性追蹤計畫的適當規劃。

除了在一般臨床試驗中所要求的避孕措施之外，若有藉由精液脫落的風險，應建議使用兩種以上的避孕方式，其中一種為障礙物避孕法（barrier contraception），直到最後一次陽性精液採樣之後再經過一個精子生成周期以上為止。

二、生體分布試驗

在設計生體散播試驗時（例如選擇目標和非目標器官/細胞/體液時），應考慮到細胞向性、投藥途徑、目標器官/細胞、載體類型、病毒血液動力學、適應症，以及臨床可行性和倫理可接受性。

若基因治療製劑將使用在預期血腦障壁完整性可能受損的臨床情境時，則應特別留意基因治療製劑通過血腦障壁所引發的可能風險。

侵入性技術（如切片、液體採集）不一定總是合乎倫理且可行。因此，在可能狀況下，使用侵入性較低的技術（如影像技術）來研究基因治療製劑的散播，在某些案例可能會有幫助。

對於具有複製能力的基因治療製劑，應特別注意散播的問題。在此情況下，應監測病人受到具複製能力載體活性感染（productive infection）的臨床症狀，或是預期外散播的症狀。

三、轉殖基因產物（如表現蛋白或基因體標誌）之藥物動力學試驗

在適當情況下，應針對治療性的基因產物（即治療性的蛋白質）進行傳統藥物動力學試驗，至少應包括（血漿）濃度和半衰期檢測。在一些情況下，可能也需要對在非臨床研究中觀察到會於體內表現的其他載體基因進行評估。

應探討基因表現量及持續時間與臨床療效/安全性之間的關聯性。

對於以基因表現為機轉的產品，例如酵素和前驅藥品，應考量它們因為受試者基因多型性（genetic polymorphism）而造成在動力學和排除方面的差異。

當使用基因更正（gene correction）或基因加成（gene addition）策略來治療遺傳性疾病時，應考慮並探討基因治療製劑對不同的致病性突變所帶來的治療效果，並應說明殘留之內源性蛋白質對治療性產品可能造成的干擾。例如，具有次形態突變（hypomorphic mutation）或顯性負向突變（dominant negative mutation）的基因所表現之內源性蛋白質，可能會干擾其輸入基因所表現的蛋白產物的半衰期和功能，因此應謹慎考慮這些內源性蛋白質各自的作用。

參、藥理學（pharmacodynamic）試驗

進行藥效學試驗是為了研究治療型核酸序列的功能和（或）表現。在多數的基因治療製劑案例中，藥效學試驗探究基因表現產物的表現和功能（例如蛋白質或酵素，包括前驅藥受到治療性酵素的轉換或引發免疫反應），而在其他狀況中，則可能檢視載體本身的作用（例如重組溶瘤病毒）。

所選用的藥效學標記，應具足夠相關性以展現產品的療效；若欲以藥效學的作用做為療效的替代性指標（surrogate endpoints），則須提供合理說明。所提出的藥效學標記應與臨床效益（clinical benefit）做連結。

肆、劑量選用和時程

原則上應評估劑量效應作用（dose response effect）。劑量的選擇應根據品質和非臨床部分在產品開發過程中的發現，且應與產品的效價（potency）連結。

若無法以傳統的方式取得劑量效應結果，最低有效劑量和最大耐受劑量或許可提供關於暴露量和效應作用之間相關性的資訊。欲使用的劑量應有科學性資料提供合理說明。

基因治療製劑的投藥，應根據產品的特性、持續表現時間、生體分佈、與免疫反應等，提出投藥次數與時程的合理性說明。

伍、免疫原性

若受試者先前曾感染相關病毒，或曾施打相關病毒的疫苗，如腺病毒、痘病毒（天花疫苗），可能會影響基因治療製劑的安全性和療效，因此若假定所選擇的載體可能存在既有免疫反應時，應在開始治療前先評估受試者對載體的既有免疫反應。這些資料可能也決定是否需要進行免疫抑制療程。

對轉殖基因產物的免疫反應可能最終會抵銷基因治療製劑的療效，且可能影響到安全性。因此，產品的臨床開發應包含評估病人對轉殖基因產物的免疫反應，也就是評估是否有對抗表現蛋白的抗體。

