

ICH S1B(R1)：藥品致癌性試驗指引

(Testing for Carcinogenicity of Pharmaceuticals)

衛生福利部食品藥物管理署

中華民國 114 年 1 月

前言

國際醫藥法規協和會(International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, ICH)於 2022 年發布 ICH S1B(R1)(Testing for Carcinogenicity of Pharmaceuticals)指引，針對需執行致癌性試驗之藥品提供建議，附錄係針對需執行致癌性試驗之藥品提供建議，提供 S1B 指引中未描述之額外綜合分析方法，提供具體的證據權重(weight of evidence, WoE)的考量及建議，以擴展藥品致癌性風險的評估。運用整合方法將依據 3R 原則-減量/完善/取代減少動物使用(reduce/refine/replace)，並將資源轉移至聚焦於產出更多科學作用機轉為基礎(mechanism-based)的致癌性評估，同時繼續推動安全及倫理的新藥開發。

目錄

第一部分、藥品致癌性試驗

一、目的-----	1
二、背景-----	1
三、指引適用範圍-----	2
四、指引-----	2
(一)前言-----	2
(二)致癌性試驗-----	2
1.長期致癌性試驗之物種選擇-----	2
2.額外齧齒類動物之體內致癌試驗-----	3
3.選擇短期或中期致癌性試驗之考量-----	3
五、作用機轉探討-----	3
(一)細胞變化-----	4
(二)生物化學量測-----	4
(三)額外基因毒性試驗之考量-----	4
(四)改良試驗設計-----	4
六、針對長期致癌性試驗選擇物種之考量-----	4
(一)藥品分析調查之資訊-----	5
(二)研究作用機轉的潛力-----	5
(三)代謝分布-----	5
(四)實用性-----	6
(五)針對一種以上的物種進行試驗-----	6
(六)例外情況-----	6
七、評估潛在致癌性-----	6
附註-----	7
附錄：引用其他 ICH 指引-----	8

第二部分、藥品致癌性試驗之附錄

前言	9
一、緒論	9
(一)附錄適用範圍	9
(二)附錄目的	9
(三)背景	9
二、WoE 之致癌性評估	10
(一)WoE 考量因子	11
(二)整合 WoE 考量因子以評估人體致癌性風險	12
(三)小鼠致癌性試驗	14
三、RasH2.Tg 小鼠致癌性試驗之標準	14
附註	15
參考文獻	16
附錄：WoE 案例研究與範例	18

ICH S2B(R1)：藥品致癌性試驗

一、 目的

本指引係針對需執行致癌性試驗之藥品提供建議。

二、 背景

在歷史上，歐盟、日本、美國對於藥品的監管要求，規定使用兩種齧齒類動物(通常為大鼠及小鼠)進行長期致癌性試驗，以利評估藥品潛在致癌性風險。然考慮該試驗的研究成本及對動物大量使用，因此，ICH 在不減損人體安全性的前提下，討論減免在兩種齧齒類物種中執行長期致癌性試驗之作法。

目前還在審視，試驗物質/藥品於致癌性試驗中取得之結果與評估人體安全性之相關性。自 1970 年代初期至今，許多研究指出，多種實驗步驟均可能導致動物產生腫瘤，其中一些腫瘤與人類潛在致癌性評估的相關性極低或幾乎不存在相關風險。本章節將概述評估致癌性的實驗方法，可能使得需執行人類風險評估之藥品，不必經常性地使用兩種齧齒類動物進行長期致癌性試驗。目前已有六次針對人類藥品的數據調查分析了，大鼠及小鼠致癌性試驗的個別貢獻，及使用單一物種是否嚴重影響取得與人類相關風險評估的資訊。這些調查是由國際癌症研究機構(International Agency for Research on Cancer, IARC)、美國 FDA、美國醫師指引(Physicians' Desk Reference, PDR)、日本製藥工業協會(Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, JPMA)、歐洲藥品局人用藥品委員會(Committee for Proprietary Medicinal Products, CHMP)、英國醫學研究中心(Centre for Medicines Research, CMR)所進行。這些調查的範圍以及分析的主要結論可以在第三次國際調和會議的議程中找到。若從長期致癌性試驗取得之結果與治療用途無相關性，將對所有相關人員(法規單位審查員、藥品開發端及廣大民眾)都構成困境。因此，若執行一項長期致癌性試驗(而非執行兩項長期致癌性試驗)或可將資源部分地轉向其他方法，以揭露其與人類相關的潛在致癌性。「證據的權重」方法，也就是在評估來自一項長期致癌性研究及其他適當實驗調查的所有數據時使用科學判斷，可以增強對人類致癌風險的評估。

三、 指引適用範圍

本指引涵括了所有根據 S1A 指引規定需要試驗的藥劑，透過生物技術生產的藥品請參見 S6 指引。

四、 指引

(一) 前言

只有在取得某些關鍵資訊之後，方能制定藥品潛在致癌性之試驗策略，這些關鍵資訊包括基因毒性結果(請參見 ICH S2A 及 S2B)、適應症及預期病人族群、臨床用法用量(請參見 ICH S1A)、動物與人類的藥效學資料(包含選擇性、劑量反應)(請參見 ICH S1C)及重劑量毒性試驗。使用任何物種(包括非啮齒類動物)進行重複劑量毒性試驗，若指出藥品具有免疫抑制性、荷爾蒙活性，或其他被視為人類風險因子的作用，應將這些資訊運用於設計任何評估潛在致癌性進一步試驗〔附註 1〕。

(二) 致癌性試驗

鑒於致癌機轉的複雜性，目前沒有任何單一的實驗方法能夠預測所有藥品對人類的致癌風險，應參考前言中所提到的資訊，適度、靈活且判斷合適的試驗方法選項。

基本原則：

基本的致癌性測試架構包含一個啮齒類動物之長期致癌性試驗，再加上額外啮齒類動物之體內致癌性試驗。後者應能補充長期致癌性試驗，並提供長期試驗中不易獲得的額外資訊。

1. 長期致癌性試驗之物種選擇

應當考量下列特性，適當選擇研究物種：

- a. 藥理學資訊、
- b. 重複劑量毒性試驗、

- c. 代謝反應(請參見 ICH S1C 及 S3A)、
- d. 毒理動力學(請參見 ICH S1C、S3A 及 S3B)及
- e. 投藥途徑(例如：較少見的途徑，如經皮吸收或吸入途徑)等因素，選擇合適之物種。

若缺少明顯的證據可決定以何物種進行長期性致癌性試驗較為恰當，一般建議優先以大鼠執行長期致癌性試驗(根據本指引第 6 節列出之考量)。

2. 額外啮齒類動物之體內致癌性試驗

此試驗可選用 a 或 b 的試驗方式〔附註 2〕：

- a. 啮齒類動物之短期或中期體內測試系統：

是否採用此一測試系統，應著重於該系統是否能提供更多資訊，有助於瞭解致癌機轉及原理，這類體內測試系統可參考使用啮齒類起始 - 促進的動物模型、基因轉殖小鼠模型或新生啮齒類動物模型〔附註 3〕。

