

出國報告（出國類別：其他）

參加第九屆生命科學應用之替代品
及實驗動物世界大會
**(9th World Congress on Alternatives
and Animal Use in the Life Sciences)**

服務機關：行政院農業委員會家畜衛生試驗所

動物用藥品檢定分所

姓名職稱：張家嘉助理研究員

派赴國家：捷克

出國期間：103年8月22日至103年8月30日

報告日期：103年11月3日

摘要

印度聖雄甘地有句話：「一個國家的文明程度，就看它怎麼對待動物。」在許多藥品、生物製劑甚至化妝品的研發上須使用許多動物來進行實驗。然而隨著我們對動物所知愈來愈多，我們不再如十七世紀名哲學家笛卡兒一樣，只視動物為一種物質，而是有知覺的生命體。因此，基於道德及倫理，關注動物福利已是動物學界的主流。「3Rs 原則」旨在使實驗動物的使用量逐步減少，但是實驗結果的準確性、可靠性卻不斷提高。「3Rs 原則」反映了實驗動物科學的現代發展趨勢，不僅在技術上要有更嚴格的要求，同時要加強對動物的人道主義管理。

本次國際研討會著重各國在不同領域科學研究上，動物使用及動物替代品的研究發展成果。研討會議程共有 10 大項主題於 9 個會議室同時進行，10 大主題包括「新技術」、「預測毒理學」、「3Rs 原則在學術和教育之應用與交流」、「傳播和數據共享」、「藥物及生物製劑的安全及效力試驗」、「人類相關性」、「倫理」、「精緻化和福祉」、「全球合作、主管機關認可及標準化」及「其他議程」。本報告將針對參與與本身職務相關之議題進行內容摘要及心得感想。希望藉由本次參與國際研討會的經驗，了解國際間在藥品及生物製劑的開發研究的過程中，動物使用及動物替代品的進展，以利未來業務的改善與推動。

目次

壹、 緣起及目的.....	4
貳、 議程.....	6
參、 參加研討會內容摘要報告.....	8
肆、 參與心得與建議.....	22
伍、 附錄.....	27

壹、緣起及目的

在許多藥品、生物製劑甚至化妝品的研發上，須使用許多動物來進行實驗，然而隨著我們對動物的認識愈來愈多，我們不再如十七世紀名哲學家笛卡兒一樣，只視動物為一種物質（Thing），而是有知覺的生命體。因此，基於道德及倫理，關注動物福利已是動物學界的主流。

1959 年出版的「人道主義試驗技術原理」一書，第一次全面且有系統地提出了 3Rs《減量(education) -取代(Replacement) –精緻化(Refinement)》原則。

「減量(Reduction)」是指盡可能的減少實驗中所用動物的數量，提高實驗動物的利用率和實驗的準確度；或使用一定數量的動物能獲得更多試驗資料。

「取代(Replacement)」是指用體外試驗的方法或沒有感覺的生物材料替代活體動物。前者是用非生命的體外實驗代替活體實驗，如分子生物學方法、ELISA 試驗法、細胞晶片或電腦影像等。後者是以微生物或細胞、組織、器官來代替多細胞的生物個體，或以較低等動物取代高等動物進行試驗。

「精緻化(Refinement)」是指通過改進和完善實驗設計，避免、減少或減輕試驗對動物造成的疼痛和不安（如採用止痛劑、麻醉劑、安樂死）；或為動物提供適宜的生活條件，增進動物的健康和快樂，提升實驗動物的福利水準，並確保動物實驗結果的可靠性。

「3Rs 原則」的目地在使實驗動物的使用量逐步減少，但是實驗結果的準確性、可靠性卻不斷提高。「3Rs 原則」反映了實驗動物科學的現代發展趨勢，不僅在技術上要有更嚴格的要求，同時要加強對動物的人道主義管理。

從事動物疫苗檢定工作已滿七個年頭，主要業務為依據「動物用藥品管理法」子法「動物用藥品檢驗標準」每年進行 1,000 批以上動物用疫苗的實驗室檢驗與動物試驗。近幾年因「實驗動物福利」與「動物保護」已成為國際趨勢，檢定分所亦不斷在改善動物飼養設施、飼育環境及動物操作技術，使疫苗檢定之動物試驗更精緻化。而在研擬制訂新疫苗的檢驗標準時，亦盡量朝向動物減量以及採已

驗證過的替代方法進行擬訂。

本次有幸參與「第九屆生命科學應用之替代品及實驗動物世界大會」。本研討會將著重在不同科學研究上，動物使用及動物替代品的研究發展成果。希望藉由本次參與國際研討會經驗，了解國際間在藥品及生物製劑的開發研究的過程中，動物使用及動物替代品的進展，以利未來業務的改善與推動。

貳、議程

本次「第 9 屆在生命科學上之應用之替代品及動物使用的國際研討會」，於 103 年 8 月 24 日至 103 年 8 月 28 日在捷克布拉格希爾頓飯店盛大舉辦。研討會議程共有 10 大項主題於 9 個會議室同時進行。10 大主題包括新技術(New Technologies)、預測毒理學(Predictive Toxicology)、3Rs 原則在學術和教育之應用(3Rs in Academia & Education)、交流、傳播和數據共享(Communication, Dissemination and Data Sharing)、藥物及生物製劑的安全及效力試驗(Efficacy and Safety Testing of Drugs and Biologicals)、人類相關性(Human Relevance)、倫理(Ethics)、精緻化和福祉(Refinement and Welfare)、全球合作、主管機關認可及標準化(Global Cooperation, Regulatory Acceptance and Standardization)及其他議程(Additional sessions)。會議期間，每天早上 9:00~9:30 及下午 5:15~5:45 會請專家進行半小時之專題演講。其餘時間（每 2 小時），分別在 9 個會議室內，針對同一個主題，邀請 5~8 位講者進行口頭簡報，內容非常豐富多元。每日議程如下表：

表一、研討會議程

時間	8 月 24 日	8 月 25 日	8 月 26 日	8 月 27 日	8 月 28 日
08:30–09:00	衛星會議研討會 Satellite Meetings Workshop	開幕式 Opening Ceremony			
09:00–09:30		專題演講 Michel Goldman	專題演講 Uwe Marx	專題演講 Roman Kolar	專題演講 Robert J. Kavlock
09:30–09:45		休息 Beak	休息 Beak	休息 Beak	休息 Beak
10:00–12:00		科學會議 Scientific Sessions	科學會議 Scientific Sessions	科學會議 Scientific Sessions	科學會議 Scientific Sessions

時間	8月24日	8月25日	8月26日	8月27日	8月28日
12:00–13:30	衛星會議研討會 Satellite Meetings Workshop	午餐 Lunch	L'Oréal 圓桌討論會 L'Oréal Round Table on 3Rs	Björn Ekwall 紀念獎會議 Björn Ekwall Memorial Award Session	閉幕式 Closing Ceremony
13:30–15:00		科學會議 Scientific Sessions	科學會議 Scientific Sessions	科學會議 Scientific Sessions	衛星會議訓練課程 Satellite Meeting Training Course
15:00–15:15		休息 Beak	休息 Beak	休息 Beak	
15:15–17:15		科學會議 Scientific Sessions	科學會議 Scientific Sessions	科學會議 Scientific Sessions	
17:15–17:45		專題演講 Roman Mokry	專題演講 Nancy Gillett	專題演講 He Zhengming	
17:45–18:00		Russel and Burch 3Rs 的頒獎典禮 Russel and Burch 3Rs Award Ceremony	Charles River 實驗室“傑出精緻化獎 Charles River Laboratories' Excellence in Refinement Award	ALTEX 獎 ALTEX Award	
18:00–19:00		壁報欣賞 Poster viewing	壁報欣賞 Poster viewing	壁報欣賞 Poster viewing	
19:00–19:30		專題討論 Marek Vácha			

