행정간행물등록번호
11-1471057-000388-01

생물의약품 비임상시험 가이드라인
(민원인 안내서)

Guideline on Nonclinical Evaluation of Biopharmaceuticals

2018. 11.

식품의약품안전처
식품의약품안전평가원

바이오생약심사부

제·개정 이력서

생물의약품 비임상시험 가이드라인 (민원인 안내서)

연번	제·개정번호	승인일자	주요내용
1	B1-2008-3-018	2008	제정
2	B1-2014-3-004	2014.09.26	최신 내용 반영한 개정
3	안내서-0270-01		「식품의약품안전처 지침서등의 관리에 관한 규정」 개정에 따른 등록번호 일괄 정비
4	안내서-0270-02	2018.11.28	백신면역증강제 또는 면역증강제 함유 백신 관련 최신 내용 반영 및 용어 조정(생명공학의약품→유전자재조합의약품)

지침서·안내서 제·개정 점검표

명칭	생물의약품 비임상시험 가이드라인(민원인 안내서)

아래에 해당하는 사항에 체크하여 주시기 바랍니다.

등록대상 여부	☐ 이미 등록된 지침서·안내서 중 동일·유사한 내용의 지침서·안내서가 있습니까?	☐ 예 ■ 아니오
	☞ 상기 질문에 '예'라고 답하신 경우 기존의 지침서·안내서의 개정을 우선적으로 고려하시기 바랍니다. 그럼에도 불구하고 동 지침서·안내서의 제정이 필요한 경우 그 사유를 아래에 기재해 주시기 바랍니다. (사유 :)	
	☐ 법령(법·시행령·시행규칙) 또는 행정규칙(고시·훈령·예규)의 내용을 단순 편집 또는 나열한 것입니까?	☐ 예 ■ 아니오
	☐ 단순한 사실을 대외적으로 알리는 공고의 내용입니까?	☐ 예 ■ 아니오
	☐ 1년 이내 한시적 적용 또는 일회성 지시·명령에 해당하는 내용입니까?	☐ 예 ■ 아니오
	☐ 외국 규정을 번역하거나 설명하는 내용입니까?	☐ 예 ■ 아니오
	☐ 신규 직원 교육을 위해 법령 또는 행정규칙을 알기 쉽게 정리한 자료입니까?	☐ 예 ■ 아니오
	☞ 상기 사항 중 어느 하나라도 '예'에 해당되는 경우에 지침서·안내서 등록 대상이 아닙니다. 지침서·안내서 제·개정 절차를 적용하실 필요는 없습니다.	
지침서·안내서 구분	☐ 내부적으로 행정사무의 통일을 기하기 위하여 반복적으로 행정사무의 세부기준이나 절차를 제시하는 것입니까? (공무원용)	☐ 예(☞지침서) ■ 아니오
	☐ 대내외적으로 법령 또는 고시·훈령·예규 등을 알기 쉽게 풀어서 설명하거나 특정한 사안에 대하여 식품의약품안전처의 입장을 기술하는 것입니까? (민원인용)	■ 예(☞안내서) ☐ 아니오
기타 확인 사항	☐ 상위 법령을 일탈하여 새로운 규제를 신설·강화하거나 민원인을 구속하는 내용이 있습니까?	☐ 예 ■ 아니오
	☞ 상기 질문에 '예'라고 답하신 경우 상위법령 일탈 내용을 삭제하시고 지침서·안내서 제·개정 절차를 진행하시기 바랍니다.	

상기 사항에 대하여 확인하였음.

2018 년 11 월 28 일

담당자 오상연

확 인(부서장) 백선영

이 안내서는 생물의약품 비임상시험 심사에 필요한 사항들에 대하여 알기 쉽게 설명하거나 식품의약품안전처의 입장을 기술한 것입니다.

본 안내서는 대외적으로 법적 효력을 가지는 것이 아니므로 본문의 기술 방식('~하여야 한다' 등)에도 불구하고 민원인 여러분께서 반드시 준수하셔야 하는 사항이 아님을 알려드립니다. 또한, 본 안내서는 2018년 11월 28일 현재의 과학적·기술적 사실 및 유효한 법규를 토대로 작성되었으므로 이후 최신 개정 법규 내용 및 구체적인 사실관계 등에 따라 달리 적용될 수 있음을 알려드립니다.

※ "민원인 안내서"란 대내외적으로 법령 또는 고시·훈령·예규 등을 알기 쉽게 풀어서 설명하거나 특정한 사안에 대하여 식품의약품안전처의 입장을 기술하는 것(식품의약품안전처 지침서등의 관리에 관한 규정 제2조)

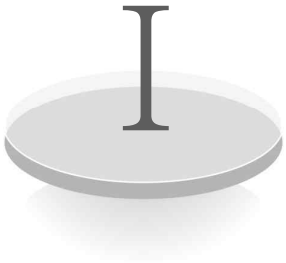
※ 본 안내서에 대한 의견이나 문의사항이 있을 경우 식품의약품안전평가원 바이오생약심사부 생물제제과에 문의하시기 바랍니다.

전화번호 : 043-719-3469
팩스번호 : 043-719-3450

목 차

Ⅰ. 백신 비임상시험 가이드라인 ····· 1

Ⅱ. 유전자재조합의약품 비임상시험 가이드라인 ····
71



백신 비임상시험 가이드라인

생물의약품 비임상시험 가이드라인(민원인 안내서)

목 차

1. 서론 ····· 7

2. 공통 ····· 8

2.1 지침의 범위 ····· 10

2.2 용어의 정의 ····· 11

3. 후보백신의 특성 분석 ····· 14

3.1 백신 생산 ····· 14

3.2 역가 ····· 16

3.3 안정성 ····· 17

3.4 배치 출하 승인 및 독립적인 실험실 평가 ····· 17

3.5 표준품 및 참조물질 ····· 18

4. 비임상시험 ····· 19

4.1. 독성에 관한 자료 ····· 19

4.1.1. 일반적 고려사항 ····· 19

4.1.1.1. 동물종, 성별, 연령 및 군 크기 ····· 19

4.1.1.2. 투여량, 투여경로, 대조군 ····· 20

4.1.2. 단회투여독성시험 ····· 21

4.1.3. 반복투여독성시험 ····· 21

4.1.4. 생식・발생독성시험 ····· 23

4.1.5. 유전독성시험 ····· 25

4.1.6. 발암성시험 ····· 25

4.1.7. 기타 독성(국소내성) ····· 25

4.2 약리작용에 관한 자료 ····· 26

4.2.1. 효력시험 ····· 26

4.2.2. 안전성약리시험 ····· 27

4.2.3. 흡수・분포・대사・배설 ····· 28

5. 특별 고려 사항 ····· 28
5.1. 첨가제 ····· 28
5.1.1. 면역증강제 ····· 29
5.1.2. 부형제 및 보존제 ····· 32
5.2. 성상 및 제형의 변경 ····· 32
5.3. 대체 투여 경로 ····· 32
5.3.1. 동물모델 ····· 33
5.3.2. 투여량 ····· 33
5.3.3. 평가변수 ····· 33
5.3.4. 면역원성 평가 ····· 34

6. 백신의 유형에 따른 고려사항 ····· 34
6.1. 혼합백신 ····· 34
6.1.1. 독성시험에 관한 자료 ····· 35
6.1.2. 약리작용에 관한 자료 ····· 35
6.2. 약독화 생백신 ····· 36

[부록]백신면역증강제 및 면역증강제백신에서의 비임상평가시 고려사항 ····· 37

1. 서론 ····· 37

2. 범위 ····· 38
2.1. 일반적 고려사항 ····· 39
2.2. 용어정의 ····· 41

3. 비임상 및 임상평가용 시료의 제조 및 품질에 대한 고려사항 ····· 44
3.1. 약리시험용 로트의 생산, 특성분석 및 품질 고려사항 ····· 44
3.2. 독성시험 및 최초임상시험용 로트 생산, 특성분석 및 품질 고려사항 ··· 45
3.3. 후기 단계 임상시험에 필요한 정보 ····· 49

4. 면역증강제 사용에 관한 논리적 근거 ····· 50
4.1. In vivo 개념증명 연구 ····· 51
4.2. In vitro 추가적인 연구 ····· 52

5. 비임상시험 동물종 선정 시 고려사항 ····· 53
5.1. 비임상 약리 시험의 동물종 선정 ····· 53
5.2. 비임상 안전성 시험의 동물종 선정 ····· 54
5.3. 동물시험의 한계 ····· 55

6. 동물에서 비임상 안전성 평가 ····· 56
6.1. 일반적 고려사항 ····· 56
6.2. 면역증강제 및 최종 면역증강제 함유 백신제제의 독성 시험 ····· 56
6.3. 추가 고려사항 ····· 63

7. (인체에 대한) 최초 인체 적용 임상시험에 있어서의 고려사항 ····· 63

별첨 1. 반복투여독성시험 시에 채취할 조직 리스트 ····· 67
별첨 2. 면역증강제 분류 및 예 ····· 69

백신 비임상시험 가이드라인

1 서 론

생명공학 및 기초 면역학의 최근 발전으로 인하여, 감염성 질병 예방과 관련한 새로운 백신이 다양하게 개발되고 있다. 이미 허가 받은 백신에 새로운 면역증강제를 도입하는 것뿐만 아니라 새로운 제품으로 개발이 이어지고 있다. 이러한 제품들의 신규성과 복잡성으로 인해 이들 제품의 안전성, 역가, 품질에 대한 평가가 존재하지 않을 수 있으므로, 과학적으로나 규제 및 심사에 있어 큰 과제가 되고 있다. 제품의 다양성과 새로운 접근 방식, 기술 등을 감안하면 이들 제품의 비임상 평가 유형과 정도를 결정할 때는 활용 가능한 최선의 과학을 근거로 해야 한다. 비임상 평가는 백신 후보 제품의 전체 개발에 있어서 필수적이고 매우 중요하나 현재 이들 제품에 대한 비임상 평가와 관련한 가이드라인은 제한적으로 존재하고 있다. 이처럼 새롭고, 다양하게 개발되고 있는 백신의 효력과 안전성을 과학적이고 합리적으로 평가하기 위해서는 제제의 특성을 반영한 심사 가이드라인의 마련이 필요하다. 이에 본 가이드라인에서는 백신의 비임상 평가를 위한 일반 원칙과, 백신 개발 및 허가 시 참고할 수 있는 고려사항을 제시하고자 한다.

비임상시험은 백신 후보 제품을 실험실에서 임상으로 옮겨가는데 있어 필수 전제조건이며, 제품의 임상평가를 실시하기 전에 수행하는 동물 대상 안전성 시험, 면역원성 시험/개념 증명(proof of concept), 제품 특성 분석 등 시험과 관련된 모든 부분을 포함한다. 이 문서에서 비임상시험이라 함은, 개발 중인 백신의 임상 전 및 도중에 수행하는 모든 체내/체외 시험을 의미한다. 예를 들어 제조공정 또는 제품의 성분 조합이 변경되거나, 1상 및 2상 임상시험 도중에 발생하거나 유사제품과 관련된 참고 문헌에 기술되어 있는 잠재적 안전성 문제의 추가적인 시험을 위해 비임상 평가가 필요할 수 있다.

본 가이드라인의 규정적 배경은 다음과 같다

「약사법」 제31조, 제35조, 제42조 및「의약품 등의 안전에 관한 규칙」 제4조, 제8조부터 제12조에 따라 백신의 제조판매(수입)품목허가 및 변경허가를 위한 심사에 관한 세부사항은 「생물학적제제 등의 품목허가·심사 규정」(식품의약품안전처 고시)에서 정하고 있다. 동 고시 6조에서는 품목(변경)허가 시 제출되는 심사자료의 종류를 정하고 있으며, "[별표 1] 생물학적제제, 유전자재조합의약품, 세포배양의약품의 제출자료"에서 그 세부사항을 정하고 있다.

독성에 관한 자료는 「비임상시험관리기준」(식품의약품안전처 고시)에 적합하며, 「의약품등의 독성시험기준」(식품의약품안전처 고시)에 부합하거나 시험방법 및 평가기준 등이 과학적·합리적으로 타당한 자료여야 한다.

2 공 통

비임상시험은 안전성 및 면역원성 평가를 포함하여, 후보 백신 제품의 체내/체외 특성을 규명하는데 목적을 둔다. 동물 대상 비임상시험은 백신의 잠재적 위험을 파악하고 차후에 임상시험의 프로토콜을 계획하는데 도움이 되는 중요한 수단이다. 하지만 동물 대상 안전성 시험을 수행할 때면 명확한 근거가 항상 있어야 하며, 시험동물 보호[1], 생물안전기준[2], GLP[3](비임상시험 관리기준, Good Laboratory Practice)와 관련된 국가 및 국제 법률을 준수하며 수행해야 한다. 독성시험은 「비임상시험관리기준」(식품의약품안전처 고시)(이하 GLP라고 한다.)에 따라 수행해야 한다. 다만, 독성시험의 특성상 GLP의 완전한 준수가 가능하지 않은 경우 미준수 영역을 명시하고 그에 대한 타당성을 제시해야 한다.

백신의 잠재적인 안전성 문제로는 제품의 내재적 독성, 불순물과 오염물의 독성 그리고 백신 성분 중에 존재하는 백신 원료 성분 사이의 상호작용에 의한 독성

등이 있으며 그 밖에도 백신에 의해 유도되는 면역반응이 바람직하지 않은 부작용(일반적인 전신 독성, 예방하려던 질환의 발생, 국소내성 유도, 발열성, 자가면역 또는 감작성과 같은 이상면역반응, 일부의 경우에서 최기형성/생식 또는 중대한 신경질환 등)으로 이어질 수도 있다.