- b. 也可以選擇第二種啮齒類動物進行長期致癌性試驗(相關注意事項，請參見 4.2.1 節)。

3. 選擇短期或中期致癌性試驗之考量

重點在於選擇能夠提供對評估致癌潛力的整體「證據權重(WoE)」有價值資訊的測試方法。選擇試驗方法應基於當時可獲得的藥品相關資訊，例如藥物動力學、與人類的暴露量比較，或任何其他可能相關的資訊，並應將選擇該試驗方法的理由記錄下來，理由還應包括為該藥品選用試驗方法之優點和缺點的科學性討論〔附註 4〕。

五、 作用機轉探討

作用機轉研究通常對於腫瘤發現時的致癌性解釋很有用，並可以提供其與人類風險評估相關性的觀點。調查性試驗(Investigative study)執行的必要性或其試驗設計，取決於藥品特性和/或致癌性試驗結果。在此調查性試驗中，應評估劑量依賴性和與致癌性相關的試驗條件，包括：

(一) 細胞變化

可藉由形態學、組織化學或功能性標準，來瞭解相關組織在細胞層面上的變化。視情況，可著重於瞭解如細胞凋亡的劑量 - 反應關係(dose-response relationship)、不正常增生、肝細胞變化焦點或細胞間交互作用等變化。

(二) 生物化學量測

根據假定的腫瘤生成作用模式，可量測並探討以下項目：

- 血漿中荷爾蒙(hormones)濃度，例如：T3/T4、促甲狀腺素(thyroid-stimulating hormone, TSH)、催乳激素(prolactin)。
- 生長因子(growth factor)
- 與蛋白質之結合，例如： $\alpha_2\mu$ -球蛋白($\alpha_2\mu$ -globulin)
- 組織酵素活性在某些情況下，例如，可以通過另一個荷爾蒙失衡的研究，該研究中荷爾蒙失衡情況至少曾被部分補償，來檢驗荷爾蒙失衡的假設。

(三) 額外基因毒性試驗之考量

若在標準基因毒性試驗群(a standard battery for genotoxicity testing)中呈陰性，但致癌性試驗結果顯示有影響且未有表觀遺傳學機轉的明確證據時，可使用合適模型進行額外的基因毒性試驗。額外試驗可考慮於體外試驗中修改其代謝活化的條件，或者可包括於體內試驗針對產生腫瘤之作用標的器官進行基因毒性損傷之量測(例如：DNA 損傷/修復試驗、 ^{32}P -postlabeling、轉殖基因誘導突變)。

(四) 改良試驗設計

修改試驗計劃可能有助於釐清試驗物質引發腫瘤的作用機轉。如此的試驗計劃可能包括比較探索中斷投藥後的結果或停止投藥後細胞變化是否可逆的動物組別。

六、 針對長期致癌性試驗選擇物種之考量

在缺乏其他明確提示的情況下，有幾個一般的考慮因素建議優先以大鼠執

行長期致癌性試驗。

(一) 藥品分析調查之資訊

在六項調查分析中，本指引特別關注有關遺傳毒理學、腫瘤發生率、動物品系、投藥途徑和劑量方案、藥理或治療活性、開發和/或法規狀態，以及如果相關的話，終止開發的原因之數據。無可避免地，數據間有相當大的重複，但這並不妨礙得出有效的結論。從這六項分析中得出的主要總體結論是：

- a. 從實例中顯示，鼠類的腫瘤發現鮮少是針對藥品採取法規行動的單一原因，但來自這個物種的數據可能有助於做出「證據權重」的決定，並有助於識別在兩種齧齒動物都引發腫瘤之物質。
- b. 在僅對單一齧齒類物種產生腫瘤的試驗物質中，「僅造成大鼠致癌」的試驗物質數量約為「僅造成小鼠致癌」的兩倍，隱含了大鼠比小鼠更敏感的概念。
- c. 從文獻中搜尋藥品相關資訊，可得知齧齒類動物產生肝臟腫瘤的發病率較高，而小鼠肝臟對非基因毒性化學物(non-genotoxic chemicals)具有高度敏感性已是許多研討會討論的主題，因此這類腫瘤可能造成誤導，且可能並非完全與人類致癌風險相關。

(二) 研究作用機轉的潛力

非基因毒性化合物在齧齒類動物的致癌活性，存有高度物種/品系/作用標的器官的特異性，且存在劑量-反應關係的閾值。近年來，許多機制研究使我們能夠區分齧齒動物模型的特異作用及可能與人類相關之作用，這些進展通常與對物種和組織特異性理解的增進有關。例如：受體媒介的致癌性(receptor-mediated carcinogenesis)越來越受重視，且多數進展來自大鼠試驗，只有少部分來自小鼠試驗。

(三) 代謝分布

從代謝學角度，大鼠與小鼠都不是作為長期致癌性試驗物種的首選。然而，目前有許多專注於藥品動力學(pharmacokinetics, PK)及藥效學(pharmacodynamics, PD)關聯性的研究，更深入了解 P450 酵素酶(P450 isozyme)如何介導試驗物質進

行生物轉化，而這些研究大部分都侷限於使用大鼠及人體。因此，至少在近期內，小鼠較難提供 P450 酵素酶所參與之生物轉化的相關資訊。

(四) 實用性

與以上兩個主題相關的是探索性試驗的可行性問題。單從體型考量，當需要連續收集血液樣本、進行顯微手術/使用導管、及測量器官重量時，若以小鼠進行試驗較為不利，且可能需要額外犧牲動物。

(五) 針對一種以上的物種進行試驗

至今多數使用於短期或中期致癌性試驗的物種為小鼠。為能在一種以上的物種測試潛在致癌性，且具有重要性及情況允許情況時，通常多數使用於長期致癌性試驗的物種為大鼠。

(六) 例外情況

除了前述的考量，在某些情況下，基於作用機轉、代謝學或其他依據，小鼠或其他齧齒類動物可以被認為進行長期致癌性試驗評估人類風險的更合適物種(可與第(四)章第二節做比較)。在此情況下，短期或中期致癌性試驗仍可使用小鼠作為試驗物種。

七、 評估潛在致癌性

應評估藥品在齧齒類動物產生腫瘤之證據，包括腫瘤發病率及潛伏期、藥品於齧齒類動物與人類的藥品動力學、及任何有助於了解所觀察到之作用與人類相關之輔助性或機制試驗的數據。

上述任何試驗的結果都應被視為整體「證據的權重」的一部分，並考慮到試驗系統的科學性狀態。

附註

附註 1. 來自體外試驗，例如細胞轉化試驗的數據，可使用於化合物篩選階段。

附註 2. 如果短期或長期致癌性試驗、基因毒性試驗的結果及其他數據指出藥品明顯對人類具有致癌性危害時，通常不會進行第二次致癌性試驗。

附註 3. 目前有幾種試驗方法已被提出，其有用性目前正受到研究，一般而言，要選擇何種方法應依據所推測可能造成人體之致癌機轉。這些試驗需可提供額外的資訊以補長期致癌性試驗之不足。亦應考慮致癌性評估過程使用的動物數量、動物福祉、及整體經濟狀態。以下所列是一些目前已知符合要求的試驗方法，而這些試驗方法仍有可能隨著科學知識的進步而有所修改。