參、參加研討會內容摘要報告

由於 103 年 8 月 22 日當日沒有國營航班飛往捷克布拉格的班機，便選擇了票價較便宜的阿酋聯航空。由桃園機場出發，經由杜拜轉機（5 小時）至捷克布拉格機場已是當地時間 8 月 23 日下午 2 點。布拉格的交通非常親民，主要為地鐵、公車與路面電車(Tram)，而且票卷統一，一張車票（依搭乘時間不同而有不同票價）可搭乘大部分交通工具，相當方便。由於在台灣已經研究好從機場到旅館的路線，出了機場，便買了一張 90 分鐘的車票，先坐公車再轉電車到達住宿之旅館。

由於 8 月 24 日(日)早上的衛星會議研討會有名額限制且需另外付費，所以並沒有另外報名參加。下午便研究一下旅館到會場最近的路線，直接到研討會會場辦理報到手續。

因本次研討會討論的議題非常多，除專題演講外，科學會議的議題在 9 個會議室同時開講。故本摘要報告將分別以專題演講、及其他重要議題進行統整及摘要報告。

一、專題演講內容摘要報告

1. 動物：由生物力學及生物體的演化方向進行反思?(**Animals: biomechanisms or evolving organisms on the way to a reflexive thought?**)

由捷克倫理醫學專家 Marek Vácha 主講，內容提及早期大家對動物有三種主要概念包括(1)動物是一種單純的物質(thing)及一種生物力學體(biomechanisms)。(2)儘管在極端不相似中，某些動物仍有和人類相似之處。及(3)動物是介於物質和人之間的生物。但是在現代進化生物學和趨同進化理論中，生物體在進化的過程中需經過適應，其中智力跟思考的能力最為重要。由此角度可知動物或至少其中的一部分，可以被看作是有機體來進行思考。並由這個概念，衍申至動物倫理及 3Rs 的重要概念。

2. 藥物研發上合理使用動物：在創新的藥物研究上之貢獻(The rational use of animals in drug development : contribution of the Innovative Medicines Initiative)。

由比利時專家 Michel Goldman 主講，他提及動物模型被廣泛用於藥物研究和開發，用以評估其療效或新產品的安全性。但是，應用動物來預測藥物在人類反應的局限性越來越明顯。因此需迫切的重新思考動物在藥物研究上的地位跟必要性。本演講重點放在講者服務之機構創新藥物計劃(Innovative Medicines Initiative；IMI)在生命科學的研究上，以 3Rs 的精神在歐洲推動新藥物的研究和開發。IMI 為歐盟委員會(the European Commission)與歐洲制藥工業協會聯合會 (the pharmaceutical industries members of the European Federation of Pharmaceutical Industries and Associations (EFPIA))間之橋梁。IMI 的主要任務提升醫藥板塊在歐洲的競爭力，並提供一個中立的平台。他提及利用動物來研究和測試藥物是具高度敏感性的，但創造新藥物研發的過程漫長且含複雜但重要組成成分。然而，物種差異使得由動物研究所得之成果不一定可應用於人類，因而限制了使用動物所獲得的研究價值。所以最近許多新的藥物體外試驗發展，開闢了藥物研究的新方向。這一個進展使我們可以重新思考實驗動物在藥理學及生物醫學上是否真的那麼重要。

3. 歐洲對 3Rs 原則的策略和動物取代實驗（以化妝品業為例）(European strategy for 3Rs and replacement of animal experiments (example of cosmetics sector))。

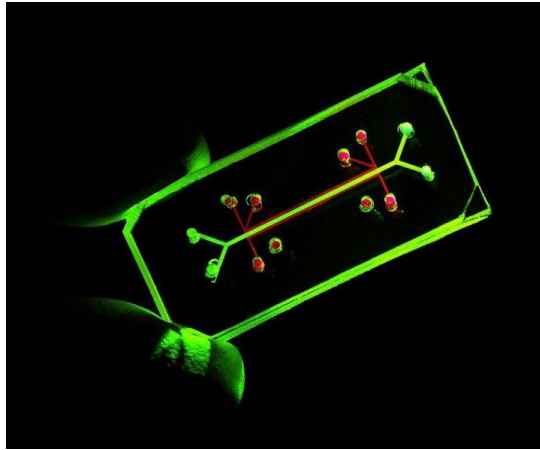
第三個專題由比利時專家 R. Mokry 主講。他提及從 2010 年開始，歐盟便開始重視動物福利，並加強立法。對動物實驗強調須以 3Rs 精神進行，但藥物之安全及效力之研究仍需使用到動物。2013 年 1 月，歐洲委員會強烈支持以替代的方法來取代動物試驗，並用最少量的動物或更精緻之方法進行試驗。這樣的精神

應用於化妝品業更是極致。從 2003 年起，經過動物保護組織多年來不斷努力的結果，歐盟委員會於 3 月 11 日下令全面禁止在動物身上進行化妝品測試，並正式宣佈在歐盟範圍內禁止進口和銷售通過動物試驗生產的化妝品及原料。講者舉證了許多例子來證明沒有使用動物試驗，仍可以保證化妝品的安全性。講者表示目前中國、印度及東南亞的國家，也正朝向這個目標發展，禁止在化妝品上進行動物測試。並希望由歐盟的帶動下，大家可以認同使用替代方法來進行化妝品的安全性測試。

4. 晶片上的人類：一些動物實驗的範例 (Human-on-a-chip – a paradigm shift from animal testing)。

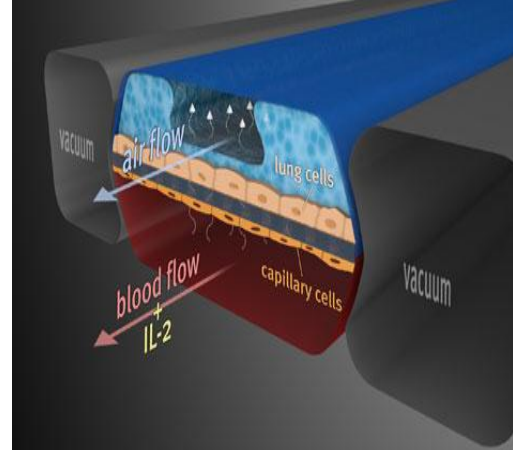
由德國的 U. Marx 博士介紹現今新穎的技術。講者提及在 1990 年代，許多科學家就開始有想利用模擬人類生物學系統的方式來取代動物試驗之概念。這個設計最早的原型是設計成多盒中空纖維生物反應器(multi-cartridge hollow fibre bioreactor)的樣子。經過多年的努力，體外晶片應用 3D 的技術漸漸由晶片上的器官(organ-on-a-chip) 發展至晶片上的人類(Human-on-a-chip)，雖然還有一些技術待克服的地方，但是未來這項技術的發展，在藥物或化妝品的研發上，將可以取代許多不必要之動物試驗。

由於專題演講的場地很大，照相效果不佳，以下圖說摘自網路。



圖一、晶片上的肺臟 (Lung on a chip)。

<http://www.washington.edu/news/2012/07/27/seattle-researchers-to-engineer-kidney-tissue-chip-for-predicting-drug-safety/>

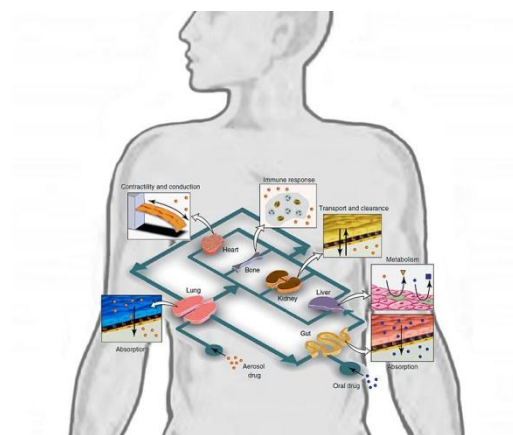


圖二、晶片上的肺臟 (Lung on a chip) 原理示意圖。本圖有三條液體通道，中間是多孔彈性膜，可放入肺臟細胞。下層是微血管細胞。上方通道有空氣流過，可使含有養分的液體流過血液通道。
<http://wyss.harvard.edu/viewpressrelease/99>