비임상 독성시험의 예측을 극대화하기 위한 노력에도 불구하고, 위험(risk)의 불확실성의 감소에는 한계가 있다. 발병과정과 면역반응은 종 특이적인 경향을 보이므로 사람에서의 임상적인 안전성 및 유효성을 반영할 때는 동물시험의 한계를 고려해야 한다. 또한 동물시험에서 파악된 잠재적인 안전성 문제가 반드시 사람에서의 문제를 의미하지 않을 수 있다. 그러나 비임상 독성시험 시에 관찰된 사항은 임상시험 시 신중하게 다루어야 하며, 이 때문에 추가적인 비임상시험이 필요할 수도 있다. 마찬가지로 비임상시험에서 독성이 관찰되지 않았다고 하여 그 백신이 사람에서 안전하다는 것을 의미하는 것은 아니다.

또한 동물을 대상으로 한 비임상 평가의 대안으로 체외시험의 개발 및 밸리데이션이 권장되고 있는데 이런 방법은 비임상시험의 개선과 동물 사용 감소로 이어질 수 있기 때문이다.

비임상시험의 필요성과 그 정도는 검토 대상 제품에 따라 다르다. 예를 들어 이전의 비임상 및 임상 경험이 없는 제품이라면, 이미 허가를 확보하여 사람에게 투약되고 있는 백신에 비하여 보다 광범위한 비임상시험이 필요하다. 임상 1상 시험을 시작하기에 앞서 비임상 안전성 시험을 수행하지 않은 경우도 있다. 예를 들어 기술이전과 같이 해당 백신의 최초 개발 비임상 자료를 확보할 수 있는 경우, 비임상 가교 시험 자료(예, 물리화학적 특성 분석 및 약식 체내 시험)만으로도 인정될 수 있다.

백신 개발자는 백신 개발 초기부터 국가의 규제기관과 비임상시험 기준과 유형 등을 논의하며 비임상시험을 추진하는 방식을 선택하는 것을 권장한다.

2.1. 지침의 범위[4)5)]

백신은 감염물질, 독소 또는 생물체에서 추출, 분비되거나 재조합 기술에 의해 생산된 항원을 주성분으로 하는 제품을 말하며 사람에게 투여 시 적절한 면역반응을 유도할 수 있어야 한다. 백신 성분(미생물 또는 물질 등)에 대한 예는 다음과 같다.

- 적절한 면역원성을 보유하며 화학적 및/또는 물리적 수단으로 불활화 또는 약독화 시킨 미생물
- 미생물에서 추출하여 생산된 항원 또는 유전자 재조합 기술로 생산되거나 분비된 항원
- 이종융합 미생물(chimeric microorganisms)
- 생체 외 시험계(*in vitro*)에서 화학적으로 합성된 항원, 핵산이나 살아있는 벡터를 투여하여 면역화 시킨 숙주(*in vivo*)에서 생산된 항원

항원은 천연 상태이거나, 돌연변이 도입 이후에 변형 또는 절단된 상태이거나, 화학적 또는 물리적 수단으로 독성이 제거되었거나, 응집(aggregated), 중합(polymerised), 또는 캐리어 성분과 접합(conjugated)시켜 면역원성을 강화시킨 상태일 수 있다. 이러한 항원은 그 상태로 순수하게 투여하거나, 면역증강제와 접합시킨 상태로 투여하거나, 다른 항원 및 첨가물이 혼합된 상태로 투여할 수 있다.

이 가이드라인(안)의 적용 범위는 상기 기술한 사항과 같다. 한편, 대다수의 백신은 예방을 위해 개발되지만, 일부 감염성 질환에 대해서는 치료 용도로 개발되는 백신도 있으며, 이 가이드라인의 대상은 이러한 제품을 모두 포함한다(예, human immunodeficiency virus(HIV), human papillomavirus(HPV)). 다만, 단클론항체(예: anti-idiotypic antibody)가 면역원으로 사용되었거나 비감염성 질환을 위한 치료 목적의 백신(예, DNA 백신)은 이 가이드라인의 적용 대상이 아니다.

이외에 새로운 투여경로, 투여방법 및 제조과정에 주요한 변화가 생긴 경우 등에서 필요시 비임상시험을 수행하여야 하지만 이 중 제조과정의 주요한 변화에 의한 비임상시험 실시 범위는 여기서 다루지 않는다.

2.2. 용어의 정의

이 가이드라인에 사용된 용어의 정의는 아래와 같다. 다른 곳에서는 다른 의미로 사용될 수 있다.

면역증강제(Adjuvant): 백신의 면역반응과 그에 따른 임상적 유효성을 증진시키기 위한 성분

추가접종(Booster vaccination): 면역 반응을 증대시키고 장기 면역을 유도하기 위하여 기초접종 이후 특정 기간을 두고 다시 접종하는 것

혼합백신(Combination vaccine): 여러 질병 또는 서로 다른 균주나 동일 미생물의 다른 혈청형이나 strains에 의해 유발된 하나 또는 하나 이상의 질병을 방어하기 위하여 제조된 것으로 제조과정 중에 혼합하거나 투여 직전에 혼합하는 둘 이상의 항원으로 구성된 백신

GMO(유전자변형생물체, Genetically modified organism): 짝짓기 및/또는 천연적 조합에 의해서는 발생하지 않은 방식으로 유전 물질이 변형된 미생물 또는 개체로 바이러스, 바이로이드, 동물유래 세포를 포함하나 naked recombinant DNA 또는 naked recombinant plasmid는 포함하지 않는다.

GCP(임상시험관리기준, Good Clinical Practice): 임상시험의 설계, 수행, 모니터, 종료, 감사, 분석, 보고, 문서화를 포괄하며 임상시험이 과학적/윤리적으로 타당하게 진행되며 연구 대상 의약품의 임상적 특징(진단, 치료 또는 예방)이 적절하게 문서화되도록 하기 위한 임상시험 기준

GLP(비임상시험관리기준, Good Laboratory Practice): 계획, 수행, 모니터, 기록, 보관, 보고된 비임상적 보건과 환경적 안전성 연구 상태와 조직적 과정과 연관된 품질 시스템으로 GLP의 원칙은 시험의 품질, 신뢰성, 완전성, 확인 가능한 결론의 보고, 데이터의 추적성을 보증하는 비임상시험 기준

GMP(제조 및 품질관리기준, Good Manufacturing Practice): 목적 용도에 적절하고 판매 허가 시에 요구되는 품질 표준에 맞추어 제품을 일관되게 생산 및 관리하도록 하기 위한 의약품 품질 보증의 한 분야

면역원성(Immunogenicity): 항체 매개 및/또는 세포 매개 면역 및/또는 면역학적 기억을 유도할 수 있는 백신의 능력

백신의 비임상 평가(Nonclinical evaluation of vaccines): 백신의 임상 개발 이전 및 도중에 수행하는 모든 체내 및 체외 시험을 말하며 임상시험 시작 전 뿐만 아니라 임상개발 전 단계에 걸쳐서 잠재적인 백신의 독성을 평가하는 것이다.

플라스미드(Plasmid): 세균 세포 안에서 복제가 가능한 이중 나선 환형 DNA 분자

역가(Potency): 생물학적 특징과 연계된 제품의 특성 요소에 근거하며, 적절한 정량적 생물학적 분석 방법에 의해 측정된 생물학적 활성 지표

기초접종(Primary vaccination): 임상적인 보호 효과를 유도하기 위하여 처음으로 백신을 접종하거나 6개월 이하의 간격으로 미리 정한 기간 동안 일련의 백신 접종을 수행하는 것

제품 특성 분석(Product characterization): 특정 제품에 대해 실시하는 모든 물리적, 화학적, 생물학적 시험을 말하며, IPC(in-process control)시험, 외래성 인자 시험, 공정 부가물 시험, 공정 중간 제품 시험, 출하승인 시험을 포함하지만 이에 국한되지는 않는다.

프로토콜 또는 시험계획서(Protocol or study plan): 비임상시험 배경과 근거, 목표를 명시하고 비임상시험 설계, 방법, 그리고 구성(통계적 고려사항 포함)과 비임상시험 수행 및 관리조건을 기술한 문서

적정 동물 모델(Relevant animal model): 백신 접종 이후 사람에서 나타날 것으로 기대되는 반응과 유사한 면역 반응을 보이는 동물. 면역반응에 있어서 종 특이적 차이가 있을 수 있으나 해당 병원 미생물 또는 독소에 대하여 민감성을 보이는 종을 말한다.

투여 경로(Route of administration): 후보 백신 제품을 숙주에 적용하는 방법으로 정맥, 근육, 피하, 경피, 피내, 경구, 비강, 결절내, 질내, 직장내 경로 등이 포함될 수 있다.

혈청 전환(Seroconversion): 백신의 면역원성에 관한 정보를 제공하며, 혈청 음성에서 혈청 양성으로 전환되는 것과 관계가 있다고 간주되는, 또는 미리 정해 놓은 항체가 존재한다면, 혈청 전환은 지정된 저농도에서 유의미하게 높은 지정농도로의 전환을 의미한다(예, 항체 기하 평균 농도의 4배 증가).

밸리데이션(Validation): 어떤 절차, 프로세스, 설비(사용되는 컴퓨터 소프트웨어 또는 하드웨어 포함), 물품, 활동, 또는 시스템이 실제로 기대하는 결과를 보여준다는 것을 GMP 원칙에 따라 증명하는 행위

3 후보 백신의 특성 분석

3.1. 백신 생산

시작 원료의 생물학적 특성, 제조공정, 그리고 제품 배치의 특성 분석 시험법은 백신 비임상시험 설계 및 해석에 있어서 매우 중요한 요소이다. 많은 백신이 원핵 또는 진핵 미생물을 이용하여 생산되며, 이들 생물체의 미묘한 변화도 백신 제품에 상당한 영향을 줄 수 있다. 그러므로 백신 생산을 위해서는 시드 로트 시스템의 확립이 필수적이다. 또한 이들 품질, 안전성, 역가는 제조 조건의 변화에 민감하다. 백신의 품질과 안전성은 최종 제품에 대한 시험만으로 보증될 수 없으며, GMP원칙에 따른 제조 공정의 엄격한 관리가 중요하다. 여기에는 시작 원료(raw materials 및 seeds)의 순도와 품질 증명, IPC(in process control)시험, 공정 부가물 및 공정 중간물질 시험, 로트 출하 승인시험의 개발 및 확립이 포함된다. 또한 물리적/화학적 특성과 제품의 유효성 및 면역원성 사이의 관계가 완벽하게 규명되지 않은 경우가 있으므로, 생물학적 특성 분석을 실시하여 물리화학적 제품 특성 분석을 보완해야 한다. 원료 성분 및 안전성과 역가와 관련하여, 백신의 특성 분석을 위한 적절한 시험법 개발은 새로운 세균, 바이러스 또는 기생충 백신의 임상적 사용을 위한 전제 조건이다.

생산의 일관성이 매우 중요하며, 임상시험에서 안전하며 적절한 면역성과 방어 능력이 있는 것으로 증명된 백신 로트와 다르지 않음을 증명하는 것이 백신 평가, 허가, 배치 출하 승인의 핵심적인 요소이다. 이러한 이유로 백신 개발업체는 임상 로트의 특성 분석을 위해 노력을 기울이고, 가능하면 임상로트의 일부를 보관하여 추후 참고할 수 있도록 해야 한다.

역가 시험을 위한 적정 동물 모델이 존재하지 않거나 임상적 방어를 보여 주는 직접적인 혈청학적 또는 면역학적 상관물이 없다면, 각 생산 배치가 임상 시험에서

방어력을 갖는 것으로 증명된 배치와 동일한 방어력을 갖는다고 증명하기 어렵다. 이런 경우에는 제품 특성을 분석하는 최신의 물리적, 화학적, 면역학적 방법을 활용해 정밀하게 생산의 일관성을 보증하는 것이 중요하다.

비임상시험에 사용되는 백신 로트는 임상시험용 조제물을 적절하게 대표해야 하며, 이상적으로는 임상시험용으로 예정된 그 로트로 비임상시험을 실시해야 한다. 이렇게 할 수 없는 경우, 물리화학적, 안정성, 제조 방법, 제형 등과 관련하여 이들 로트가 동등함을 보여야 한다. 임상시험용 백신은 최소한 임상시험용 제조에 해당하는 GMP조건에서 제조되어야 하며 완전한 GMP조건은 후기 임상 개발 단계에서 요구된다.

백신 개발 과정 중에 발생하는 모든 제조 공정 변경 사항을 신중하게 검토하여, 백신의 품질, 안전성, 유효성에 미칠 영향과 추가적인 비임상 및 임상 조사 필요성을 평가해야 한다.

제품 허가 이후에 생산 방법이 변경되거나 스케일 업(Scale up)을 진행하면, 추가적인 제품 특성 분석을 실시하여 그 제품의 안전성 및 유효성을 증명하는데 사용되었던 오리지널 로트와의 동등성을 증명할 필요가 있다. 동등성 시험의 정도는 변경의 특성에 따라 다르며 이 모든 사항을 문서화해야 한다.

기존에 허가 받은 전통적인 백신의 특성 분석 및 관리를 위한 절차는 동일 감염에 대한 방어 기능을 제공하기 위해 최신의 기술로 개발된 제품에는 적용되지 않을 가능성이 높다. 예를 들어 정제 백일해 백신(acellular pertussis)의 생산과 관리를 위한 가이드라인이 개발되었는데, 이는 전세포 백일해 백신(whole cell pertussis)에 적용되는 것과 다르다. 마찬가지로 전통적인 불활화 콜레라 백신 주사제의 특성 분석 및 관리에 적용되는 시험은 경구 투여되는 새로운 불활화 전세포 콜레라 백신에 반드시 적용되지 않으며, 경구 백신의 적절한 역가 시험을 개발할 필요가 있다.