- a. 嚙齒類初始化—促進動物模式(initiation-promotion model in rodent)：嚙齒類初始化—促進模型目前多用於研究藥品對於肝臟的致癌作用，其方法為將一種已知的致癌起始物投予動物，之後再投予試驗物質幾週時間，觀察肝臟產生腫瘤的機率是否增加；但也有少數模型用於測試多器官的致癌作用，例如，利用至少 5 種已知的致癌起始物投予動物，之後再投予試驗物質幾個月的時間，觀察於多器官產生腫瘤的情形。
- b. 基因轉殖小鼠模型：如 p53+/-缺陷小鼠模型、Tg.AC 小鼠模型、TgHras2 小鼠模型、XPA 小鼠缺陷模型等。
- c. 新生嚙齒類致癌動物模型：此模型係利用一般新生鼯鼠進行試驗，用以偵測基因毒性物質之致癌性，其方法為投予試驗物質至新生動物(出生後 1 至 15 天)持續 1 年時間，觀察動物產生腫瘤的情形。

附註 4. 除附註 3 所描述之試驗模型外，其他特定藥品的試驗模型應考慮下列因素：

- a. 動物模型能否提供長期致癌性試驗無法取得之新資訊，且有助於鑑定與人類相關危害及評估致癌性風險。
- b. 動物模型能否解除已知具相似結構/作用機轉之藥品/試驗物質導致致癌機轉的相關疑慮。這些疑慮包含基因毒性、細胞不正常增生、促進的(promotional)或受體介導(receptor-mediated)的作用等等。
- c. 動物模型的藥品/試驗物質代謝能否影響人類致癌性風險的評估。
- d. 其全身或局部暴露量有人體暴露量之關聯性。

- e. 應評估動物模型針對預期用途之範圍及限制。在使用任何新的體內測試系統作為致癌性試驗之前，可先評估該動物模型是否有助於 WoE 評估人體的潛在致癌風險。1997 年迄今正進行許多研究，用於評估新的短期及中期潛在致癌性試驗，建議可使用對齧齒類動物具已知作用機轉及已知致癌性機轉、或對人類公認不具有致癌性的藥品，一併用於該動物模型，將有助於瞭解是否與人類致癌性風險評估具有關聯性。

附錄：引用其他 ICH 指引

1. ICH S2A 指引：管制遺傳毒性試驗特殊性指引補充(Notes for Guidance on Specific Aspects of Regulatory Genotoxicity Tests)
2. ICH S2B 指引：標準藥品遺傳毒性試驗組合(A Standard Battery of Genotoxicity Testing of Pharmaceuticals)
3. ICH S3A 指引：毒理動力學指引說明：毒性試驗之全身性暴露量評估
4. ICH S3B 指引：藥物動力學：重複劑量組織分佈試驗指引
5. ICH S6 指引：臨床前生物技術藥品安全性評估

第二部分：藥品致癌性試驗之附錄

前言

附錄應與 ICH S1A 藥品致癌性試驗之必要性、S1B 藥品致癌性試驗及 S1C(R2)藥品致癌性試驗之劑量選擇指引緊密配合使用。此附錄與 S1 指引相輔相成。

一、緒論

(一) 附錄適用範圍

此附錄適用於所有需要依照 S1A 指引進行致癌性測試的藥品。對於生物技術藥品，請參考 S6(R1)臨床前生物技術藥品安全性評估指引。

(二) 附錄目的

此附錄係針對需執行致癌性試驗之藥品提供建議，提供 S1B 指引中未描述之額外綜合分析方法，提供具體的證據權重(weight of evidence, WoE)的考量及建議，以擴展藥品致癌性風險的評估，以得知大鼠 2 年期致癌性試驗對於人類致癌性風險評估是否具有附加價值。此附錄還新增了一種基於血漿暴露比率的方法，可用於設定 rasH2-Tg 小鼠〔附註 1〕致癌性試驗的最高劑量。

運用這種整合方法將依據 3R 原則 - 減量/完善/取代減少動物使用(reduce/refine/replace)，並將資源轉移至聚焦於產出更多科學作用機轉為基礎(mechanism-based)的致癌性評估，同時繼續推動安全及倫理的新藥開發。

(三) 背景

雖然本指導原則要求在考慮藥品致癌性試驗策略時應具備靈活彈性方法，但基本模式仍建議進行一齶齒類動物的長期試驗，通常即大鼠 2 年期試驗，再搭配使用小鼠執行第二個齶齒類致癌性試驗(2 年期或短期試驗)。至今，致癌性機轉相關研究大幅進展，也瞭解齶齒類動物模型的侷限性，從數項回溯性試驗中，顯示某些情況下，大鼠 2 年期致癌性試驗對人類致癌性風險可能不具有附加價值，而

可藉由全面性評估現有的藥理學、生物學及毒理學等數據，適當地評估潛在的致癌性風險(2-9)。

為確認數項回溯性分析的結論是否能於真實試驗環境中得到驗證(即在了解大鼠 2 年期致癌性試驗的結果之前)，根據 ICH S1(R1)“提議修改藥品之啮齒類動物致癌性試驗 – 法規通知文件”，進行了一項後續的國際性前瞻性研究，該研究的流程及持續更新的報告結果已公開發布於 ICH 網頁(10-14)。由 ICH 專家工作小組中的法規單位成員收集並評估 45 種試驗物質的大鼠 2 年期致癌性試驗的致癌性評估文件(carcinogenicity assessment document, CAD)及相關數據。此前瞻性研究的結論確認，於某些特定藥品，可以使用整合的證據權重(WoE)方法取代大鼠 2 年期致癌性試驗，以進行對人類的致癌性風險充分評估〔附註 2〕。

此外，依據 ICH S1(R2)於啮齒類動物 2 年期致癌性試驗的建議，可基於動物與人類之血液濃度之比值作為高劑量選擇，然而 rasH2-Tg 小鼠試驗套用此選擇標準尚未全球性地被接受。因此，執行了一全面性資訊分析，以評估現有資訊中可得的 rasH2-Tg 小鼠試驗的暴露量及結果(15)，該分析結果指出，使用 50 倍曲線下面積(area under the curve, AUC)(啮齒類動物：人類)可作為選擇高劑量的適當標準。