若預期會重複投予基因治療製劑，應盡早著手考量最合適的載體（血清）類型，以及給予病人免疫抑制的必要性。必須全面評估病人對載體和轉殖基因產物的免疫反應，這包括評估對載體以及對轉殖基因產物的細胞免疫與體液免疫〔如抗體的力價（titer）與結合性，以及該抗體是否為中和抗體〕。此評估結果，應同時記錄與治

療時間點的相關性，並應提供免疫原性和療效安全性之間相關性的資訊。

陸、療效試驗

試驗的設計（如指標的選擇、對照組的選取、納入/排除條件等等）應遵循現有針對特定治療領域的指引（如癌症、罕見疾病等等）。若有任何不符合指引規範之處，應有合理說明。

理想中應執行隨機分配、具對照的盲性驗證性試驗，然而此並不總是可行，而其他對照（如以歷史資料或病人自身作為對照組）可能可以接受。申請者應提供科學上的合理說明。

療效試驗的設計應能呈現基因治療製劑在目標族群中的療效，以此支持所提出的劑量學，並評估該產品療效的持續時間。

一般而言，療效試驗都必須使用具臨床意義之評估指標來呈現藥品的療效，包括已驗證或普遍可接受的替代性指標（如血友病案例中凝血因子 IX 或 VIII 的臨界值）。某些狀況下，若其他指標有與具臨床意義之結果間的相關性，使用該指標也是可被接受的。然而，需要在長期性追蹤中研究具臨床意義之評估指標。

另外，療效評估的時間點也很重要，基因治療製劑的評估時機可能跟傳統藥品不同，因此應訂定因應的臨床評估時程表。

如果治療的預期結果是轉殖基因產物的長期持續性和功能性（如遺傳性疾病），這應搭配適宜的追蹤期間。考慮到療效可能消失，應明確說明追蹤的設計和持續時間，若是在上市之後才完成追蹤，則應提供正當理由。

柒、臨床安全性考量

應建立安全資料庫，考慮基因治療製劑的載體、轉殖基因產物以及基因轉殖機轉等，於其他產品曾經發生或相關的任何不良反應，列舉並整理於安全資料中，做為非臨床與臨床試驗必要的檢查追蹤項目。

在臨床安全性的議題上，應說明投藥程序的風險，包括投予基因治療製劑的侵入性程序（如多次注射、腦內給藥）、全身或局部麻醉、免疫抑制和化學治療療法的使用等。

若使用醫療器材傳輸或植入合併之基因治療製劑，則應特別注意到臨床試驗和風險評估的設計，且應針對基因治療製劑的預期用

途，評估醫療器材的作用。在仿單上應針對與基因治療製劑一同使用的醫療器材加以說明。

倘使可能發生的預期風險包括晚發性事件（如致瘤性），應執行相關評估以偵測並實施降低該風險之措施。

此外，應特別注意到以下幾項安全相關議題：

1. 輸注相關反應及細胞激素的釋放

在投予基因治療製劑之後的短期耐受度，例如對載體本身或產品中的任何物質發生輸注相關反應，包括細胞激素的釋放，應予以考量。

2. 感染和發炎反應

具複製能力病毒的出現、載體和野生型致病菌株的重配（re-assortment）和/或重組（recombination）、組織向性的改變都可能造成感染或發炎反應。應小心監測病人是否出現感染的症狀與徵兆。

3. 免疫媒介之不良效應

對載體本身以及轉殖基因產物的免疫反應在一些情況下可能會導致臨床後續效應。外來轉殖基因產物的出現可能會產生免疫反應，造成相對應之內源性蛋白質的耐受性被破壞。

4. 過度表現

轉殖基因的過度表現（例如凝血因子VIII）可能會導致嚴重的臨床後果。應監測轉殖基因的表現量，且若可行，應監測病人的臨床後續效應。

5. 惡性腫瘤

接受基因治療製劑治療的病人，可能會因為一些因素導致腫瘤的形成。這些因素包括產品相關因素（如嵌入性突變改變宿主基因的表現）、轉殖基因產物本身（如生長因子）、治療程序相關因素（如免疫抑制療法或化學治療）等。如果惡性腫瘤是在治療之後發生，應探討其與基因治療製劑的可能關聯，並同時考慮到基因治療製劑的分子和生物特性。

