

出國報告（出國類別：研究）

參加 2016 年新興生物藥品未來展望與 法規科學研討會報告

服務機關：衛生福利部食品藥物管理署

姓名職稱：楊依珍 科長

派赴國家：英國

出國期間：105.05.16-105.05.20

報告日期：105.08.01

摘 要

本次奉派參加 2016 年新興生物藥品未來展望與法規科學研討會 (Regulatory Science in 2016: Shaping the Future of Biological Medicines)，該研討會係英國國家生物標準品暨管制研究所 (National Institute for Biological Standards and Control, NIBSC) 為慶祝成立 40 週年所舉辦之國際性科學技術研討會議，參與該研討會獲知單株抗體藥物、精準醫學、疫苗研發及基因治療與細胞治療等新興生物藥品相關研發現況及品質管理議題，其他如次世代定序技術 (NGS)、質譜儀及核磁共振光譜儀等新興儀器於臨床應用之迅速發展，相關檢測方法標準化與確效之需求等議題亦值得我們密切關注。參與該研討會議，除獲取新興生技藥物相關研發現況及品質管理議題，並藉此會議與各國相關領域專家建立交流管道，有助於我國生物藥品檢驗規格方法與國際接軌。因應這些新興生物藥品之研發趨勢，本署亦須積極關注，期能與國際接軌，運用新興科技針對這些新興生物藥品進行相關品質檢驗研究，提升本署對於新興生技藥物之品質檢驗管理能力，以因應未來產品上市前後之品質管理工作。

目 次

摘要	2
目次	3
一、目的	4
二、行程紀要	6
三、內容	7
四、心得及建議	29

一、目的

拜次世代定序、蛋白質體學等高通量生物科技與大規模生物資料庫等新興科技開發所賜，精準醫學將是目前極有前瞻性之發展重點。美國歐巴馬總統於 2015 年宣示推動「精準醫學」，我國陳建仁副總統也於今年出席相關會議時指出精準醫學是未來的趨勢，不只預防疾病，也能同時給病人好的醫療照顧，提供個人化治療，有效降低不必要的健保醫療支出，同時提升癌症病人存活率。事實上，推動精準醫學已成為各國政府積極推動的方向，除能避免醫療浪費，更能有效延長壽命，勢必成為未來生技醫療產業的主流。

此外，隨著基因工程技術與免疫醫學之研究進展，單株抗體藥物亦陸續研發上市，然由於單株抗體藥物普遍昂貴，在各國醫療支出負荷日益沉重等因素下，單株抗體生物相似性藥品被視為是近年來生技藥物的發展重點。由於單株抗體生物相似性藥品之蛋白質結構複雜，且製造過程中諸多因素影響，如何證明單株抗體生物相似性藥品與原廠參考藥品具相似性，確保其品質安全無差異，是當前各界關注之重點。

因應這些新興生物藥品之研發趨勢，本署亦積極關注，期能運用新興科技針對這些新興生物藥品進行相關品質檢驗研究，提升本署國家實驗室對於新興藥品之品質檢驗能力，以因應未來產品上市前後之品質管理工作。為與國際接軌，了解國際相關趨勢，本次奉派參加 2016 年新興生物藥品未來展望與法規科學研討會 (Regulatory Science in 2016: Shaping the Future of Biological Medicines)，該研討會係英國國家生物標準品暨管制研究所 (National Institute for Biological Standards and Control, NIBSC) 為慶祝成立 40 週年所舉辦之國際性科學技術研討會議，會議內容涵蓋單株抗體藥物、精準醫學、疫苗及基因治療與細胞治療產品等新興生物藥品，NIBSC 為 WHO 之 Collaborating Center，長期以來負責為 WHO 製備與供應生物性國際標準品，舉辦該研討會之主要目的係

建立平台供產官學研各界針對新興生物藥品的新思維進行交流討論，以利各國建立對於新興生物藥品品質管理之共識。參與該研討會議，除獲取單株抗體藥物、精準醫學、疫苗及新興生物藥品相關研發現況及品質管理議題，並藉此會議與各國相關領域專家建立交流管道，有助於我國新興生技藥物檢驗規格方法與國際接軌。

二、行程紀要

<u>日期</u>	<u>工作紀要</u>
5月16日	啟程與抵達英國倫敦
5月17日	參加2016年新興生物藥品未來展望與法規科學研討會
5月18日	參加2016年新興生物藥品未來展望與法規科學研討會
5月19日	返程
5月20日	抵台

三、內容

英國國家生物標準品暨管制研究所（National Institute for Biological Standards and Control, NIBSC）長期以來持續為 WHO 建立與供應國際標準品，為 WHO 生物性標準品實驗室；本次於 2016 年 5 月 17 至 18 日在英國倫敦皇家婦產科學院（Royal College of Obstetrics and Gynecologists）舉辦之 2016 年新興生物藥品未來展望與法規科學研討會，係 NIBSC 為慶祝成立 40 週年所舉辦之國際性科學技術研討會議，參與者包含各國主管機關、WHO、EDQM、生物藥品製造廠、公私立研究機構與大學院校等代表參與，計有約 200 位來自歐洲各國、美國、韓國、香港與台灣等國代表參與該會。

NIBSC 可以說是生物標準化領域的全球領導者，各國在確保生物藥品品質所使用的國際標準品中有 90% 以上都是由 NIBSC 負責建立和製造的。21 世紀所面臨的挑戰除要鼓勵和支持生物藥品的創新，同時須兼顧確保品質與安全的高水準。NIBSC 除了藉由此次研討會回顧過去 40 年來的成果外，還期望能找出未來的工作計畫與有效的合作方式，以克服關鍵的管理挑戰，將有助於安全有效的生物藥品加速上市。

本次研討會在 MHRA 執行長 Dr. Ian Hudson 開場引言下揭幕後，接著由 NIBSC 新任 Director Dr. Christian Schneider 進行演講。Dr. Christian Schneider 自 2016 年 4 月起接任 NIBSC 的 Director，其報告內容包含 NIBSC 過去 40 年來的貢獻，及 NIBSC 在生物藥品領域的角色：

- （1）建立與供應標準品、
- （2）開發建立品質管制方法、
- （3）疫苗改善相關研究，並藉由回顧 NIBSC 的成果與對於未來 40 年的期許來帶出本次研討會的各项主題，包含四個主題：（一）單株抗體藥物-生物療法的未來、
- （二）分子病理學與精準醫學(Precision Medicines)、
- （三）疫苗研發、
- （四）先進療法 (Advanced Therapies)，相關內容重點摘錄如下。

主題（一）：單株抗體藥物-生物療法的未來

1. 抗體療法藥物新概念

1975 年融合瘤（Hybridoma）技術的問世，是生產單株抗體的一大突破，隨著生物技術進步，單株抗體藥物持續上市，這些單株抗體藥物之蛋白質結構與早期之小鼠單株抗體已不相同。早期製造之單株抗體是老鼠來源之單株抗體（murine mAb），注入人體會有排斥或引起免疫反應，因此多應用於體外診斷試劑領域，現今藉由基因重組技術，已能製造 Chimeric mAb, Humanized mAb, Human mAb 等重組單株抗體（Recombinant mAb）。Humanized mAb 只有抗原決定部位是老鼠來源，Human mAb 則是由基因轉殖鼠製造的人來源單株抗體，由於非人源蛋白大減，大幅降低單株抗體注入人體後產生之免疫反應，且不易被分解，新一代的單株抗體製造技術使得單株抗體藥物更為安全有效，亦使得其應用範圍更為寬廣，目前多應用於癌症及自體免疫疾病的治療領域。