二、 WoE 之致癌性評估

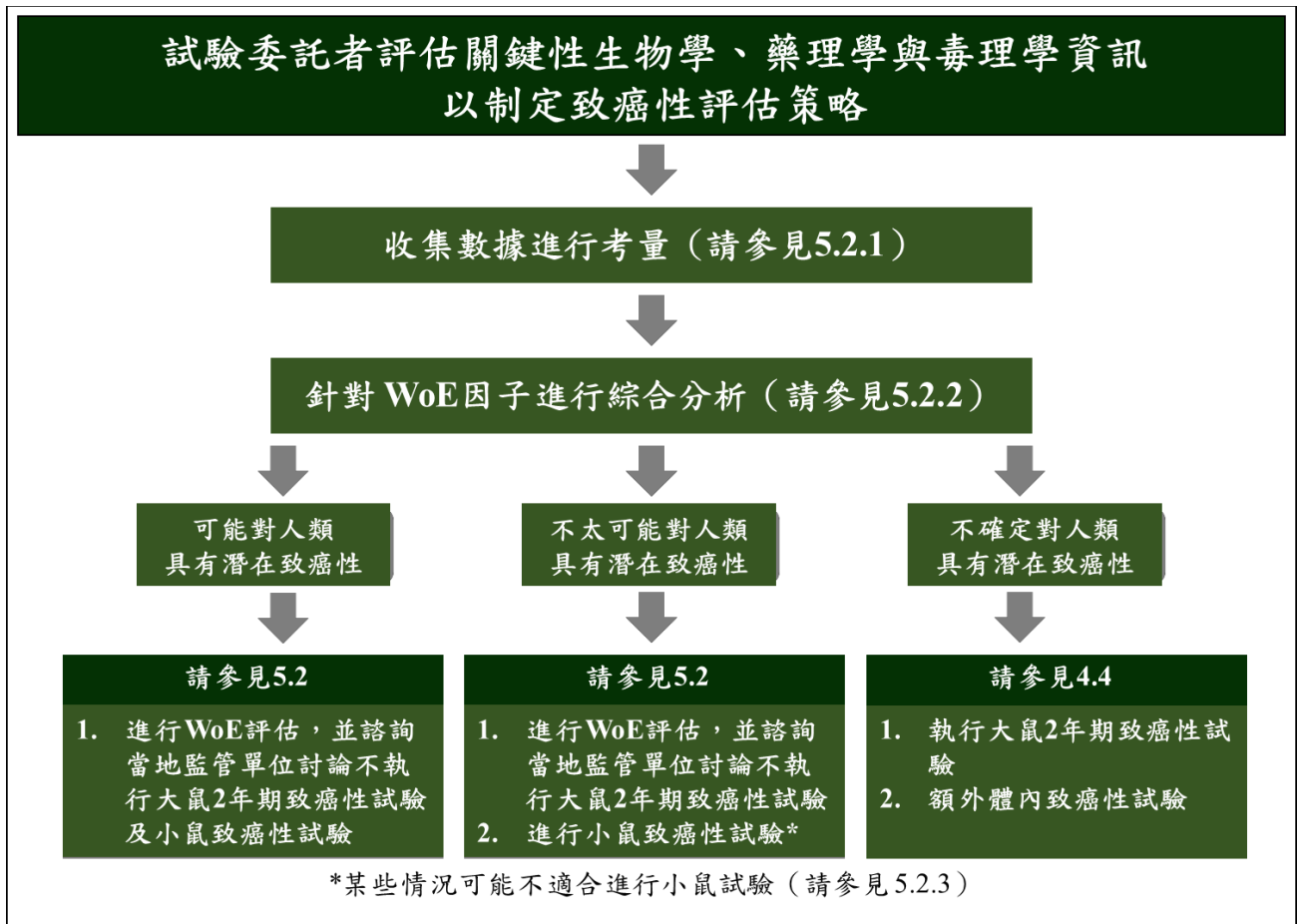
在藥品開發過程中，對於開發者而言，考慮生物學、藥理學及毒理學資訊，制定科學上堅實的致癌性評估策略極為重要。

於 2.1 及 2.2 節所描述的整合性 WoE 評估方法，對於藥品於人類的潛在致癌性，可能支持的結論如下：

- (a) 可能具有潛在致癌性，則大鼠 2 年期致癌性試驗可能不具附加價值。
- (b) 不太可能具有潛在致癌性，則大鼠 2 年期致癌性試驗可能不具附加價值〔附註 3〕。
- (c) 不確定是否具有潛在致癌性，則大鼠 2 年期致癌性試驗具有附加價值。

當 WoE 評估結論仍不確定是否對人類具有致癌性時，建議參照 SIB 所述，執行長期致癌性試驗及額外的體內致癌性試驗〔請參見圖 1〕。

圖 1. 概述制定致癌性評估之策略及確認大鼠 2 年期試驗是否具有附加價值之步驟



值得注意的是，即使採用 ICH S1B 所述之大鼠 2 年期致癌性試驗方法，仍應評估關鍵的生物學、藥理學與毒理學相關資訊。若決定執行大鼠 2 年期致癌性試驗，並無義務徵求藥品法規單位之同意。詳請參見第 2.1 與 2.2 節。

(一) WoE 考量因子

WoE 為公開資料與相關藥品開發之研究取得之所有數據綜合評估的方法。藥品及主要代謝產物於 WoE 考量因素，包含但不限於以下因素：

- (a) 探討作用標的及藥理機轉是否與已知的致癌機轉相關，例如在人體及大鼠中，藥品之作用標的分布(drug target distribution)、藥理活性及效價；基因工程模型相關資訊；人類基因體學相關研究；癌症基因數據資料庫；同類藥品的致癌性相關資訊。

- (b) 次藥效學篩選結果可提供選擇性及非預期標的(off-target)潛力的資訊，尤其是提供致癌性風險的相關資訊，例如與核受體(nuclear receptor)之結合能力。
- (c) 重複劑量毒性試驗中的組織病理資料〔附註 4〕(尤其是 6 個月大鼠毒理試驗)，包含原型藥和主要代謝物的血漿暴露臨界(exposure margin)的評估。
- (d) 干擾荷爾蒙之證據〔附註 5〕：包含作用標的與代償性內分泌反應(compensatory endocrine response)機轉的知識；重複劑量毒性試驗中內分泌系統和生殖器官的重量、解剖學與組織病理變化；生殖毒性試驗的相關結果。
- (e) 依 ICH S2(R1)人體用藥基因毒性測試與數據判讀指引，進行基因毒性試驗資料，若是依 ICH S2(R1)無法解決的模擬兩可(equivocal)數據，則會增加潛在致癌性之不確定性。
- (f) 依 ICH S8 人體用藥免疫毒性試驗指引的免疫調控證據。若有廣泛性免疫抑制之證據，則可能足以顯示對人類潛在風險，可能無需由標準大鼠及小鼠致癌性試驗組合提供相關資訊(16-17)。

上述的證據權重(WoE)因子可能足以判斷大鼠 2 年期致癌性試驗是否能為評估人類致癌風險增添價值。然而若其中一項或多項 WoE 因子無法得到結論，或顯示有致癌性疑慮時，可以採取其他調查性方法以解決不確定性或告知已識別風險與人體的相關性。可能的方法包含但不限於：

- (a) 進行額外的調查試驗或從分析先前試驗中已收集的樣本(例如：組織化學染色、分子生物標誌、血清荷爾蒙濃度變化、免疫細胞功能、體外或體內測試系統、新興技術衍生之數據)以及
- (b) 產生臨床數據以分析治療劑量、人體暴露量與人體內作用機轉的相聯性(例如：尿液中藥品濃度和形成晶體的證據、臨床血漿荷爾蒙濃度變化、人體影像數據的研究等等)。