3.2. 역가

역가 시험은 백신의 생물학적 활성을 측정하는 것으로 사람에서의 방어 기전을 반드시 반영하고 있지는 않다. 역가 측정은 종종 제조 공정의 일관성을 확인하는데 사용된다. 백신의 역가 시험에 대한 초기 개념은 항원 성분이 규명되지 않은 경우에 알려진 생물활성을 표준품으로 하여 생물학적 활성을 정량적으로 평가하는 것이다.

백신으로 면역된 동물에서의 공격(challenge) 시험은 전형적인 역가 분석 방법으로 개발되어 왔다(예, 디프테리아 및 파상풍 톡소이드). 전세포(whole cell) 백일해 백신의 역가 분석은 면역 또는 비면역 동물의 뇌내 공격으로 진행되었으며, 이 경우는 사람을 대상으로 한 임상에서의 방어 효과와 상관관계가 확립되어 있다. 적절한 동물 공격 모델이 없다면, 면역 반응 측정 일반적으로 혈청검사(예, 인플루엔자 및 B형 간염 백신)를 통해 역가를 측정한다.

최근에는 재조합 DNA방법과 최신의 물리화학적 기법이 개발되면서 고전적인 생물학적제제에 비하여 특성 분석이 용이한 정제된 제품 제조가 가능하게 되었다. 그러나 이런 경우 생물학적 활성을 측정하기 어려움이 있어 항원 함량, 항원 크기, 단백 함량 또는 기타 물리화학적 변수와 같은 특성을 일관성 지표로 활용할 수 있지만, 이것이 반드시 백신의 역가를 보여주는 것은 아니다.

약독화 생백신의 경우에는 역가 측정방식이 일반적으로 다르다. 생바이러스 백신의 역가는 일반적으로 세포배양 또는 유정란에서의 최소 감염 용량을 적정하는 방식으로 측정하는데 이는 역가의 대체 지표로 간주되어 왔으나 역가 그 자체를 측정하는 방법은 아니다. 약독화 생세균 백신, bacille Calmette-Guerin(BCG), 장티푸스 백신(live Ty21A oral)의 역가 측정도 비슷한 방식으로 측정되어 왔으며 이 경우에는 살아있는 개체의 수가 역가 지표가 된다.

이종 백신 항원을 인코딩하는 삽입 유전자를 발현하는 백신(바이러스 또는 세균 벡터에 기초한 백신)의 경우에는 colony forming units(CFU) 또는 감염 역가(infectious titre)를 측정함으로써 전체 구성물의 "생물학적 활성“을 결정하는 것은 충분하지 않다. 이런 경우에는 삽입 유전자 발현의 정량 분석 또는 벡터식 백신의 유효 용량(ED_{50}) 평가 같은 다른 방법도 고려되어야 한다.

3.3. 안정성

백신은 환경적 요소에 의해 불활화 되기 쉽기 때문에, 백신의 안정성 평가는 복잡하다. 생물학적 활성에 근거한 역가 시험이 가능하지 않은 경우를 제외하고 역가는 안정성 시험의 일부분으로 평가해야 한다. 물리·화학적 특성도 안정성 평가에 포함시켜야 한다. 임상시험에 사용되는 제품의 경우, 비임상 및 임상시험 기간 동안 그 제품의 안정성을 뒷받침하는 충분한 데이터를 확보해야 한다. 어떤 경우에는 가속 안정성 데이터로 정상 보관 온도에서의 예비 데이터를 뒷받침할 수 있다. 유효기간 설정을 위해서는 예정 보관 조건하에서 장기 실시간 안정성 시험을 근거로 해야 한다. 마지막으로 관련 변수 측정을 위한 절차가 신뢰성 있게 표준화되도록 하기 위하여 표준품 및 참조물질의 안정성 또한 검토할 필요가 있다.

3.4. 배치 출하 승인 및 독립적인 실험실 평가

생물학적제제의 생산 방법의 변동성 때문에, 백신 품질을 보증하고 제조업체 사이의 일관성과 장기간에 걸친 일관성을 평가하기 위한 절차를 규정한 국가 및 국제 기준이 확립되었다. 허가 받은 백신은 판매전에 국가 규제기관의 독립적인 배치 출하승인대상이 되며 독립적인 평가 시에는 적어도 제조업체의 출하승인 데이터 평가를 수반하고 제조업체에 의해 수행된 시험에 추가하여 독립적인 실험실 시험을 수행한다.

배치 또는 로트 출하 승인 시험은 제품의 순도, 안전성, 역가 증명을 위한 전면적인 제품 특성 분석 과정에서 선정한 시험 항목을 시험하는 것이다. 로트 출하 승인 시험은 많은 로트가 일관되게 제조되고 있음을 보증하는 하나의 지표를 제공한다. 로트 출하 승인 시험 및 규격의 밸리데이션과 확립은 제품 개발 과정에서 계획되어야 하며, 허가 신청에 앞서 최종 마무리가 되어야 한다.

3.5. 표준품 및 참조물질

표준품과 참조물질은 허가 및 품질 관리 과정에서 핵심적인 역할을 하며, 특정 항원 인식시험부터 백신 독성, 면역원성, 역가 분석에 이르는 다양한 용도로 사용될 수 있다. 백신 항원에 대한 면역 반응 평가와 백신 평가에 사용되는 방법의 표준화 또한 중요한데, 그 결과를 여러 임상시험 간에, 여러 국가 간 및 국가 내 여러 실험실간 직접 비교를 할 수 있기 때문이다.

WHO 국제 생물학적제제 표준품 및 참조물질은 세계적으로 1차 표준품이 된다. 각국 규제기관 및 제조업체는 매 로트마다 백신의 품질을 평가하기 위한 2차 상용표준품을 확립하기도 하는데 이는 국제표준품과 대비하여 교정해야한다. 여러 종류의 2차 상용표준품이 존재하는 경우에는 국제표준품에 대한 차이가 생길 가능성이 높기 때문에 대량으로 2차 상용표준품(예, 지역표준품)을 만들어서 2차 표준품의 종류를 줄여 백신 품질 시험의 정확성을 향상시켜야 한다. 유럽이사회 산하 EDQM(European Department for the Quality of Medicines)은 WHO 국제 표준품에 대비하여 교정한 백신의 상용표준품을 적극적으로 확립하고 있다. WHO국제 표준품 및 참조 시약 전체 목록은 WHO 웹사이트(www.who.int/biologicals)에 있으며 국가표준품의 경우 우리 처 홈페이지(www.mfds.go.kr)의 분야별 정보 의약품의 표준품 란에서 목록 및 분양정보를 확인할 수 있다.

4 비임상시험

백신 개발 분야의 발전 상황에 비추어 백신의 비임상 안전성 평가를 바라볼 필요가 있다. 그러므로 비임상 안전성 시험의 필요성, 시험 유형, 시험 설계와 관련한 결정을 내릴 때는, 최선의 과학을 바탕으로 판단해야 한다. 비임상시험의 데이터 해석, 위험/편익 비율(risk/benefit ratio), 동물모델, 용량 등에 관련하여 과학적인 판단을 해야 한다. 예를 들어, 동물시험에서 과민 반응이 발생할 경우에 반드시 임상시험을 수행하지 못하는 것은 아니나 특정 임상 평가 변수에 있어서 세심한 모니터링이 필요하다.

4.1. 독성에 관한 자료

4.1.1. 일반적 고려사항

4.1.1.1. 동물종, 성별, 연령 및 군 크기

비임상시험에 사용되는 동물과 관련된 자료에는 출처, 종, 동물관리절차(예, 사육, 급식, 동물 취급 및 관리)에 관한 정보를 제출하여야 한다. 일반적으로 비근교계 동물의 사용이 권장되며 수의학적 업무절차에 따라 평가 시 건강상태가 시험 수행에 문제가 없음을 확인해야 한다. 또한 시험 수행을 저해할 가능성이 있는 환경에서 사육되지 않도록 주의해야하며 교차 감염 위험성이 있을 경우에는 이를 막기 위해 실험동물을 단일 사육해야한다.

병원체 또는 독소에 감수성이 있는 동물종을 사용하거나 백신 항원에 대하여 면역반응을 보이는 종을 선택하여 사용한다.

동물의 성별은 과학적인 타당한 근거가 없는 한 암/수 모두에서 실시해야 하며, 일반적으로 실험목적에 적절한 연령의 동물종을 사용한다.

군당 크기는 선택한 동물 모델 및 시험 종류에 따라 달라질 수 있으며, 시험결과의 해석에 적절한 수를 선택한다.

4.1.1.2. 투여량, 투여경로, 대조군

백신 노출과 그에 따라 유도된 면역반응(예: 최대 항체반응)을 극대화할 수 있는 용량에서 독성시험을 실시해야한다. 일반적으로는 용량반응평가가 필요하지 않으며, 치사용량을 결정할 필요는 없다. 그러나 동물에서 최고 항체 생산을 유도할 용량을 결정하기 위해 예비 용량반응시험을 수행할 수도 있다. 독성시험 시 임상시험에서 실제 사람에게 투여되는 최고 투여량(highest dose)을 체중 또는 체표면적으로 환산할 필요 없이 그대로 사용할 수 있다. 그러나 동물종 및 투여 부위에 따라 단회 투여할 수 있는 총 부피(total volume)에 제한이 있어 투여량이 제한되는 경우 동일 투여경로로 총 투여량을 여러 부위에 나누어 투여할 수 있다. 또한 mg/kg 기준으로 환산하여 투여할 수 있으나 이 농도는 사람 투여량을 초과하여야 하며 동물에서 면역반응을 유도하는 투여량을 선택하는 것이 좋다. 이때에는 그 용량 사이의 차이를 타당성 있게 설명해야 한다.

투여경로는, 임상적용경로를 최우선적으로 선택한다. 예를 들어 임상시험에서 특정 기구를 사용하여 백신을 투여할 예정이라면 가능하면 독성시험 시에도 동일 투여 기구를 활용해야 한다. 만약 특정 투여경로(예: 비강분무)에서 독성이 관찰되는 경우, 다른 투여경로(예: 정맥주사)에 대한 별도의 독성시험을 실시하여 제품의 투여경로에 따른 독성학적 특성을 파악하는 것이 바람직하다.

독성시험 시 대조군은 설정해야 하며 가능한 경우 항원이 없는 백신 제형(mock up)을 대조군으로 한다.

4.1.2. 단회투여독성시험

1) 실험동물:

가. 최소 한 종에 대하여 단회투여독성시험을 수행할 수 있으나 이 시험에서 독성이 관찰되거나 제품의 특성 분석을 위해 필요하다고 판단될 경우 추가 종에 대해 실시할 수 있다.

2) 실험방법:

가. 투여경로는 임상적용경로를 최우선으로 한다.

나. 용량단계는 인체 적용용량과 관련하여 적절한 안전영역을 제공하는 투여량으로 가능한 한 임상시험에서 사람에게 사용될 최고 투여량을 기준으로 투여해야 한다. 용량반응평가나 치사용량을 결정할 필요는 없으나 독성이 관찰될 경우 용량반응관계에 대한 추가적인 연구가 수행되어야 한다.

다. 주요 장기에서의 조직병리자료는 동물 면역원성 연구 또는 안전성약리시험의 일부로서 수행할 수도 있다.

라. 투여량 등이 타당성이 인정되는 경우에 한하여, 반복투여독성시험으로 대체할 수 있다.

4.1.3. 반복투여독성시험

1) 실험동물:

가. 임상에서 반복투여(multiple dose)하는 백신의 경우 두 종 이상의 동물에서의 반복투여독성시험이 일반적으로 요구되며 임상에서 단회 투여하는 백신의 경우에도 반복투여독성시험이 요구될 수 있다. 다만, 그 타당성이 인정되는 경우 한 종의 동물종으로 수행할 수 있다. 제품의 특성을 감안하여 감수성 있는 동물종을 선택해야 한다.

2) 실험방법:

가. 투여경로 및 용량은 원칙적으로 임상적용을 고려하여 설정한다.

나. 투여횟수는 임상에서 적용되는 횟수와 동일하거나 그보다 많아야 한다.

다. 시험설계는 동물과 사람 간 반응시간의 잠재적 차이(예: 사람에서 월 간격 반복투여용량에 따른 반응이 동물에서의 월 간격 반복투여용량에 따른 반응과 같지 않을 수 있다.)를 고려하여 투여간격을 축소할 수 있다. 이러한 투여간격은 동물 시험에서 관찰된 일차 및 이차 항체 반응에 근거하여 설정한다.

라. 치료수준을 평가하기 위하여 가능한 경우 항원이 없는 백신 제형(mock up)을 대조군으로 설정한다.

마. 독성증상의 회복 및 지연성 독성을 확인하기 위한 회복군을 두어야 한다.

바. 반복투여독성시험 설계 시 안전성약리지표를 포함시킬 수 있다.

3) 반복투여독성시험의 시험결과에는 다음 각 호의 사항이 포함되어야 한다.

가. 임상관찰, 체중, 사료 소비량

① 모든 실험동물에 대하여 일반증상을 매일 관찰하고, 정기적으로(주 간격) 체중 및 사료 섭취량을 측정한다.

② 투여 첫 주에 필요시 체중과 사료 소비량을 더 측정할 수 있다.

③ 시험 종료 시 절식상태에서 최종 체중을 측정한다.

나. 임상병리검사

① 채혈은 1차 투여 및 마지막 투여 이후 약 1-3일 사이에, 그리고 회복 기간 말기에 실시한다.