6. 組織的非預期轉導（transduction）

雖然載體在本質上可能具有特定的組織/細胞向性，但仍有可能非預期地轉導至非目標組織。申請者應提供載體來源病毒的組織特異性相關資訊，根據載體類型和實際基因治療製

劑的生體分布，關注特定目標，並且提供相似基因治療製劑的經驗。若產生非目標的特定組織向性，則應適切監測此轉導至非目標組織的臨床後果。

7. 留存樣品

在臨床試驗執行過程中，在治療前以及治療後特定時間點所收集的受試者血清和周邊單核血球樣品，應予儲存，以便在任何經由基因治療製劑傳播之不預期感染發生時，可供進一步研究。儲存的時間取決於病人族群/疾病、所施打的基因治療製劑以及儲存物質的完整性。應備妥同意書，且依照現行的人體生物資料庫相關法規/指引執行樣品的儲存。

捌、病人安全監測

一般而言，對於延遲性不良反應危險性較低之基因治療製劑，並不一定會要求長期追蹤觀察（Long-Term Follow-Up observations, LTFU），廠商必須依照所有可取得之非臨床與臨床證據去評估此風險，例如自身產品與相似產品之所有試驗資訊，一旦累積資訊顯示有此風險，則須要變更試驗計畫書增加長期追蹤觀察。此風險評估為一個持續之過程，例如若有最新證據顯示具有被確認之風險

(identified risk)，則計畫書需要增加長期追蹤觀察計畫來減緩此風險；同樣的，若有累積足夠證據顯示某產品與延遲性不良反應危險性關聯性很低，則計畫書可能可以減少或刪去長期追蹤觀察計畫。參考相同載體種類 (vector class)，相同給藥途徑與相同適應症之使用經驗，對於評估風險很有幫助。

建議可依照以下一系列問題來做臨床風險等級評估，請一併參照「評估基因治療相關延遲性不良反應的發生風險步驟 (Framework to Assess the Risk of Gene Therapy-Related Delayed Adverse Events)」(圖一)，若依照下列問題所得答案，顯示發生延遲性不良反應危險性較低，則可能就不需要長期追蹤觀察來減緩此風險：

問題一：基因治療製劑是否使用基因編輯技術 (genome editing technology) ？

不是，請繼續回答第二題；

是，在臨床試驗計畫書中應包含臨床長期追蹤觀察。

問題二：載體是否僅用於離體外 (ex vivo) 修飾細胞？

不是，請繼續回答第三題；

是，請直接跳至第四題。

問題三：非臨床試驗的結果，基因治療製劑會持續表現？

不是，產生基因治療相關的延遲性不良反應之風險較低，
可能不一定需要長時間的持續觀察追蹤；

是，請繼續回答第四題。

如果不清楚產品的表現狀況，為了進行風險評估，建議先假設載體會持續表現，或是在合適的動物模式中執行非臨床試驗來評估載體在生物體內分佈與持續表現情形，對於此種動物試驗模型選擇或是試驗設計與觀察期間有疑問，請儘早諮詢法規單位。

問題四：載體基因序列是嵌入式 (integrated) 嗎？人體基因體會被改變嗎？

不是，請繼續往下回答第五個問題，

是，在臨床試驗計畫書中應包含臨床長期追蹤觀察。

問題五：基因治療製劑可能是潛伏性 (latency) 或再活化 (reactivation) ？

不是，發生基因治療有關的延遲性不良反應的風險較低，
長期的追蹤觀察也許不一定需要。

是，臨床試驗計畫書中應包含臨床長期追蹤觀察。

相似產品的非臨床試驗結果與實驗室的數據，可以作為評估出現延遲性不良反應風險的佐證，如果有其它相似產品清楚明確的證據，也可以用於輔助評估申請臨床試驗產品的風險性。

當有以下情形時，建議在臨床試驗計畫書中訂定長期追蹤監控延遲性不良反應的計畫：

1. 非臨床毒理試驗顯示轉殖基因的表現可能會有延遲毒性產生。
2. 轉殖基因取代受試者原本沒有表現的基因，且轉殖基因的產物可能具有免疫原性。
3. 臨床試驗數據顯示基因治療製劑會持續存在，雖然在非臨床試驗中顯示基因治療製劑不會持續存在。
4. 臨床試驗數據顯示基因治療製劑可能會有延遲毒性產生。