圖三：可以同時培養四種器官的細胞在同一晶片上(Human on a chip)

<http://www.tissuse.com/technology.html>



圖四、人體晶片 (human on a chip) 示意圖

<http://en.wikipedia.org/wiki/Organ-on-a-chip#mediaviewer/>

5. 由產業界之觀點來看 3Rs 和動物福利 (Industrial perspectives on the 3Rs and animal welfare)。

由美國 N. Gillett 博士主講，N. Gillett 服務於美國最大的實驗動物供應商 -Charles River 實驗室。講者提及「研發及技術委辦服務機構」(Contract Research Organization, CRO) 的專業分工體系提供了醫療院所、製藥業和研究機構臨時性的研究協助。包括藥物研究、臨床前試驗、臨床試驗及國家機構的審核申請，即藥物從「研發到上市」的一切服務。CRO 可避免各單位因某些階段性研發工作而投入過多人力及設備，並可加速產品上市。講者提及 CRO 在進行許多研究及安全性試驗時，為符合現今潮流，已經引進或開發許多體外試驗或多種動物試驗模式。所以 CRO 在使用新的技術及建立動物模式（注重動物福祉）於新藥物的開發或化學物質之評估上，擁有其獨特之地位。

6. 中國大陸對以取代方法進行動物試驗之前景 (Future perspectives for alternatives to animal testing in China)。

本專題邀請到中國大陸中國食品藥品檢定研究院賀爭鳴博士來介紹以動物試驗的替代品 (alternatives to animal testing ; AAT) 進行產品的安全性評估，在科學研究上是一種對 3Rs 具體表現，同時也是田間試驗及生物技術研究上非常重視之科學議題。由於國際間快速發展之 AAT 技術及動物福利的概念，使得中國開始重視這個議題。1997 年，原國家科委等四部委聯合發布的「關於“九五”期間實驗動物發展的若干意見」，第一次把 3Rs 的基本概念寫進實驗動物工作管理和科技發展的法規性文件中。2002 年，科學技術部發布的「科研條件建設“十五”發展綱要」中，明確提出「推動建立與國際接軌的動物福利保障制度」，並把這項工作納入「全面推行實驗動物法制化管理」的重要內容之一。在 2006 年，為了適應科技發展的需要，貫徹落實「實驗動物管理條例」，加強實驗動物管理工作，在深入研究和廣泛徵求意見的基礎上，由科學技術部制定了「關於善待實驗動物的指導性意見」。而在中國藥典（2010 年版）中，已直接提及「應盡量採用

準確的化學方法，物理方法或細胞學方法取代動物試驗進行生物製品質量檢定，以減少動物的使用」。在 2012 年，為了鼓勵學能測驗的發展，確保動物福利之相關措施亦被寫入「十二五規劃（2010-2015 年）中」。過去三年裡，許多替代方法已經開始應用於各項研究中，如熱原試驗。同時也透過國際的合作，舉辦研討會及訓練課程讓技術人員可以了解到一些經濟合作暨發展組織(OECD)推薦之方法如 BOCIP、HET-CAM、3T3 NRU phototoxicity test, EPISKIN® 等。另外也出版了實驗動物和動物實驗技術、實驗動物替代方法原理與應用與毒理學替代方法等書籍。希望藉由上述的一些行動，強調 AAT 在測試技術的重要地位和地位，並被中國政府及科學家接受。

然而比其他國家，AAT 在中國的起步算是晚的，且主要還是應用在實驗室研發階段，且並沒有完成正式的驗證程序。現在 AAT 主要應用在化妝品及毒理試驗，但在其他的部分就比較少。目前 AAT 驗證系統尚未建立完成，相關的法律及法規雖利於促進 AAT 發展，但仍需要持續加強和改進。中國政府正在試圖透過各種管道，建立相關的制度與技術，期望與國際接軌。

7.以 ToxCast 為誠，且對未來之展望(Lessons learned from ToxCast and prospects for the future)。

最後一個專題，由美國的 R. Kavlock 專家主講。他提及 21 世紀之毒性測試遠景及策略（簡稱為 Tox21），是美國環境保護署、藥物食品理局及國家衛生研究院共同簽訂之 5 年合作備忘錄，其目的在於建立科學化、具成本效益且以毒性機轉為基礎之化學品風險評估模式。

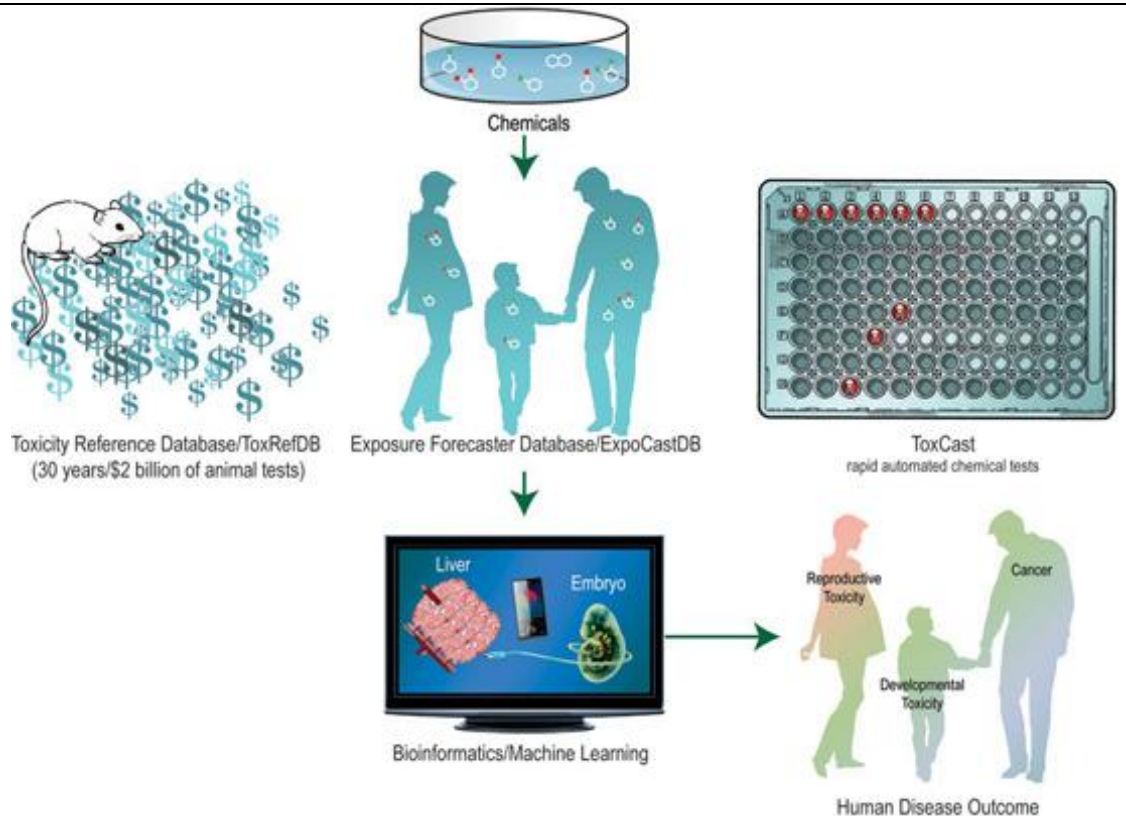
ToxCast™ 是 2007 年開始研發之低經費並可快速預測化學品毒性之篩檢技術，目的在使用更快及更好的方式進行化學品篩檢。當時這項技術已可以篩選 2,000 種以上的化學品及預測其潛在之毒性。講者詳細介紹了 ToxCast 從開發到現在應用上所需注意的重點及一些經驗進行論述。