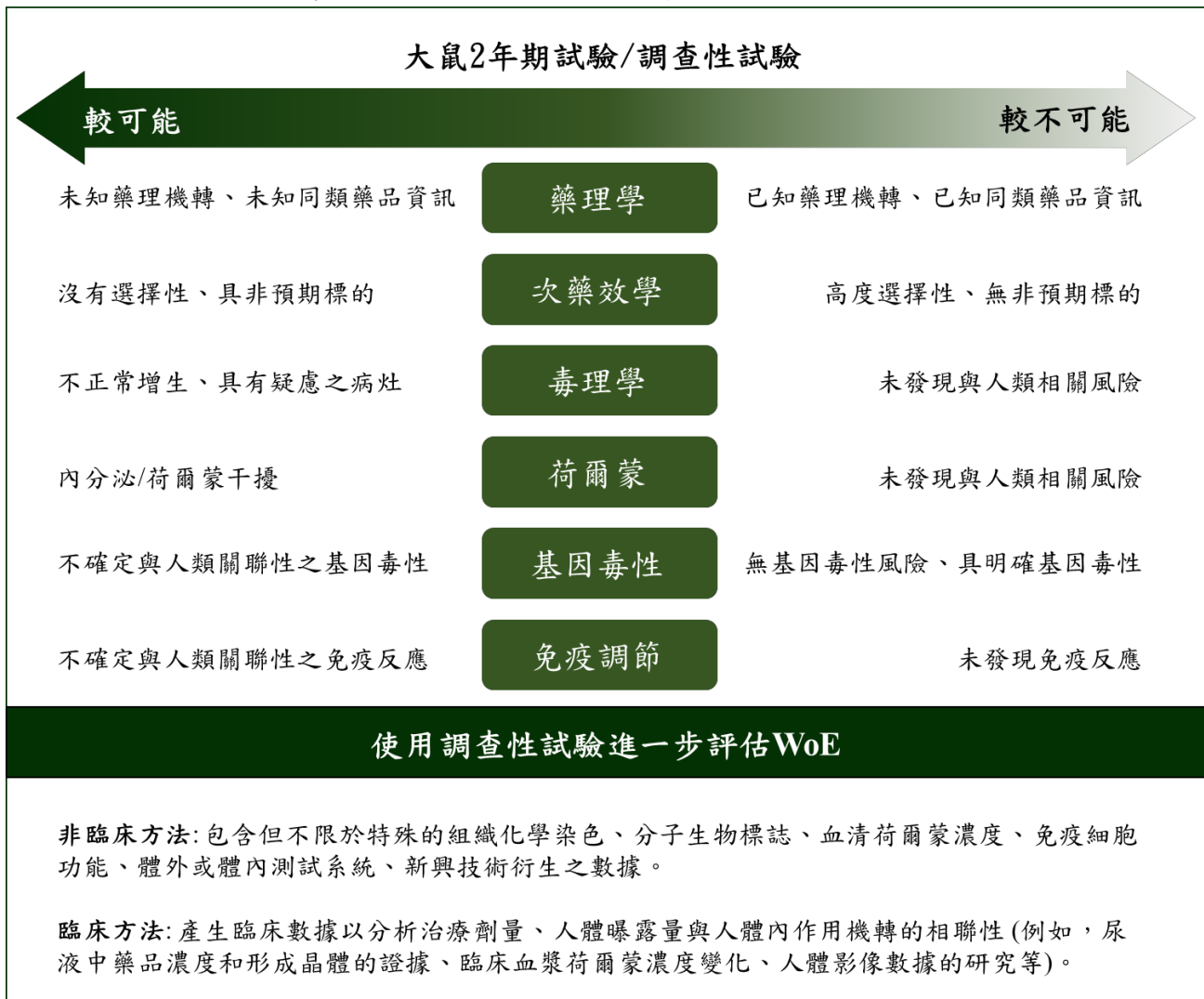
雖不期待完成 RasH2-Tg 小鼠試驗來輔助證據權重(WoE)評估，然而，若已有 RasH2-Tg 小鼠試驗結果，則應將其納入 WoE 評估文件中。

(二) 整合 WoE 考量因子以評估人體致癌性風險

應使用上述 WoE 考量因子進行整合性分析，用以確認大鼠 2 年期致癌性試驗是否有助於評估人體致癌性風險。雖所有 WoE 考量因子皆有助於整合性分析，

然各因子的相對重要性會依不同藥品而異〔請參見圖2〕：

圖 2. 關鍵性 WoE 考量因子進行整合性分析



將關鍵性 WoE 考量因子進行整合性分析，評估大鼠 2 年期致癌性試驗是否具有附加價值。當所有的 WoE 考量因子皆屬於右側結論時，代表大鼠 2 年期致癌性試驗較不可能具有附加價值。值得注意的是，基因毒性考量因子，不論是無基因毒性或是具有明確基因毒性風險的情況下，進行大鼠 2 年期致癌性試驗較不可能具有附加價值。同樣地，對於免疫調節考量因子，不論免疫系統是不被影響或者廣泛性抑制，進行大鼠 2 年期致癌性試驗較不可能具有附加價值。

請參見附錄提供了 WoE 案例研究與範例，透過 ICH S1(R1)提議修改藥品之齧齒類動物致癌性試驗-監管通知文件，累積許多經驗並歸納出關鍵結果與範例，這些資料提供如何整合 WoE 考量因子，以確認執行大鼠 2 年期致癌性試驗對評估人體致癌性風險的附加價值。

ICH S1 的研究經驗顯示，同類藥品的既定特性對於評估與調節藥理目標相關的人類致癌風險具有實質幫助。然而，針對新穎作用標的之藥品(First-in-class)亦能進行 WoE 評估，對於此類化合物，應著重於證實新作用標的是否有致癌相關風險，以彌補缺乏前例的情況。案例四提供一個新作用標的範例，該範例提供的證據足以彌補缺乏往例的情況，在此範例中並未鑑別出作用標的生物學、藥品選擇性為致癌疑慮的成因，且於大鼠(為藥理相關物種)6 個月的試驗中，在高倍數暴露量下也未觀察到組織病理變化，因此足以決策大鼠 2 年期試驗不具有附加價值。

當 WoE 支持大鼠 2 年期致癌性試驗對於評估人類之致癌性風險可能不具有附加價值的結論時，建議可先向該地區之藥品法規單位進行諮詢。若仍決定執行大鼠 2 年期致癌性試驗，並無義務須徵求藥品法規單位之同意。

(三) 小鼠致癌性試驗

無論是使用標準品系小鼠進行 2 年試驗，或使用基因轉殖小鼠模型進行短期試驗，小鼠致癌性試驗仍然是致癌性評估計畫的建議元件之一，即便是 WoE 已認定大鼠 2 年期致癌性試驗不具有附加價值。除非有科學性的理由，須執行小鼠 2 年期致癌性試驗，否則為符合 3R 精神，建議優先使用基因轉殖小鼠模型。

在某些情況下，可能不適合進行小鼠致癌性試驗，例如：當 WoE 評估強烈指出，藥品對人類不具致癌風險，且已有數據指出，相較於人體，於小鼠體內只能達到低於治療劑量的暴露劑量及不具藥理學活性的藥品濃度時，就可能不適合進行小鼠試驗。另一個例子是當 WoE 評估指出，藥品可能對人體具有致癌風險，亦不適合進行小鼠試驗。