基因治療製劑可能使用會修飾受試者基因的技術，例如具有嵌入式能力的載體〔 γ 反轉錄病毒（gamma retrovirus），慢病毒（lentivirus），泡沫病毒（foamy virus）等〕，具潛伏性或再活化潛

力之皰疹病毒（herpesvirus），以及基因編輯產品，這些都具有延遲毒性的風險。因此，這些產品通常會被要求在臨床試驗計畫書中應包含臨床長期追蹤觀察計畫。

將目前常用的基因治療產品/載體，其影響宿主基因的傾向(propensity)，列於表一。

有時載體嵌入的能力會因為要增加其作為基因治療之應用性時被修改(modified)，例如載體可以被修改誘發其 DNA 之嵌入；另一個例子為，改變質體 DNA 載體進入細胞之方式，可以導致較高頻率之嵌入；上述這些對於基因治療系統之修改，皆可能改變基因之持續性或嵌入特性，故建議於非臨床研究以適當的動物模型評估載體持續性，並依照不同的評估結果，採取對應的措施：

1. 若載體不具持續性，則與延遲性不良反應危險性關聯性預期較低，則計畫書可能不須包含長期追蹤觀察計畫。
2. 載體具持續性，則需進行載體嵌入及潛伏性、再活化之非臨床研究。
3. 承上，若非臨床研究未顯示因為基因物質嵌入或發展為潛伏期之持續性，則與延遲性不良反應危險性關聯性預期較低，則計畫書可能不須包含長期追蹤觀察計畫。

4. 承上，若非臨床研究雖未顯示基因物質嵌入，但潛伏期與再活化試驗未能得出結論或無法進行，或甚至顯示具潛伏性或再活化之潛力，則發生延遲性不良反應危險性無法確認，可能要求在臨床試驗計畫書中訂定長期追蹤監控延遲性不良反應的計畫。
5. 承上，若載體嵌入之非臨床研究無法執行，或若發生基因物質嵌入，或若載體表現出於潛伏期之持續性且可能再活化，則發生延遲性不良反應危險性為高或未知，將要求在臨床試驗計畫書中訂定長期追蹤監控延遲性不良反應的計畫。
6. 若載體嵌入之非臨床研究並未執行，建議廠商提供其他證據，以支持評估該載體並未具有發生延遲性不良反應之高危險性，必須至少包括以下資訊：
 - (1)為何未執行載體嵌入之非臨床研究。
 - (2)可用以支持評估該載體並未具發生延遲性不良反應之高危險性的證據。

以質體、痘病毒、腺病毒、腺相關病毒為載體的基因治療製劑，因未具基因嵌入習性，或較不易於潛伏後再活化，目前被視為發生基因治療相關延遲性不良反應危險性較低，且從 2006 年起已有相關的長期監控臨床研究結果支持。然而針對產品或載體的修改可能改變其風險層級，例如將質體修改為攜帶基因編

輯成分 (genome editing components)。相反的，有些目前被視為具較高發生基因治療相關延遲性不良反應危險性之載體，可能在未來因為被修改而減低其危險性。申請人 (廠商) 若有此方面資料，可提供該新型載體 (novel vector) 的相關資料來協助評估是否可支持其降低發生基因治療相關延遲性不良反應危險性之宣稱，進而評估是否可減免長期追蹤監控延遲性不良反應的計畫。

