

出國報告（出國類別：開會）

參加科學試驗動物使用及  
其替代測試世界會議  
（WC12）

服務機關：環境部化學物質管理署

姓名職稱：張容蓉特約高級環境技術師  
陳誌賢技士

派赴國家：加拿大

出國期間：112年8月25日至9月5日

報告日期：112年11月30日

## 摘要

本次參加第 12 屆「科學試驗動物使用及其替代測試世界會議」(12th World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences, WC12)，由加拿大動物替代中心(Canadian Centre for Alternatives to Animal Methods, CCAAM)和加拿大替代方法驗證中心(Canadian Centre for the Validation of Alternatives Methods, CaCVAM)主辦。瞭解目前替代測試的最新進展，包括替代方法的應用方向、以及替代測試在科學上及教育上面臨的問題以及未來法規上可接受的程度。與會人員涵蓋學術界、產業界、非營利組織及各政府部門人員，過程及內容摘述如下：

- 一、參加第 12 屆科學試驗動物使用及其替代測試世界會議，瞭解國際上替代測試發展的趨勢，彙集各國最新替代測試進展及應用等資訊，並與與會者進行交流，包含歐洲化學署(ECHA)計算評估與溝通單位的 Tomasz Sobanski 博士、經濟合作暨發展組織(OECD)的 Patience Browne 博士以及日本替代方法驗證中心的 HAJIME KOJIMA 博士。
- 二、本次研討會，其會議主要內容涵蓋「法規接受度和全球分類調和」、「下一世代的教育」、「道德、福利、政策及法規」、「以人為本的生物醫學研究」、「對科學的優化及影響」以及「21 世紀預測毒理學」6 大主題，希冀藉由跨領域的整合，以測試或預測的技術出發，最終得以減少試驗動物，同時達成共識加速 3Rs (Replacement, Reduction, Refinement)的推進。

另行程安排拜訪多倫多大學化學系 Hui Peng 助理教授，藉由簡介化學物質管理署相關業務，主要範疇為與替代測試有相關的新化學物質及既有化學物質的登錄業務之外，另有成功大學王應然教授簡述國內魚類研究在替代測試的進展，包含魚類胚胎以及魚類細胞株應用於替代測試的相關研究。並請益 Hui Peng 助理教授對於全氟及多氟烷基物質(per-and polyfluoroalkyl substances, PFAS)於檢測技術上及識別多種 PFAS 上的見解，Peng 助理教授並提供加拿大環境與氣候變遷部和衛生部於今(2023)年 5 月出版的 1 份針對全氟及多氟烷基物質報告草案，內容涵蓋 PFAS 使用暴露、環境宿命及人體危害的相關資訊，可供後續管理參考。

## 目 次

壹、目的.....	1
貳、過程.....	2
一、參加研討會.....	5
(一) 發育和生殖毒性測試的新方法學 .....	5
(二) 組學的轉折點：管理決策的轉錄組學出發點和體外到體內定量 外推.....	8
(三) 在 21 世紀預測毒理學的其他重要議題 .....	9
(四) 法規接受度和全球分類調和 .....	14
(五) 道德、福利、政策及法規 .....	22
二、拜訪多倫多大學教授 .....	24
參、心得與建議.....	26
附錄 1、照片.....	27

## 圖 目 錄

圖 1、應用體外資訊推導體內情況時應注意的代謝差異情境 .....	7
圖 2、用於次世代風險評估的 ADME 工具介紹 .....	10
圖 3、以實際案例說明在次世代風險評估的應用結果 .....	10
圖 4、AOP 的現況以及 qAOP 應用於次世代風險評估架構 .....	12
圖 5、毒理與生態毒理在科學上的進展 .....	13
圖 6、美國環保署使用 ICE 相關介紹 .....	13
圖 7、風險評估中使用 NAMs 的分類架構 .....	17
圖 8、ReCAAP 運作架構流程 .....	18
圖 9、致癌性評估的證據權重方法 .....	18
圖 10、人類呼吸道上皮細胞體外模型 EpiAirway™ .....	20
圖 11、EpiAirway™對於識別潛在的有毒物質顯示有相當敏感性...	21
圖 12、以 GARDskin 說明醫療器材毒理學的進展 .....	22
圖 13、馬賽宣言(Marseille Declaration)簡報 .....	23

## 表 目 錄

表 1、本出國計畫行程表 .....	2
表 2、科學試驗動物使用及其替代測試世界會議內容 .....	3
表 3、同行人員名單 .....	4

## 壹、目的

科學試驗動物使用及其替代測試世界會議 (WC 會議) 係由替代品大會信託基金會於 1993 年在美國巴爾的摩成立，旨在將來自學術界、工業界、政府和非營利部門的多學科利益相關者聚集在一起，共同探討生命科學領域的替代品和動物使用問題，朝向推進試驗動物替代、減量及優化等 3Rs 的目標，本次所參加的是第 12 屆的 WC 會議，其研討會具 6 大主題，包括「法規接受度和全球分類調和」、「下一世代的教育」、「道德、福利、政策及法規」、「以人為本的生物醫學研究」、「對科學的優化及影響」及「21 世紀預測毒理學」，希冀藉由參加該會議，瞭解國際上替代測試發展的趨勢，彙集各國最新替代測試進展及應用等資訊，觀察其跨領域以測試或預測的技術出發的整合，最終得以減少試驗動物，並與與會人員交流相關訊息，做為未來國內 3Rs 推進之政策參考。

此外，本次行程一併安排拜訪多倫多大學化學系 Hui Peng 助理教授，該教授對於全氟及多氟烷基物質 (per- and polyfluoroalkyl substances, PFAS) 的檢測技術，及如何識別多種 PFAS 有相當研究及見解，他認為 PFAS 的問題在於它的生命週期很長，因此對於持久性的研究就很重要，應該可在次世代的風險及食物鏈的關係上關注，而不是急毒性，或許可緩解大眾的恐慌；另外在 PFAS 取代物的毒性衡量方面，他認為取代物的毒性比 PFAS 大，其實就是持久性 (persistent, P) 與毒性 (Toxicity, T) 之間的取捨，但其實也是很低的毒性。他也進一步說明未來 PFAS 取代物的候選物質還是以不含氟的化學物質以及界面活性劑為佳。而在檢測方面，他則說明持續關注美國環保署的檢測分析方法基本上都沒有問題。

## 貳、過程

本次出國主要行程為第 12 屆科學試驗動物使用及其替代測試世界會議，另規劃拜訪化學系 Hui Peng 助理教授。行程 5 日參與研討會、1 日拜訪多倫多大學教授。詳細行程表如表 1 及 2 所示。

表 1、本出國計畫行程表

日期	工作內容概要
112.08.25 (五) ~ 112.08.26 (六)	搭機前往加拿大多倫多 (於美國洛杉磯轉機)
112.08.27 (日)	「科學試驗動物使用及其替代測試世界會議」開幕活動及演講 (會議地點：尼加拉瀑布會議中心)
112.08.28 (一) ~ 112.08.31 (四)	「科學試驗動物使用及其替代測試世界會議」研討會 (會議地點：尼加拉瀑布會議中心)
112.09.01 (五)	拜訪多倫多大學化學系 Hui Peng 助理教授
112.09.02 (六)	資料整理
112.09.03 (日) ~ 112.09.05 (二)	搭機返臺