三、 RasH2.Tg 小鼠致癌性試驗之標準

在沒有劑量限制毒性或 ICH S1C(R2)所述標準的情況下，以血漿暴露(AUC)比值來選擇 rasH2-Tg 小鼠試驗的最高劑量，尚未有全球公認的標準。針對此基因轉殖小鼠模式下的 53 種試驗物質的資料進行數據回溯性分析，確定在這些案例下，只要鼠類對人類的系統暴露比例達到 50 倍(15)，就足以檢測到與化合物相關的腫瘤出現。基於這項分析，可獲得 50 倍血漿暴露比例(鼠類：人類)是此模式選擇最高劑量的合適標準。因此，其餘適用於齧齒類 2 年期致癌性試驗的高劑量選擇標準(請見 ICH S1C(R2))均適用於 RasH2.Tg 小鼠，惟以血漿暴露比例選擇高劑量組時應使用 50 倍，而不是標準品系齧齒類動物所使用的 25 倍。

附註

- 附註 1. rasH2-Tg(亦稱為 TgHras2、CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic)小鼠模型係由日本學者野村達次之實驗室所開發(1)，藉由將 C57BL/6JJic-Tg(HRAS)2Jic 半合子雄鼠與 BALB/cByJJic 雌鼠互交(intercrossing)配種，而子代包含具有 tg/wt 基因型的基因轉殖 rasH2-Tg 小鼠及具有 wt/wt 基因型的野生型 rasH2-Wt 小鼠。建議使用同窩的 rasH2-Tg 小鼠及 rasH2-Wt 小鼠進行劑量探索 (dose range finding, DRF) 試驗及收集暴露劑量等數據。在過去 20 年，相較於 rasH2-Tg 小鼠模型，其他動物模型並無顯著使用且開發經驗較為侷限，故其他動物模型選用高劑量時，不適用使用血漿暴露比例 (plasma exposure ratio) 作為依據。
- 附註 2. 將於日後的出版品中提供 ICH S1 前瞻性評估試驗的方法、結果及總結。
- 附註 3. WoE 評估該試驗物質對大鼠具致癌性，若有足夠證據證明其致癌機制與人類無關時，則可能不認為該試驗物質對人類具有致癌性。
- 附註 4. 可於 6 個月大鼠毒理試驗或其他短期試驗的組織病理學結果，分析細胞肥大、增生、持續性組織損傷、慢性發炎、病灶區的細胞變化、癌前變化與腫瘤等變化，有助於釐清發病機轉及與人類相關風險之關聯性。雖評估大鼠 2 年期致癌性試驗是否具附加價值時，主要依據 6 個月大鼠毒理試驗，但短期大鼠試驗亦可提供許多關鍵性組織病理學資訊。分析非嚙齒類動物與小鼠長期毒性試驗的數據，亦有助於提供額外的資訊(例如：不同的物種特異性機轉)，以探索與人類相關性風險及決策大鼠 2 年期致癌性試驗是否具有附加價值。
- 附註 5. 大鼠毒性試驗結果顯示，荷爾蒙干擾可能導致內分泌或生殖組織萎縮、肥大與增生的組織病理變化、或生物學上顯著的內分泌與生殖器官重量變化，且此類變化並非繼發於壓力或體重改變等因素。即使未記錄荷爾蒙濃度變化，亦可將上述變化認定為功能性荷爾蒙干擾的證據。除非再針對人類進行相關性調查或以其他方式證明，否則此類變化可能代表潛在致癌風險。

参考文献

1. Saitoh A, Kimura M, Takahashi R, Yokoyama M, Nomura T, Izawa M et al. Most tumors in transgenic mice with human c-Ha-ras gene contained somatically activated transgenes. *Oncogene* 1990;5(8):1195-200.
2. Van Oosterhout JPJ, Van der Laan JW, De Waal EJ, Olejniczak K, Hilgenfeld M, Schmidt V et al. The utility of two rodent species in carcinogenic risk assessment of pharmaceuticals in Europe. *Reg Toxicol Pharmacol* 1997;25:6-17.
3. Contrera JF, Jacobs AC, DeGeorge JJ. Carcinogenicity testing and the evaluation of regulatory requirements for pharmaceuticals. *Reg Toxicol Pharmacol* 1997;25:130-45.
4. Reddy MV, Sistare FD, Christensen JS, DeLuca JG, Wollenberg GK, DeGeorge JJ. An evaluation of chronic 6- and 12-month rat toxicology studies as predictors of 2-year tumor outcome. *Vet Pathol* 2010;47:614–29.
5. Sistare FD, Morton D, Alden C, Christensen J, Keller D, De Jonghe S et al. An analysis of pharmaceutical experience with decades of rat carcinogenicity testing: support for a proposal to modify current regulatory guidelines. *Toxicol Pathol* 2011;39:716-44.
6. Alden CL, Lynn A, Bourdeau A, Morton D, Sistare FD, Kadambi VJ et al. A critical review of the effectiveness of rodent pharmaceutical carcinogenesis testing in predicting for human risk. *Vet Pathol* 2011;48:772-84.
7. Friedrich A, Olejniczak K. Evaluation of carcinogenicity studies of medicinal products for human use authorised via the European centralised procedure (1995-2009). *Reg Toxicol Pharmacol* 2011;60:225-48.
8. Van der Laan JW, Kasper P, Lima BS, Jones DR, Pasanen M. Critical analysis of carcinogenicity study outcomes. Relationship with pharmacological properties. *Crit Rev Toxicol* 2016;46:587-614.
9. Van der Laan JW, Buitenhuis WHW, Wagenaar L, Soffers AEMF, Van Someren EP, Krul CAM et al. Prediction of the carcinogenic potential of human pharmaceuticals using repeated dose toxicity data and their pharmacological properties. *Frontiers in Medicine* 2016;3:45. doi: 10.3389/fmed2016.00045
10. Proposed Change to Rodent Carcinogenicity Testing of Pharmaceuticals – Regulatory Notice Document. ICH, 2016. (last accessed 31 May 2022)
11. The ICHS1 Regulatory Testing Paradigm of Carcinogenicity in Rats - Status Report Introduction Background: The RND Hypothesis and the Prospective Evaluation

Study. ICH, 2016. (last accessed 31 May 2022)

12. The ICHS1 Regulatory Testing Paradigm of Carcinogenicity in Rats: Status Report December 2017. ICH, 2017. (last accessed 31 May 2022)
13. The ICHS1 Regulatory Testing Paradigm of Carcinogenicity in Rats: Status Report 2019. ICH, 2019. (last accessed 31 May 2022)
14. The ICHS1 Regulatory Testing Paradigm of Carcinogenicity in Rats: Status Report 2021. ICH, 2021. (last accessed 31 May 2022)
15. Hisada S, Tsubota K, Inoue K, Yamada H, Ikeda T, Sistare FD. Survey of tumorigenic sensitivity in 6-month rasH2-Tg mice studies compared with 2-year rodent assays. *J Toxicol Pathol* 2022;35:53–73.
16. Bugelski PJ, Volk A, Walker MA, Krayner JH, Martin P, Descotes J. Critical review of preclinical approaches to evaluate the potential of immunosuppressive drugs to influence human neoplasia. *Int J Toxicol* 2010;29:435-66.
17. Lebec H, Brennan FR, Haggerty H, Herzyk D, Kamperschroer C, Maier CC et al. HESI/FDA workshop on immunomodulators and cancer risk assessment: Building blocks for a weight-of-evidence approach. *Reg Toxicol Pharmacol* 2016;75: 72-80.