根據世界衛生組織（WHO）國際非專利藥名（International Nonproprietary Name, INN）的命名原則，單株抗體藥物的命名通常會包含字首，Substem A, Substem B 和字尾。字尾通常以 mab 代表單株抗體，Substem B 通常代表抗體產生的來源（如下表）：

<i>a</i>	rat
<i>axo (pre-sub-stem)</i>	rat-mouse
<i>e</i>	hamster
<i>i</i>	primate
<i>o</i>	mouse
<i>u</i>	human
<i>xi</i>	chimeric
<i>-xizu-</i>	chimeric-humanized
<i>zu</i>	humanized

(from WHO/EMP/RHT/TSN/2014.1)

Substem A 通常代表治療目標（如下表）：

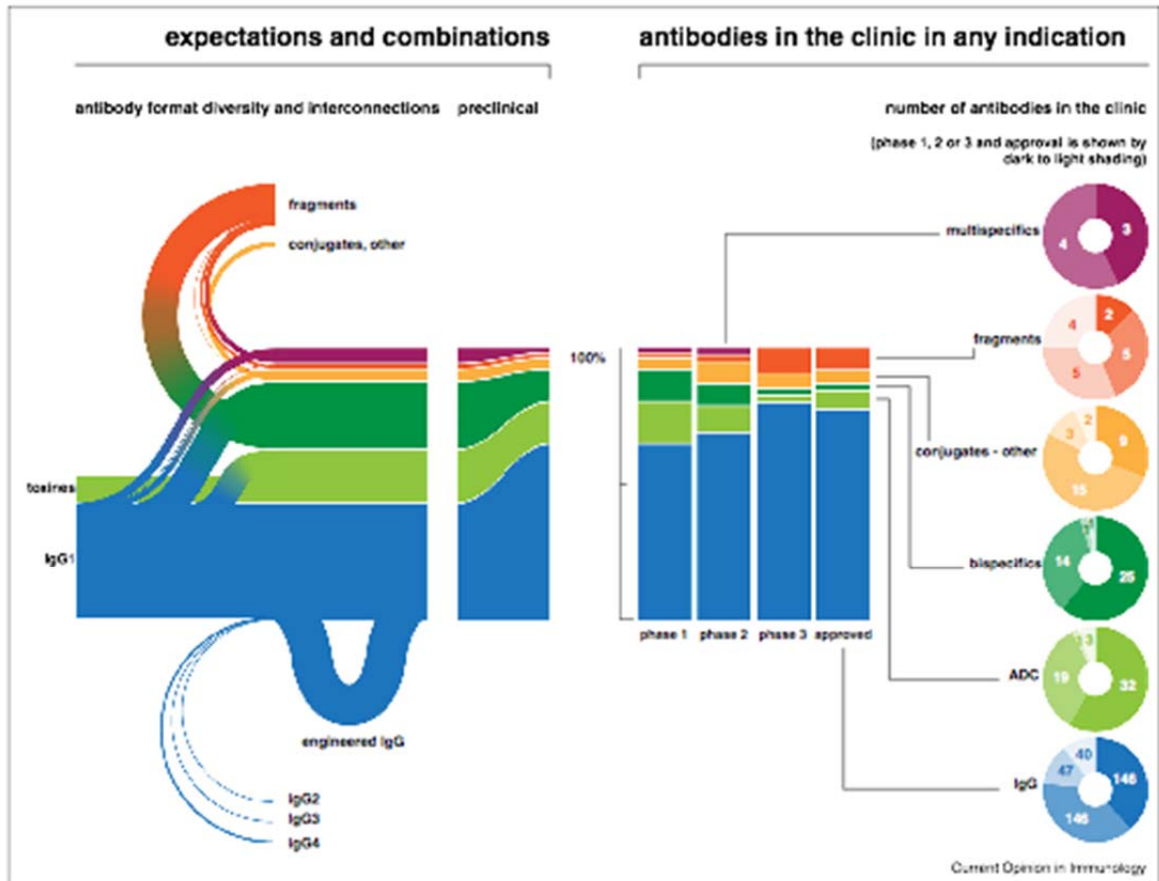
-b(a)-	bacterial
-c(i)-	cardiovascular
-f(u)-	fungal
-gr(o)-	skeletal muscle mass related growth factors and receptors
-k(i)-	interleukin
-l(i)-	immunomodulating
-n(e)-	neural
-s(o)-	bone
-tox(a)-	toxin
-t(u)-	tumour
-v(i)-	viral

In principle, a single letter, e.g. -b- for bacterial is used as substem A. Whenever substem B starts with a consonant (e.g. x or z), to avoid problems in pronunciation, an additional vowel indicated in the table, e.g. -ba- is inserted.

(from WHO/EMP/RHT/TSN/2014.1)

字首則是區別各單株抗體藥物之獨特命名部分，簡言之，Chimeric mAb 命名為 ~ximab，Humanized mAb 命名為 ~zumab，Human mAb 命名為 ~umab。WHO 2014 年更新之命名原則最大之差異在於需針對單株抗體上可變區 (Variable domain) V region 進行序列分析，Chimeric mAb 之序列比對結果較接近非人來源之物種，而 Humanized mAb 之序列比對結果則較接近人來源之物種。

下圖為目前研發及臨床試驗與核准等各階段之單株抗體藥物種類，目前臨床試驗與核准階段最普遍的單株抗體藥仍是傳統未經修飾之 IgG 抗體，但由下圖可以看出，抗體藥物複合物 (Antibody-Drug conjugates, ADCs) 及雙特異性抗體 (Bispecific antibodies) 等新世代之單株抗體藥物已逐漸於研發階段與臨床前試驗階段嶄露頭角。抗體藥物複合物將細胞毒殺藥物與專一性抗體形成複合物，在癌症治療上有其優勢，因此成為目前開發重點。雙特異性單株抗體於單一抗體分子上具雙重特異性的抗原結合位，目前研究以癌症治療為主。

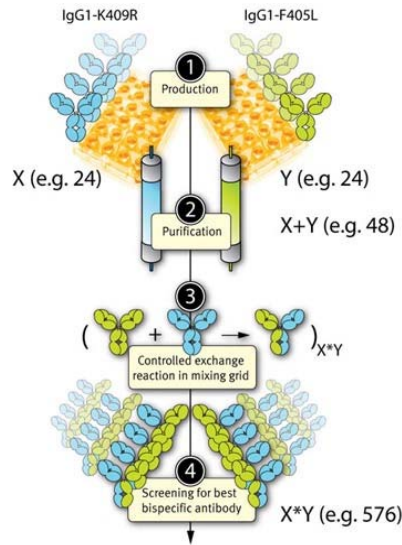


The antibody landscape.

The left site of the figure ('expectations and combinations') shows the diversity and interconnections of the format concepts available for antibody drug discovery. It also shows our expectation on the contribution of each format to the total field of antibody therapeutics in the near to mid-term future. The right site of the figure ('antibodies in the clinic in any indication') shows the antibody products in clinical development, all indications, as of March 2016, divided per format concept. Phase 1/2 studies were grouped with Phase 2; Phase 2/3 studies were grouped with Phase 3. Multi-specifics: mixtures of 2 or more antibody molecules. Fragments: antibody binding domains without Fc or "less than" full length. Molecules can be further engineered to improve for instance in vivo half-life. Conjugates other: antibodies conjugated with radiolabels, cytokines or other. Note: antibody drug conjugates, ADC, are excluded from this group. Bispecifics: dual targeting by a single molecule, either a fragment or a regular IgG. ADC: antibody drug conjugates. IgG: IgG molecules, classic IgG subclasses and Fc engineered variants. Data were made available by Janice Reichert, <http://www.antibodysociety.org/>.