② 혈액학 및 혈청화학 분석시에는 최소한 상대 및 절대 백혈구 백분율(림프구, 단핵구, 과립구, 비정상 세포), 혈청(혈장)단백, 알부민, 알부민/글로불린 비율, 효소, 전해질 검사를 포함해야한다.

③ 필요시 응고 검사, 뇨 검사, 백신 특이 항체, 혈청 면역글로블린 종류 등에 대한 평가를 고려할 수 있다.

다. 병리조직학적 검사

① 육안적 병소와 장기무게를 포함하여 전체 육안 부검 및 조직 채취를 보존해야 한다.

② 면역기관, 즉 림프절(투여 부위 및 멀리 떨어진 곳), 흉선, 비장, 골수, PP(Peyer's patch) 또는 기관지 관련 림프양 조직, 그리고 특정 투여경로에 의해 주로 영향을 받았을 가능성이 있는 장기 등을 중심으로 검사한다.

③ 주요 장기인 뇌, 신장, 간, 생식 기관과 백신 투여 부위는 반드시 검사한다.

④ 반복투여독성시험 시에 채취해야 할 전체 조직 리스트는 별첨 1을 참조한다. 다만 조사 대상 조직은 해당 백신의 특성과 성분을 대상으로 이전에 실시한 비임상 및 임상시험을 통해 확보한 자료에 따라 달라질 수 있다.

라. 투여 기간뿐만 아니라 투여 이후 단계(예, 마지막 투여 후 2주 이상)에서도 자료를 수집하여, 잠재 이상 반응의 지속여부, 악화 또는 가역성 등을 파악한다.

4) 제품의 특성에 따른 기타 면역학적 고려 사항

가. 숙주 면역글로블린과 복합체 형성(예: 항체 의존성 질병 증가) 또는 면역 기능에 영향을 주는 면역조절인자의 분비(예: 사이토카인 등)등과 같이 면역학적 측면에서의 독성을 확인해야 한다.

나. 반복 투여되는 백신의 경우 항원 자체, 새로운 방법(항원-운반체의 복합체, 소량 존재하는 불순물 또는 새로운 무독화 방법 등)에 의해 변형된 항원(독소) 또는 첨가제(면역증강제/부형제/보존제)에 의한 과민반응이 증가할 수 있으므로 이에 대한 고려가 필요하다.

다. 드물게, 백신 접종 시 사람조직과 교차 반응하는 항체가 생성되어 이상반응이 나타날 수 있으므로 이러한 사항을 확인할 수 있는 동물종의 이용이 가능한지를 확인하여 독성시험을 실시할 필요가 있다.

4.1.4. 생식・발생독성시험

소아가 그 적용 대상인 백신은 생식·발생독성시험이 일반적으로 반드시 필요하지는 않다. 그러나 가임기 여성이나 임산부를 대상에 포함하는 백신의 경우에는 생식·발생독성시험을 고려해야한다. 예방백신의 경우에는 배아/태아/신생아의 발달에 미치는 영향이 일차적 평가대상이므로 주로 태아기 및 생후 발생시험에 국한하여 생식독성을 수행할 수 있으며 수태능 및 이유기 이후 평가는 각각의 경우별로 고려한다.

1) 실험동물

혈청 항체 측정을 통하여 백신에 대한 면역반응을 보이는 종을 선택한다.

2) 시험 방법

가. 투여경로는 임상적용경로를 최우선으로 한다.

나. 투여량은 원칙적으로 임상에서의 최대 1회 투여량(highest dose)을 투여한다. 다만, 총 투여량의 부피 제한으로 임상에서 적용되는 전체 투여량을 적용할 수 없거나, 국소내성이 관찰되어 모체 스트레스의 원인이 될 수 있을 경우에는 mg/kg단위로 환산하여 투여량을 선택한다. 다만, 임상용량을 초과하고 동물에서 면역반응을 유도할 수 있는 용량을 선택해야 한다.

다. 투여주기는 매일 투여보다는 백신의 접종일정을 고려하여 주기적으로 한다.

라. 반응 시작 및 기간에 따라 투여 횟수를 결정한다.

마. 기관 형성동안의 부정적 영향을 평가하기 위하여, 착상부터 경구개 폐쇄, 임신 말기에 이르기까지 백신에 노출시킨다. 실험동물의 경우 임신기간이 상대적으로 짧기 때문에, 백신 유도 면역 반응을 평가하기 위해서는 짝짓기 전의 투여가 필요할 수 있다. 또한 임신기간 중에 높은 항체를 유지하고 발생 단계의 배아가 백신에 직접 노출되도록 임신기간 중에 추가접종이 필요하다.

바. 실험군과 동일한 시기 및 주기로 대조군에게 위약을 투약한다. 특히 새로운 면역증강제인 경우에는, 면역증강제만을 대상으로 하는 대조군이 포함되도록 한다.

사. 평가 변수로는 활력, 재흡수, 유산, 태아 체중, 형태 등이 포함되지만 이에 국한되지 않으며, 의약품의 독성시험기준 및 이와 관련된 가이드라인[6)7)]을 참조한다.

아. 출생 이후 이유기까지의 추적관리가 필요할 경우, 성장 상태, 체중 증가, 육아 활동, 활력 및 생존력 등을 평가하며 이를 위해 시험군을 두 군으로 나누어 임신동물 중 반은 제왕절개 대상으로 반은 새끼를 낳도록 설계한다.

자. 면역학적 관찰 항목

시험물질 투여 이전과 제왕절개(해당되는 경우) 당일, 그리고 이유기 말기에 어미 동물에서 혈청 검체를 채취하여 항체 형성 여부를 평가한다. 이외에도 제왕절개군에서는 제대혈 및 태아 검체를 확보하여 모체 항체의 태반 통과를 평가하고, 이유 말기의 새끼에서 항체량을 평가하여 모체 항체의 노출 여부를 확인한다.

4.1.5. 유전독성시험

백신에서는 일반적으로 유전독성시험이 필요하지 않다. 그러나 새로운 면역증강제 및 첨가제 등이 함유된 경우 특정 백신 성분에 대하여 유전독성시험이 필요할 수 있다. 이 경우 임상시험에 앞서 돌연변이 및 염색체 이상 평가를 위한 생체 외(*in vitro*)시험을 실시하고 생체 내(*in vivo*)시험은 임상시험기간 중 수행한다.

4.1.6. 발암성시험

백신에서는 일반적으로 발암성시험이 필요하지 않다. 그러나 새로운 면역증강제 및 첨가제 등 특정 백신성분이 함유된 경우 발암성시험이 필요할 수 있다.

4.1.7. 기타 독성(국소내성)

백신은 대부분 근육, 경피, 피내로 투여되므로, 국소내성에 대한 시험이 요구된다. 이때 임상에 적용할 제형과 동일 제형을 사용해야 한다. 경우에 따라서는 별도의 국소내성시험 없이 단회 또는 반복투여독성시험에서 잠재적인 국소내성을 평가할 수 있다.

4.2. 약리작용에 관한 자료

4.2.1. 효력시험

효력시험은 관련 동물종에서 '항원-방어 반응' 즉 감수성이 있는 동물에서 면역 후 공격시험(challenge test)을 통한 방어여부를 확인하는 것을 원칙으로 한다. 일반적으로 항체의 정량만으로는 방어에 대한 적절한 지표가 되지 못한다. 그러나 면역 후 공격시험을 통하여 방어여부를 확인하기에 적절한 실험동물이 없을 경우 면역원성시험을 실시할 수도 있으며 이에 대한 타당한 근거를 제시해야한다. 동물시험을 통해 확보된 자료를 해석할 때 특히 중요한 것은, 동물 모델이 사람 질병 및 사람 면역 반응과 얼마나 유사한지 평가하는 것이다. 동물 모델이 사람에서의 면역원성 및 유효성을 예측하는데 도움이 되지 않을 수 있다는 점을 인식해야 한다.

1) 면역 후 공격시험(challenge test)

백신 접종 후 해당 독소 또는 독성 균주를 직접 투여하고 방어효과를 보는 면역 후 공격시험을 통해 방어효과를 평가한다. 과거에 사람에서 연구된 적이 없는 새로운 항원을 함유한 혼합백신이나 새로운 백신의 경우 적절한 동물에서 방어능 시험을 실시하는 것이 바람직하다. 시험용과 표준품의 효과를 비교하는 것이 이상적인 방법이며, 결과를 입증하기 위해서는 통계적 과학적으로 타당한 방법으로 시험을 실시하여 결과를 기술해야 한다.

2) 면역원성시험

동물에서의 면역시험은 임상 개발 계획을 뒷받침할 수 있는 "개념증명(proof of concept)"정보를 제공해 줄 수 있기 때문에 수행되어야 한다. 적절한 동물을 대상으로 실시하여 확보한 면역원성 데이터는 제품의 면역학적 특성을 확립하는데 유용하며, 임상시험 시에 평가할 투여 용량, 투여 일정, 투여 경로를 선택하는데 도움이 될 수 있다. 면역원성시험 시에는 백신 접종 동물에서 유도된 관련 면역

반응(예, 체액성 및/또는 세포매개 면역반응)을 평가한다. 유도된 면역반응에 따라 백신 접종 동물에서 혈청 전환율, 항체 기하 평균 역가, 세포 매개 면역반응을 평가해야 한다. 가능하면 방어 효과를 측정하는 기능적 면역반응[예, 중화항체, 옵소닌작용(opsono-phagocytic activity), 세균사멸, 살균항체(bactericidal antibody)등]을 포함하여, 관련 면역 반응을 평가하도록 설계한다.

면역반응의 특징은 면역반응을 일으키는 세포타입과 이러한 과정을 촉진시키는 항원에 의존적이다. 만약 추가접종이 권장된다면, 추가접종에 따른 면역반응에 대해서도 연구되어야 한다. 대부분의 백신 항원은 단백질이며 helper T-림프구의 도움으로 B-림프구를 자극하여 항체를 생산하며 IgG 항체에 의한 반응이 가장 우세하다. 이와는 달리 다당류 항원은 T-림프구의 도움 없이 B-림프구를 자극하여 IgG 항체와 IgM 항체를 생성하나 부스트(boost)되지는 않는다. 적절한 동물모델에서 기본접종과 추가접종 사이의 간격을 고려하여 면역반응증가(boost ability)에 대한 연구를 실시해야 한다.

이러한 시험에서 확보된 데이터를 해석할 때 특히 중요한 것은, 동물 모델이 사람 질병 및 면역반응과 얼마나 유사한지 평가하는 것이다. 동물 실험으로 사람에서의 면역원성 및 유효성을 예측하는 것이 도움이 되지 않을 수 있다는 점을 인식해야 한다.

4.2.2. 안전성약리시험

안전성약리시험의 목적은, 개발되고 있는 백신 제품의 중요 생체 기능에 미치는 영향을 조사하는데 있다. 적절한 동물모델에서 백신 접종에 의한 바람직하지 않은 약리작용이 나타날 가능성(예, 중추신경계, 호흡기계, 심혈관계 등)에 대한 연구가 필요할 수 있으며 안전성약리지표를 평가변수에 포함한 독성시험을 설계하는 것도 고려할 수 있다.

임상에서 투여 예정 일정을 감안하되 반복투여시험 결과가 단회투여시험보다 유의하게 나타날 수 있음을 고려해야 한다.

4.2.3. 흡수・분포・대사・배설

일반적으로 백신에서는 약물동태연구(예: 항원의 혈청농도 결정)가 필요하지 않으나 제품의 특성을 고려하여 결정한다. 주사부위의 백신 성분이 잔류되었는지 평가할 수 있는 국소 침착 연구(local deposition studies) 및 주사부위의 분포 특성을 설명해줄 수 있는 림프절(주사부위에 위치한)의 조직병리연구, 생바이러스 백신의 유리(shedding) 등에 대한 연구가 필요할 수도 있다. 또한 새로운 제형, 신규 면역증강제 또는 다른 투여경로가 적용되는 경우(예: 경구 또는 비강 등) 분포시험을 고려해야 한다.

5 특별 고려 사항

5.1. 첨가제(면역증강제(adjuvant)/부형제(excipient)/보존제(preservative))

면역원성을 나타내는 주성분 원료물질에 보존제(의약품의 변질 및 변화를 방지하기위한 물질로 살균제 산화방지제를 포함하며 세균, 곰팡이, 효모 등 미생물의 증식을 억제하여 의약품을 보존하는 비경구제제에 사용되는 물질), 부형제(안정화제를 포함한 비활성 물질), 면역증강제(면역원성 반응을 증가시키기 위한 물질)등이 첨가된다. 새로운 면역증강제나 첨가제인 경우 이들의 안전성에 대한 연구를 실시해야 하며 다른 생산과정은 동일하나 주성분은 제거된 제제를 사용하여 평가한다. 면역증강제와 백신 중에 존재하는 모든 항원 성분사이의 면역 간섭 유무에 대한 평가가 있어야 하며 해당되는 경우 백신 중에 존재하는 모든 항원 성분의 흡착이 로트별로 일관성이 유지됨을 증명해야 한다. 면역증강제는 그 자체로 허가를 받지 않으며 특성 백신의 한 성분으로만 허가된다.

5.1.1. 면역증강제 (adjuvant)[1)8)]

1) 개념

면역증강제가 활성을 나타내는 주요 방식은 백신 중 존재하는 항원의 물리적 제시, 항원/면역보조제 수용, 특정 세포(수지상세포, 랑게르한스세포, 대식세포 등)를 표적으로 삼은 면역반응의 유도, 계속적인 면역 반응의 양적/질적 측면 모두를 조절하는 활동을 포함하여, 면역 증진/조절, 분해 및 제거로부터 항원의 보호 등이 있다.