附錄：WoE 案例研究與範例

前言

ICH S1 研究的成果之一是具有以下 WoE 考量因子的評估方案，更有可能支持大鼠 2 年期致癌性試驗對人體致癌性風險評估不具有附加價值的結論。

- (a) 作用標的生物學已被詳細研究，並且確認與已知參與人類癌症發展的細胞途徑無關。這種情況通常是該藥品的作用標的是屬非哺乳類動物所有(例如：病毒、微生物)，且可取得同類藥品的致癌性試驗數據。
- (b) 於探索藥品前在非預期標的次藥效學試驗中，沒有發現任何疑慮。
- (c) 慢性毒性試驗的結果顯示，沒有發現無法適當解釋病理發生或人體相關性的增生、肥大、非典型細胞變異或退化/再生性變化，表示藥品沒有引發致癌疑慮的 on-target 或 off-target 作用。
- (d) 沒有發現內分泌或生殖器官受到干擾，或內分泌的發現足與人類的潛在關聯性可被適當地解釋。
- (e) 依 ICH S2(R1)的標準整體評估，藥品沒有基因毒性。
- (f) 根據作用標的之生物學及重複劑量毒性試驗，沒有證據顯示藥品有免疫調節或免疫毒性的情況。

所提供的案例研究係用來說明 WoE 方法之應用，這些案例僅用於說明，而非指示 WoE 的作法，亦不代表可支持 WoE 評估的數據充足程度。案例一及二的藥品範例是整合關鍵 WoE 考量因子後，得出大鼠 2 年期致癌性試驗不會增加人類致癌性風險評估之附加價值。案例三則描述了整合所有 WoE 考量因子的數據後，認為藥品對人類的潛在致癌性風險是無法確定的，而大鼠 2 年期致癌性試驗將具有附加價值。案例四則描述一藥品，雖無法從同類藥品取得資訊，但透過 WoE 分析確認大鼠 2 年期致癌性試驗可能不具有附加價值。

案例一：病毒複製抑制劑

案例一摘要：

前瞻性證據權重(WoE)評估

- 此化合物不太可能對大鼠及人類具有潛在致癌性，因此大鼠 2 年期致癌性試驗不具有附加價值。
- 此化合物已於足夠高的暴露臨界下進行充足的研究，並未發現任何與證據權重因子相關的疑慮成因。

大鼠 2 年期致癌性試驗結果

- 未觀察到與此化合物相關的致癌性發現。

支持性 WoE 因子：

作用標的之生物學

- 作用標的為非哺乳類動物(病毒)所有，可排除刻意改變哺乳類動物致癌途徑之可能。
- 同類藥品資訊中，大鼠 2 年期試驗沒有發現同類藥品有相關的致癌性風險。

次級藥理

- 藥品濃度最高達 10 μ M 時，沒有觀察到與非預期標的產生交互作用，包含未與雌激素、男性荷爾蒙及葡萄糖皮質素受體產生交互作用。

長期試驗的組織病理資料

大鼠試驗

- 一項以 Wistar 大鼠進行的 6 個月重複劑量毒性試驗，劑量達到吸收飽和且達到 31 倍暴露臨界。
- 在標準的組織樣本群中，沒有觀察到與化合物相關的組織病理變化。

非嚙齒類試驗

- 在一項以非人靈長類(Non-Human Primate, NHP)執行的 9 個月重複劑量毒性試驗中，觀察到膽管增生及肝細胞腫大，伴隨反應性嗜中性白血球 (reactive neutrophils) 及再生性增生，這些發現的無明顯不良反應劑量 (No Observed Adverse Effect Level, NOAEL) 約為 5 倍暴露臨界。
- 大鼠長期試驗沒有觀察到相似的作用，因此以大鼠做進一步評估也無法提供有用的資訊。

荷爾蒙作用

- 內分泌及生殖器官的重量或組織病理結果中，未觀察到與化合物相關的變化。

基因毒性

- 依 ICH S2(R1) 指引標準下，未有證據顯示化合物相關的潛在基因毒性。

免疫調節

- 於臨床病理學或組織病理學結果中，未有化合物相關的免疫組織(例如，淋巴結、脾臟、胸腺、骨髓)變化。

額外調查性試驗

- 無可用數據。

案例二：神經元 GPCR 拮抗劑

案例二摘要：

前瞻性證據權重(WoE)評估

- 該化合物對人類的致癌可能性不高，而對大鼠雖然可能有致癌風險，但此致癌風險係透過已確知與人類無關之機制造成，因此大鼠 2 年期致癌性試驗不具有附加價值。
- 基於大鼠長期試驗所觀察到的毒理作用及同類藥品的腫瘤結果，此化合物具有造成齧齒類動物特有之肝癌與甲狀腺癌的潛力。在高倍數的人體暴露量之下，這些大鼠才出現因作用標的藥理學引起的賀爾蒙變化，因此不被認為對人類具有致癌風險。由於該化合物會於大鼠體內釋放氟化物引起氟中毒，而氟中毒為潛在致癌風險，但於人體內並未觀察到該化合物會釋放氟。

大鼠 2 年期致癌性試驗結果

- 大鼠 2 年期試驗結果顯示肝細胞增生，但沒有與該化合物相關的致癌性發現。

支持性 WoE 因子：

作用標的之生物學

- 受體主要表現於大腦，較少表現於周邊組織，這在各物種均相似。
- 受體活化後，促進下視丘產生腎上腺皮質激素釋放激素(adrenocorticotropin-releasing hormone)，進而促進腦下垂體釋放腎上腺皮質激素(adrenocorticotropic hormone, ACTH)。
- 剔除作用標的基因之小鼠模型中，沒有觀察到致癌性相關變化。
- 相似藥品的大鼠 2 年期試驗中，沒有觀察到可明確歸因於作用標的致癌用(請參閱次要級藥理部分了解 off-target 作用)。

次級藥理

- 該化合物會拮抗性結合在一非預期標的之受體，其抑制常數(inhibition constant, K_i) 高達 8 倍的最大臨床劑量的最高血中濃度(maximum concentration, C_{max})，且該非預期標的受體之藥理學與腫瘤生成機轉無關。
- 一相似藥品的大鼠 2 年期試驗中，觀察到甲狀腺濾泡腺瘤/癌之現象，此現象與促甲狀腺激素(thyroid stimulating hormone, TSH)升高相關，並且被歸因於一與藥品代謝相關之非預期標的途徑。