(from Current Opinion in Immunology 2016, 40:vii - xiii)

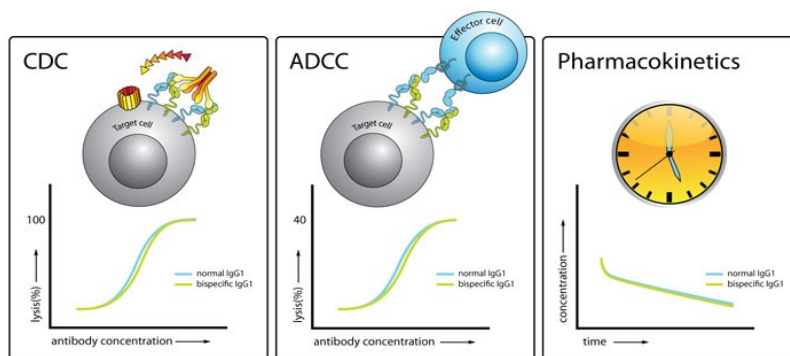
介紹 Genmab 公司已取得專利的兩項抗體產品技術平台：DuoBody®與 HexaBody®。其中 DuoBody®技術平台可提供自研發至全程生產雙特異性抗體 (Bispecific antibodies)。雙特異性抗體是一種經由基因工程技術將兩種針對不同抗原的專一性抗體 Fab 或單鏈抗體 (scFv) 結合在一個抗體上之新型抗體藥物，使其可同時專一地與兩種不同的抗原決定部位 (Epitope) 結合。DuoBody®技術平台包括三個基本步驟，藉由生產後期之交換反應產生穩定之雙特異性人 IgG1 抗體 (詳如下圖)。



The simple post-production exchange reaction employed by the DuoBody platform allows for generation of bispecific antibody libraries. X and Y represent antibody libraries. $X+Y$ is the number of productions to be performed, and $X*Y$ is the number of different bispecific combinations that is generated during the discovery process.

(from <http://www.genmab.com/duobody/technology>)

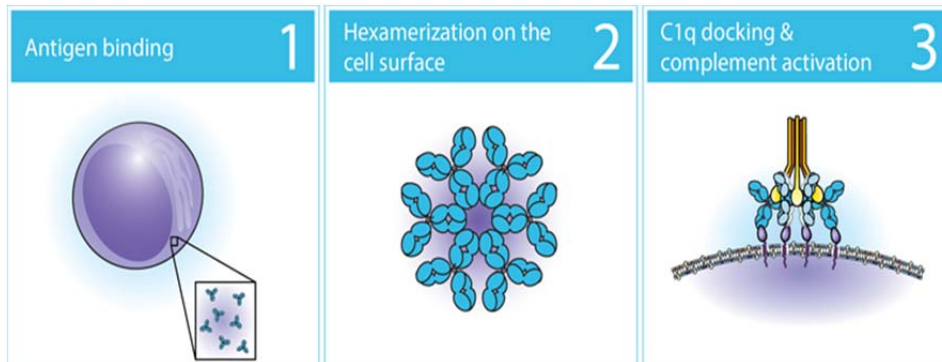
利用天然的 Fab 臂交換過程，DuoBody®技術能保留正常之 IgG1 結構與功能，該抗體 Fc 區域可與作用細胞 (Effector cells) 結合誘導細胞毒殺及活化補體的功能，達到多方面殲滅癌細胞的目的。且其藥物動力學特性與正常 IgG1 一樣，許多雙特异性抗體目前已在臨床開發階段 (如下圖)。



Bispecific IgG1 molecules have a similar ability to induce complement-dependent cytotoxicity (CDC; left panel) and antibody-dependent cellular cytotoxicity (ADCC; middle panel) as wild-type IgG1. The clearance rate of bispecific IgG1 in mice is similar to the clearance rate of regular IgG1 (right panel).

(from <http://www.genmab.com/duobody/technology>)

當結合到細胞上的目標分子，抗體被發現組成一個六環的六聚體 (Hexamer)，這個過程是由相鄰抗體的 Fc domains 間的非共價結合來驅動。六聚體的形成被發現與補體級聯的第一個成分 C1 結合的最佳化而言是關鍵的，一旦結合到第一個成分，補體級聯反應被觸發，最終導致形成膜攻擊複合物，此複合物在細胞膜形成孔洞，導致細胞死亡。



IgG bound to cell surface antigens (1) associates into hexameric platforms (2). This forms the optimal structure for binding of the first component of the complement system, C1 (3).

(from <http://www.genmab.com/hexabody/Technology>)

透過改造抗體的 Fc domains 可增加六聚體的形成，如此將會提高目標細胞的補體依賴性細胞毒性 (Complement-dependent cytotoxicity, CDC) 的效果，此即為 HexaBody 技術的基礎。HexaBody® 技術平台可同時保留常規結構並加強特異性抗體的毒殺能力，該技術具有增強抗體療法應用於癌症與感染性疾病領域之潛力。

此外，尚有抗體療法應用商店-抗體商店的概念 (如下圖)，該店提供領航的指南，並結合最新的創新，以滿足特定需求。

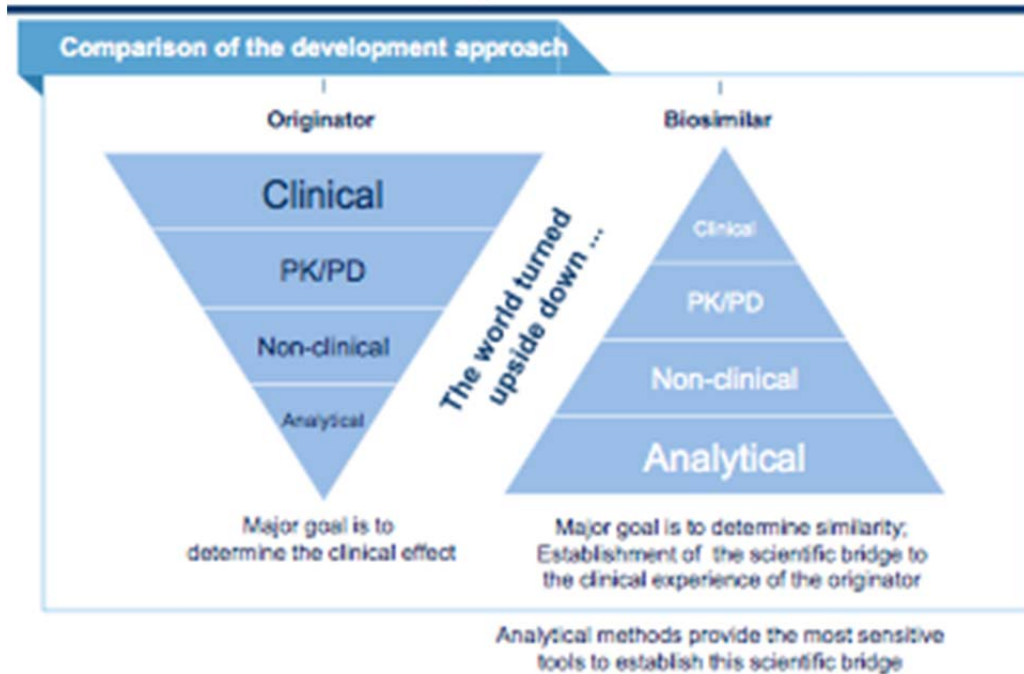


(from Current Opinion in Immunology 2016, 40:vii - xiii)