表 2、科學試驗動物使用及其替代測試世界會議內容

日期	會議內容
112.08.27	報到「科學試驗動物使用及其替代測試世界會議」
	參加開幕活動及演講 主題：「21 世紀的風險評估：過去、現在和未來」
112.08.28	主題：「21 世紀預測毒理學」 議題：發育和生殖毒性測試的新方法學 (S450: New approach methods for developmental and reproductive toxicity testing) 議題：用於器官毒性和化學品風險評估的微生理系統 (S446: Chems on Chips: MPS for organ tox & chemical risk assessment)
	主題：「道德、福利、政策及法規」 議題：超越 3Rs—今日動物倫理原則的模樣？ (S426: More than 3Rs- what should principles of animal ethics look like today?)
	主題：「以人為本的生物醫學研究」 議題：挑戰現狀：加速邁向無動物研究過渡的藍圖 (S433: Challenging the status Quo: Roadmap to accelerate transition to animal-free research)
112.08.29	主題：「21 世紀預測毒理學」 議題：人工智能 (AI)：推進 3Rs 的當前進展和應用 S458: Artificial intelligence(AI): Current advancements and applications in advancing the 3Rs)
	主題：「對科學的優化及影響」 議題：從系統評價到預登錄：精簡以實現更好的研究 (S442: From systematic reviews to pre-registration: streamlining for better research)
112.08.30	主題：「21 世紀預測毒理學」 議題：組學的轉折點：監管決策中的轉錄組學出發點和 QIVIVE (S448: Tipping point in omics: Transcriptomic points of departure & QIVIVE in regulatory decision making)
	主題：「法規接受度和全球分類調和」 議題：新測試方法學的實踐：跨部門適用的 NGRA (S404: NAMs in practice: Fit-for-purpose NGRA across section) 議題：建立對新方法的科學信心 (S407: Is it good enough? Establishing scientific confidence in new approach methods)
	主題：「下一世代的教育」



	議題：Comp-Tox 的教育：下一代風險評估的數據素養 (S414:Comp-Tox in education: data literacy for next generation risk assessment)
112.08.31	主題：「法規接受度和全球分類調和」 議題：合作夥伴更新情形 (S405: Meeting at the Falls: ICATM partner updates)

本次出國計畫為擴大交流層面並促進學術合作，除本署人員外，部分行程亦邀請長期投入我國化學物質替代測試領域之學者及本署相關計畫人員共同參與，藉此擴展跨域公私協作經驗。同行團員名單如表 3。

表 3、同行人員名單

姓 名	職 稱	服 務 單 位
陳誌賢	技士	環境部化學物質管理署
張容蓉	特約高級環境技術師	環境部化學物質管理署
黃怡鳳	協理	環資國際有限公司
洪偉毅	經理	瑞昶科技股份有限公司
陳柏霖	專案經理	瑞昶科技股份有限公司
王應然	教授	國立成功大學

## 一、參加研討會

### (一) 發育和生殖毒性測試的新方法學

生殖與發育毒性是目前替代測試仍無法克服的部分，相較於局部毒性僅在特定區域造成健康危害，例如：物質對接觸區域的皮膚或眼睛造成刺激性，生殖與發育毒性通常包含整體的系統效應，如果體外模式缺乏對於器官交互作用或代謝途徑的考量時，很容易會出現與體內模式的顯著差異，並造成評估錯誤。在會議中對於發育和生殖毒性測試的新方法學的探討中，大致從「以幹細胞建立生殖發育毒性的評估策略」、「多器官晶片」及「將體外數據定量推導體內數據的可行流程」等3個面向進行，探討發育和生殖毒性之替代測試的當前發展，相關資訊可協助我國建立如何減少實驗動物用於評估生殖發育毒性的之策略。

#### 1、以幹細胞建立生殖發育毒性的評估策略：建立以評估化學物質引起人類誘導性多功能幹細胞之分子訊號干擾為標的發育毒性測試

近年來，人類從環境暴露人造化學物質的頻率和數量都快速成長，雖然許多物質都進行了動物實驗，但仍有部分對動物不具致畸胎性的物質，對人類胎兒卻引起了嚴重的致畸胎性。會導致這樣的原因主要是不同物種間對物質敏感度的差異，除了毒物動力學的差異外，還有另一個可能是在細胞層級對化學物質的敏感度也具有差異。因此，以人體細胞建立體外檢測方法評估化學物質的致畸胎效應可作為證據權重的一環，彌補可能因為物種差異導致誤判物質致畸胎性的情形。

該演講作者在近年研究(Kanno S., et al. 2022)中，使用人類誘導性多功能幹細胞(Human induced pluripotent stem cells, iPSCs)建立評估模式，iPSCs屬於初代細胞，相較於傳統使用的永生化細胞株，更貼近人體的實際情況。考量纖維母細胞生長因子(fibroblast growth factor, FGF)的相關分子傳遞路徑對於肢體型態的發育相當重要，講者選用該分子傳遞路徑為標的，並使用冷光系統建立該測試。在講者分析的12種物質（6種在具發育毒性物質；6種不具發育毒性物質）中，僅抗癌藥物癌德星(Cyclophosphamide Monohydrate)

在細胞模式所得結果與過去判斷致畸胎性的結果不同，其餘11種物質皆顯示同樣的致畸胎性或非致畸胎性的趨勢，顯示該方法對於化學物質的致畸胎性具有一定程度的判別能力。

從該研究者的演講中可以得知，該體外方法雖然尚不足以完全取代動物實驗，但或可彌補動物試驗的不足之處，也可用於致畸胎物質的篩選，減少需要進行動物測試的物質。建議持續關注相關技術的發展，未來待技術發展成熟，可評估是否在我國建立類似的測試平臺，作為我國生殖發育毒性評估的輔助資訊。

## 2、多器官晶片：以肝臟和睪丸的多器官晶片建立系統性男性生殖毒性模型

多器官晶片可有效解決因器官交互作用而導致單一細胞無法評估物質所致的危害特性。過去研究已知，肝臟與睪丸的互相調控，對於許多化學物質的毒性至關重要。該演講者以睪丸類器官與肝球體(liver spheroids)建立器官晶片，並使用抗癌藥物癌德星作為誘導生殖毒性的物質。在睪丸類器官和肝球體共同培養的環境下，處理抗癌藥物癌德星的組別，觀察到細胞色素(cytochromes)明顯活化，同時觀察到睪丸類器官中生殖細胞的損傷；而在單獨培養睪丸類器官的組別則並未觀察到生殖細胞的損傷，顯示僅僅單獨培養睪丸類器官無法觀察到抗癌藥物癌德星所導致的生殖毒性。從這樣的研究結果顯示多器官晶片成功模擬部分體內的代謝機制，對於評估因為代謝物導致的健康危害提供了新的評估機制。

## 3、將體外數據定量推導體內數據的可行流程

目前有越來越多的體外測試方法被研發，然而如果將體外方法所得的劑量、濃度或閾值轉換為體內劑量仍是急需克服的課題。體外到體內定量外推(Quantitative *in vitro* to *in vivo* extrapolation, QIVIVE)是當前開發的焦點，希望藉由外推作用從體外測試系統獲得體內測試系統的劑量。講者描述其研究如何將QIVIVE應用到懷孕女性與胎兒的相關細節。在研究的第一階段，演講者已經確認最適合使用的公開資料庫並確認轉換的公式和模型；在該研究的第二

階段，持續以化學物質案例進行研究，確認整體計算模型的可信度。

代謝途徑、過程與代謝速率是將體外資訊推導到體內實際情況時，需要審慎考量的重要考量因素之一。圖1即是在講者群的相關研究中，描述當缺乏代謝資訊時，體外測試與化學物質的潛在生物活性可能誤判情形。當母化合物具有生物活性但代謝物質不具有生物活性，且代謝速率相當快時，在體內會因為快速代謝而產生大量不具有生物活性的代謝物，最終並不會導致體內反應，但體外系統因為缺乏代謝機制，無法將母化合物代謝，導致體外數據觀察到偽陽性。反之，當母化合物不具有生物活性但代謝物質具有生物活性時，在體內會因為快速代謝而產生大量具有生物活性的代謝物，最終導致體內反應，但體外系統因為缺乏代謝機制，無法將母化合物代謝，導致體外數據觀察到偽陰性。藉由講者所提供的相關資訊，我們更進一步理解以體外資訊推論體內情況的不確定性，相關資訊可作為判斷體外測試結果時的參考資訊。