일반적으로 흡착제 및 미립자 면역보조제 작용방식은 면역계를 제시하는 것과 관계가 있으며, 반면 미생물, 합성, 내인성 면역보조제는 면역계를 직접 자극 또는 조절함으로써 작용한다. 면역계에 항원을 제시하는 역할 이외에도, 에멀젼의 작용 방식은 항원 방출을 느리게 하고 급속한 제거로부터 보호한다. 미네랄염 같은 저장형 면역보조제를 사용할 때는 주사부위 염증 형성이 수반되는데, 이에 따라 염증 유발 사이토카인이 합성되고 면역 반응의 초기 단계로 중요한 내재적 면역이 자극된다.

관련 동물 모델을 대상으로 한 실험을 통해 항원과 결합된 면역증강제에 의해 체액성 및 세포매개성 면역 반응의 증가 등 면역반응이 어느 정도 활성화되는지를 보여주어야 한다.

2) 면역증강제의 독성시험에 관한 자료

새로운 면역증강제에 대한 독성자료가 없다면, 면역증강제만을 대상으로 한 독성시험이 수행되어야 한다. 면역증강제 자체의 안전성 평가 이외에도, 항원/면역증강제 결합상태가 개별 성분과 비교하여 동물에서 부정적 영향을 증가시키는 지를 평가하는 것도 중요하다. 면역증강제의 독성시험 방법은 백신 사용의 패턴을 따라야 한다. 면역증강제가 첨가된 백신은 몇 주 또는 최대 몇 년 간격으로 반복하여 투여할 수 있으나, 일반적으로 면역증강제는 백신의 성분으로 소량 첨가되며 평생에 몇 회만 투여 된다.

---

1) 부록 참고

면역증강제는 서로 다른 항원과 함께 사용될 수 있으며, 종 특이성이 크지 않으므로(예: 오일 이멀젼), 특별한 사유가 없는 한, 최소한 설치류와 비설치류 두 종을 대상으로 독성시험을 실시해야 한다.

그러나 생물유래 면역증강제는 종 특이성(예: 일부의 사이토카인)을 유발할 수 있으므로 하나 이상의 동물종을 상대로 실험하는 것의 의미가 없을 수 있다.
이상적으로는 면역증강제와 결합될 항원에 면역원성을 보이는 종을 선택한다.

가. 전신독성(반복투여독성)

다양한 종류의 면역증강제가 전신에 분포하여 여러 장기에서 독성을 유발할 수 있다. 용량 관계를 확립하고 예정된 임상 사용을 반영한 주기로 반복투여시험을 설계해야 한다. 시험 종료 후 부검 및 조직검사를 함께 실시해야 하며 조직병리 검사 대상은 다음과 같다.

① 핵심장기: 심장, 폐, 뇌, 간, 신장, 생식 기관 등

② 피부(투여 부위)

③ 일차 및 이차 면역기관: 비장, 흉선, 골수, 림프절(투여부위 및 투여부위에서 멀리 떨어진 곳)

이전에 비임상 및 임상 경험이 없는 새로운 면역증강제인 경우에는 완전한 조직검사가 권장된다. 주로 면역증강제의 면역 자극 효과 때문에 독성이 발생하지만, 다른 장기에 대한 직접적인 독성도 배제할 수 없다. 투여 용량 범위를 반드시 최대 허용 용량으로 설정할 필요는 없으며, 임상적 용도를 반영해 설정할 수 있다. 평가변수에 관련해서는 “의약품등의 독성시험기준”등 관련 기준 및 가이드라인을 참조한다.

나. 생식독성

백신의 접종 대상에 가임기 여성이 포함되거나 수동면역을 통해 유아의 감염성 질병을 예방하기 위한 백신의 경우, 사용될 면역증강제에 대한 생식독성시험을 수행해야 한다. 또한 투여 예정 일정을 감안하여 시험을 설계하며, 추가 접종에 대한 면역학적 반응이 최초 반응과 다를 수 있으므로, 교배를 하기 전에 일차 접종을 하고, 임신 중에 추가 접종 하는 것을 고려해야 한다.

다. 유전독성

면역증강제를 생물학적 또는 합성 방식으로 만들 수 있으며, 특성에 따라 해당되는 규정 및 가이드라인을 참조한다. 이를 따르지 않을 경우에는 과학적으로 그 타당성을 제시해야 한다.

라. 발암성

면역증강제는 저용량으로 몇 회만 사용하므로, 이 화합물에 의한 직접적인 종양의 유도 가능성은 경미하다고 할 수 있다. 또한 면역증강제의 작용은 면역계를 자극하는 것이며, 면역억제 효과를 위한 것이 아니므로, 자연적 림프성 종양 형성 위험성이 감소되어 발암성 시험은 고려되지 않을 수 있다.

마. 국소내성

다음의 예와 같이, 투여경로에 따라 면역증강제에 의해 유도된 국소적 자극을 조사해야 한다.

① 경구 및 비강 투여인 경우, 국소 및 투여 인접부위의 내성을 평가할 필요가 있다.

② 주사제 백신인 경우에는, 미립자(particles) 및 일부 미네랄오일 사용 시에, 나중에 육아종 반응이 유도될 가능성에 특별한 주의가 필요하다.

바. 항원성시험

면역증강제 자체가 면역원성이 있을 수 있으므로, 적정 모델을 상대로 과민반응 유도 확인 실험 실시를 고려해야한다(예: 아나필락시스 쇼크 반응 시험 및 수동 피부 아나필락시스 반응 시험). 항원에 대한 IgE가 면역증강제에 의해 유도되어 증가하면, 과민 반응과 과민증의 유도 가능성이 있는 것으로 생각해야 한다.

사. 발열성

면역증강제의 발열성 여부를 실험해야 한다.

아. 면역증강제들의 혼합

항원의 제시를 개선하는 면역증강제와 함께, 면역조정 특징을 가진 성분을 혼합하는 경우 면역증강제의 활성을 증진시킬 수 있다. 이런 경우 개별 성분의 데이터에 추가하여 조합 상태의 안전성을 뒷받침하기 위하여, 적절한 독성시험자료를 제공해야 한다.

3) 항원과 결합된 면역증강제의 독성

위 4절에서 제시한 백신의 비임상시험 가이드라인에 의거하여 항원과 면역보조제와의 결합물에 대한 비임상시험을 실시해야 하며. 특히 다음 사항에 주의를 기울여야 한다.

가. 면역반응의 특성 분석

① 서로 다른 용량의 면역증강제와 서로 다른 용량의 항원과의 결합이 그 반응에 미치는 영향 평가

② 백신 항원 자체 또는 잘 확립된 면역증강제와 결합된 항원과 비교시험을 통한 새로운 면역증강제의 영향 평가

5.1.2. 부형제와 보존제

새로운 부형제와 보존제는 '의약품의 독성시험기준'에 따라 독성시험자료를 제출한다.

5.2. 성상 및 제형의 변경

백신 제형(예: 액제, 캡슐 또는 파우더) 및 전달 장치도 백신의 흡수, 그의 유효성과 안전성에 영향을 줄 수 있는 요소이다. 이상적으로는 비임상시험에서 사용된 전달 기구와 백신 제형은 임상에서 적용되는 것과 동일해야 한다. 다만 임상에서 사용할 전달 기구를 적용할 수 있는 동물 모델이 없을 경우, 적절한 동물 모델을 개발하기 위한 예비 실험을 수행하여 제품의 비임상 안전성을 평가하기 위해 사용하기 전에 동물 모델에서의 약물 전달을 위한 조건을 규정하고 최적화할 필요가 있다.

5.3. 대체 투여경로

근육주사가 아닌 다른 투여경로(예: 비강, 경구, 피하, 직장, 질내)로 백신을 투여하는 경우 역가 등 관련 면역원성, 내성, 독성, 장기 안전성이 근육주사와 같은 주사투여와 다를 수 있다. 그러므로 다른 투여경로를 채택할 때는, 이 경로에 의한 특이적인 안전성을 평가하기에 적합한 동물 모델을 사용하여 백신 및/또는

면역증강제만을 활용하여 비임상 안전성 시험을 수행할 필요가 있을 수 있다. 대체 투여경로로 투여되는 백신에 대한 특정 고려사항은 다음과 같다.

5.3.1. 동물 모델

대체 경로로 투여되는 백신의 경우에는 특정 동물모델에서 백신 투여 부위의 해부학, 생리학 및 시험약물의 투여 접근성을 고려한다. 예를 들어 비강 투여 제품인 경우에는 스프레이 투여가 가능한 동물종을 선택하는 것이 이상적이다. 일반적으로 토끼와 개는 스프레이 장치를 사용하기에 유용한 모델이지만, 이들의 후구는 상당히 감추어져 있어 시험 약물이 이들 기관에 도달하게 하려면 특별한 기법이 필요할 수 있다. 마우스와 랫드는 비강 투여 실험에 유용한 모델이지만, 시험 약물의 투여에 여러 가지 제한적 요소가 존재할 수 있다. 비강으로 투여하는 홍역 백신의 경우처럼 영장류에서 시험약물의 전달이 용이하고 감수성을 보이는 경우, 영장류를 동물모델로 사용하는 것도 고려할 수 있다.

특정 투여경로와 관련된 제한 정도 및 백신에 대한 동물의 감수성 차이가 종 특이적으로 존재한다면, 하나 이상의 동물 모델을 대상으로 한 독성시험을 통해 제품의 안전성을 평가할 필요가 있다.

5.3.2. 투여량

주사 투여경로의 시험에서 도출한 최적 용량이 대체 투여경로의 용량과 다를 수 있으므로, 특정 투여경로에 대한 용량 파악 실험을 수행할 필요가 있다. 또한 투여 총량이 안전성 시험 결과에 영향을 줄 수 있으므로, 이 부분도 고려를 해야 한다.

5.3.3. 평가변수

이 문서 4절에 기술된 내용을 독성시험의 평가변수로 포함할 수 있으며, 투여경로, 특정 경로와 관련된 특이 사항, 그리고 표적 장기에 따른 추가적인 평가 지표를 포함시킬 수도 있다. 예를 들어 백신 성분을 비강으로 투여한 이후에 백신 성분이 뇌로 유입할 가능성이 존재한다면, 면역조직학 및 “조직 내(in-situ)” 방법 및/또는 신경학적 분석과 검사가 필요할 수 있다. 흡입 투여 백신인 경우에는 폐의 조직 병리 자료 및 폐 기능 검사를 포함시킬 수 있다.

5.3.4. 면역원성 평가

점막 면역원으로 작용할 것이 예상되는 백신인 경우 점막 면역 반응을 평가하는 적절한 분석 방법의 개발이 매우 중요하다. 혈청학적 분석만으로는 점막 백신의 관련 면역반응을 파악하지 못할 수 있기 때문이다. 그러므로 체액성 면역반응의 평가 이외에도 세포학적 면역반응을 평가(T 세포 반응, 항체 분비 세포, 사이토카인 생산 등)하는 것이 필요할 수도 있다. 또한 백신 항원 투여 부위에서 멀리 떨어진 곳에서 발생하는 국소 및 전신 반응의 평가를 위한 분석 방법을 개발할 필요가 있다.

6 백신의 유형에 따른 고려사항

6.1. 혼합백신[9)10)]

혼합백신이란 다른 균주와 다른 혈청형을 가진 유기체에 의해 유발된 단일 질병 또는 다양한 질병에 대한 방어를 목적으로 만들어진 제품이다. 20년 이상 DTaP(불활화 디프테리아, 파상풍, 정제백일해) 또는 MMR(홍역, 이하선염, 풍진)과 같은 백신들을 사용하여 왔으므로 혼합백신의 개념이 새로운 것은 아니다. 또한 폐렴구균백신과 같이 혼합된 다가(multivalent) 백신들도 수년 동안 널리 사용되어 왔다. 이러한 혼합백신들을 통해 얻은 경험을 바탕으로 수많은 새로운 혼합백신을 개발하고 있으며 디프테리아, 파상풍, 그리고 백일해 성분들과 헤모필루스 인플루엔자 b 다당류 단백 접합을 혼합한 백신, 최근에 소개된 디프테리아, 파상풍과 전세포/정제백일해와 불활화소아마비백신(inactivated polio- myelitis vaccine) 및 B형 간염 백신을 혼합한 백신 등이 그 예이다.

새로운 혼합백신인 경우에는, 임상시험 시작에 앞서 면역원성 시험이 가능한 경우 적절한 동물을 사용하여 면역원성 시험을 실시해야 한다. 혼합백신의 구성 성분 사이의 간섭 가능성 및 부조화성을 포함하여, 백신 중의 각 항원에 대한 면역반응 등을 평가해야 하며, 동물을 대상으로 각 항원과 새로운 혼합백신의 면역반응을 비교 조사하여 반응이 강화되는지 감소되는지를 파악하는 것이 바람직하다.

이렇듯 각각의 경우에 대해 적절한 동물을 이용하여 새로운 혼합백신의 안전성을 평가해야 하며, 특히 항원 및/또는 면역증강제의 혼합으로 독성 문제가 발생할 가능성이 있는 경우에는 주의를 기울여 안전성을 평가해야 한다. 혼합백신에 대한 상세한 사항은 2014년 2월에 발간된 「디프테리아·파상풍 포함 혼합백신의 품질 및 안전성·유효성 평가 가이드라인」을 참조한다.

6.1.1. 독성시험에 관한 자료

위 4.1에서 기술한 백신의 독성시험에 관한 자료 및「디프테리아·파상풍 포함 혼합백신의 품질 및 안전성·유효성 평가 가이드라인」을 참조하여 혼합백신에 대한 독성시험을 수행한다.