玖、長期追蹤觀察計畫撰寫原則之臨床考量

- 一. 於計畫書中，應根據前節所述原則，說明基因治療產品發生基因治療相關延遲性不良反應危險性之評估，決定該臨床試驗是否應進行長期追蹤觀察計畫。
- 二. 於計畫書中，應分析本試驗所收納之族群，是否適合進行長期追蹤觀察計畫，應考慮因素如：預期壽命很短，病人合併多種病症 (multiple co-morbidities) 或是受試者同時暴露在其他也會造成延遲不良反應之治療 (例如放射線療法或是化學治療) 下。相反的，對於疾病較不嚴重或是處於無疾病狀態的病人，以及合併較少病症，或較少曝露在其他也會造成延遲不良反應之治療下之受試族群，長期追蹤觀察計畫可能提

供很高之價值。

三. 關於長期追蹤觀察計畫的期間，依照不同的基因治療製劑而定，建議申請者提供下列資料，以評估合理的長期追蹤觀察時間：

1. 觀察到的體內產品持續性時間（*in vivo* product persistence）。
2. 觀察到的體內轉殖基因表現持續時間（*in vivo* transgene expression）。
3. 於活體中觀察到的產品特性。
4. 使用途徑。
5. 試驗族群之預期存活率以及所關注事件（event of interest）在該族群的背景發生率。
6. 其他會影響長期追蹤觀察計畫可行性或科學價值之因素，例如此產品臨床療效的持久性。一般而言，針對不同的產品種類，建議的長期追蹤觀察時間如下：

(1) 對於具有嵌入能力的載體，例如 γ 反轉錄病毒、慢病毒載體及轉位子等，合理的長期追蹤觀察計畫為15年。

(2) 基因編輯產品最長為15年。

(3) 腺相關病毒載體最長為5年。

四. 試驗主持人必須準備和維持適當和準確的個案病史，並記錄所有接受基因治療產品以及對照治療病人之觀察與其他相關檢測結果。進入試驗前之基礎病史，包括所有疾病與不正常之觀測值等皆要記錄，最好是能建立一個系統平台，以利參與試驗人員來記錄通報給主持人，對於計畫書排定之訪視，亦要小心記錄相關資訊與載體序列持續性（persistent vector sequence）之檢測結果，若是該類檢測較為侵入性，亦可選用替代性（surrogate）檢測方法來測試載體序列持續性。

五. 長期追蹤觀察計畫之前五年（或更長，適當期間根據不同產品而定），應至少注意下列事項：

1. 導入偵測基因治療相關延遲性不良反應之方法學。
2. 確保主持人維持詳細病史紀錄，須包括暴露在所有可能致突變之物質或其他治療產品之情況，並須能取得受試者不良反應資料。
3. 設計計畫書排定之訪視以觀察並記錄每位受試者新的發現（包括病史，身體檢查，實驗室檢測等）。
4. 建立主持人記錄下列事件之方法學：

- (1) 新發現之惡性腫瘤 (New malignancies)
 - (2) 已存在神經性疾患惡化或產生新的事件 (New incidence or exacerbation of a re-existing neurologic disorder)
 - (3) 已存在風濕性或其他自體免疫疾患惡化或產生新的事件 (New incidence or exacerbation of a prior rheumatologic or other autoimmune disorder)
 - (4) 產生新的血液性疾患惡化 (New incidence of a hematologic disorder)
5. 設計與受試者及其醫療照顧提供者合作進行延遲不良反應之通報機制，包括未預期疾患與住院。

六. 長期追蹤觀察計畫之後續十年 (對於適用此種追蹤觀察計畫期間的產品而言)，應至少注意下列事項：

1. 每年聯絡受試者至少一次，除非有特定額外實驗室之外篩檢，可採用電話或書面問卷取代返診訪視。
2. 對於先前檢測顯示具有載體持續性之個案，持續追蹤其載體序列狀態，在長期追蹤期間，至少每年檢測一次載體持續性，直到它們變為偵測不到為止。選用之偵測方

法必須對載體序列具足夠敏感性，建議採檢可能被轉導之細胞群，以避免對受試者過度侵入性，例如採檢週邊血液替代骨髓切片來檢測造血幹細胞；但某些情況，可能需要較侵入方式才能取得轉導細胞，則建議採取可代表載體持續性之替代測試，例如所偵測產生轉殖基因產物之量或是其臨床反應。若所得之資訊顯示皆無可偵測之載體時，廠商可以檢送試驗計畫書變更，修改長期追蹤觀察計畫，若有此情形，必須同時送交整體風險評估分析報告。