	Parent Bioactivity	CL <sub>int</sub>	Metabolite Bioactivity	Expected in vivo bioactivity	Results expected from in vitro screens
	active	fast	active	active	True Positive*
	active	slow	active	active	True Positive
	active	fast	inactive	inactive	False Positive
	active	slow	inactive	active	True Positive
	inactive	fast or slow	active	active	False Negative
	inactive	fast or slow	inactive	inactive	True Negative

圖 1、應用體外資訊推導體內情況時應注意的代謝差異情境

## (二) 組學的轉折點：管理決策的轉錄組學出發點和體外到體內定量外推

化學物質的研發速度相當快，在世界上幾乎每日都有新物質被產生，然而對物質的危害評估速度卻遠遠落後。近年來為了加速篩選物質危害，許多高通量的評估方法持續開發。目前對化學物質危害的高通量方法，可分為細胞階層和分子階層兩大項。細胞階層主要觀察化學物質在體外測試系統中對細胞的毒性作用，近年來常使用人類胚胎幹細胞作為試驗材料，在分化成不同器官或組織的細胞後，評估化學物質對這些細胞功能或存活率的損害。分子階層則以組學方法為主，常見的分析標的包括：蛋白質體學、轉錄體學或代謝體學，著重於分析化學物質可能造成細胞內蛋白表現、基因表現或代謝活化的改變，並以此連接可能導致的最終器官毒性。以下分別針對2個講題說明應用組學資訊評估化學物質危害的最新發展。

### 1、利用轉錄體學所得之重要閾值進行化學物質安全性評估

近年來由於轉錄體學技術的進步和測試成本的下降，使得利用高通量轉錄體學分析數千個樣本的整體基因表現程度成為可能達成的目標。該場演講的講者講述美國環保署的研究人員已經將轉錄體學的篩選方法搭配數種體外細胞模式並應用於1,000多種的化學物質的危害預測和轉錄體學的效能評估，希望未來可以此對化學物質風險評估提供重要的危害資訊。

講者提出2種評估架構，首先是評估化學物質對於單一基因表現的影響，講者表示這種方法具有較低的更低的訊噪比 (Signal/Noise ratio)，通常代表著可具有更低的減量極限。另一種評估架構是評估生物活性相關的基因集，例如：同時評估同一訊息傳遞路徑的所有基因表現。同時評估多個基因雖然可能導致信噪比提高，但是對於危害的預測力將更加準確。講者認為現在開發的轉錄體學評估方法十分可靠且運用範圍廣泛，可為化學物質管理提供相當寶貴的危害評估資訊。

## 2、利用特定基因的轉錄變化評估雙酚A及其替代物質的內分泌干擾特性

出於健康的考量，全世界許多國家已經禁止雙酚A (Bisphenol A, BPA)的使用，但是化學產業陸續研發出更多BPA的替代品，這些替代品的類雌激素效能並沒有被妥善的評估。該場演講的講者，利用MCF-7乳癌細胞作為體外試驗材料，評估BPA及其替代品對於雌激素受體相關轉錄變化的影響，並以此計算基準濃度(Benchmark dose)來進行物質內分泌干擾能力的篩選與排序。當物質經該系統評估後，若具有越低的基準濃度，則代表在較低濃度下就可以誘發雌激素受體的下游訊息傳遞路徑。講者的數據表明，許多雙酚A的替代物是雌激素受體的活化劑，可以改變MCF-7細胞中的基因表現。該評估方法提供了可能的高通量分析方法來篩選或辨識具內分泌干擾特性的物質。

### (三) 在21世紀預測毒理學的其他重要議題

#### 1、分享主題1—毒物動力學和ADME（吸收、分布、代謝、排泄）方法在次世代風險評估中的暴露量化方面扮演重要角色

##### **Critical role of toxicokinetics and ADME methods in quantifying exposure for next generation risk assessment**

講者(Andreas Schepky)來自德國拜爾斯道夫公司(Beiersdorf AG)的毒理學部門，演講中提及：推動動物替代測試除道德考量外，基於科學上的發展，已導致全球轉向不使用動物測試來進行化學物質對人類健康安全評估。次世代風險評估(Next Generation Risk Assessment, NGRA)方法是以暴露為主導(Exposure-led)、假設為驅動(Hypothesis Driven)，並透過新測試方法學(New Approach Methodologies, NAMs)來評估化學品對健康和環境的風險，包括利用計算模擬、化學資訊和體外試驗等方法以減少或避免對動物進行傳統的動物試驗。為了使NGRA能得到可靠的評估結果，需要透過各種ADME工具（如體外參數化和計算模擬），並提供內部暴露的

估算，將人體來自多種途徑（如皮膚、吸入）的外部暴露轉換為血液和特定器官中的濃度／時間曲線。演講中介紹目前ADME工具的進展情況（圖2），並且展示紫外線過濾劑在次世代風險評估中的成功應用（圖3）。此外，會中還介紹ADME、體外試驗和計算模擬在內部毒性關注閾值(Internal Threshold of Toxicological Concern, iTTC)方面的作用，和討論晶片實驗室(Lab-on Chip)對毒物動力學的可能影響，及其對次世代風險評估(NGRA)的可能好處。

總結而言，NGRA在近年科學研究發展上逐漸被重視，因此透過不同毒理學機制應用在NGRA相繼被開發及應用。從會議中講者所述可知，毒物動力學和ADME提供了有關化學物質在人體中的吸收、分布、代謝和排泄的信息，這些資訊有助於更準確地預測物質的暴露量和潛在危害性，在減少動物需求和增加動物倫理的同時，能夠更迅速地評估和預測化學物質的風險，從而更快地制定相應的管制措施，保護民眾和環境，是具有潛力的發展方向。