2. 單株抗體生物相似性藥品之品質安全評估

生物藥品之物化特性複雜，生物來源、培養增殖與純化等製造過程不同，均使不同製造廠與不同製程之生物相似藥不可能與原開發藥完全相同，因此無法以化學學名藥的評估方式證明其生物相等性，而需以完整的比較性研究（Comparability studies）來證明其品質、安全及療效與已核准的參考藥品（Reference product）相似，品質部分的比較性研究需在合理的科學考量下，儘可能以最新技術針對兩者進行多批次詳盡的分析，包含完整的蛋白質結構特性分析、功能性分析等，證明兩者間之相似性，以減免部分非臨床與臨床試驗應檢附的資料。生物相似性的評估會因生物藥品的特性差異而有所不同，下圖為原開發藥與生物相似藥研發過程間之差異。

Different focus between originator and biosimilar development



(from Dr Martin Schiestl's presentation)

過去核准之生物相似性藥品，如基因重組生長激素（Somatropin）之生物相似性藥 Omintrope，及基因重組顆粒群落刺激因子（Filgrastim）之生物相似性藥 Zarxio，其分子量分別只有 22KDa 與 18.8KDa，蛋白質結構分析較單純，相較之下，動輒 150KDa 的單株抗體藥物則複雜許多，不僅分子組成及結構較複雜，生產單株抗體的細胞來源不同也將導致臨床療效相差甚遠。因此單株抗體生物相似性藥品與參考藥品兩者間的品質比較性研究方面必須包含如一級、二級與更高級結構，轉譯後修飾等物化性質，免疫化學性質，生物活性，純度及不純物等品質特性資料。其中，主成分之胺基酸序列須相同，某些轉譯後修飾（如 glycosylation、oxidation、deamidation 等）可不相同，但必須提出資料證明差異的合理性且不影響安全性。一級結構應包含雙硫鍵分析，醣化結構分析須包含 overall glycan profile、site-specific glycosylation pattern 等。

如兩者間之差異包含不屬於人類細胞的醣化修飾結構時，須適當評估其對安全性的影響。此外，必須鑑別並定量不純物，如單株抗體生物相似性藥品之不純物含量高於參考藥品或檢測出參考藥品沒有的不純物，可能需要額外的試驗來確認其對於安全性與有效性之影響。如果無法以非臨床或/及臨床試驗來證明其相似性，則該生物相似性藥品將會被視為新藥。

進行生物相似性藥品與參考藥品比較性研究時，應使用各種先進且靈敏的分析方法，進行多批次深入之平行比對分析，分析方法必須不僅能顯示兩者間之相似性，也須能辨識出潛在差異。隨著新興儀器的問世與分析技術的進展，一些儀器已逐漸應用於相似性之比較研究，如高解析度串聯質譜儀用於胺基酸序列及轉譯後修飾之分析，x 光繞射儀、核磁共振光譜儀 (NMR)、傅立葉轉換紅外線光譜儀 (Fourier transform infrared spectroscopy, FT-IR)、圓二色光譜儀 (Circular dichroism spectroscopy, CD spectroscopy)、氫氘交換質譜儀 (Hydrogen/deuterium exchange mass spectrometry) 等用於蛋白質結構之分析。

單株抗體生物相似性藥品與參考藥品的比較性研究不僅應包括 Fab 抗原結合的功能性評估，也須包含 Fc-媒介作用 (如結合到 Fc gamma receptors (FcγR)、neonatal Fc receptor (FcRn)與補體) 的功能性評估。可運用各種分析方法，如：表面電漿共振儀 (Surface plasmon resonance)、Microcalorimetry、或 Classical scatchard analysis 等，來分析結合能力的專一性、親和力、結合動力學 (Binding kinetics) 等。另須以適當分析方法進行 Fab 相關功能 (例如：Neutralization of soluble ligand、Receptor activation or blockade)、和 Fc 相關功能 (例如：ADCC、CDC、Apoptosis、和 Complement activation) 的比較性研究。

生物活性的比對性研究須依活性成分的作用機轉設計出不同且可互補的分析方法。鑒於部分生物活性的分析方法變異性太大，恐難以明確評估生物相似性藥品和參考藥品間之微小差異，因此可採用多種具專一性與靈

敏度之分析方法，根據各種分析方法的確效結果進行多個可互補之分析以辨識生物活性的差異。

由於活性成分之高異質性會增加結構分析或其他物化特性分析上的複雜度，一般無法以單一方法分析出不同的異質體 (Variant)，須以一系列分析方法進行交叉比對，如離子交換層析法 (Ion exchange chromatography, IEC)、等電聚焦法 (Isoelectric focusing, IEF)、和毛細管電泳 (Capillary electrophoresis, CE)、液相層析串聯質譜儀等分析方法，近來的分析方法研究多針對聚糖之異質體 (Glycan variants) 分析技術，有差異的異質體須以生物活性分析方法確認其是否具有生物活性，以判斷此異質體是否屬於不純物。

在產品相關不純物部分，須以多種定性和定量分析方法進行兩者間之純度與不純物之比對研究。並利用虐待試驗比較兩者之降解途徑，以鑑別兩者間之不純物是否有差異。如在生物相似性藥品鑑別出額外的不純物或特定不純物之含量較參考藥品高時，須評估其是否對臨床安全上有影響，必要時，應執行相關的毒理試驗來驗證。或可藉由改善純化步驟來移除不純物，以避免後續安全上的疑慮。如生物相似性藥品和參考藥品的製程不同，兩者之製程相關不純物亦可能不同，故兩者製程相關不純物的比較性研究可能無法證明相似性，但仍須對製程相關的不純物進行分析，且須提供經評估之不純物含量的安全性資料。

The biosimilar must match the reference product in all relevant structural and functional attributes (mAb example)

Primary structure e.g.:

- LC-MS intact mass
- LC-MS subunits
- Peptide mapping

Impurities and related substances e.g.:

- CEX, cIEF, acidic/basic variants
- LC glycation
- Peptide mapping deamidation, oxidation, mutation, glycation
- SEC/FFF/AUC aggregation

Biological activity e.g.:

- Binding assay
- ADCC assay
- CDC assay



Higher order structure e.g.:

- NMR
- CD spectroscopy
- FT-IR

Glycosylation:

- NP-HPLC-(MS) N-glycans
- AEX N-glycans
- MALDI-TOF N-glycans
- HPAEC-PAD N-glycans
- MALDI-TOF O-glycans
- HPAEC-PAD sialic acids
- RP-HPLC sialic acids

Combination of attributes:

- Evaluated using MVDA, mathematical algorithms
- Checks redundant data for consistency
- Takes additive or subtractive effects of combinations of attributes into account

- Combined data from ~60 different attributes
- Attributes are ideally measured by more than one method (redundancy)

(from Dr Martin Schiestl's presentation)

簡言之，單株抗體類生物相似性藥品在開發過程中，須先以體外試驗進行生物相似藥和參考藥品之理化特性、抗原結合能力與功能性試驗等品質特性比較性研究分析（如上圖），再視分析結果決定非臨床及臨床試驗之規模大小。生物相似藥之非臨床動物試驗須事先經過嚴謹的評估與設計，並選用適當之動物品系，主要目的是進行比較性研究來評估其與參考藥之 PK/PD 及安全性之相似性。人體臨床試驗則以評估兩者之 PK/PD 及免疫原性等之比較性研究為主要目的。近年來由於新興儀器及分析技術之開發，許多研究亦陸續發現出可能影響臨床療效及免疫原性之品質特性（如下表），藉由相關檢測分析事先預測藥品之療效與免疫原性，提前於研發階段事先解決，以減少後續非必要之非臨床試驗與臨床試驗。