6.1.2. 약리작용에 관한 자료

혼합백신의 종류에 따라 적절한 동물종을 선택해야 한다. 모든 새로운 혼합백신 성분들은 적절한 동물종에서 항체가를 이상적으로 유도해야 하며 이것을 통해 사람에서 얻어지는 항체 반응을 예측할 수 있어야 한다.

면역반응의 상승, 감소, 또는 변화가 일어났는지를 확인하기 위해 동물모델에서 개별 항원과 비교하여 혼합백신에 대한 시험을 실시하는 것이 바람직하다. 또한 동물모델에서 생백신 균주 사이의 간섭작용에 대한 연구를 실시해야 한다.

6.2. 약독화 생백신

약독화 정도의 평가 및 약독화 표현형의 안정성은 약독화 생백신의 비임상시험을 계획함에 있어 중요하게 고려해야 할 부분이다. 이를 위해 약독화를 평가할 수 있는 실험 지표가 매우 중요하다. 이들 지표는 약독화 백신과 완전 활성 상태의 야생형 균주를 구분할 수 있어야 하며, 이상적으로는 완전 독성 상태로의 부분적 전환을 감지할 수 있어야 한다. 약독화 표현형의 안정성을 평가하기 위해, 생산용으로 예정된 최대 계대 횟수 이상의 생산 조건에서 백신을 생산한다거나, 백신 생산용 조건을 벗어나는 조건에서 생산하여 평가할 수 있다.

야생형 개체가 향신경성이거나 바이러스 백신 약독화를 위해 신경 조직을 통한 계대를 활용한다면, 신경독성시험을 수행해야 하며 이러한 시험은 적어도 백신 균주(vaccine seed)에서 수행되어야 한다. 약독화 생백신에 대한 신경독성시험이 반드시 필요한 것은 아니다. 실험 대상 개체에 따라 적절한 신경독성시험 규격을 설정하며, 이 규격은 약독화 백신과 완전 독성 야생형 균주를 구분할 수 있어야 하고, 이상적으로는 완전 독성 상태로의 부분적 전환을 감지할 수 있어야 한다. 이 목적을 위하여 특이적인 참조물이 필요할 수 있다. 작은 동물모델을 대상으로 한 신경독성시험도 허용될 수 있다.

약독화 생백신이 유전자 변형 개체를 기반으로 한다면, 비임상 평가의 일환으로 환경 위험성 평가가 필요할 수 있다. 투여 이후에 백신 미생물이 확산될 가능성 조사 등의 환경 위험성 평가가 비임상 평가의 일환으로 필요할 수 있다. 약독화 생백신의 경우 비백신 균주와 유전정보를 교환할 가능성 등에 대한 자료가 요구되기도 하므로 이 목적에 부합한 정보를 제공할 수 있는 적합한 비임상시험의 설계가 필요할 수도 있다.

[부 록] 백신면역증강제 및 면역증강제백신에서의 비임상평가시 고려사항[11)]

1. 서론

본 가이드라인은 국가규제기관(NRA)들과 제조사들에게 면역증강제와 면역증강제 함유 백신들의 비임상 및 초기 임상시험에 대한 국제적 규정 등을 정리하여 길잡이를 제공하고자 한다. 이 가이드라인은 백신의 비임상 및 임상 평가에 관한 기존의 관련 가이드라인들을 참조하여야 한다. 다양한 면역증강제와 면역증강제 함유 백신들이 존재하므로 비임상 및 임상시험 프로그램들은 각 제품의 특성과 임상적용 목적에 따라 달라질 수 있다. 지난 수십 년 동안 백신 항원의 개발과 전달방식에 있어 여러 가지 전략과 시도들이 확장되어왔다. 면역원성이 낮은 일부 항원들은 적절한 면역반응을 유발하기 위해 면역증강제를 필요로 한다. 알루미늄 기반 면역증강제 함유 백신들이 전 세계적으로 널리 사용되어 왔고 이로 인해 상당히 많은 안전성에 관한 정보들이 축적되어 왔다. 면역학 지식과 면역증강제들의 작용기전들이 밝혀짐에 따라 새로운 면역증강제들을 함유하고 있는 백신제제들의 임상시험들이 시도되고 있다. 알루미늄 외의 다른 면역증강제를 포함하고 있는 몇 가지 백신제제들이 여러 나라들에서 허가되어 사용되고 있고 (인유두종바이러스 및 B형 간염 백신 등) HIV, 말라리아, 결핵, 신종 인플루엔자 및 기타 질병의 예방 등을 위한 신규 면역증강제를 함유하고 있는 차세대 백신들이 개발되고 있다. 그러나 면역증강제 함유 백신들의 개발과 효능평가는 허가에 있어 큰 도전들을 직면하고 있다. 백신 제조사들은 물론 규제기관들까지도 면역증강제 함유 백신들의 임상시험 및 시판허가까지 일련의 과정들을 진행하기 위해 필요한 정보의 형태와 자료범위가 명확하지 않다.

백신 비임상 시험에 대한 기존 관련 가이드라인들은 일반적인 지침을 줄 수는 있으나 새로운 면역증강제와 면역증강제 함유 백신들에 대한 정보는 제한적이다. 이런 문제점들은 이 가이드라인은 물론 다른 국가 및 지역들에서 발간되었던 지침 등에도 언급된 바 있다. 이러한 이슈들의 중요성과 복잡성을 감안할 때 전

세계적으로 문제가 되고 있는 질환을 예방할 수 있는 신규 면역증강제와 면역증강제 함유 백신들의 효율적인 개발과 허가를 위하여 좀 더 새롭고 확장된 비임상 시험 가이드라인이 필요하다.

2. 범위

이 가이드라인은 면역증강제 함유 백신들의 비임상 및 초기 임상시험과 관련된 고려사항을 담고 있다. 이 가이드라인의 목표는 모든 임상적 개발단계는 물론 최종 제품으로 판매허가에 이르기까지 면역증강제 함유 후보 백신들이 문제없이 사용될 수 있도록 일관되고 조화로운 비임상시험 지침을 제공하는 것이다.

백신 면역증강제는 한 가지 물질 또는 여러 가지 물질들의 혼합물로서 백신항원과 같이 사용되어 백신의 임상적 효능을 증가시키기 위해 백신항원에 대한 면역반응을 증진(증가, 가속화, 지속화, 표적화)시키거나 다른 형태(Th2 반응을 Th1 방향으로, 또는 체액성 면역반응을 세포매개형 반응으로)으로 유도시키는 제제를 말한다 (2.2 용어의 정의 참조). 이 가이드라인의 목적상 "면역증강제(adjuvant)"라는 용어는 한 가지 면역증강제나 여러 가지가 혼합된 면역증강제 조합 모두를 지칭한다. 본 가이드라인 백신항원과 혼합된 각각의 물질이나, 또는 백신항원과 동시에 같은 장소에 투여되는 것은 물론 DNA 재조합 기술에 의해 항원분자에 면역증진기(immunostimulatory moiety)가 부착된 융합단백질과 그렇게 제조된 면역원(immunogen, 예를 들어 vectored vaccine)들을 포괄한다. 이러한 맥락에서 어떠한 면역증강제도 단독으로는 허가될 수 없고, 반드시 특정한 면역증강제를 포함한 백신으로서 허가되어야 할 것이다. 이 가이드라인에서는 접합백신에서 다당류 항원에 접합된 운반단백질(carrier protein)들은 포함하지 않는다. 또한, 전세포 백일해 백신처럼 백신항원 자체가 고유로 가지고 있는 면역증강 특성도 본 가이드라인에서는 고려하고 있지 않다.

이 가이드라인은 감염질환에 대한 예방 및 치료목적으로 사용되는 면역증강제 함유 백신들을 포괄하고 있다.

이 가이드라인에서 말하는 비임상 시험이란 면역증강제 포함 백신들의 임상적 개발 전이나 도중에 시행하는 일련의 동물 및 in vitro 실험을 말하고, 제품의 특성분석, 개념증명(proof-of-concept), 면역원성 시험은 물론 동물에서의 안전성 시험 등을 포함한다. 전임상 시험(preclinical testing)이란 임상시험 전에 실시하는 비임상 시험(nonclinical testing)을 말하는데 면역증강제 포함 백신 후보를 실험실에서 임상으로 발전시켜 나갈 때 선결조건이 된다. 따라서 이 가이드라인에서는 '전임상'이라는 용어는 최초 사람(first-in- human) 임상시험 전에 실시하는 비임상 시험을 지칭할 특정한 목적이 있을 때만 사용한다.

많은 규제기관들은 면역증강제를 면역을 증진시키는 생물학적 특성에 기반하여 정의하고 추가적으로 백신의 면역증강제 성분을 규정 또는 법적으로 구분해서 분류하기도 한다 [예, 첨가제 (excipient), 활성성분 (active ingredient), 또는 구성 물질 (constituent material)].

2.1. 일반적 고려사항

면역증강제들은 백신항원들에 대한 면역반응을 증진시키기 위해 오래전부터 사용되어 왔다. 항원을 면역증강제와 함께 투여함으로써 기대되는 이점으로는 장기적 방어효과 유발, 효능을 나타내는 면역반응 표적화 증진, 장기간의 면역기억 유도, 항원용량의 절약 및 반응성이 낮은 집단에서의 효과적 면역반응 유도로 인한 접종횟수 감소 등이 있다. 특정 복합질환들에서는 세포매개 면역반응의 유도가 요구될 경우가 있는데, 이 때 면역증강제는 특정 세포독성 또는 조력 T 림프구 반응을 유도하는 역할을 하기도 한다. 어떤 경우는 면역 글로불린 클래스 또는 점막 표면에서 항체 반응을 증진시키 위해 면역증강제를 사용하기도 한다.

면역증강제 함유 백신들의 성공적인 전임상 시험평가, 즉 물리화학적 특성분석, 동물에서의 개념증명 실험, 독성시험 등은 임상적 개발로 진전시키는데 있어 중요한 단계이다. 또한, 동물실험은 임상시험에서 안전한 용량을 선택하고, 투여 스케줄과 경로를 결정하며, 예상치 못한 또는 잠재적인 유해작용을 감시하는데 중요한 수단을 제공하기도 한다. 안전성 문제는 백신항원/면역증강제의 자체 독성, 제제 안의 잠재적 불순물이나 오염물질, 최종 제제에 포함되어 있는 구성물들의

상호작용에 의한 독성으로 인해 발생할 수 있다. 면역증강제 함유 백신들에 대한 허가 시 고려사항들은 일반적인 백신들의 그것들과 유사하지만 신규 면역증강제의 경우에는 각각의 고유한 추가적 사항들이 고려될 수 있다. 이 가이드라인에서 정의하는 신규 면역증강제(novel adjuvant)란 기존 허가받은 백신에 포함되지 않은 것을 말한다.

이 가이드라인에서 신규 면역증강제나 신규 면역증강제 함유 백신의 시험과 관련하여 지침을 제시하는 구체적 대상이나 경우는 다음과 같다.

· 허가받지 않은 면역증강제 함유 백신
· 항원과 면역증강제가 허가받은 백신에 포함되어 있으나 그 생산 과정이 상당히 바뀐 경우
· 전에 허가를 받은 제품이지만 제제화(formulation)에 큰 변경이 있는 경우 (면역증강제의 변경 혹은 구성성분의 첨삭이 있는 경우).
· 전에 허가를 받은 제품이지만 투여경로가 달라질 경우

신규 면역증강제의 비임상시험에 다른 특별한 고려가 필요할 경우에는 이 가이드라인의 적절한 곳에서 그 내용을 적시할 것이다. 면역증강제의 이점들이 증명되고 입수하기가 용이해짐에 따라, 면역증강제 생산기술을 한 회사에서 다른 회사로 이전하고자 하는 경우가 많아지고 있다. 앞서 언급한 바대로 면역증강제는 그 자체만으로는 허가가 되지 않는다. 감염병 백신의 맥락에서 보면 면역증강제는 특정한 항원/면역증강제 조합에 의해 제조되어 허가받은 백신 내의 구성성분으로만 존재할 것이기 때문에 면역증강제를 함유한 새로운 백신은 전혀 새로운 제제로서 적절한 물리화학적 특성규명과 비임상 및 임상시험을 필요로 한다. 그러나 기술이전을 할 경우에는 제조사가 원래 보유하고 있는 '비슷한 항원' 및 '면역증강제 성분' 또는 '면역증강제가 함유된 백신'에 대해서 이미 얻어진 데이터는 새로운 비임상 및 임상시험의 방향을 제시하고 가속화시키는데 사용될 수도 있을 것이다(예를 들어 면역증강제 단독 시험 결과 등). 비임상시험의 필요와 범위는 개발하고자 하는 면역증강제 함유 백신이 어떤 것이냐에 달려 있는데, 개발사는 필요한 비임상시험에 대해 미리 식약처와 상담을 하는 것이 좋을 것이다.

백신 면역증강제는 대략 두 가지 유형으로 분류된다. 하나는 백신 전달시스템으로 알려진 부류로서 항원을 국소 림프절로의 전달을 증진시키는 제제이고, 다른 하나는 면역자극제(immunostimulator) 부류인데 일부 전달시스템은 국소림프절로의 전달을 증진시킬 뿐 아니라 그 자체가 직접적인 면역자극효과를 가지고 있다는 것이 알려져 있어 이러한 분류가 명확하게 구분되지 않는 경우가 있다. 백신 전달시스템은 입자(particle), 전달체(carriers), 에멀젼(emulsion), 리포좀 등을 포함하지만 단지 여기에 국한되지는 않는다. 면역자극제는 일반적으로 항원제시세포(antigne-presenting cells)의 항원 탐식을 증가시키고, 사이토카인 같은 자극물질들의 분비를 증가시키며, 국소 림프절에 항원을 더 많이 머물도록 하는 연쇄반응을 유발시키는 선천성 면역계를 활성화시켜 백신 항원에 대한 면역 반응을 증진시키는 물질을 포함하고 있다. 면역자극제는 면역세포에 직접 작용하여 활성을 증가시키기 때문에 사이토카인이나 면역활성 강화제(immune potentiator) 로 불리는 물질들을 포함할 수 있다.