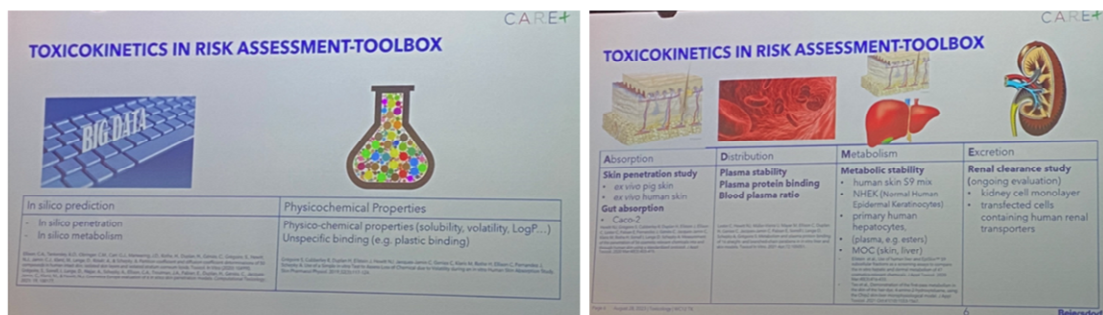


圖 2、用於次世代風險評估的 ADME 工具介紹

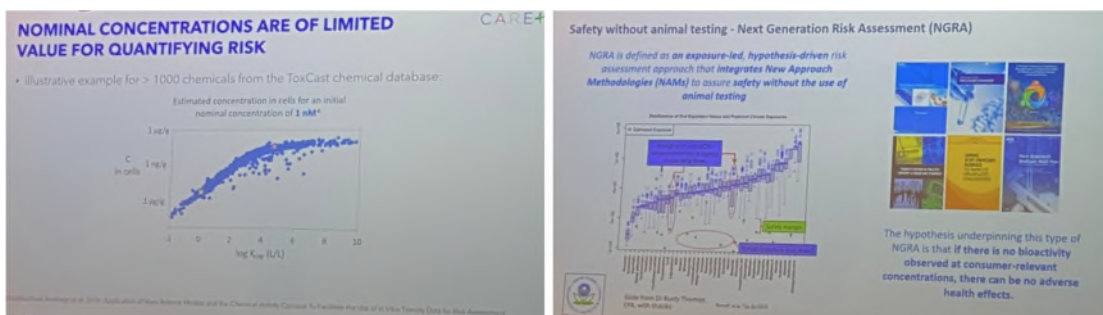


圖 3、以實際案例說明在次世代風險評估的應用結果

## 2、分享主題2—在以暴露為主導的次代風險評估中qAOPs所扮演的角色：好處與限制

### **The role of qAOPs in exposure-led NGRA: Benefits and limitations**

講者(Alistair Middleton)來自英國的聯合利華公司(Unilever)，演講重點圍繞著次世代風險評估(NGRA)，並說明次風險評估具有以下特點：(1)以暴露為主導(Exposure-led)；(2)以假設為驅動(Hypothesis Driven)；(3)採用分層且迭代的方法來做出安全決策；(4)主要目的為預防危害。講者提到NGRA提供了一個可行的架構，用於整合暴露資訊和非動物體外細胞試驗，當預期在人體內相關濃度下不會產生生物活性時，可根據無生物活性資訊不會產生不良效應的原則，做出安全決策。這種類型的安全評估有助於保護人體健康，但無法預測較高暴露下可能發生的危害。然而，若體內相關濃度無法排除生物活性時，就需要使用更高層級的工具來完善風險評估。因此，此次演講重點說明，當已確定某些特定關注機制時，如何將定量危害結局路徑(Quantitative Adverse Outcome Pathway, qAOP)原則應用在風險評估決策（圖4），特別是區分與AOP中關鍵事件相關的適應性和不良效應。講者透過引用多個例子來說明qAOP的好處和限制，以及它們在NGRA背景下可能的用途，包括：吸入（發炎和纖維化）和系統毒性（Nrf2活化和氧化壓力）。這些例子中使用的qAOP建模方法從系統生物學（由下而上機制）到貝葉斯統計模型(Bayesian statistical models)。同時還討論如何在分層風險評估框架內，選擇性的應用不同方法所面臨的短期和長期挑戰。



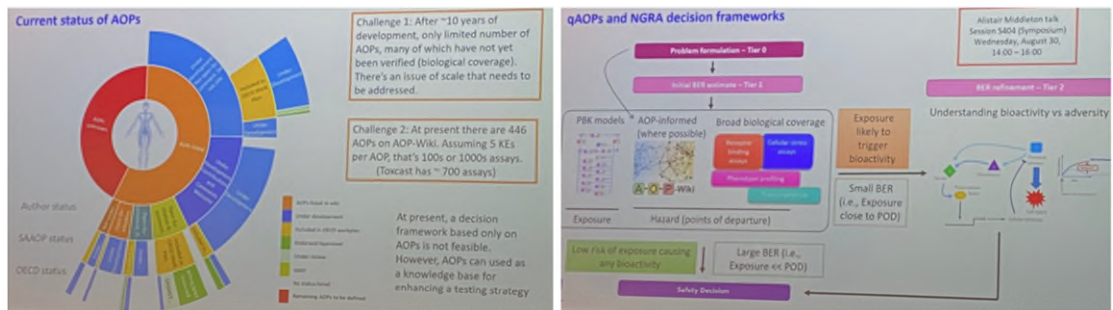


圖 4、AOP 的現況以及 qAOP 應用於次世代風險評估架構

總結而言，講者於會議中提及雖然qAOP在次世代風險評估中仍有其限制，但qAOP是利用科學數據和量化方法來建立生物學反應路徑，並可描述從暴露到產生不良效應的過程，相較傳統評估方法，此方法更為精準以達到量化目標，使風險評估結果更具可靠性。此外，qAOP的潛在應用範圍涵蓋多項領域，包括：化學品管理、生態危害評估和藥物開發等，若未來可提高其準確性、預測性和應用範圍，更可用於多樣化的風險評估面向需求。

### 3、分享主題3— 在生態風險評估的新測試方法學中，接受毒理學和統計學的差異

#### Accepting the separation of toxicology and statistics in new approach methodologies in ecological risk assessment

該場會議講者為來自美國環保署的Sandy Raimondo，講者以法規監管的角度說明隨著遠離動物試驗的過程，未來正朝著模型化邁進（圖5）。在生態毒理學中，這需要毒理學和統計學角色的轉變，且這種轉變正在進行中，但有許多人對於模型的可靠性感到不安，甚至保持抵制態度。講者說明毒理學的前沿研究已轉向細胞和分子終點，這需要模型將其轉化為風險評估者可應用的生物學反應，因此基於機率和數據趨勢的統計模型，在生態風險評估的分析階段顯得更加重要，可有助於量化閾值的不確定性。講者更進一步提及在現實環境中，沒有一個模型是「正確」的，那麼在何種情況下，我

們可以一致認為模型對我們有用，進而成功減少動物試驗達到環境保護呢？講者以水生生物急毒性外推的種間相關估算(Interspecies Correlation Estimation, ICE)模型為例，探討可量化準確性的優勢，以及在沒有毒理學機制下的未知和不可量化的不確定性，並且指出多個獨立研究人員已證實了ICE模型的有效性，並提出US EPA網站內容及相關數據（圖6）。

講者以法規監管的角度說明在3Rs精神下，開發新測試方法學(NAMs)有其必要性，雖然相關支持性數據陸續被證實，然而毒理學家仍對於缺乏毒理機制下所產生的結果和模型接受程度感到困惑。因此如何權衡ICE模型的價值和不確定性，以及有限試驗數據和政府監管作為，成為相關領域極大的挑戰。

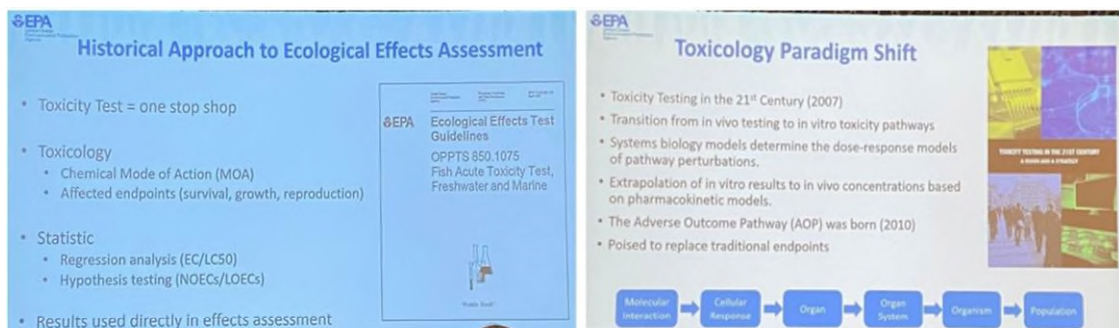


圖 5、毒理與生態毒理在科學上的進展

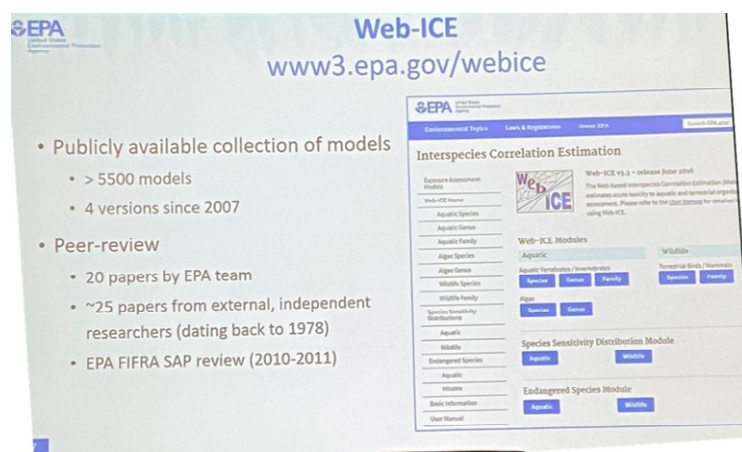


圖 6、美國環保署使用 ICE 相關介紹

#### (四) 法規接受度和全球分類調和

##### 1、分享主題1—EPAA計畫：在化學安全的監管決策中使用新方法學 **EPAA project: Use of new approach methodologies (NAMs) in regulatory decisions for chemical safety**