由於專題演講的場地很大，照相效果不佳，以下圖說摘自網路。



圖五、ToxCast™ 高速機器手臂全自動篩選系統。

(<http://epa.gov/research/annualreport/2012/toxcast.htm>)



圖六、ToxCast™ 化學篩選系技術示意圖。

<http://www.environmentalleader.com/2012/03/13/loreal-funds-1-2m-animal-free-toxicology-research-with-epa%E2%80%99s-toxcast/?graph=full&id=1>

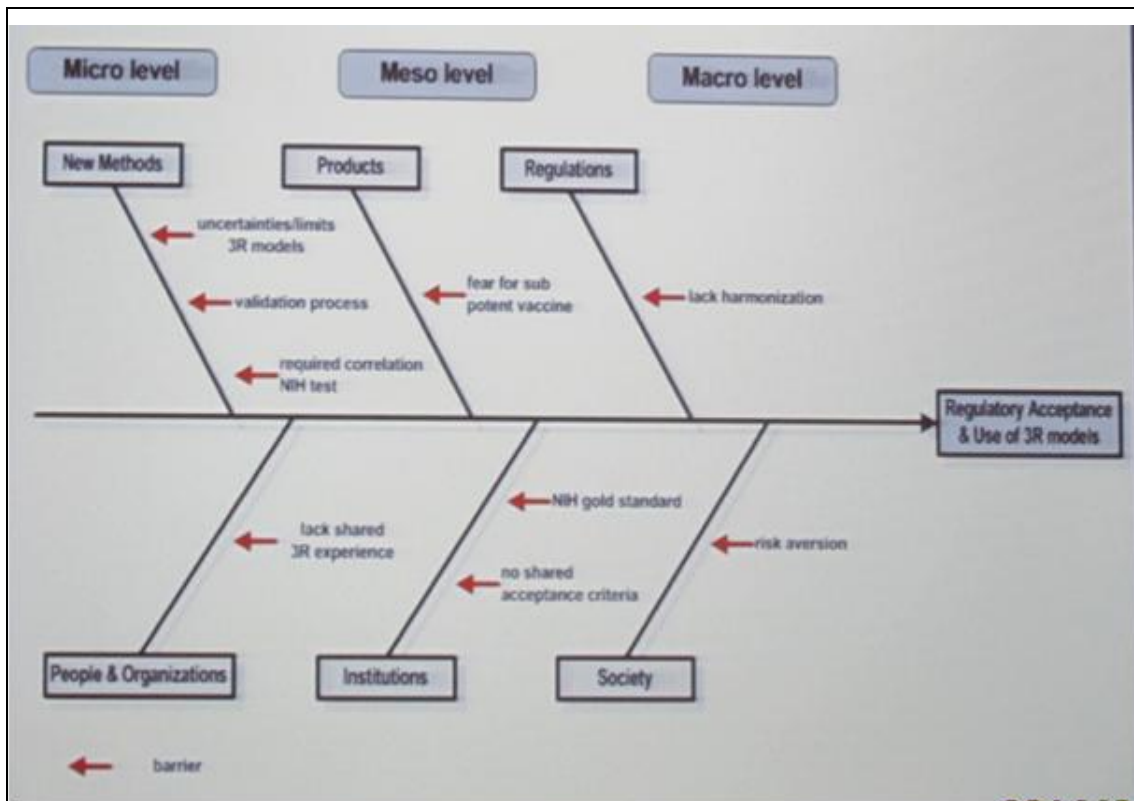
二、科學會議摘要報告

1. 藥物及生物製劑的安全及效力試驗

在這個議題上，其中有 3 個篇幅都在探討狂犬病疫苗效力試驗的方法。分別為荷蘭專家 M.-J. Schiffelers 博士、法國賽諾菲巴斯德狂犬病疫苗項目專家 Jean-Michel Chapsal 及巴西專家 W. C. Moura 博士進行口頭報告，其報告重點摘要如下：

(1)以其他方法取代狂犬病疫苗效力試驗 NIH 檢驗法的助力及阻力概要說明 (Replacing the NIH test for rabies vaccine potency testing : a synopsis of drivers and barriers)。

荷蘭專家 M.-J. Schiffelers 博士提及在所用的動物試驗中，大約有 70%動物被用於證明疫苗的品質。尤其是狂犬病疫苗效價試驗，主要採用 NIH 的攻毒試驗進行檢驗。但這已經在科學意義、動物福利的關注及成本方面的考量上，面臨重大的挑戰。有幾個 3Rs 模型已被提出來減少、取代或更精緻化 NIH test。有些已經正式納入法規的要求，但是實際上因主管機關的認定及產業界對新方法的不熟悉，提高 3Rs 模式取代 NIH 方法的困難度。所以講者將這個問題利用文獻探討及直接訪談了約 50 位的狂犬疫苗專家，得到一些結論。作者認為在創新方法的 3Rs 模式開發，其所遭受之阻礙可分 3 個層面進行討論，包括微觀層面、中觀層面及宏觀層面。在現今的社會環境中，微觀層面是指 3Rs 模型的開發和驗證，其主要的阻力為缺乏開發過程中數據共享和嚴格的驗證過程。而在中觀層面主要指現行的監管制度，總是受限於所謂的「黃金標準(Golden standard)」及缺乏協調和促進 3Rs 立法的動力。而在宏觀層面（如社會環境），需在風險評估及動物福利間取得平衡點。所以最後作者總結，一個受認可之 3Rs 模式，一定要在這 3 個層次中所有利益相關者進行充分溝通、合作及協調方可完成。



圖七、以其他方法取代狂犬病疫苗效力試驗 NIH 檢驗法的助力及阻力(魚骨圖)。

(2) 目前國際間使用替代方法取代狂犬病 NIH test 的團隊(Toward the replacement of the Rabies NIH potency test: International Working Group for Alternatives to NIH test)。

法國賽諾菲巴斯德狂犬病疫苗項目負責人 Jean-Michel Chapsal 則主要在介紹在目前國際間使用替代方法取代狂犬病 NIH test 的團隊。

他提及在許多狂犬病病毒的研究中，具免疫與天然免疫原性的狂犬病病毒 G 蛋白，可誘發中和抗體來對抗狂犬病病毒。而在人用狂犬病疫苗製程中，以最後大桶槽所含之抗原含量為該批疫苗之最終抗原含量。在許多會議上包括 NICEATM, ICCVAM meeting 和 EPAA 都有提及建立 G 蛋白的定量方法及技術，並提出適宜的方法來取代 NIH 試驗。他認為目前在檯面上的一些取代 NIH 試驗方法中，採用 ELISA 檢測糖蛋白抗原含量具有經濟、簡便和變異係數小等諸多優點，建議優先作為狂犬病疫苗效價測定替代方法進行驗證並推廣。並以一張簡

表來說明目前正在研究以替代方法來取代 NIH 試驗之政府機關或機構。



圖八、目前正在研究以替代方法來取代 NIH 試驗之政府機關或機構。

(3)人用狂犬病疫苗檢測不活化疫苗是否仍有殘餘之活病毒檢測方法-在巴西藥典的檢測方法，以 3Rs 的方式進行(Residual live virus detection test for rabies vaccine for human use : a 3Rs proposal for the Brazilian pharmacopoeia test method)。