The clinical relevance of molecular attributes is well understood: efficacy example for an antibody

Attribute (examples)	Potential effect	Analytical methods (examples)
Amino acid sequence	Same as the reference product (AAS must be identical)	Orthogonal peptide maps with high resolution MS and MS/MS sequencing
Folding, disulphide bridges	Misfolding can decrease target binding/effector functions	CD spectroscopy, H-D-Exchange, FT-IR, X-ray, 1D and 2 D NMR, peptide mapping
C-terminal Lysine	Generally no effect	AEX, CZE
Deamidation, IsoAsp, oxidation	Reduces target binding in some cases	CEX, Papain-IEX, RP-HPLC, Papain-HIC, peptide map, MS
Glycation	Reduces target binding in some cases	Boronate affinity, LCMS, peptide map
Glycosylation: Fucosylation	Afucosylated variants lead to higher ADCC	2AB-NP-HPLC, ESI-MS, exoglycosidase digestion, MALDI TOF/TOF, CGE, peptide map
Glycosylation: Mannose X	Mannose X variants lead to higher ADCC	2AB-NP-HPLC, ESI-MS, exoglycosidase digestion, MALDI TOF/TOF, CGE, peptide map
Glycosylation: Sialylation	Higher sialylation leads to lower ADCC	NP-HPLC, WAX, HPAEC, RP-HPLC after DMB-labeling, mass spectrometry
Glycosylation: Galactose	Higher galactosylation reported to increase CDC in some cases	2AB-NP-HPLC, ESI-MS, exoglycosidase digestion, MALDI TOF/TOF, CGE, peptide map

(from Dr Martin Schiestl's presentation)

The clinical relevance of molecular attributes is well understood: immunogenicity example

Attribute (example)	Potential effect	Analytical methods (examples)
Amino acid sequence	Defines the product must be identical	Orthogonal peptide maps with high resolution MS and MS/MS sequencing
Aggregates	Certain types potentially immunogenic	SEC, FFF, MALLS, DLS, AUC, imaging methods, particle characterization
Folding, disulphide bridges	Misfolded variants potentially immunogenic	CD spectroscopy, H-D-Exchange, FT-IR, X-ray, 1D and 2 D NMR, peptide mapping
Degradation	Potentially immunogenic if not natural to body	RP-HPLC, CEX, Papain-HIC, Papain-IEX, peptide map, MS
Host cell proteins	Adjuvant effect or complex formation	ELISA, mass spectrometry
Leachables/extractables	Adjuvant effect or effect on folding/aggregation	HPLC with highly sensitive detectors, mass spectrometry
Glycosylation: Galactose- α 1,3-Galactose	Anaphylaxis reported for cetuximab patients pre-sensitized by tick bites only	NP-HPLC of 2AB-labeled glycans coupled to ESI-MS, exoglycosidase digestion, MALDI TOF/TOF, CGE, peptide map
Glycosylation: N-glycolyl-neuraminic acid (NGNA)	Potentially immunogenic	NP-HPLC, WAX, HPAEC, RP-HPLC after DMB-labeling, mass spectrometry

Immunogenicity confirmation remains the main reason for clinical studies

(from Dr Martin Schiestl's presentation)

主題（二）：分子病理學與精準醫學 (Precision Medicines)

1. 個人化醫療的希望與現實

近年來由於次世代定序 (Next Generation Sequencing, NGS) 技術的發展逐漸成熟，其高通量的特性及生物資訊學之蓬勃發展，加速分子病理診斷技術與藥物基因體學研究的發展，除使分子病理診斷具備高靈敏度及特異性，有效地檢測出突變基因，並能協助醫師選擇最適當之標靶用藥，更精準地提供醫師臨床決策依據，避免使用無效的治療方式，大幅提升治療效果，降低副作用並減少不必要之醫療支出，促使次世代定序技術已逐漸由實驗室進入臨床應用階段。再搭配資訊科技、大數據分析等高度發展，已建立一種全新之醫療模式，個人只要上傳其全基因序列資訊，經由大數據分析與醫師評估，最終會產出針對個人客製化之臨床報告，並提供用藥之最佳建議。此種全新的醫療模式亦使精準醫學成為目前最具發展潛力的明星產業。

隨著診斷技術的進步與生物標記 (Biomarker) 的陸續發現，使新藥開發結合伴隨式診斷 (Companion diagnostics) 成為目前新藥開發之趨勢之一，亦使體外診斷在整個醫療環節中日益重要，而伴隨式診斷更是個人化醫療之核心，有助於藥廠分別針對不同基因型之特定病患族群研發各種藥物，和標靶藥物廠商合作開發，將使得個人化醫療更為普遍。

有鑒於 NGS 檢測分析結果具關鍵性之影響，相關之檢測方法標準化、確效要求及數據分析管理等則是當前各國主管機關之挑戰。此外，NGS 的技術持續在進步，臨床應用也持續在更新，亦是各國主管機關持續面臨之挑戰。除了一般診斷試劑效能評估須包含之準確度、靈敏度、再現性及干擾等分析方法確效外，NGS 的挑戰尚包含：產出結果為大量數據（通常需要生物資訊學分析）、數據管理與分析結果判定之正確性。目前各國主管機關或相關學會正努力草擬 NGS 應用於臨床診斷領域之相關指引，目前重點包含：

- NGS 必須完成可接受之方法確效才能應用於臨床診斷領域。
- 檢體的品質對於產出之結果（數據的產量與涵蓋率）有關鍵性之影響，建議 NGS 檢測檢體的處理應有明確的 SOP 規範，不論是組織或血漿之核酸檢體，均應於 NGS 上機前進行品管分析。
- 建議檢測需在通過認證的臨床檢驗實驗室進行，且該實驗室應持續參加 NGS 檢測相關的外部能力試驗或實驗室間比對試驗，以確保檢測能力與品質。
- 應建立檢體追溯識別方法，包含實驗室與數據分析平台中。

2. 人類基因診斷的參考物質

基於檢測方法標準化與確效之需求，相關對照標準品是非常重要的，Illumina 公司與美國 NIST 都有建立參考物質（Reference materials）供檢測品管用。另，NIBSC 是唯一供應世界衛生組織（WHO）基因檢測用國際標準品的機構，也是歐洲唯一供應體外診斷用人類基因體 DNA 參考物質的機構。他們所建立之基因體 DNA 參考物質是從病患身上建立的細胞株中萃取，未經基因操作可能導致人為突變。WHO 國際標準品並非用於供作例行常規試驗用之對照組，而是供作校正廠內對照標準品等 2 級標準品用，或供評估試劑、設備和操作人員能力用。NIBSC 已建立 Fragile X Syndrome gDNA（1st International Genetic Reference Panel）及 Haemophilia A, Intron-22 inversion, gDNA（1st International Genetic Reference Panel）等國際標準品套組。以後者為例，該標準品套組包含 4 支標準品，分別為：06/186 Male normal, 06/200 Female normal, 06/204 Female carrier, 07/116 Male affected，每支標準品約含 20-30 μ g 凍晶乾燥 genomic DNA，經共同標定研究確認其適用於長距離 PCR（Long-distance PCR）與南方墨點法（Southern blot）等試驗。此外，NIBSC 也製備許多供例行常規試驗用之對照標準品，如「HLA-