新方法學(New Approach Methodologies, NAMs)包括任何體外、電腦或基於化學的方法，以及執行這些方法的策略，以及各種新的測試工具，例如：高通量篩選(high-throughput screening)、高內涵方法(high-content methods)、基因組學、蛋白質組學及代謝組學等。

歐盟替代動物實驗夥伴關係(The European Partnership for Alternative Approaches to Animal Testing, EPAA)包括歐盟委員會的5個總幹事處、3個歐盟監管機構、37家公司和8個歐盟行業聯合會。2021年11月，EPAA舉辦了為期2天的研討會，以在EPAA夥伴之間交換有關新方法學在安全評估和註冊監管使用中的情況。討論涉及來自EPAA各行業和歐盟委員會的NAMs使用者，他們分享了自己的經驗，以提供未來EPAA在化學安全決策中使用NAMs的活動建議。討論的議題包括：NAMs的整體目標和好處；推動科學進展需要的條件；法規框架須調整的地方；在教育、培訓以及利害關係人之間的交流方面的需求。上述4項議題的重點整理如下：

##### (1) NAMs 的整體目標和好處

化學品安全性評估方面增加 NAMs 的使用，其主要目的在於考量監管要求並確保人類安全，並承諾減少動物使用。雖然在化學品安全法規很大部分仍仰賴動物試驗數據來滿足資訊要求，但近年來在立法／監管指引中已增加有一些非動物性的方法，這些方法目前有被使用並接受的例子，例如遺傳毒性、皮膚刺激和皮膚致敏的體外數據，還有像是毒理學關切閾值(Threshold of Toxicological Concern, TTC)與交叉參照等策略方法。另外，組學的發展在技術上已相當先進，現階段正在進行案例研究以探討監管上的應用性。然而仍然有一些問題存

在，例如：NAMs 是否足夠標準化、公司和試驗執行單位是否有足夠的能力執行這些新方法。這些新技術可能對危害辨識／危害特徵描述提供有助於更好估計暴露的數據，具有潛在的用處，但也發現了一些現有知識、理解程度和資源上的缺口，若能加以解決，將有助於增加對 NAMs 的採用和認可。

## (2) 推動科學進展需要的條件

在科學需求方面，NAMs 的科學基礎需進一步發展對所謂「重大危害」進行辨識，以促進這些新方法在化學品安全監管決策上更能被廣泛的使用。根據已知標準進行基準衡量 (benchmarking) 以提高對 NAMs 可靠性的信心是至關重要的，目前的基準衡量方式主要是與動物測試數據進行比較，如此也可確認 NAMs 的可重複性，除此之外，NAMs 的基準衡量可以更進階，像是可以與人類暴露數據進行基準衡量，例如工作者職業暴露，還有相關終點、疾病預後或風險評估等，這方面的發展就需要有更多高品質數據資料庫。另外，NAMs 方法主要是體外試驗方法，所以將動力學的資訊和定量體外／體內外插(QIVIVE)的整合是非常重要的，QIVIVE 將有助於提供從細胞的系統中獲得的結果連結到整個生物體的效應，然而這在監管方面的化學品安全決策中應用有限，需要證明 QIVIVE 和 ADME 的適用性，以允許從 NAMs 進行外插，並證明外插結果的可靠性和適用性。此外，也需思考 NAMs 方法的適用域，包括對為來較新穎的化學品類別，如奈米物質、聚合物等。

## (3) 法規框架須調整的地方

在法規需求與機會方面，各方普遍認為監管框架納入和鼓勵使用 NAMs 對於 NAMs 的推動有絕對重要性，在會議中介紹了在風險評估中使用 NAMs 的代表性範例 (圖 7)，以支持 NAMs 可應用於人類健康與化學品安全評估監管決策，然而方法的穩健性和可重複性至關重要。因此相關思考重點包括：

A. 應修訂現有的法規，進一步探索包括暴露和 NAMs 的分層方

案，而不將動物實驗視為黃金標準。

- B. 增加利用符合法規需求的 NAMs 的機會（例如，REACH 的附錄），進一步修訂相關條文以更好地促進 NAMs 的應用。
- C. 努力在法規中尋求靈活性、適應性和指定測試方法之間的平衡，保留保護人類和環境的目標。
- D. 確保具有科學有效性的 NAMs 策略在不同的立法框架中得到橫向應用。
- E. 探討針對一種物質是否可行進行跨行業的 NAMs 使用。
- F. 增加科學專家和決策監管機構之間對於 NAMs 填補信息需求的定制使用的正式對話渠道。

(4) 在教育、培訓以及利害關係人之間的交流方面的需求

在教育、培訓與交流方面，需提高利害關係人對 NAMs 技術及其應用性的認識並提供相關專業知識與培訓，這需要大量且廣泛的專業知識，涵蓋各領域，如：毒理學，還包括體外方法、化學分析、類比法、（定量）結構活性關係((Q)SAR)、以生理學為基礎的動力學(PBK)和暴露模型，以及統計分析，並應用於相關領域的博士和碩士課程，以及持續培訓從業人員。建立能力和培訓的另一明顯優勢是在所有利害關係人之間建立共同的語言和理解。這不僅涉及直接參與者，還涉及非政府組織和更廣泛的社會，以便通知他們所取得的進展，並強調增加人類相關性等問題。

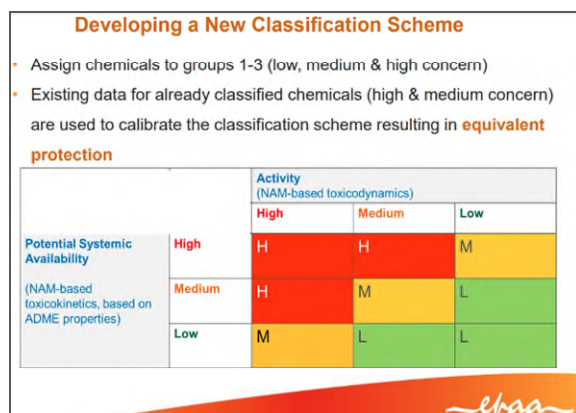


圖 7、風險評估中使用 NAMs 的分類架構

## 2、分享主題2—對農業化學品的致癌性評估的新策略建立信心

### **Building confidence in a new approach to agrochemical carcinogenicity assessment**

雖然大鼠慢性致癌性試驗仍為法規要求用於化學品致癌性評估之主要研究設計與資料來源，但數十年的研究已經凸顯了該研究方法的使用限制，包括缺乏人類相關性、低通量、高變異性以及動物福祉有關的問題。有鑑於此，一群來自產、官、學的科學家組成的工作團隊(Rethinking Carcinogenicity Assessment for Agrochemicals Project, ReCAAP)，共同努力開發了一套用於農藥安全評估架構，以豁免執行齧齒動物致癌性試驗。透過迭代策略，吸取來自法規監管單位的意見回饋，並找出以風險評估為基礎的證據權重(WoE)以決定所需的齧齒動物癌症生物分析的關鍵資訊。該框架包括用途資訊、暴露情境、農藥的作用方式(MoA)、物化特性、代謝、毒物動力學、毒理學數據（包含作用機轉），以及從已經註冊的相似農藥進行交叉參照的資料，這框架也可用於除了慢毒性與致癌性之外的其他終點，且除了農藥之外，也可應用於其他化學品。