再來為巴西藥檢所 W. C. Moura 博士演講在巴西藥典中，人用狂犬病疫苗檢測不活化疫苗是否仍有殘餘之活病毒檢測方法。

早期人用狂犬病不活化疫苗在檢驗是否不活化完全時，可選擇使用動物或細胞進行試驗。最早 WHO(WHO, 1980, 1987)規定須至少使用 20 隻小鼠進行試驗，但是在 2007 年，這個動物試驗項目就被刪除了。但是在 2010 年的巴西藥典中，仍規定須進行 20 隻的哺乳鼠及 20 隻成年小鼠進行試驗，並且需觀察 21 天。基於 3Rs 的原則，講者研究發現使用 10 隻的哺乳小鼠腦內接種疫苗後 5 天所得的結果與現行方法並無顯著差異，新方法不但可以減少動物數量更可以縮短觀察時間，更可以提供狂犬病疫苗不活化試驗檢驗方法的新方向。

(4)疫苗批次放行檢驗的一致性方法研究(The consistency approach in lot release testing of vaccines)。

除了討論狂犬病不活或疫苗的檢定外，另有個有趣的議題是荷蘭的專家 C. Hendriksen 博士對疫苗批次放行檢驗的一些建議。講者一開始便提及根據 2012 年的統計，應用於生物製劑相關試驗所使用的動物數量就佔了全部的動物試驗的動物數的 17.4%。講者從三大方向，15 個理由出發，建議大家不要再使用那麼多動物進行疫苗 QC 的試驗。

第一從動物福利的觀點來討論，包括(1)動物是有情感的，且有其內在的價值。(2)有大量的動物使用在疫苗的品質檢驗上。(3)有很大比例的動物在進行疫苗品質檢驗上，遭受極大的痛苦及壓力。(4)利用動物進行試驗會導致之社會許多關注。

第二從科學的角度來討論，包括(5)體內試驗(in vivo)可以是人造數據。(6) 體內試驗(in vivo)可能是黑箱的。(7)實驗室間的再現性可能很低。(8)許多因素都會影響試驗的結果。(9)標準品的使用不一定一致。(10)試驗結果不一定可以對照到標的動物（動物不是小型的人類）。

第三在經濟或其他層面討論，包括(11)體內試驗(in vivo)通常需花很多時間及人力。(12) 體內試驗通常花錢。(13)舊的實驗方法都很傳統。(14) 需考慮動物舍的安全。(15)其實是有替代品的。

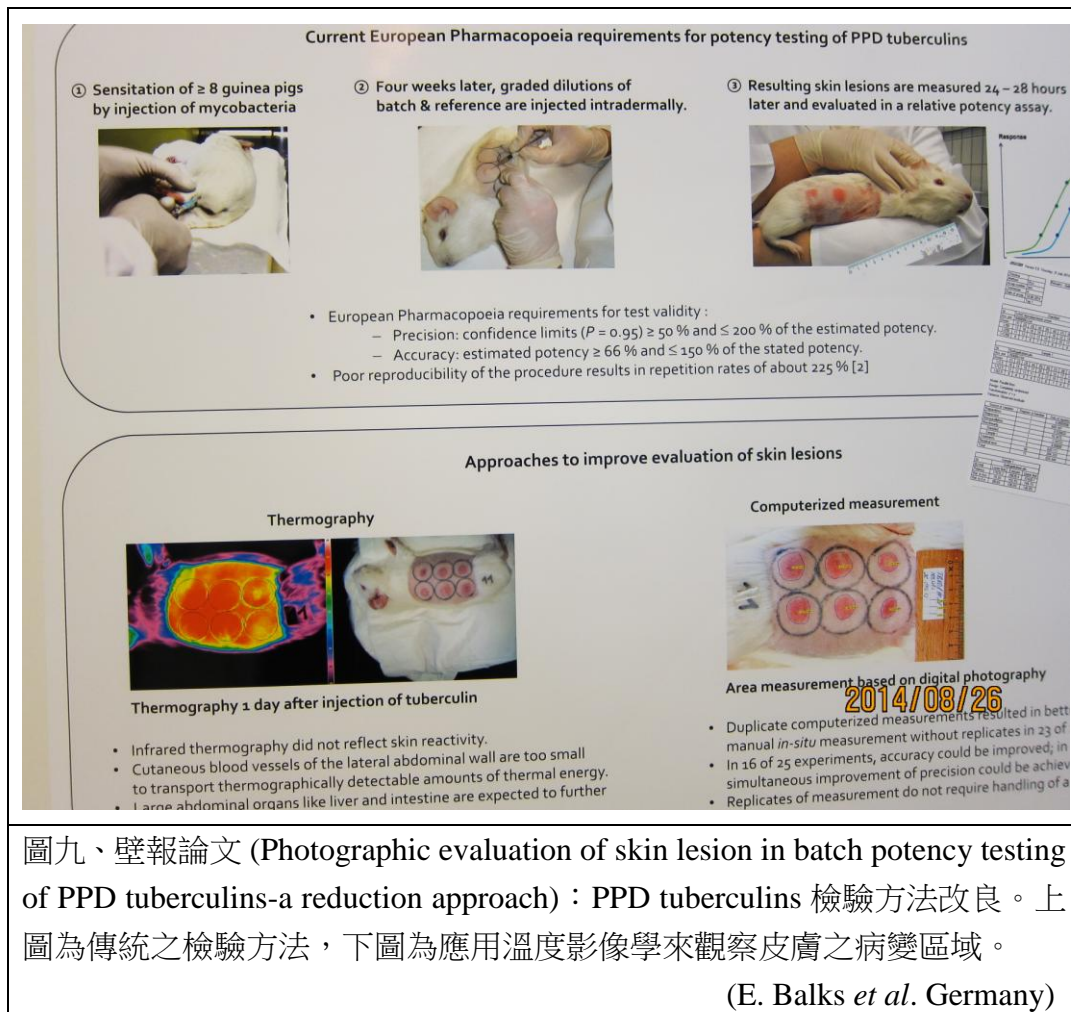
故基於上述的一些理由，講者強調使用一致性方法在疫苗批次放行檢驗上是必須的。講者建議可以藉由(1)改進和優化生產流程。(2)標準化嚴格的過程控制。(3)新的和改進的測試方法來監控產品品質及(4)使用品質管制系統來確保品質的一致性(如 GMP、QA 或 pharmacovigilance 等)的方法著手。

講者提到，要對疫苗批次放行檢驗進行一致性測試法建立，必須先從首批 (first new batches)新 seed lot 建立動物試驗及臨床試驗(in vivo)及非動物試驗(in vitro) 的技術資料。之後的批次即可以非動物試驗方法來進行檢定。然而使用這

種方法的前提必須是(1)批次放行是製造廠或產品特異性。(2)必須定義好警報標準(alert criteria) 及監管驗收標準(regulatory acceptance criteria)。(3)製造廠與主管機關互動良好且認同這個方法。

2.新技術(New Technologies)

傳統的實驗動物大多需要犧牲動物取活體組織進行各項分析，如果實驗所需時間點較多，不但操作人員的時間負擔重，動物的使用量增加，所需的動物飼養空間也相對增加，造成實驗人力及花費上的負擔。另外動物之間的個體差異往往會影響實驗結果造成誤差，也是動物實驗時常要面臨的問題，為了幫助研究者獲得更高品質的實驗數據，因此新的活體動植物試驗技術不斷被開發，其中「非侵入式的活體影像技術」在近幾年大放異彩，更成為重要的分析工具。這種非侵入式的活體影像技術包含：非侵入式 3D 全光譜活體分子影像系統、微電腦斷層掃描及超音波影像系統等。前者主要為利用可見光(visible light)偵測系統，並利用冷光酵素(luciferase)產生生物冷光的原理，使用或螢光蛋白及奈米染劑接受激發產生螢光之特性來偵測樣本影像，不需使用同位素探針，安全性極高。這些技術都可以針對同一隻動物進行長時間連續性的觀察，並利用軟體進行 3D 的影像建立，可得到待測物精確的外型以及體積，不但減少不同動物個體間所造成的實驗差異，更可以降低動物的使用量。目前已經大量應用於癌症研究、神經功能研究、新藥開發、功能性基因體研究、藥物安全及毒理性測試、疾病動物模式建立...等研究。