- 七. 針對以具有複製能力之反轉錄病毒（replication competent retrovirus, RCR）為載體的基因治療製劑，在病人監控方式部份有關於檢測的額外要求，例如：應針對接受治療之病人分別於治療前與治療後3、6、12個月，以及之後每年度進行RCR追蹤檢測，最長達15年。若第一年度之所有監測結果皆為RCR陰性，可考慮免除後續每年度的臨床樣品之收集；反之，若有任何RCR陽性之結果，應進一步分析RCR並需要有更密集的追蹤計畫。

參考資料

1. EMA: Guideline on the quality, non-clinical and clinical aspects of gene therapy medicinal products; March 2018.
2. EMA: Draft guideline on quality, non-clinical and clinical requirements for investigational advanced therapy medicinal products in clinical trials; February 2019.
3. US FDA: Draft guidance for industry: testing of retroviral vector-based human gene therapy products for replication competent retrovirus during product manufacture and patient follow-up; July 2018.
4. US FDA: Draft guidance for industry: long term follow-up after administration of human gene therapy products; July 2018.
5. US FDA: Guidance for industry: preclinical assessment of investigational cellular and gene therapy products; November 2013.
6. US FDA: Draft guidance for industry: chemistry, manufacturing, and control (CMC) information for human gene therapy investigational new drug applications (INDs) ; July 2018.
7. ICH Q5A (R1) : Viral safety evaluation of biotechnology products derived from cell lines of human or animal origin; September 1999.
8. ICH Q5B: Quality of biotechnological products: analysis of the expression construct in cells used for production of r-DNA derived protein products; November 1995.
9. ICH Q5C: Quality of biotechnological products: stability testing of biotechnological /biological products; November 1995.
10. ICH Q5D: Derivation and characterisation of cell substrates used for production of biotechnological/biological products; July 1997.
11. ICH S1A: Guideline on the need for carcinogenicity studies of pharmaceuticals; November 1995.
12. ICH S1B: Testing for carcinogenicity of pharmaceuticals; July 1997.

13. ICH S1C (R2) : Dose selection for carcinogenicity studies of pharmaceuticals; March 2008.
14. ICH S2(R1): Guidance on genotoxicity testing and data interpretation for pharmaceuticals intended for human use; November 2011.
15. ICH S5 (R2) : Detection of toxicity to reproduction for medicinal products & toxicity to male fertility; November 2000.
16. ICH S5 (R3) : Detection of toxicity to reproduction for human pharmaceuticals; August 2017.
17. ICH S6 (R1) : Preclinical safety evaluation of biotechnology-derived pharmaceuticals; June 2011.
18. ICH S7A: Safety pharmacology studies for human pharmaceuticals; November 2000.