有關ReCAAP建立架構的流程如下圖8所示。過程包括：

- (1) 概述監管數據需求，以確定在框架中需要考慮的信息。
- (2) 透過使用已發表來自經監管審查的已註冊農藥數據，來進行案例研究並編寫豁免理由，藉此評估該框架。
- (3) 由監管機構和其他工作組成員審查這些案例研究的豁免理



由，以確定在後續修訂報告框架時應該解決的部分。

這審查過程包括一開始由非政府組織組成的工作小組成員進行，以確立根據證據權重為基礎建立的評估內容，接著由政府監管單位的工作小組成員進行審查，從各方蒐集的意見會進行彙整且關鍵議題會進一步用於架構的優化。

會議中提到（圖9），有關致癌性評估的證據權重方法已被國際醫藥法規協和會(ICH)專家工作組證明對健康具有保護作用，並納入致癌性評估指引(S1R1)的補充資料。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。

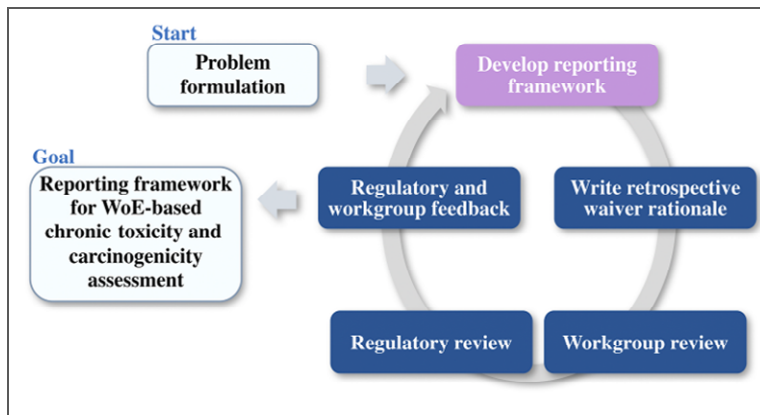


圖 8、ReCAAP 運作架構流程

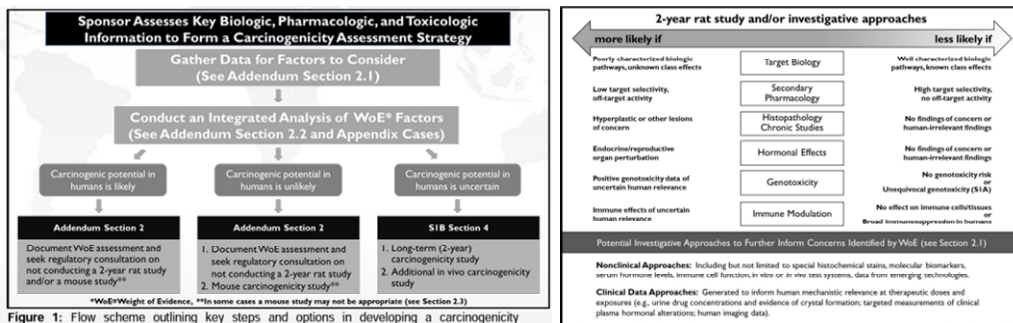


Figure 1: Flow scheme outlining key steps and options in developing a carcinogenicity assessment strategy and determining the added value of a 2-year rat study.

圖 9、致癌性評估的證據權重方法

### 3、分享主題3—衡量體外試驗用於吸入急毒性評估的可行性

#### **Assessing the utility of *in vitro* assessment for acute inhalation toxicity**

評估化學品的吸入急毒性對於確保工作者與消費者的安全是重要的，目前最常使用的研究方法為使用嚙齒動物進行吸入性研究，為了要取代動物試驗，同時結果是法規可接受並可被廣泛使用，因此必須證明替代性評估方法能達到與動物試驗相當程度的保護人體健康、相對來說容易執行，且符合成本效益。目前已有商業化具功能的人類呼吸道上皮細胞體外模型EpiAirway™，在一些初期研究中指出，此體外模型能將3種已知危害的懸浮液濃縮製劑正確地進行吸入毒性的危害分類，透過跨上皮細胞膜電位(Trans

Epithelial Electric Resistance, TEER)以及組織病理學來評估化學品刺激性和組織損傷，這些方法是最敏感的測量手段（圖10）。為了進一步評估EpiAirway™正確分類吸入毒性的能力，該單位

（Syngenta公司）對5種懸浮液濃縮製劑和五種乳化液濃縮製劑進行了評估並針對測試方法進行優化。將暴露時間從3小時延長到4小時，並增加了一個20小時的恢復期。評估方法包括TEER、LDH釋放、組織病理學和細胞存活率分析(MTT assay)。在測試的條件下，EpiAirway™始終能夠將具有呼吸道刺激潛力的製劑辨識為具有吸入毒性。比對其他製劑的結果需要將不同試驗、不同濃度以及在不同時間獲得的結果進行校正，顯示具有中到重度眼睛刺激的製劑在較高濃度下會過度預測為吸入毒性。初步結果顯示EpiAirway™能夠進行優化，並有潛力可用作證去權衡以判定吸入毒性（圖11）。

後續改進與延伸的方向包括：

- (1) EpiAirway™如何區分系統性毒性（危害分類第一級及第二級的物質）與呼吸道刺激和腐蝕性的物質。
- (2) 利用更多的化學品進行此模型的優化及最終執行方法的建



立，做法包括不同實驗室之間共同測試級結果得比較，並將確立的方法送交 OECD 進行驗證。

(3) 將此模型延伸應用於亞慢與慢性吸入毒性的測試。

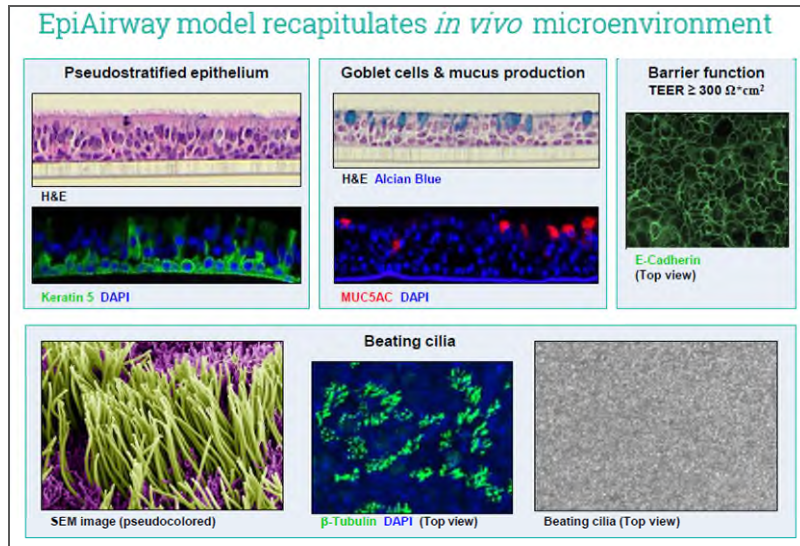
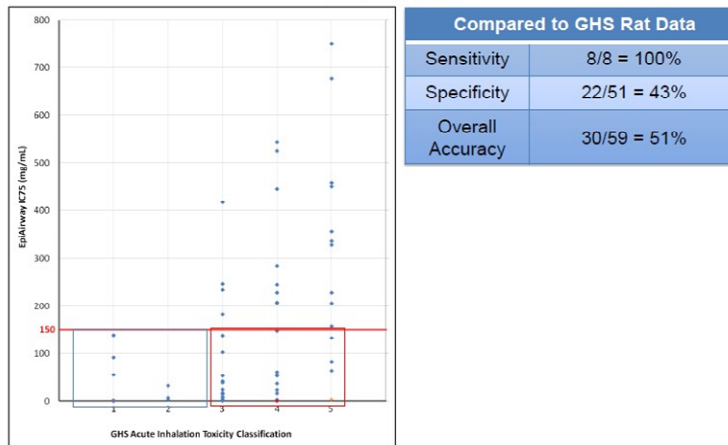


圖 10、人類呼吸道上皮細胞體外模型 EpiAirway™

**EpiAirway test is highly sensitive for identifying potential toxicants.**



What chemicals is the rat LD<sub>50</sub> test missing?