면역증강제는 또한 유래(즉 합성 또는 미생물 성분), 작용기작, 그리고 물리적 혹은 화학적 특성 등에 따라서도 분류될 수 있다. 가장 널리 언급되고 있는 면역증강제 부류들과 각각의 예들이 별첨2에 정리되어 있다. 특정 백신에 포함된 면역증강제가 두 가지 이상의 면역증강제들의 혼합물이고 여러 가지 유형으로 이루어졌을 경우에는 한 가지 범주로 분류할 수 없는 경우도 있을 수 있다.

2.2. 용어정의

아래 기술되는 정의들은 이 가이드라인의 지침들에 사용된 용어들에 적용되며, 다른 맥락에서는 다른 의미를 가질 수도 있다.

개념증명 시험(Proof-of-concept studies): 개념증명 시험이란 면역증강제 함유 백신에 대한 면역반응, 면역증강제에 의한 항원에 대한 면역반응의 증진, 면역증강제 백신의 표적 감염원에 의한 공격시험에 대한 방어효과 등을 증명하는 일련의 생체내(in vivo) 및 시험관 내(in vitro) 시험을 일컫는다. 치료백신의 개념증명 시험은 가능한 경우 감염증의 조절, 개선, 또는 치유하는 능력을 검사하는 시험을 포함하는 것이 바람직하다.

면역증강제 함유 백신(Adjuvanted vaccine): 한 가지 또는 그 이상의 항원, 면역증강제, 다른 첨가물 (부형제나 보존제 등) 등을 포함하는 제제로서, 투여 시 면역계를 자극하여 감염증의 예방이나 치료를 위한 면역반응을 일으키는 제제를 말함.

백신 면역증강제(Vaccine adjuvants): 백신 항원과 같이 사용하여 백신의 임상적 효과를 강화하기 위해 백신항원에 대한 면역반응을 증진(증가, 가속화, 지속화, 표적화)시키거나 바람직한 방향(Th2 반응을 Th1 방향으로, 또는 체액성 면역반응을 세포매개형 반응으로)으로 유도시키는 물질 혹은 물질의 조합들을 말한다. 면역증강제가 될 수 있는 물질은 부록 1에 예를 들었다. "면역증강제(adjuvant)"라는 용어는 이 지침서에서는 단독은 물론 다른 면역증강제 또는 다른 첨가제들로 이루어진 복합 면역증강제 모두에 적용되어 사용된다.

백신 및 면역증강제 함유 백신(Vaccine and adjuvanted vaccine): 완성된 제제는 항원(또는 플라스미드 DNA 백신 등의 경우에는 면역원[immunogen])과 면역증강제, 부형제, 보존제 등을 포함하는 첨가제를 포함하며, 투여하여 면역계를 자극함으로써 특정 감염(infection)이나 감염질환(infectious disease)을 예방하거나 치료하기 위해 투여 항원에 대한 적절한 면역반응을 자극하는 의약산물을 일컫는다. 면역증강제를 포함하고 있을 경우 면역증강제 함유 백신(adjuvanted vaccine)이라 정의된다.

백신항원(Vaccine antigen): 특이적 면역반응이 유발되는 백신(또는 백신에 의해서 생성되는)의 활성성분. 백신항원은 약독화된 살아있는 세균, 바이러스, 또는 기생충, 불활성화(사멸)된 병원체; 재조합단백질(숙주세포 안에서 발현된 재조합 DNA로부터 유래한)을 포함한 정제되지 않은 세포성분(crude cellular fraction) 또는 정제된 항원; 다당체 및 자연 단백질이나 돌연변이 단백질 또는 톡소이드에 공유결합을 통해 접합된 다당체, 합성 항원, 플라스미드 DNA, 바이러스 또는 세균 벡터로부터 발현된 이종 단백질 등 다양한 종류가 있을 수 있다. 백신항원은 또한 이상 언급된 항원이나 면역원의 조합을 통해 제조될 수도 있다.

면역증강제와 면역증강제 함유 백신의 비임상평가(Nonclinical evaluation of vaccine adjuvants and adjuvanted vaccines): 비임상시험은 면역증강제 함유 백신의 임상 개발 전이나 개발 중에 시행하는 모든 in vivo 및 in vitro시험을 지칭한다. 비임상시험은 제품 특성확인, 개념증명 시험연구, 동물 생체 내 및 시험관 내 독성시험 모두를 포함한다. 면역증강제 함유 백신의 잠재적 독성들은 사람에서의 임상연구 시작 전 뿐만아니라 필요한 경우 임상 개발 전체기간에서 정의되어야 한다(면역증강제와 면역증강제 함유 백신의 전임상평가 정의 참조).

면역증강제와 면역증강제 함유 백신의 전임상평가(Preclinical evaluation of vaccine adjuvants and adjuvanted vaccines): 전임상시험은 최초 사람 임상시험(first-in-human trials) 전에 실시하는 비임상시험을 특정하여 일컫는다(면역증강제와 면역증강제 함유 백신의 비임상평가 정의 참조). 전임상시험은 임상시험을 시작하는데 있어 선결조건이 된다.

체내(in vivo) 시험(in vivo studies): 살아있는 생명체를 이용하여 시행하는 시험.

체외(in vitro) 시험(in vitro studies): 실험실 환경에서 살아 있는 생명체로부터 유래한 혈청, 세포 또는 조직 등을 이용하여 시행하는 시험.

신규 면역증강제(Novel adjuvant): 허가받은 백신에 함유된 바가 없는 면역증강제.

안전성(Safety): 피접종자의 상태와 제품의 특성을 감안하여 적절히 투여하였을 때 동물이나 사람에게 직접 및 간접적 위해로부터 상대적으로 자유로움을 뜻함.

원료(Raw materials): 프로세스 중간산물을 만들기 위해 사용되는 구성성분

최초 임상시험(First - in-human trial): 사람에서 최초로 시행되는 임상시험을 말한다. 가장 흔하게는 적은 숫자의 건강하고 정상적인 면역기능을 가진 성인에서

새로운 백신의 특성, 내약성(tolerability)과 해당될 경우 임상실험실 검사 (clinical laboratory) 및 약리학적 지표를 시험하기 위해 실시된다. 이러한 시험은 제1상 시험으로 간주되며(2), 주로 안전성에 주안점을 둔다.

프로세스 중간물질(Process intermediates): 제제화된 면역증강제 함유 백신을 생산하는데 사용되는 항원 및 면역증강제.

3. 비임상 및 임상평가용 시료의 제조 및 품질에 대한 고려사항

면역증강제 함유 백신 개발사들은 항원, 면역증강제 및 면역증강제 함유 백신이 의도에 맞게 사용할 수 있도록 하기 위해 제조 및 품질에 관련된 정보의 범위에 대하여 식약처와 사전 논의하기를 권장한다. 면역증강제 함유 백신들의 안전성과 효능이 일관되게 유지되는지 평가하고 보증하는데 필요한 정보들의 범위는 비임상 및 임상시험의 단계(phase)에 따라 달라질 수 있다. 유사하게 적절한 면역증강제 함유 백신의 품질을 달성하고 증명하기 위해 필요한 제조 관리(manufacturing control)의 특징과 범위도 제품개발(즉, 연구, 파일럿(pilot), 연구 및 상업용 생산) 및 비/임상시험 단계(phase)에 따라 다를 수 있다.

3.1. 약리시험용 로트의 생산, 특성분석 및 품질 고려사항

일반적으로 비임상 약리시험들(예, 개념증명 및 작용기전 시험 등)은 non-GLP 시험으로도 가능한 것으로 받아들여지고 있고, 때에 따라서는 연구 또는 파일럿(pilot) 규모로 생산된 항원, 면역증강제, 면역증강제 함유 백신 로트로 실시하는 경우도 있다. 또한 이러한 시험들은 때로 용량최적화 시험을 동반하기도 하는데 이 경우들에는 항원과 면역증강제를 각기 다른 용기에 보관하다가 투여 전에 각각의 일정량을 혼합하여 최종 시험제품에 사용될 항원과 면역증강제의 용량을 결정하는 데이터를 도출하는 시험에 사용하기도 한다. 이러한 초기시험에 사용하는 항원과

면역증강제 로트에 요구되는 특성분석의 수준은 비임상 독성시험이나 임상시험에 사용되는 특성분석 수준보다는 덜 광범위할 수는 있으나, 가능한 한 준비 과정에서 같은 원료물질(raw materials)이 사용되어야 하고 원료물질의 유래 및 시험항목(예, 알루미늄 포함 화합물의 경우 순도 및 구리 등의 금속이온 함량 검사 등) 등을 문서화(documentation) 해야 한다. 이상적으로는, 최종제품을 만드는데 사용하는 항원과 면역증강제 로트는 비임상 독성시험에 사용될 로트와 동일한 공정에 의해 생산되어야 한다. 비임상 약리시험에 사용될 면역증강제 함유백신 구성물질들(즉, 항원과 면역증강제 중간산물)의 일반적 품질은 미리 적절하게 특성을 확인해야 한다. 면역증강제 함유 백신과 그 구성성분들 간의 물리화학적 특성들과 그 백신의 면역원성 및 효능과의 상관관계를 확실히 밝히기 어려운 경우가 많기 때문에, 생물학적 특성분석(즉, 생물학적 검사기법)을 실시하여 중간물질과 면역증강제 함유 백신의 물리화학적 특성분석 결과를 보완해야 한다.

3.2. 독성시험 및 최초임상시험용 로트 생산, 특성분석 및 품질 고려사항

이상적으로는, 비임상 독성시험에 사용되는 항원, 면역증강제, 면역증강제 함유 백신의 로트는 최초임상시험에 사용할 로트와 동일해야 한다. 이 로트들은 제1상 임상시험 재료에 적합한 GMP 기준에 따라 제조되어야 한다. 부가적으로, 항원, 면역증강제, 최종 면역증강제 함유 백신 제형의 품질과 안정성은 독성시험에 사용되기 전이나 사용 중에 적절한 특성분석이 이루어져야 한다.

만일 같은 로트의 사용이 어려울 경우, 비임상 독성시험에 사용되는 로트와 최초임상시험에 사용되는 시료의 로트가 제조공정, 물리화학적 데이터, 제형, 안정성 등에 대하여 동등함을 보여야 한다. 만일 비임상 독성시험과 최초임상시험에 사용되는 항원이나 면역증강제 제조(또는 면역증강제 함유 백신의 제형)에 유의한 차이가 있을 때는 그 차이를 소상하게 기술하여 제출해야 한다. 식약처에서는 이 정보를 통해 그런 변화가 면역증강제 함유 백신의 안전성에 미칠 잠재적 영향을 평가하고, 그 변화가 임상적으로 사용하는데 추가적으로 독성시험을 요구할 정도인지 판단하는데 사용할 것이다.

최초임상시험에 사용하기 위해 제조된 면역증강제 함유 백신 로트에 대한 관리와 시험에 있어서는 일반적으로 피험자의 안전을 보장하는 요소들이 강조되어야 할 것이다. 이는 보통, 항원과 면역증강제를 제조하는데 사용되는 원료물질들의 확인(identification)과 관리를 포함한다.

이러한 이유로 면역증강제 함유 백신 제조에 사용하기 위해 각 성분들의 시험규격과 결과가 명시된 '시험성적증명서'(Certificate of Analysis)를 공급자에게 받아 제출해야 한다. 일부 면역증강제 함유 백신의 경우, 면역증강제가 일관되게 제조되고 일관된 구성성분을 가지고 있다는 확신을 주기 위해 백신 면역증강제와 그 개별 구성물들의 제조 및 시험에 관련된 추가적인 고려사항이 필요할 수 있다. 이러한 경우에 해당하는 사례들로는 면역증강제의 한 가지 또는 그 이상의 구성성분이 생물학적 특성을 가지고 있을 때, 그 백신이 복잡한 면역증강제 혼합물을 포함할 때, 또는 항원이 미네랄 염(mineral salt)이나 젤(gel) 등에 흡착되었을 때 등이다. 따라서 면역증강제 함유 백신을 준비할 때 사용되는 면역증강제와 항원의 일관된 제조를 위해서 확립된 품질관리 절차를 사용하는 것이 중요하다. 최초임상시험에 사용될 항원과 면역증강제 또는 혼합 조제된 면역증강제 함유 백신은 제1상 임상시험 GMP 기준에서 제조되어야 한다. GMP 준수가 항원, 면역증강제, 면역증강제 함유 백신의 로트가 사용목적에 접합한 품질기준에 따라 지속적으로 제조되고 관리 될 수 있음을 보증하는 것이다. 다음에 논의되는 것처럼 임상시험의 후기단계에서는 GMP의 모든 면을 만족시켜야 한다.

임상시험에 사용될 면역증강제 함유 백신 로트이거나 또는 다른 로트의 항원과 면역증강제가 다른 용기에 담겨 제공될 경우, 항원과 면역증강제 각각은 임상시험이 시행되는 기간 동안 안정하다는 것이 증명되어야 한다. 부가적으로, 면역증강제가 분리된 용기(예를 들어, 바이알이나 주사기)로 제공되어 백신투여 전에 혼합되거나 항원에 첨가되어 사용될 경우에는 각 성분을 혼합하는 과정에 대한 자세한 설명이 제출되어야 한다. 각각의 구성성분들과 최종 면역증강제 함유 백신의 적절한 저장 기간과 조건에 대한 명확한 설명도 제출되어야 한다. 또한, 혼합 후 면역증강제 함유 백신의 성상도 기술되어야 하며, 투여 기간까지 면역증강제 함유 백신의 안정된 저장을 보장하는 안정성 자료도 제출되어야 한다.