DRB1 Genotyping Reference Panels」等。

3. 液體生物檢體 (Liquid biopsy) 相關研究

以往癌症診斷需要動手術作切片，現由於次世代定序技術的精進，以 NGS 檢測循環於血液中之腫瘤脫落癌細胞或 DNA 片段，稱為循環腫瘤 DNA (Circulating tumor DNA, ctDNA) 已有相當不錯的成果，即使腫瘤微小到肉眼不易察覺，血液檢測都能發現，且循環腫瘤 DNA 除可當成生物標記 (Biomarker) 篩檢癌症外，亦可用於監測癌症治療結果，相較於腫瘤切片，其可彌補組織切片不足、分布均勻性與非侵入性之特點，加上近來由於技術發展成熟，結果可靠性提升，已使非侵入性之液體生物檢體相關研究成為近來生技醫療產業發展重點。

4. 代謝物表型 (Metabolic phenotyping) 分析相關研究

過去質譜儀及核磁共振光譜儀已成功地應用於分析體液或組織中廣泛的代謝物，近來因應這兩類儀器與生物資訊學之科技進展，使得代謝物表型分析相關研究亦開始蓬勃發展。代謝物表型分析是研究系統醫學 (Systems medicine) 重要的方式，藉由整合代謝物表型等生化學數據了解個人身體狀況，目前已有應用於腎臟移植手術後監測之案例。用於代謝物表型分析之相關技術包含 GC-MS, UPLC-TOF-MS, NMR, CE-MS 等，目前最新研究已進展到即時監測系統 (Real time MS-based tissue diagnostics)，同樣的，相關的品質管制與方法確效是非常關鍵的，也是目前的挑戰。

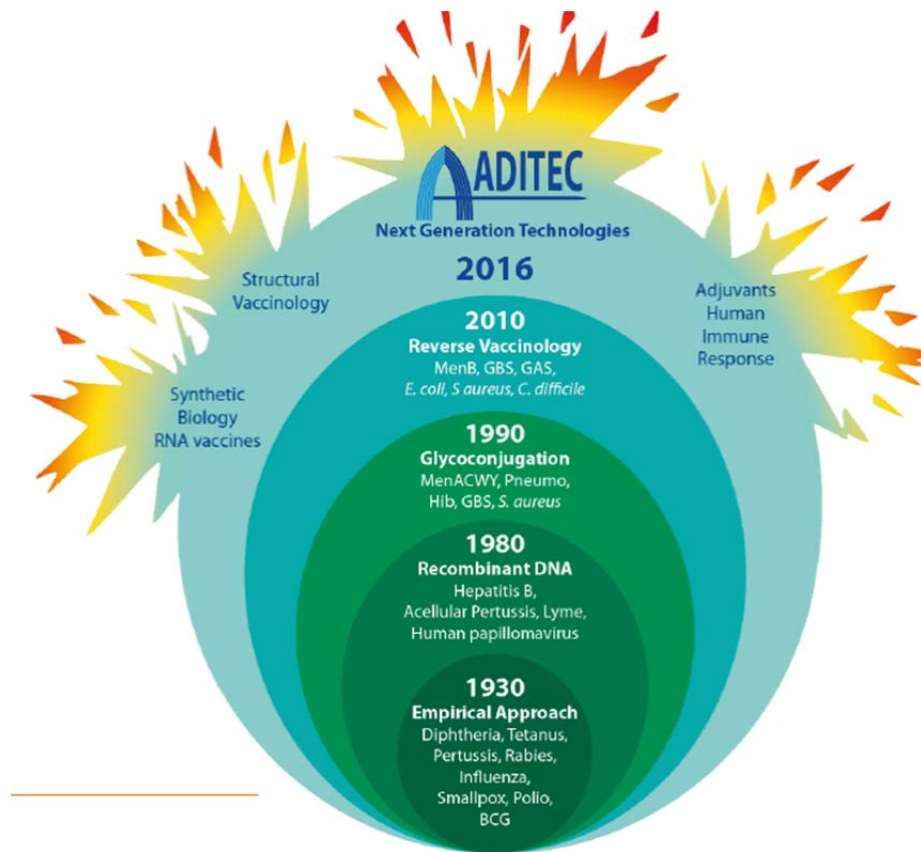
主題 (三)：疫苗研發

1. 疫苗的研發策略

以預防醫學的觀點來說，疫苗接種使許多重大傳染病得有效獲控制，是防止人類遭受傳染性疾病感染的最好方式，也是最具成本效益之醫療政策。隨著新病原體不斷出現，傳統疫苗已不敷使用，近年來更因生物技術不斷進展，亦促使現代疫苗的研發加速。

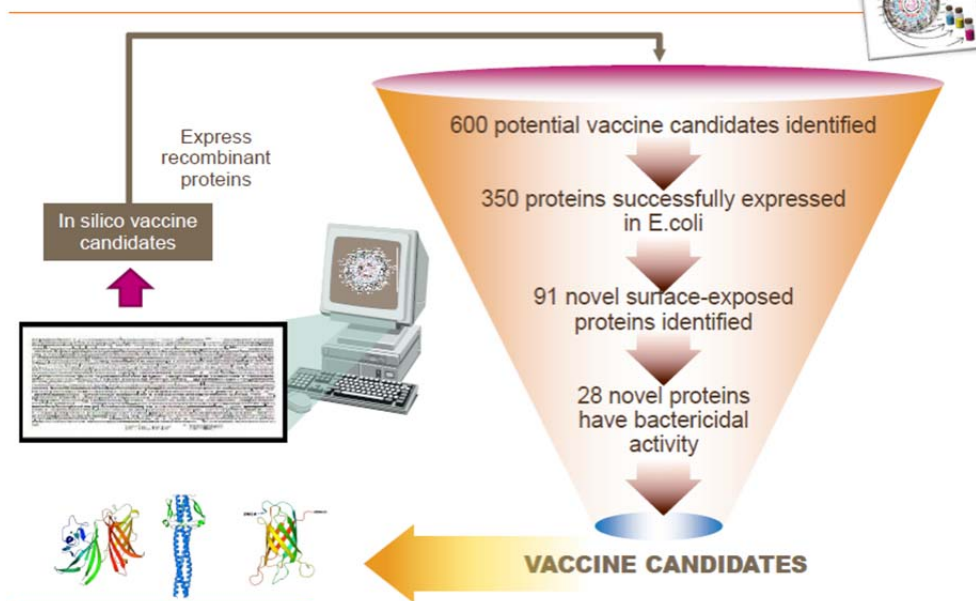
過去傳統疫苗多屬於將細菌或病毒不活化或馴化減毒來製造疫苗，近年來由於分子生物技術與免疫學之發展，不同於傳統疫苗製程的新型疫苗亦陸續問世。隨著全基因序列解碼速度提升與生物資訊的發展，反向疫苗學 (Reverse vaccinology) 已是目前疫苗學研發的主要策略，即藉由病原全基因序列比對分析，篩選預測具有疫苗標的潛力之蛋白質，獲取具有「高免疫性」的抗原，提高篩選疫苗有效抗原的效率，節省大量病原培養時間，亦大幅減少研發時間與成本。英國自 2015 年 5 月起列入嬰幼兒常規接種之 B 型腦膜炎雙球菌疫苗即是 Professor Rino Rappuoli 等人利用反向疫苗學策略研發之疫苗，後續尚有針對金黃色葡萄球菌及 A 型鏈球菌等抗藥性細菌之疫苗在研發中。其他研發重點摘錄如下：