## Advantages of EpiAirway test over rat LD<sub>50</sub> test

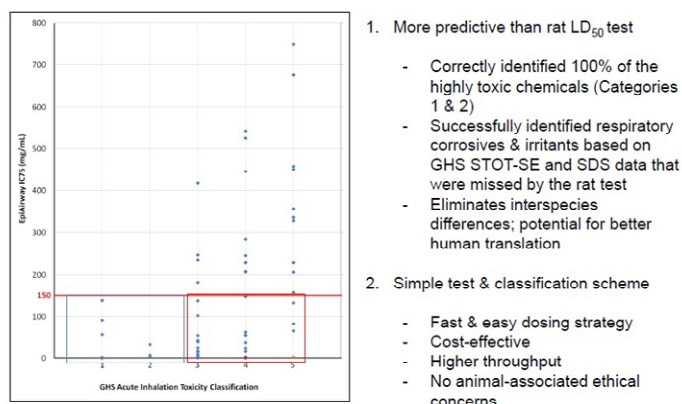


圖 11、EpiAirway™對於識別潛在的有毒物質顯示有相當敏感性

### 4、分享主題4—將GARDskin醫療器材檢定法應用於醫療器材查驗登記審查

#### Application of the GARDskin medical device assay for regulatory approval of medical devices according to MDR

如今醫療器材毒理學正逐漸轉向更多地使用體外評估方法來評估醫療器材的生物安全性。傳統上，對醫療器材萃取物中的皮膚致敏物質進行評估通常是使用體內方法，主要包括天竺鼠最大化致敏試驗和Buehler閉合貼片試驗。然而，最近ISO 10993標準中已納入皮膚刺激和皮膚致敏這些終點的體外方法，使得這些試驗可以在體外進行。ISO 10993-10中描述的皮膚致敏評估的一種體外方法是GARDskin試驗。GARDskin試驗是第一個適用於油性萃取劑的OECD TG 442方法，這種非極性萃取劑通常使用體內試驗來測試醫療器械的皮膚致敏性。

在這場演講中以GARDskin醫療器材試驗的結果（圖12），說明如何用體外結果以獲得歐洲醫療器材規例2017/745（MDR）的CE標記，用於一種創新的耳鳴治療醫療器械—Tinearity® G1的申請。GARDskin醫療器材試驗中Tinearity® G1在極性和非極性萃取劑中被分類為非致敏物質，這些體外結果與毒理學評估以及醫療器材的風險評估和生物評估中的化學數據結合作為證據權重，進而獲得CE標記。



圖 12、以 GARDskin 說明醫療器材毒理學的進展

## (五) 道德、福利、政策及法規

分享主題：超越3Rs—今日動物倫理原則的模樣？

**More than 3Rs- what should principles of animal ethics look like today?**

動物福祉基金會(Universities Federation for Animal Welfare, UFAW)發表由兩位英國科學家William M. S. Russell和Rex Burch撰寫之著名書籍《人道實驗技術原則》(The Principles of Humane Experiment Techniques)，書中所提出的3Rs原則實際上是建立在經驗證據(empirical evidence)上，是一種知識論研究，而不是一套純粹的倫理原則，所以本議題將探討在將任何動物用於研究項目之前應考慮的關鍵倫理原則。

講者Jan Ottesen提出兩點主要論述，第一為避免動物受苦是最重要的道德義務，第二為只有心理和生理健康的動物才能提供有意義且可靠的數據資料。而只有當飼養條件滿足複雜環境的基本物種特定需求，為運動、營養、刺激以及免受壓力和疾病提供足夠的空間時，才能實現這種健康的環境供動物。而「馬賽宣言(Marseille Declaration)」的簽署同意制定有關實驗動物福利和飼養條件的目標和優先事項，可以漸漸達成上述所說的目標（圖13）。

另一講者Hanno Wuerbel則提出3Rs只是其中確定動物研究的必要性倫理原則之一，表示除3Rs外，更提出了3Vs原則，3Vs包含了結構有效性(construct validity)、內部有效性(internal validity)以及

外部有效性(external validity)，如3Rs及3Vs配合危害效益分析(harm-benefit analysis, HBA)三者結合，可以有效地於動物研究中更完美地分析出必要及合適性。針對倫理也說明動物研究必須透明及高效率，可符合開放研究的原則。因此，動物研究要想在倫理上盡一份心理，應該無條件地將研究資料以及成果公開透明。

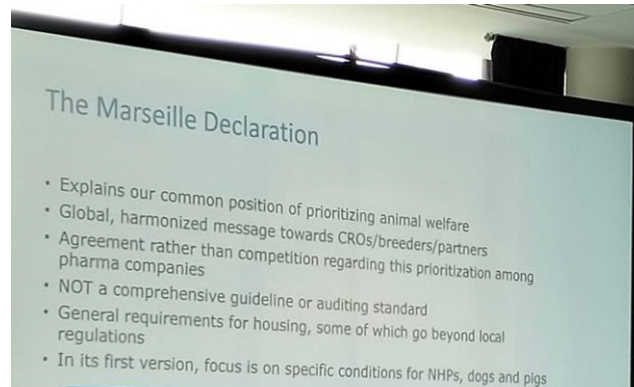


圖 13、馬賽宣言(Marseille Declaration)簡報

## 二、拜訪多倫多大學教授

WC會議結束後，前往多倫多大學拜訪化學系Hui Peng助理教授，與Peng老師進行簡短的交流，由署這邊先簡介說明毒物及化學物質局於今(112)年8月22日升格為環境部化學物質管理署（以下簡稱化學署），以及化學署的定位，希望藉由強化各部會之間合作，不僅在法規管理及溝通聯繫的面向外，更能建立對化學物質的有效管理。其次，針對業務範疇簡述臺灣的新化學物質及既有化學物質的標準登錄作業，經由REACH經驗的參考及適應台灣國情，簡介臺灣標準登錄的資料收集目前涵蓋7大項目的資料接收，再帶到毒理及生態毒理資料的動物替代試驗的開發和推廣情形，並說明最終目的在於人體及環境的危害和暴露資訊及風險評估。接續由成功大學王應然教授簡述其研究團隊在魚類及替代測試的進展，除展示魚類胚胎的研究成果，也介紹魚類細胞株應用在替代測試上的最新進展。

我們也請益Peng關於他在研究PFAS上的觀點，他也很大方的分享了一些他的觀點，他認為PFAS數據很多是來自於流行病學的調查，強調並非絕對的科學研究，再者PFAS的問題在於它的生命週期很長，這時候持久性就很重要，也就是說對於次世代的風險及食物鏈的關係或許顯得重要，但在急毒性方面他則不是這麼的在意；另外在PFAS取代物的毒性衡量方面，他認為或許取代物的毒性比PFAS大，但就是稍大而已，其實問題就是持久性(persistent, P)與毒性(Toxicity, T)的取捨，所以若能讓P降低，T稍微較高，但其實也是很低的毒性而已。他也進一步說明未來PFAS取代物的候選還是以不含氟的化學物質以及界面活性劑為佳。而在檢測方面，他則說明依據US EPA的分析方法分析基本上都沒有問題，但對於全氟辛烷磺醯氟(Perfluorooctane sulfonyl fluoride, POSF)目前是沒有較好的偵測方法，需要持續關注。交流會結束後，Peng助理教授也提供了1份由加拿大環境與氣候變遷部和衛生部於今年5月出版的報告，全氟烷及多氟烷基物質報告草案(DRAFT State of Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) Report)，內容涵蓋PFAS使用暴露、環