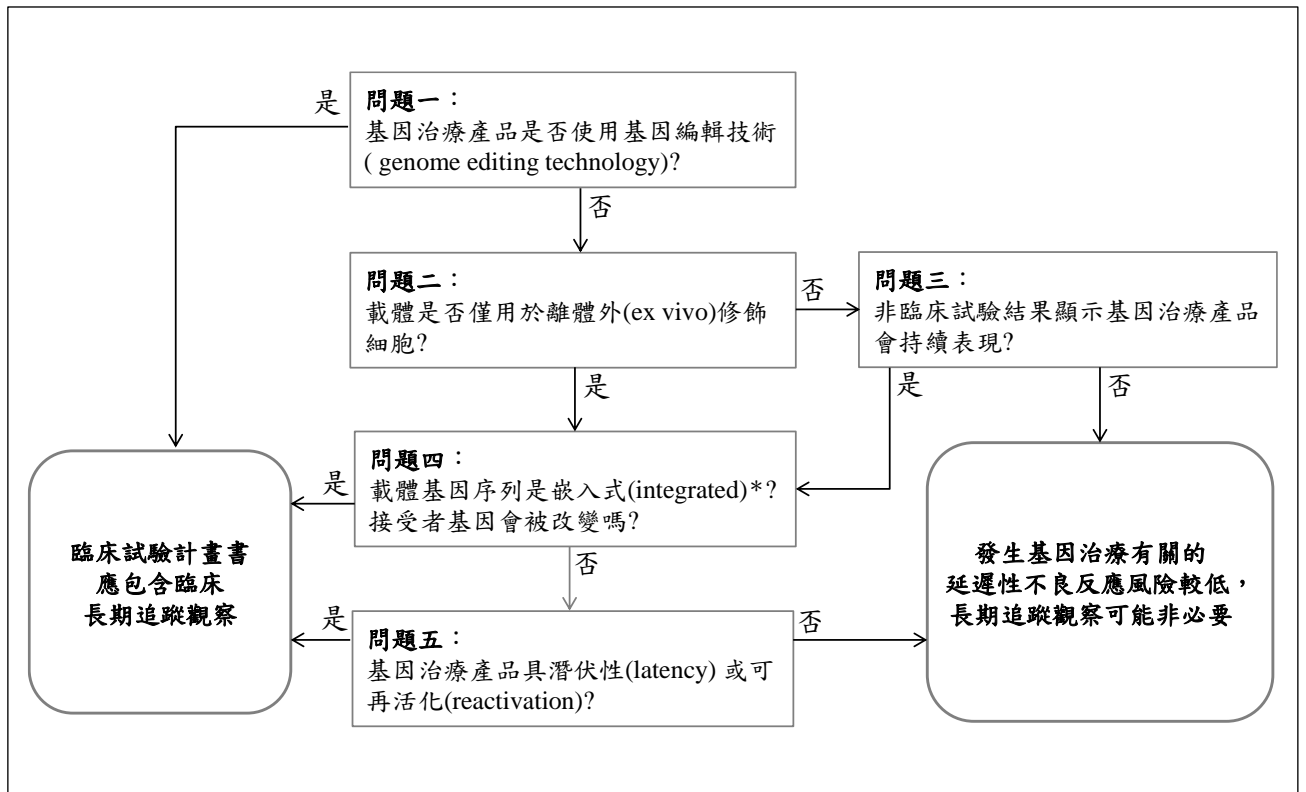
表一、基因治療製劑/載體對宿主基因之影響

目前常用的基因治療製劑/載體，其影響宿主基因的傾向說明如下表：

產品/載體	影響genome的傾向 ^{註1}	長期追蹤觀察 ^{註2}
質體 (Plasmid)	無	通常不需要
核糖核酸 (RNA)	無	通常不需要
痘病毒 (Pox Virus)	無	通常不需要
腺病毒 (Adenovirus)	無	通常不需要
腺相關病毒 (Adeno-associated virus) ^{註3}	無	視產品而定 (2-5年)
皰疹病毒 (Herpesvirus)	無， 但也許會潛伏 (latency)或重新活化 (reactivation)	需要
γ反轉錄病毒 (Gamma retrovirus)	有	需要
慢病毒 (Lentivirus)	有	需要
轉位子 (Transposon elements)	有	視產品而定
基因治療微生物載體 (MVGT: Microbial vectors for gene therapy)	無， 但也許會持續或重新 活化	視產品而定
基因編輯產品 (Genome editing products)	有， 宿主基因將有永久改 變 (permanent changes to the host genome)	需要

- 註1.** 根據產品設計（例如缺乏會促進嵌入的機制或基因編輯）和目前已累積的非臨床與臨床證據顯示不會嵌入/編輯基因，或是嵌入/編輯基因的機率很低。
- 註2.** 當轉殖基因持續表現，但是並非是嵌入受試者本身的基因之特殊狀況下，長時間持續的追蹤觀察是減少受試者風險的方法。這種情況需要考慮更多其他的判斷準則，例如轉殖基因的表現或是臨床的適應症。
- 註3.** 僅限於不複製（replication negative）的載體

圖一、評估基因治療相關延遲性不良反應的發生風險步驟



*如果證明基因治療產品所使用的載體有嵌入傾向或是經過設計促進嵌入，則答案為「是」