- 近來由於結構生物學的進展神速，使疫苗學研發策略亦提升到結構疫苗學 (Structural Vaccinology)，即利用生物結構學資訊設計更具免疫力之抗原。
- 合成生物學 (Synthetic biology) 的進展亦已應用於疫苗之研發，過去需要病毒載體 (Viral vector) 製造疫苗，現在可利用已知基因資訊合成組裝疫苗，如 SAM (Self Amplifying Messenger RNA) 平台快速組裝製造候選疫苗。
- 疫苗的研發目標已由感染性疾病擴展到非感染性疾病，由嬰幼兒擴展到中老年人，由預防疾病擴展到治療疾病，如癌症、阿茲海默症、過敏、代謝性疾病等，亦大幅地增加了新型疫苗的發展空間。



(摘自 Professor Rino Rappuoli 簡報)

Reverse Vaccinology A genomic approach for a Meningococcus B vaccine



(摘自 Professor Rino Rappuoli 簡報)

2. 新型小兒麻痺疫苗

世界衛生組織（WHO）於 2015 年 9 月宣布全球根除第二型小兒麻痺病毒，全球目前僅剩阿富汗及巴基斯坦兩國仍有第一型小兒麻痺病毒野生株之流行。我國為配合全球根除小兒麻痺策略，減少口服活性減毒疫苗（Oral polio vaccine, OPV）可能引起之小兒麻痺症，自 2011 年 9 月起全面改用不活化小兒麻痺疫苗（Inactivated Polio Vaccine, IPV）。由於第二型小兒麻痺病毒已根除，WHO 計畫將三價口服活性減毒疫苗調整成兩價（OPV1 與 OPV3），以避免口服活性小兒麻痺疫苗發生變異而導致疫苗衍生株引起小兒麻痺症。

NIBSC 也參與新型小兒麻痺疫苗的研發，包含：

- 建立小兒麻痺病毒的新病毒株，避免 IPV 於製造過程自製造廠意外洩漏出而危害週遭環境之風險，這些病毒株已技轉給主要疫苗生產商。
- 利用基因工程方式製造小兒麻痺病毒之類病毒顆粒（virus-like particles, VLPs），其抗原性與活病毒相當，且能以基因工程方式生產足量穩定的疫苗，不須增殖大量活病毒，更適合小兒麻痺根除後的世界。

主題（四）：先進療法（Advanced Therapies）

1. 基因治療

基因治療這個相當具革命性的醫療技術在經歷了 10 年的檢討與不斷研究後，於歐洲 2012 年核准第一個基因治療藥品 Glybera，治療罕見遺傳疾病「脂蛋白脂酶缺乏（lipoprotein lipase deficiency, LPLD）」時露出曙光，轉變成為可以實現的醫療技術與新興生技藥品了。簡單來說，基因治療就是利用基因重組的技術將有功能的正常基因送入宿主細胞的基因體中，修復或補正缺損的基因，使之表現出正常功能而治癒疾病，特別

是針對單基因缺陷引起的疾病，近來也有針對癌症治療的研究。

基因治療藥品通常具有一載體 (Vector) 或基因傳遞系統，目前使用較廣泛且臨床效果較顯著者係病毒載體系統，常用的病毒載體系統包含腺病毒相關病毒 (Adeno-associated virus, AAV)、人類反轉錄病毒載體 (Lentiviral vector 或 HIV vector) 等，鑒於過去的經驗，建立更安全有效的病毒載體仍是當前研究的重點。

某些單一基因遺傳缺陷疾病，現在已可利用患者自己的基因轉殖骨髓幹細胞 (導入攜帶缺失之正常基因的病毒載體) 治療，遺傳視網膜病與 B 型血友病患者也能藉由局部或全身注射病毒載體來治療，還有一些基因治療癌症和感染性疾病的研究看來也充滿希望。Professor Mary Collins 並預測未來 25 年將可看見在安全性、有效性與製造方面均有改善的基因傳遞載體 (gene-delivery vectors)，及基因編輯技術 (gene-editing technologies) 被導入於臨床應用，並證明基因傳遞可能是經濟有效的遞送生物藥品的方法。

目前最廣為人知的基因編輯技術便是 CRISPR/Cas9 (Clustered, Regularly Interspaced, Short Palindromic Repeats/CRISPR-Associated Protein 9) 技術，CRISPR/Cas9 是由 RNA 引導 Cas9 核酸酶對目標基因進行編輯的技術。雖然這項技術於 2013 年才開始發展，但由於其簡單與多功能性，已成為目前最熱門的基因編輯技術工具，美國 Duke 大學 Dr. Charles A. Gersbach 研究團隊近期利用 CRISPR/Cas9 技術成功改善患有杜氏肌肉萎縮症 (Duchenne muscular dystrophy, DMD) 小鼠的肌肉生理及肌力等功能，開啟了 CRISPR/Cas9 技術用於治療全身性遺傳疾病的可能性，已有生技公司利用該技術進行基因治療研究，未來可望治療如杭丁頓舞蹈症 (Huntington's disease) 等單一基因突變造成之嚴重遺傳疾病，但相關之挑戰如脫靶效應 (off-target effect)，即可能會影響到近似的其他基因的安全性等需要嚴謹評估。

對於最常見的單基因遺傳疾病如囊性纖維化，基因治療有效性的挑戰

似乎仍是基因傳遞部分，因目前還沒有一個簡單的方法可以將基因遞送至肺上皮或骨骼肌等組織中顯著比例的細胞。

最近基因治療也開始將治療癌症、心臟疾病或愛滋病等感染性疾病列為長期目標，許多當前的製備方式是以實驗室研究方法按比例放大，因此致力於更佳之病毒載體生產和純化方法的確是有需要的，GSK 等生物製劑製造廠也開始將注射用之載體（Injectable vectors）視為未來可以申請上市許可之生物藥品來研發，病毒載體相關的標準化與技術規範也是有必要。

2. 細胞治療

近來自體幹細胞的突破研究，有助於避用生殖細胞來源的幹細胞，減少倫理爭議，使幹細胞相關研究持續為國際間再生醫療領域的熱門話題。

國際幹細胞庫倡議聯盟（International Stem Cell Banking Initiative, ISCBI）是由位在 NIBSC 的英國幹細胞庫負責統籌之幹細胞庫聯盟，旨在建立幹細胞庫的全球網絡，有助於成員國幹細胞庫共享倫理和法規管理等議題的知識，協助建立具有共識之國際標準，包含幹細胞入庫、特性分析及檢測等。包含來自 24 個國家領先的幹細胞生物學家，主管機關代表及其他專家。這個小組於去年發佈了“建立臨床應用之人類多能幹細胞儲備種株之考慮重點”國際共識，內容敘述建立多能幹細胞為再生醫學用之起始材料的關鍵問題，包含建立人類多能幹細胞細胞株之供應者選擇（donor selection）、組織摘取（tissue procurement）、細胞入庫（cell banking）、保存（preservation）、檢測（testing）、儲存（storage）和運送（shipment）等各個方面。

國際幹細胞庫聯盟於 2011 年發表他們分析來自全世界 38 個實驗室 125 個人類胚胎幹細胞與 11 個 iPS 細胞株，以了解這些細胞在培養期間發生的遺傳變異。大多數細胞株的核型均維持正常，但也有發現長期培養