圖九、壁報論文 (Photographic evaluation of skin lesion in batch potency testing of PPD tuberculins-a reduction approach) : PPD tuberculins 檢驗方法改良。上圖為傳統之檢驗方法，下圖為應用溫度影像學來觀察皮膚之病變區域。
(E. Balks *et al.* Germany)

3. 預測毒理學 (Predictive Toxicology)

化妝品因為人體長期使用與接觸，必須確保不會有刺激性、毒性以及變異的反應，所以，製造廠通常是以動物實驗來證實安全無虞，然後才進入人體臨床實驗。目前化妝品原料或成品在毒性傳統的動物實驗包括：

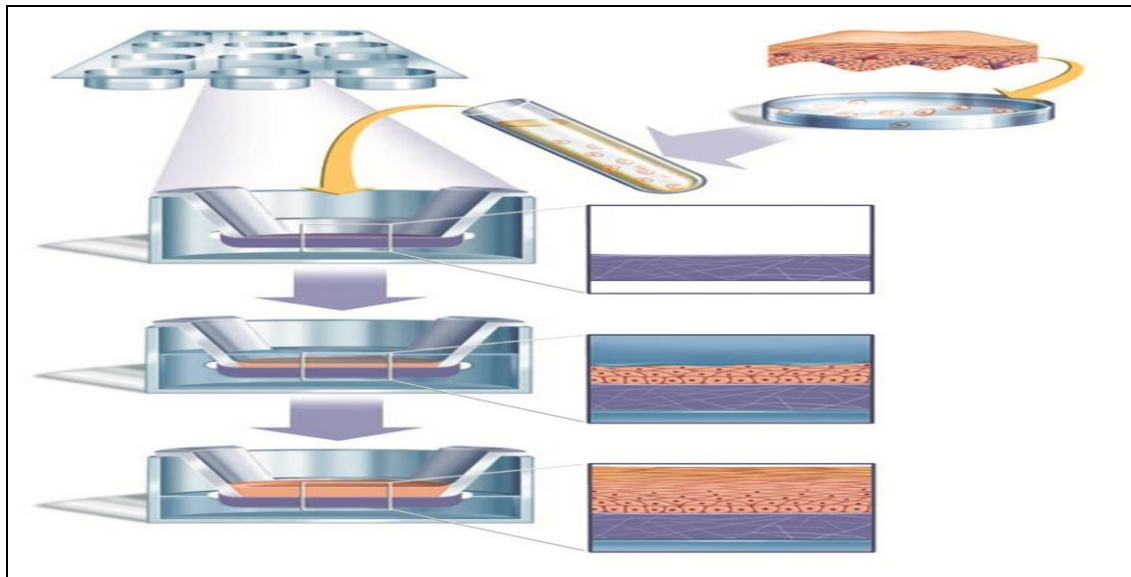
The Draize eye test：「Draize 測試」發明於 1944 年，兔子因為沒有淚水，所以不會因為淚水把測試物質從眼中沖洗掉，故用來衡量洗潔劑、髮膠及指甲油等產品可能對人類眼睛的刺激程度。

Skin irritation testin：「皮膚刺激性測試」，則是觀察某種測試物質可能對人類皮膚的影響。而兔子仍是最常被拿來做實驗的一種動物。人們將動物背部一部份的毛皮剃光，然後擦上測試物質，觀察是否造成皮膚發炎或破皮潰爛之情形。

LD50：「半致死劑量」，主要是將測試物質以口服、注射或吸入的方式進入實驗動物體內，觀察測試物質對動物之半致死劑量。

歐盟委員會於 2013 年 3 月 11 日下令全面禁止在動物身上進行化妝品測試，並正式宣佈在歐盟範圍內禁止進口和銷售通過動物試驗生產的化妝品及原料。目前已有許多取代方法「Eytex」（一種用豆類製成的物品）以及「Skintex」（一種用南瓜皮製成的物品），可以拿來做 5,000 種有毒物質的體外測試。

目前人造皮膚（Episkin）是以人類皮膚的表皮細胞培養出來，將人皮細胞放進骨膠原物質中，隨後加入水分、糖、氨基酸等養分，使皮膚長厚，便可以被改造為任何狀態以適應測試者的要求，例如老化、曬黑、不同種族的皮膚狀況等等。這種人造皮膚可用來測量皮膚受刺激的程度、吸收的狀況、日曬的傷害，以及乳液、除皺面霜、防曬用品、肥皂及洗髮精對皮膚的影響。而人造皮膚的來源，通常是各國人士進行減肥手術時多出來的皮膚細胞。但目前這項技術現在只得用於美容界，尚無法完全滿足食品業、藥品或化學界對動物測試的需求。



圖十、人造皮膚（Episkin）是以人類皮膚的表皮細胞培養出來。

(<http://apple113.blogspot.tw/2013/04/loreal-loreal-part-1.html>)



圖十一、Episkin 人造皮膚試劑。

(<http://apple113.blogspot.tw/2013/04/loreal-loreal-part-1.html>)

肆、心得與建議

本次有幸可以參加第九屆生命科學應用之替代品及實驗動物世界大會。在這個會議上，發現各國對於許多需要以動物試驗進行研究者，皆致力改以 3Rs 的原則下進行。而參與本國際研討會之講者及壁報作者更著重於以一些體外試驗方法來取代動物試驗。會議上所發表的許多新穎的技術為我平時沒有注意的，整個議程著實令我增長了不少智慧。以下為針對幾個參與的議題所得到的一些心得與建議。

1. 藥物及生物製劑的安全及效力試驗

本身從事動物用疫苗檢驗工作已近七年，目前在許多新疫苗開發過程中，都已經陸續納入了 3Rs 的觀念。在國際間，有些疫苗試驗的取代方法，如抗原含量試驗或相對效價試驗，經過多次與動物試驗結果驗證後，已經容許在疫苗批次檢驗中，直接取代動物的效力試驗。目前在台灣動物用疫苗檢驗標準擬訂上，最相似的例子，就是動物用藥品檢驗標準第三章第八十三節「豬環狀病毒感染症不活化疫苗檢驗標準」。該疫苗效力試驗規定，依疫苗種類不同，可依下列方法擇

一試驗，包括：(1)抗原相對效價試驗、(2)血清相對效價試驗及(3)抗原含有量試驗（附錄三）。由上述檢驗方法之規定，可以發現檢驗方法中，都沒有出現豬環狀病毒感染症之對象動物「豬」，反之以已 ELISA 及較低等之「雞」隻，取代「豬隻」效力試驗。顯示我國法規的對於新疫苗的研擬上，亦漸漸朝向國際趨勢進行，不會墨守舊有觀念，在逐批檢驗上，一定要看到疫苗在對象動物有保護效果（攻毒試驗）才算合格之觀念。