長期試驗的組織病理資料

大鼠試驗

- 在人體暴露量的 50~74 倍下，觀察到肝臟肥大及器官重量增加。
- 在人體暴露量的 170~670 倍下，觀察到甲狀腺濾泡肥大。

非齧齒類試驗

- 在約 230 倍人體暴露量下，觀察到肝臟肥大及器官重量增加。

荷爾蒙作用

- 在大鼠 6 個月試驗中，在超過人體暴露量 74 倍的情況下，觀察到腎上腺重量降低，但沒有伴隨組織病理相關變化，此外亦觀察到 ACTH 濃度降低，這些現象符合該藥品標的受抑制的情況。
- 在大鼠生育力試驗中，60 倍人體暴露量下，可觀察到發情週期不規律、懷孕機率降低；而在 >500 倍人體暴露量下，可觀察到黃體、著床及存活胚胎的數量皆減少，這些現象與黃體激素(luteinizing hormone, LH)及性腺激素(gonadotropin)受抑制的情況一致，而且與抑制該藥品作用標的的相關。
- 在 6 個月大鼠試驗中，沒有觀察到生殖器官重量改變或組織病理相關變化。

基因毒性

- 依據 ICH S2(R1)指引的標準，沒有證據顯示藥品及其代謝物具有基因毒性潛力。

免疫調節

- 於臨床病理學、淋巴細胞子集(lymphocyte subsets)、免疫組織(例如：淋巴結、脾臟、胸腺、骨髓)組織病理學的結果中，未有藥品相關之變化。

額外調查性試驗

- 該化合物會誘導 CYP1A2 及 CYP3A1。
- 該藥品會於大鼠體內釋放氟化物，導致氟骨症及氟牙症，但已證實不會發生於人體。

案例三：絲氨酸/蘇氨酸激酶(serine/threonine kinase)抑制劑(新作用標的)

案例三摘要：

前瞻性證據權重(WoE)評估

- 該化合物是否具有潛在致癌性尚無法確定，因此大鼠 2 年期致癌性試驗對於評估其人體致癌風險有幫助。
- 致癌風險的不確定性與下列因素有關：複雜的作用標的藥理學(例如：抑制細胞凋亡)；缺乏藥品作用標的之前例；大鼠 6 個月試驗組織病理學變化引發之疑慮，這些變化缺少可用以解釋的合適機制，且於食蟹猴亦有可支持的類似發現。雖然猴子的免疫毒理學發現(即 T 細胞依賴性抗原反應受到抑制)對評估人體致癌風險有所幫助，但大鼠的致癌性研究不預期能提供此發現的更進一步資訊。

大鼠 2 年期致癌性試驗結果

- 兩種性別皆觀察到藥品相關之腦下垂體腫瘤增加、致死率增高、潛伏期縮短，這些現象可能歸因於作用標的之藥理學。大鼠 2 年期試驗結果有助於人類致癌風險的整體評估。

支持性 WoE 因子：

作用標的之生物學

- 發炎介導氧化壓力(inflammation-related oxidative stress)會活化該藥品之作用標的，進而促進細胞凋亡，此現象與細胞增生的調控有關聯。抑制該作用標的，會抑制細胞凋亡的訊息傳遞並影響細胞增生，理論上會促進致癌風險。
- 在癌症發展過程中，藥品作用標的呈現出組織依賴性的角色，在各動物模式中有觀察到促進作用，也有觀察到抑制作用。
- 缺少轉殖基因小鼠 6 個月試驗及啮齒類動物 2 年期試驗有關作用標的被抑制之腫瘤結果數據。

長期試驗的組織病理資料

大鼠試驗

- 從人體暴露量的 14 倍開始，在腎臟皮質觀察到嗜鹼性腎小管、嗜酸性小滴 (eosinophilic droplets) 與棕色色素的發生率和嚴重程度增加，這些現象與人類的關聯性未被釐清。
- 給予 39 倍暴露臨界下，對非腺體的胃臟之限制脊 (limiting ridge) 造成慢性刺激，此現象與人類的關聯性未被釐清。
- 肝臟重量增加，但沒有伴隨組織病理變化。

非嚙齒類試驗

- 於 12 倍人體暴露量的劑量下，觀察到猴子腸胃道上皮細胞有變性、壞死、反應性增生、擴張、發炎及潰瘍
- 於 12 倍人體暴露量的劑量下，觀察到猴子腎小管有變性、壞死、擴張及空泡形成的發生率增加

荷爾蒙作用

- 於 17 倍人體暴露量下，觀察到大鼠的腎上腺重量變重及腎皮質肥大，此現象與人類的關聯性未被釐清。

基因毒性

- 依據 ICH S2(R1) 指引的標準，沒有證據顯示藥品及其代謝物具有基因毒性潛力。

免疫調節

- 在猴子中，觀察到抑制 T 細胞依賴抗原反應，但未影響自然殺手細胞的細胞毒性及顆粒性白血球細胞的功能。
- 於 12 倍人體暴露量下，觀察到脾臟、胸腺、淋巴結的淋巴細胞減少。

額外調查性試驗

- 肝臟酵素 CYPs 1A、3A、2B 增加。

案例四：前列腺素受體(prostaglandin receptor)拮抗劑(新作用標的)

案例四摘要：

前瞻性證據權重(WoE)評估

- 該化合物不太可能對大鼠及人類具有潛在致癌性，因此大鼠 2 年期試驗對於評估人體致癌風險並無增值效果。
- 藥品作用標的與癌症發展的角色無關。在超過人體暴露量 50 倍的情況下，大鼠 6 個月試驗並未觀察到組織病理學上的發現。次級藥理學也表明該化合物具有高度的目標選擇性。

大鼠 2 年期致癌性試驗結果

- 未有與化合物相關之致癌性發現。

支持性 WoE 因子：

作用標的之生物學

- 先天免疫細胞上的受體活化與過敏性發炎反應相關，而現有資料並未顯示其於致癌過程中有扮演任何角色。
- 於一年的觀察期中，剔除該作用標的之小鼠未出現組織病理變化或對免疫功能的影响。

次級藥理

- 相較於其他同類受體及其他涉及發炎反應之受體，該化合物對其作用標的之選擇性至少高出 300 倍。
- 於各種受體/離子通道/通道蛋白/酵素的普篩中，該化合物對其作用標的之選擇性至少高出 2000 倍。

長期試驗的組織病理資料

大鼠試驗

- 在最高測試劑量下(約 54 倍人體暴露量)，未觀察到任何組織器官中有增生性變化。

非齧齒類試驗

- 在非齧齒類動物達 39 週的重複劑量毒性試驗中，在最高測試劑量下(約 45 倍人體暴露量)，未觀察到任何組織器官中有增生性變化。

荷爾蒙作用

- 於內分泌及生殖器官的重量或組織病理結果中，未有化合物相關之發現。

基因毒性

- 依據 ICH S2(R1)指引的標準，沒有證據顯示具有基因毒性潛力。

免疫調節

- 在大鼠 6 個月重複劑量毒性試驗中，於最高測試劑量下(約 54 倍人體暴露量)，未有免疫功能變化(例如：T 細胞依賴性抗體反應)及對於淋巴細胞子集的不良作用。

額外調查性試驗

- 無可用數據。