後變異之漸進趨勢，通常影響第 1, 12, 17, 及 20 號染色體。目前的研究尚不清楚這些變異會不會影響細胞後續之行為。此外，尚須分辨該變異是原來即存在或是培養後產生的，後續相關的研究尚在持續中。

英國幹細胞庫 (UK Stem Cell Bank, UKSCB) 為幹細胞研究的國際資源，提供研究用之人類幹細胞株，並希望發展成為可供臨床應用的細胞株。它是英國再生醫學基礎設施的一部分，同時也支持英國和世界其他國家之法規主管機構和政策制定者。他們持續進行幹細胞研究相關之標準化計畫，如: International Stem Cell Initiative 3 (ISCI-3) 是評估建立體外試驗取代活體 teratoma assay 之可行性研究，teratoma assay 目前仍為人類多能幹細胞 (hPSCs) 的多能性評估試驗 'gold standard' 之一，如能建立體外試驗方法，將可供大量常規實驗以確認細胞多能性潛力之替代方法，以減少動物的使用。

3. NIBSC 在先進醫療扮演的角色

NIBSC 的任務是提供標準、品管及進行研究，在支持基因治療、幹細胞治療和組織工程等先進療法的臨床應用方面，其負責相關任務說明如下：

- 提供標準品：如提供具複製能力病毒篩檢試驗用之標準品。
- 提供品管：如建立適當之分析方法以監測先進的基因治療產品的安全性，包括含有質體 DNA (Plasmid DNA)，腺相關病毒 (Adeno-associated virus, AAV)，慢病毒載體 (Lentiviral vectors) 和基因改造細胞 (Genetically-modified cells) 的產品。
- 進行研究：旨在了解哪些因素在產品生產過程中會影響產品品質和性能，使 NIBSC 能夠建立有意義的基因治療產品之品管控制參數、標準和程序。意即，NIBSC 藉此建立適當之模式來確認與預測產品的安全性。

- 負責英國幹細胞庫 (UK Stem Cell Bank, UKSCB)：其目的是為了將 ES 細胞與 iPS 細胞標準化並保存，以提供品質控制良好的細胞株，除供研究用，亦供製藥產業進行臨床應用研發。
- NIBSC 是歐盟官方醫藥品管制實驗室 (Official Medicine Control Laboratories, OMCL) 基因治療網絡成員，該網絡的目的是針對歐盟使用之基因治療產品，進行相關標準品和檢驗方法的建立和調和化工作。
- NIBSC 亦參與歐洲藥品管理局先進療法委員會 (European Medicines Agency Committee for Advanced Therapies, EMA/ CAT) 的工作方案，包含協助制定歐洲的基因治療產品指引與政策。

四、心得及建議

1. 單株抗體藥及單株抗體生物相似性藥品近年來被視為新興生技藥品的發展重點，因應藥品快速發展，我國仍需持續關注相關發展與歐美先進國家之品質管理規格制定重點。
2. 隨著新興儀器的問世與分析技術的進展，一些儀器已逐漸應用於生物相似性藥品與參考藥品之比較性研究，如高解析度串聯質譜儀用於胺基酸序列及轉譯後修飾之分析，x 光繞射儀、核磁共振光譜儀(NMR)、傅立葉轉換紅外線光譜儀 (Fourier transform infrared spectroscopy, FT-IR) 等用於蛋白質結構之分析，我國仍需持續關注相關技術發展與應用。
3. 近年來由於次世代定序 (Next Generation Sequencing, NGS) 技術的發展逐漸成熟，其高通量的特性及生物資訊學之蓬勃發展，加速分子病理診斷技術與藥物基因體學研究的發展，促使次世代定序技術已逐漸由實驗室進入臨床應用階段，亦使精準醫學成為目前最具發展潛力的明星產業，我國仍需持續關注相關技術發展與應用。
4. 隨著診斷技術的進步與生物標記 (Biomarker) 的陸續發現，使新藥開發結合伴隨式診斷 (Companion diagnostics) 成為目前新藥開發之趨勢之一，亦使體外診斷在整個醫療環節中日益重要，而伴隨式診斷更是個人化醫療之核心，有助於藥廠分別針對不同基因型之特定病患族群研發各種藥物，和標靶藥物廠商合作開發，將使得個人化醫療更為普遍，我國仍需持續關注相關技術發展與應用。
5. 鑒於 NGS 檢測分析結果具關鍵性之影響，相關之檢測方法標準化、確效要求及數據分析管理等則是當前各國主管機關之挑戰。此外，NGS 的技術持續在進步，臨床應用也持續在更新，亦是各國主管機關持續面臨之挑戰。除了一般診斷試劑效能評估須包含之準確度、靈敏度、再現性及

干擾等分析方法確效外，NGS 尚須留意：產出結果為大量數據（通常需要生物資訊學分析）、數據管理與分析結果判定之正確性等議題，我國仍需持續注意相關發展。

6. 近年來隨著次世代定序技術（NGS）於臨床應用之迅速發展，基於檢測方法標準化與確效之需求，相關基因檢測用對照標準品是非常重要的，隨著臨床應用的需求，未來 NGS 平台之對照標準品勢必會成為標準化之焦點，我國仍需持續注意相關發展。
7. 以 NGS 檢測血中循環腫瘤 DNA（Circulating tumor DNA , ctDNA）已有相當不錯的成果，且此類非侵入性之液體生物檢體（Liquid biopsy）除可當成生物標記（Biomarker）篩檢癌症外，亦可用於監測癌症治療結果，相較於腫瘤切片，其可彌補組織切片不足、分布均勻性與非侵入性之特點，加上近來由於技術發展成熟，結果可靠性提升，已使相關研究成為近來生技醫療產業發展重點，我國仍需持續關注相關發展。
8. 過去質譜儀及核磁共振光譜儀已成功地應用於分析體液或組織中廣泛的代謝物，近來因應這兩類儀器與生物資訊學之科技進展，使得代謝物表型分析相關研究亦開始蓬勃發展。用於代謝物表型分析之相關技術包含 GC-MS, UPLC-TOF-MS, NMR, CE-MS 等，目前最新研究已進展到即時監測系統（Real time MS-based tissue diagnostics），相關的品質管制與方法確效是非常關鍵的，也是目前的挑戰，我國仍需持續關注相關發展。
9. 隨著全基因序列解碼速度提升與生物資訊的發展，藉由病原全基因序列比對分析，篩選預測具有疫苗標的潛力之蛋白質，獲取具有「高免疫性」的抗原，提高篩選疫苗有效抗原的效率，節省大量病原培養時間，已是目前疫苗研發策略之趨勢，相關發展亦值得持續關注。
10. 建立更安全有效的基因治療用病毒載體仍是當前研究的重點，目前製備方式多是以實驗室研究方法按比例放大，因此致力於更佳之病毒載體生

產和純化方法的確是有需要的，生物製劑製造廠也開始將注射用之載體 (Injectable vectors) 視為未來可以申請上市許可之生物藥品來研發，病毒載體相關的標準化與技術規範也是有必要。

11. 建立臨床應用之人類多能幹細胞儲備種株之品質考量重點已逐漸形成國際共識，另幹細胞培養期間是否發生遺傳變異之相關研究亦值得我國密切關注。
12. 參與該研討會議，除獲取單株抗體藥物、精準醫學、疫苗及新興生物藥品相關研發現況及品質管理議題，並藉此會議與各國相關領域專家建立交流管道，建議持續編列經費派員參與相關國際研討會議，有助於我國新興生技藥物檢驗規格方法與國際接軌。