而在本次議程中，有許多篇幅在討論有關動物狂犬病疫苗效力試驗的檢定。在台灣因為是早期就訂定完成公告，檢定內容與國外相比較，雖都是使用小鼠進行試驗，但疫苗稀釋濃度及判定標準仍與 NIH 試驗方法有些許差異。之前本來就已開始思索應該將本檢驗標準進行修正，以期跟國際標準一致。但是來到這個研討會才發現國際間對狂犬病不活化疫苗 NIH 試驗的取代方法特別關注。可能是由於該項檢測方法須使用大量的小鼠，而且對還需進行腦內攻毒，發病時的觀察雖有人道中止點的設定，但是仍須讓動物遭受不少苦痛，且實驗結果亦易受動物健康狀況、實驗操作人員技術水平等因素影響，變異係數較大，因此尋找一個合適的替代方法特別迫切。但因為在研討會上每位講者只有 10~15 分鐘的簡報時間，且僅針對試驗的一小部分進行成果報告，實無法窺探到整個取代方法研究之全貌。所以回國後便上網找尋有關 NIH 試驗取代方法的相關資料。結果發現，現在各國對發展 NIH 試驗的取代方法建立非常熱衷，在 2012 年 10 月份，EPAAA 組織邀集各國相關專家及疫苗廠商，在法國阿卡雄（Arcachon）舉辦的狂犬病疫苗效價測定（NIH 法）取代方法專題小組研討會。該會議提到，目前狂犬病不活化疫苗效力試驗替代方法的研究包括單一稀釋度法、血清抗體法和體外抗原定量法，後者包括 ELISA 檢測 G 糖蛋白抗原含量，單向輻射免疫擴散試驗（SRID）和抗體結合試驗（ABT）。該會議的結論，目前認為採用 ELISA 檢測 G 糖蛋白抗原含量具有快速、便宜及變異係數小等優點，可以優先作為狂犬病疫苗效價測定替代方法進行驗證並推廣。此部分與本次研討會講者，法國賽諾

菲巴斯德狂犬病疫苗項目負責人 Jean-Michel Chapsal 介紹的論點一致。目前國際間已經有幾個實驗室已經完成 ELISA 檢驗試劑開發，未來若受國際認可及推薦使用，將可以將本分法納入疫苗檢定標準，屆時將可減少不少試驗動物。

2.新技術(New Technologies)

在新技術部分 (New Technologies)，我覺得有趣的的就是現今對晶片上的器官 (organ on a chip) 及晶片上的人類 (Human on a chip) 的研究進展。由於目前開發新藥的方式太過昂貴、耗時，且失敗機率往往大於成功機率，因此每十億美元的研發支出所獲得的核准上市新藥越來越少。其主要原因，可能為進入人體臨床試驗之前，用來測試藥物是否有效或是否安全的工具，包括細胞培養及動物試驗無法完全預測人體內發生的事。在培養皿中的培養的細胞，雖可以在培養的環境中生存，但畢竟培養的環境與體內環境不盡相同。動物試驗確實能提供相當有用的訊息，使我們明白藥物在複雜有機體中發生的情形。然而，大多數情況下，動物模式仍無法預測使用特定藥物時發生於人體內的情況。

因此，晶片上的器官 (organ on a chip) 的概念應運而生。我們的身體是動態環境，持續地運轉，我們的細胞亦是如此。它們在體內處於動態的環境，持續感受機械力，因此，如果想讓細胞快樂地在體外運作，就必須替細胞設計、打造另一個家。目前國外有許多實驗室，致力於將活細胞放入晶片中，並設計處於動態環境的細胞可與不同種類的細胞作用。這就稱做晶片上的器官 (organ on a chip)。這項技術，主要是運用電腦晶片製造工業技術，打造與細胞及其生長環境相仿的結構。目前開發的產品有肺臟、心臟、腎臟、肝臟、腸道...等。如此在藥物體外測試的技術上，比起單純的細胞培養技術，著實跨進了一大步。

但這樣的進步，科學家並不滿意。許多實驗室已經開始利用能藉由液體流動於細胞間技術，將各種器官晶片進行連結，形成所謂的晶片上的人類 (human on a chip)。雖然這種技術尚未完全成熟，但相信在不久的將來便可應用此項技術來

取代不必要之動物試驗。甚至在強調個人化的今天，將個人化的細胞培養在晶片上進行特定藥物的毒理測試的技術將不再是夢想，也許可藉由事先模擬藥物使用於個人的效果或是可能導致的副作用，再決定是否使用這個藥物進行治療。

現今「非侵入式的活體影像技術」，在近幾年大放異彩，儼然已成為重要的分析工具，在本次的壁報專題中，德國的研究學者發表了一篇與結核菌素診斷液檢定方法的改良研究報告，論文標題為 *Photographic evaluation of skin lesion in batch potency testing of PPD tuberculin-a reduction approach*，結果摘錄於圖九。結核菌素診斷液檢定方法主要為將免疫牛分支桿菌之天竺鼠，於背側皮內同時注入結核菌素診斷液及結核菌素標準品，比較 2 者對天竺鼠造成之腫脹反應，2 者腫脹程度不可超過 2mm(附錄四)。但是這種人為的量測，易受人為主觀判斷及量測工具的精準度造成誤差。論文作者利用改良方法，使用溫度影像學來觀察皮膚之病變區域，再藉由電腦的運算及統計，確實可客觀的評估診斷液的效果。目前我國對牛結核病的防治，主要是使用牛結核菌素診斷液，挑出陽性的牛並進行撲殺。牛結核菌素診斷液為國家每年專案進口一批，送由家畜衛生試驗所動物用藥品檢定分所進行國家檢定。未來本分所可再研究活體影像技術儀器及軟體，在動物疫苗研發或檢定上是否有更多的應用，以提升動物用疫苗檢定技術與能量。

3.預測毒理學(Predictive Toxicology)

傳統毒理測試主要是以動物實驗為主，由於產量低、費用昂貴且不同實驗物種間推斷困難，所以無法進行大規模化學品毒理分析。最新的技術如分子生物及電腦科學提供了體外生物化學試驗、以細胞為主檢測及非齧齒動物的毒理測試模式，提供了更高通量及更低費用的檢測。在某些分析(如 ToxCast™)，數以千種藥品、化學品、化妝品及消費類產品，能在數天中同時被檢測其毒理特性。ToxCast™ 能減少使用或完全不使用試驗動物，又可快速準確進行新興化學品之毒性評估，希望建立一套可預測生物體內毒性之體外生物活性測試系統。為達此

目標，目前 Tox21 團隊已在國家衛生研究院化學基因體中心，已完成建置以高速機器手臂全自動篩選系統，同時執行數千種可能具毒性化學物之非動物試驗模式如生化及細胞毒性高通量篩測等之核心技術。

國內塑化劑及食安問題陸續出包，如何管理化學品受到國人重視，但由於目前使用之化學品有數萬種之多，且每年以數千個的速度引進至國內。如只採用傳統之動物試驗時，有耗時、費力且價格昂貴之缺點，未來若由行政院環境保護署建置如同美國 ToxCast™ 可快速且準確評估化學品等危害之非動物試驗模式毒性測試，應有其可行性。

在台灣，法令上把化妝品分為二種：一為含有醫療或毒劇藥品化妝品（簡稱含藥化妝品），其他則列為一般化妝品。依我國法令，一般化妝品因為沒有硬性規定是否須經動物實驗，所以廠商並沒有刻意選擇免於動物實驗的化妝品原料。另外，含藥化粧品則不論為輸入或國產，均須向衛生福利部辦理查驗登記（其中須附有多種動物實驗報告），經核准發給許可證後始得輸入或製售。然而，現今的許多化妝品原料及成品以非動物試驗方法取代動物試驗檢測技術已十分純熟，雖然現在國家法律未強制規定禁止進口和銷售通過動物試驗生產的化妝品及原料，但身為消費者的我們，可以自由決定是否選擇「免於殘酷」（Cruelty free）的化妝品，為減少實驗動物使用盡一份心力。