境宿命及人體危害的相關資訊，可供後續管理參考。網址為：







<https://www.canada.ca/en/environment-climate-change/services/evaluating-existing-substances/draft-state-per-polyfluoroalkyl-substances-report.html>

## 參、心得與建議

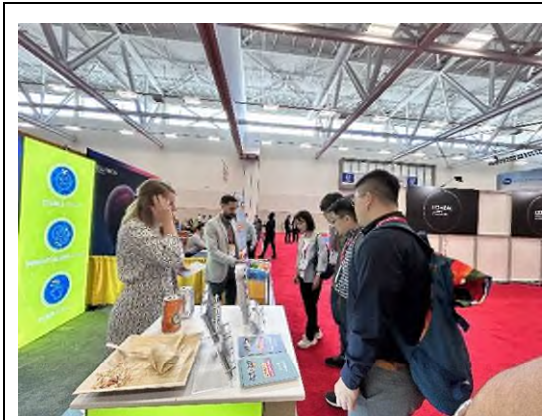
- 一、「科學試驗動物使用及其替代測試世界會議」主要由加拿大動物替代中心(CCAAM)和加拿大替代方法驗證中心(CaCVAM)主辦，會議主題相當多元，涵蓋以實驗室研究為主的毒理學研究、以不同科學替代方法所產生的數據應用方向、新的測試方法驗證及法規接受度、人工智慧對替代測試的幫助，以及替代測試的科學教育等。與會人員除我國外，包含美國、加拿大、歐盟、日本，及 OECD 等，囊括學術界、產業界、政府部門和非營利組織等，旨在共同探討生命科學領域替代方法和動物使用問題。
- 二、「新測試方法學」(New Approach Methodologies, NAMs)應用於毒理學，包括體外(*in vitro*)測試或分析、化學分析(*in chemico*)和計算方法(*in silico*)等，為了後續面對數量龐大、日新月異的化學物質，以供快速、有效率地辨識化學物質的危害特性，同時亦能減少動物測試，值得我國持續關注及發展相關研究。
- 三、藉由瞭解各國對於毒理學及生態毒理學的資料接受條件及接收程度，也對於後續應用於風險評估與風險管理所面臨的問題，以及如何在有限的資源中有效率地完成審查並採取風險管理措施，以避免危害人體健康或污染環境，值得作為我國對於風險評估與風險管理規劃的參考依據。
- 四、PFAS 可被用於各種不同的行業和產品，包括不沾鍋、雨傘等民生產品，因此它們在自然界和生態系統中的分布非常廣泛，需要涵蓋多個不同層面的管理。PFAS 之所以被視為「有毒」，主要考量物質具有持久性，這代表物質在環境中極難分解，導致在土壤、水體和生物體內可以長時間存在，進而累積。同時若人類長時間暴露在低劑量的 PFAS，會對健康產生潛在風險，包括免疫系統損傷、肝臟損傷、甲狀腺問題和增加癌症風險等。透過與 Hui Peng 助理教授的交流對話，他提出 PFAS 持久性與替代物低毒性的取捨或許是我們可思量的，並可隨時關注美國環保署更新的 PFAS 檢測方法。



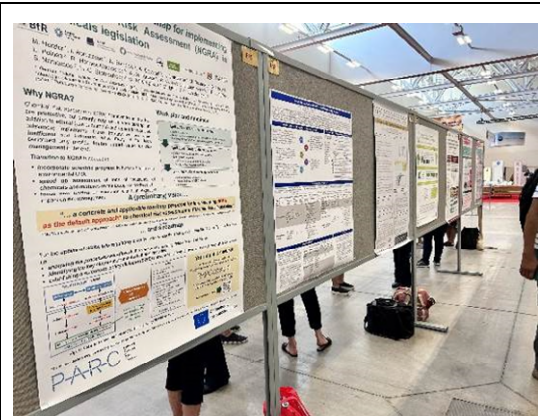
附錄 1、照片

	
<p>研討會主持人 Charu Chandrasekera 博士（中間女士，來自加拿大溫莎大學的加拿大替代方法驗證中心），為研討會揭開序幕</p>	<p>本次同行人員於研討會會議會場合影</p>
	
<p>替代品大會信託基金會(Alternative Congress Trust)相關成員的介紹</p>	<p>會場中與我國動保團體互動合影</p>
	
<p>歐洲化學署替代測試方法團隊 Tomasz Sobanski 博士簡介「由 REACH 視角的非動物監管危害評估的關鍵需求」</p>	<p>國家衛生研究院甘鴻霖博士簡介「斑馬魚的計算疾病-化學診斷系統」</p>

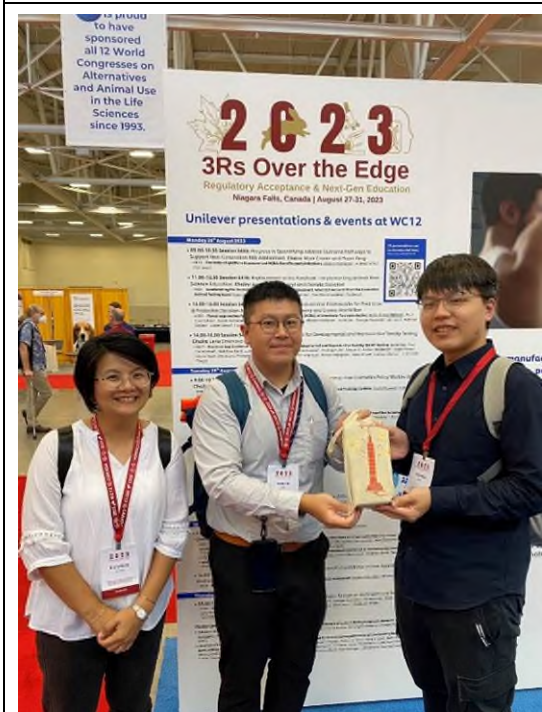




於會場展區交流情形



海報會場交流時間



與國家衛生研究院甘鴻霖博士（左 2）  
交流合影



與歐洲化學署 Tomasz Sobanski 博士  
（左）交流合影



王應然教授（右）於海報會場說明團隊的研究現況



與國家實驗動物中心秦咸靜主任（左2）及國家實驗研究院王繼廣博士（右1）交流合影

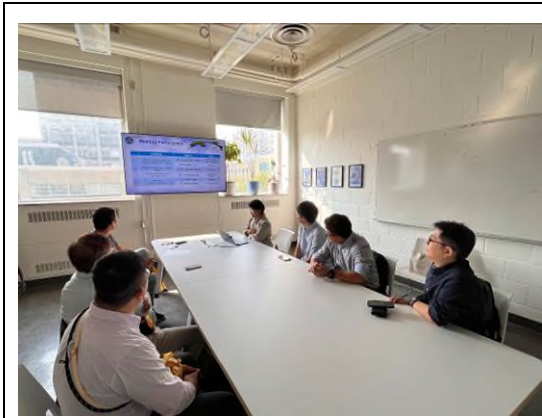


與經濟合作暨發展組織(OECD) Patience Browne 博士（左4）合影



國家環境醫學研究所林嬪嬪研究員簡介「臺灣政府機關法規接受並實施之新方法」





與多倫多大學 Hui Peng 助理教授交流情形



王應然教授針對替代測試進展的主題與 Hui Peng 助理教授進行交流



交流活動後致贈 Hui Peng 助理教授 (右 2) 禮品



同行團員於多倫多大學一隅合影