此次除了參與國際會議之外，在研討會會場，意外地遇到幾位台灣來的研究學者。包括台灣大學醫學院醫學檢驗暨生物技術系陳淑華教授（基因轉殖鼠核心設施主持人）、財團法人工業技術研究院曾湘文博士、財團法人生物技術開發中心蔡咏蓁博士以及 2 位台灣動物社會研究會成員。在聊天中，除了大家對目前的業務進行交流外，也有人感嘆連中國大陸的學者受邀來研討會進行專題演講，提升中國大陸致力於改善動物福利的形象。未來建議我國主辦動物福利及保護之主管機關，亦能派員參加或受邀發表於類似的國際會議，在吸取國際新知的同時，也能提升我國的國際形象。

附錄一、參展廠商名單

1	The Humane Society of the United States
2	Unilever
3	L'Oréal
4	Procter & Gamble(P &G)
5	Johnson & Johnson
6	SHISEIDO
7	Novartis
8	Syngenta
9	Charles river
10	Bayer
11	JSAAE
8	Syngenta
12	EURL
13	Zoetis
14	ZonMw
15	messerli
16	IVTIP
17	MatTek
18	AbD Serotec
19	Roche
20	Cruelty-Free
21	Cyprotex
22	Cultex
23	CYTOO
24	Cell Tool
25	Tissuse
26	Union Biometrica
27	SkinEthic

附錄二、會場照片



圖一、研討會會場，位於捷克布拉格希爾頓飯店。



圖二、與研討會看板合影。



圖三、發放資料帶。



圖四、資料袋內含研討會講義、議程及一些贊助廠商 DM。



圖五、第一天(8/24)專題演講暨歡迎晚會。



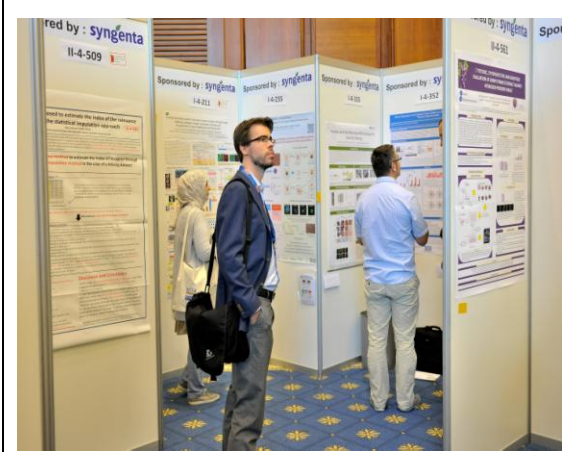
圖六、第一天(8/24)專題演講暨歡迎晚會。



圖七、演講廳一隅。



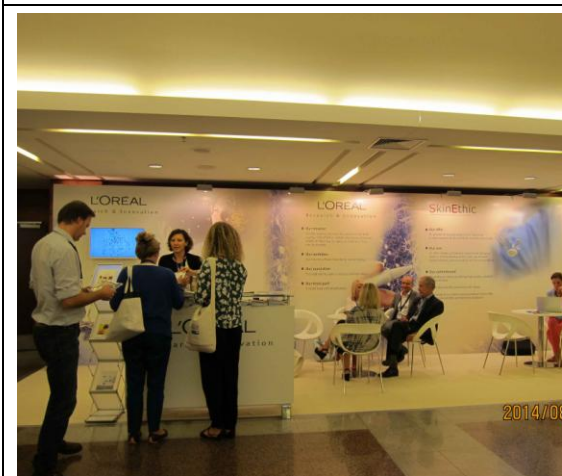
圖八、演講廳一隅。



圖九、壁報展場一隅。



圖十、壁報展場一隅。



圖十一、廠商參展區一隅。



圖十二、廠商參展區一隅。

附錄三

第 八十三 節 豬環狀病毒感染症不活化疫苗檢驗標準

第 182-5 條 本標準適用於第二型豬環狀病毒 (Porcine circovirus type 2; PCV2) 全病毒不活化疫苗，或應用基因重組技術表現第二型豬環狀病毒之第二開放閱讀框架 (Open reading frame 2; ORF2) 基因，經細胞或適當表現系統增殖培養及不活化後加入適當佐劑之疫苗檢定。

第 182-6 條 被檢豬環狀病毒感染症不活化疫苗須符合下列條件：

- 一、特性試驗：須具固有理學性狀，且無異物及異常氣味。
- 二、無菌試驗：不得含有任何可能檢出之活菌。
- 三、防腐劑含有量試驗：甲醛 (Formaldehyde) 含有量須為 0.2% 以下，硫柳汞 (Thimerosal) 須為 0.01% 以下。
- 四、安全試驗：
 - (一) 小鼠：選用十三至十五公克健康小鼠五隻，皮下注射十分之一劑量，接種後觀察十四天，不得有任何不良反應而健存。
 - (二) 天竺鼠：選用二百五十至三百公克健康天竺鼠三隻，皮下注射一劑量，接種後觀察十四天，不得有任何不良反應而健存。
 - (三) 豬：選用三至四週齡無特定病原 (Specific pathogen free; SPF) 小豬三頭，取二頭以肌肉注射本疫苗二劑量，另一頭為對照組，接種後觀察二十一天，均須無任何不良反應而健存。
- 五、效力試驗：依下列方法擇一試驗：
 - (一) 抗原相對效價試驗：試驗方法依原廠提供 ELISA 抗原和程序製備測試盤，並依原廠提供之試劑、抗體、陰性對照品、陽性對照品與標準抗原進行測試，測試後之吸光值以 Relpot4.0 軟體 (U.S. Department of Agriculture, Center for Veterinary Biologics Program's Relative Potency Calculation Software, May 22, 2002) 或最新

版本軟體，計算 RP 值，RP 值必須 ≥ 1 。

(二) 血清相對效價試驗：選用三至四週齡 SPF 雞隻七隻進行試驗，免疫前先對雞隻採血確定試驗雞隻不具 PCV2 抗體。五隻雞為免疫組，每隻於腿部肌肉注射零點零一二五劑量。二隻雞為控制組，四週後採血，依原廠提供的 ELISA 檢測套組以及方法進行 PCV2 血清學檢測，並以原廠所提供的 ELISA 檢測試劑軟體計算抗體力價，抗 PCV2ORF2 抗原之 ELISA 平均抗體力價需大於 24.5。

(三) 抗原含有量試驗：試驗方法依原廠提供 ELISA 試劑和程序製備測試盤，依原廠提供之試劑與對照品進行測試，並以原廠所提供的 ELISA 檢測試劑軟體計算疫苗抗原量，每劑量需大於 102.1ELISA 單位。

前項試驗確定困難時，應予複檢。

附錄四

第十三節 牛結核菌素檢驗標準

第 47 條 本標準適用於牛分枝桿菌(*Mycobacterium bovis*)培養濾液，經純化萃取之蛋白衍生物(Purified protein derivative, PPD)之檢定。

第 48 條 被檢牛結核菌素須符合左列條件：

一、特性試驗：須為淡褐色透明液體有芳香味，但不得含有異物及沉澱物。

二、無菌試驗：不得含有任何可能檢出之活菌。

三、安全試驗：選體重三〇〇至四〇〇公克健康天竺鼠三隻，各腹腔內注射本劑一·〇公撮，觀察一週，須無任何不良反應而健存，再經六週後以合格結核菌素一〇〇倍稀釋液〇·一公撮注射於皮下，經二四小時後測定其局部反應，須為直徑九公釐以下，且剖檢時，不得有結核病變。

四、力價試驗：選體重五〇〇公克以上健康天竺鼠五隻，肌肉注射牛分枝桿菌流動石蠟浮游液，使其獲得免疫，經六週後，於其背部皮內注射本劑一、〇〇〇倍稀釋液〇·一公撮，另於對側，以同樣方法注射英國中央獸醫研究所(Central Veterinary Laboratory)之對照用標準品(Reference Standard Preparation)為對照，經二四小時後，比較其發紅腫脹程度，其腫脹度須相同或其差異在直徑二公釐以下。

前項試驗確定困難時，應予複檢。