3.2.1. 면역증강제, 항원, 면역증강제 함유 백신의 분석시험

면역증강제, 항원 그리고 면역증강제 함유 백신에 대한 자세한 설명이 제공되어야 하고, 여기에는 항원과 면역증강제의 품질(확인, 순도, 무균)과 함량은 물론 면역증강제 함유 백신의 역가(potency)의 정보까지 포함되어야 한다. 면역증강제가 혼합되면서 항원의 역가에 부정적 영향을 주지 않았다는 것도 증명되어야 한다. 또한 중간물질이나 최종 제품의 제조 및 시험법에 대한 정보가 사전 출하 기준(preliminary release specification)과 함께 제출되어야 한다. 비임상 독성시험 및 최초임상시험에서 사용될 항원, 면역증강제, 면역증강제 함유 백신 로트들에 대한 시험법들을 완전히 validation 되어야 하는 것은 아니지만, 시험법과 선택한 예비 기준이 과학적 상식에 부합해야 한다. 항원(들), 면역증강제(들), 그리고 다른 첨가제들의 확인(identity)과 함량을 정하기 위한 적절한 시험법을 디자인할 때는 식약처와 상담하는 것이 바람직하다. 면역증강제 활성과 면역증강제 함유 백신의 역가와 상관있는 각 항원 및 면역증강제 구성물질들의 속성을 평가하는 것이 중요하다. 더불어 항원과 면역증강제의 특성 중 각각의 상태로 또는 혼합된 최종 면역증강제 함유 백신 제제 상태로 보관할 때 안정성의 지표들을 파악해 놓는 것이 중요하다.

면역증강제 특성분석에 사용되는 시험이 작용기전과 상관이 있을 수도 있고 없을 수도 있지만, 이러한 시험은 면역증강제 생산의 일관성을 보증하고, 면역증강제 안정성을 평가하는데 적절한 것이어야 한다. 예를 들어 이들은 성상, 입자 크기 분포, 뭉친 덩어리(aggregate) 형성 여부, 면역증강제의 pH, 알루미늄 함유 화합물에 흡착된 백신에서 알루미늄의 함량이나 항원 흡착도 등을 검사하는 시험들이 포함된다. 면역증강제 함유 백신 안에 있는 항원과 면역증강제를 평가하는 분석방법은 면역증강제 함유 백신 제품 개발 및 임상 평가 진행시 개발되고 검증되어야 한다. 관련된 경우, 특성분석을 목적으로 개발되는 분석방법은 가능하다면 항원과 면역증강제 사이(만일 면역증강제가 혼합될 경우는 그 구성성분들 사이까지)의 상호적합성(compatibility) 및 물리적 상호작용까지 평가하는 방법을 포함해야 한다. 이러한 분석방법들이 후기 단계 임상적 개발이나 상업적 보급 시 출하 배치 품질관리(quality control batch release)에 사용되려면 완전하게 검증되어야 한다.

최종 면역증강제 함유 백신 제제의 역가를 평가하는 품질관리 시험(quality-control test)은 제조의 일관성을 평가하는 시험 중 하나로 개발되어야 한다. 면역증강제 함유 백신에 대한 역가평가 방식과 식약처의 요구사항들에 따라 평가법이 면역증강제가 면역증강제 함유 백신의 역가에 기여했는지를 반영할 수도 있고, 그렇지 않을 수도 있다. 만일 그렇지 않았을 경우에는 최종 면역증강제 함유 백신제제 내의 면역증강제의 확인시험과 함량시험을 실시하는 것이 중요하다. 또한 안전성을 보장하기 위해서 최종 면역증강제 함유 백신제제의 순도와 무균상태를 평가할 필요가 있을 것이다. 만일 면역증강제나 면역증강제 함유 백신의 내독소 오염 여부를 Limulus amodbocyte lysate (LAL) 법을 통해 시험한다면, 면역증강제나 면역증강제 함유 백신이 LAL 시험을 간섭하지 않는다는 사실(예, 면역증강제가 존재하거나 존재하지 않는 상태에서 lipopolysaccharide spiking test 한 데이터)에 대한 증거를 제시해야 한다. 양이온성 리포좀 같은 면역증강제는 LAL 시험을 간섭한다는 사실이 알려져 있다. 만일 간섭이 관찰된다면 다른 시험(발열성 시험 또는 대식세포 활성화 시험(macrophage-activation test))으로 대체되어야 한다.

만일 항원과 면역증강제를 각각 다른 용기에 보관하다가 투여하기 전에 이들을 혼합하여 최종 조제하여 투여하는 백신의 경우에는 각각 성분의 확인, 순도 및 무균 등의 합당한 지표들을 혼합하기 전에 평가해야 한다. 더불어 각 용량별 항원의 역가와 면역증강제의 함량도 평가되어야 한다. 또한 가능하면 앞서 언급된 바대로 면역증강제가 최종 면역증강제 함유 백신제제의 역가에 부정적 영향을 미치지 않는다는 것을 증명하여야 한다. 따라서 바로 혼합된 면역증강제 함유 백신의 역가를 증명해야 한다. 알루미늄 흡착 백신 같은 경우에는 역가 시험의 특성에 따라 최종 백신제제의 역가를 평가하기 어려운 경우가 있다. 이러한 경우에는 흡착 전에 항원 단독의 역가를 결정하고 최종 제제에서 역가를 평가할 수 있는 동물실험법을 개발하는 방안이 추천되기도 한다.

면역증강제 함유 백신의 이상독성부정시험(innocuity, general safety, abnormal toxicity test)은 품질관리시험으로 설정하는 것을 권고한다. 항원과 면역증강제 모두 이상독성부정시험에 적합해야 하며 경우에 따라 접종량은 달라질 수 있다. 이 시험은 일정기간 동안 생산된 백신의 품질 동등성이 확보된 이후에는 품질관리 시험에서 생략될 수 있다.

3.3. 후기 단계 임상시험에 필요한 정보

일반적으로, 면역증강제 함유 백신 제품이 개발될 때, 분석기술과 방법론들은 임상시험을 하는 동안 같이 개발되어진다. 면역증강제 함유백신 제품이 개발되고 임상평가가 진행됨에 따라 항원과 면역증강제의 품질관리와 품질보증 시험은 보다 정교해질 필요가 있다. 허가를 받기 위해 안전성 및 효능 데이터를 수집하는 임상시험이 시작될 때, 제조공정들이 일관적이고 검증되었다는 사실을 증명해야하고, 적절한 검증정보와 함께 자세한 설명이 모든 분석과정에 제공되어야 한다. (「대한민국 약전」「생물학적제제 기준 및 시험방법」공정서 등 식약처장이 기준 및 시험방법을 고시하거나 인정한 품목의 경우에는 자료 제출 면제 가능). 만일 특정 항원, 면역증강제, 면역증강제 함유 백신에 대해 국가적 또는 국제적 기준이 아직 마련되어 있지 않을 경우에는 개발사가 후기 단계 임상시험을 하는 동안 자체적으로 초기 표준물질(primary reference material)을 확립해야 한다.

백신 항원, 면역증강제, 제제화된 면역증강제 함유백신의 제조 일관성을 증명하기 위해 각 항원, 면역증강제 중간산물 (또는 분리되어 제공 될 경우 최종용기) 및 제제화된 면역증강제 함유백신의 최소 3개 로트를 연속으로 생산한 후 검사해야 한다. 제조 및 제형에 어떠한 변경이라도 있으면 그러한 변경들이 면역증강제 함유 백신의 품질과 안전성에 직접 혹은 간접적으로 영향을 주는지를 주의 깊게 평가해야 한다. 그러한 변경 전후로 만든 항원, 면역증강제, 면역증강제 함유 백신의 분석시험을 진행하여 변경 전후의 차이가 발견되면, 추가적인 검증시험과 (및/혹은) 가교시험을 진행하여 계속해서 임상평가를 진행할 물질들의 안전성을 보장해야 한다.

면역증강제 함유 백신의 후기 단계 임상시험 동안 적절한 안정성 데이터가 수집되었는지 확인하기 위해, 항원, 면역증강제, 면역증강제 함유 백신들에 대한 공식적 안정성 시험에 사용되는 안정성 시험 프로토콜이 개발되어야 한다. 안정성 프로그램은 임상시험 프로그램 전반에 걸쳐 항원, 면역증강제, 면역증강제 함유 백신의 화학적, 물리적, 생물학적 그리고 미생물학적 안정성을 감시할 수 있도록 설계되어야 한다. 개별적으로 보관하거나 혼합된 최종 면역증강제 함유 백신제제로 보관할 때 안정성을 가장 잘 나타내는 각 항원과 면역증강제의 특성을 안정성평가가

진행됨에 따라 확인해야 한다. 면역증강제 함유 백신의 유효기간 내에 항원이나 면역증강제로부터 유래한 분해산물들이 쌓인다고 밝혀지면, 그 분해산물에 대해 완제의약품에서 안정성 시험 동안 평가되어야 한다. 안전성을 보장하기 위해서 추가적으로 적절한 비임상 독성시험을 시행할지 여부에 대해서는 식약처와 논의하는 것을 권장한다. 백신의 안정성시험에 대한 가이드라인은 백신 안정성 평가 관련 가이드라인 등을 추가적으로 참조한다.

4. 면역증강제 사용에 관한 논리적 근거

면역증강제의 활성은 여러 가지 인자들의 작용결과이고 한 가지 백신 항원에 대한 면역증강제를 매개로 한 면역반응증진효과는 대체로 또 다른 백신 항원 에 대한 면역반응 증진효과에 외삽(extrapolation)되어 질 수 없다. 각각의 항원은 물리적, 생물학적 및 면역학적 특성이 다양하고, 그 항원들은 면역학적 측면에서 면역증강제를 그 필요에 따라 다르게 사용할 수도 있다. 특정항원에 대한 면역반응의 증폭이나 종류에 대한 영향 또는 안전성 프로파일에 영향 등 이런 원하는 면역반응에 기초하여 제조사들은 면역증강제의 선택사유를 만들어야 한다. 또한 면역증강제는 백신의 접근성과 공급을 늘리기 위한 목적으로 항원의 용량-분할 전략(dose-sparing strategies)을 위해 사용된다. 예를 들어 인플루엔자 대유행 시 비상상황인 경우가 해당된다. 또한 불활화 폴리오백신의 경우 폴리오 박멸을 위해서 백신의 가격을 낮추는 전략에도 사용된다.

선천성 면역의 이해도 증가는 면역증강제의 면역학적 작용기전에 대한 이해도를 높여왔다. 많은 면역증진 면역증강제는 '병원체인지수용체' (pathogen-recognition receptor) 아형의 하나인 toll-like receptors(TLRs)들에 의해 인지되고, 반면에 다른 면역증강제는 후천성 면역반응(adaptive immune response) 형성에 있어서 중요하게 여겨지는 병원체인지수용체의 다른 계통들 (other families of pathogen-recognition receptors) 을 대상으로 할 수도 있다. 더욱이 많은 계통의 선천성 수용체들과 다양한 신호전달체계 사이의 조절을 위한 복잡한 상호작용들이 있다. 이러한 틀 내에서, 면역증강제에 의해 발휘 되는 활성은 : (a) 항원제시세포(APC, antigen presenting cell) 및 다형핵세포(polymorphonuclear cell)의 동원(mobilization); (b)

APC에 의한 백신 항원의 수용 및 제시; (c) APC로부터의 단백질 분비; (d) 항원 특이적인 세포들의 모집(recruitment), 표적화 및 활성화; (e) 면역반응 결과로 일어나는 활동들의 조절작용; 그리고 (f) 분해나 제거로부터 항원 보호 등을 촉진하지만 이에 국한되지는 않는다.

면역증강제 첨가의 이득 및 특정 면역증강제 선택을 뒷받침하는 과학적 근거는 면역증강제 함유 백신의 제조사가 제시해야 한다. 임상시험에서 항원과 조합된 특정 면역증강제를 평가하기 전, in vitro 및 in vivo 시험자료는 백신 제형에 있어 특정 면역증강제를 포함하는 근거와 면역증강제의 용량범위를 설정하는 근거를 뒷받침하도록 권장된다. 이상적인 경우 선택된 면역증강제의 작용기전과 강화된 면역반응의 증진기전에 대한 충분한 이해가 후기 단계 임상시험을 시작하기 전에 이루어지는 것이 좋다. 면역증강 작용기전이 불분명할 때는 in vitro 및 in vivo 시험자료의 보충 (4.1 및 4.2 항목에서 각각 논의된 대로)은 면역증강제 함유 백신의 안전성 및 면역증강제 함유 백신에 의해 유도된 면역반응에 대한 면역증가제의 부수적이 효과를 뒷받침하는 주요 독성시험 (pivotal toxicity study)에 덧붙여 제출할 수 있다.

4.1. In vivo 개념증명 연구

최적의 항원/면역증강제 조성을 평가하기 위해 수행된 초기 연구결과를 포함한 개념증명 연구 데이터는 면역증강제 함유 백신 의 특성에 관한 중요한 정보를 제공할 수 있다. 이 데이터는 관련된 비임상질병모델 사용이 가능하다면, 면역증강제 필요성에 대한 증거, 유도된 면역반응의 유형과 정도 (즉, 선천성 면역, 또는 체액 및 세포성 면역), 그리고 질병에 대한 방어하거나 (예. 예방백신) 현존하는 감염성질환을 호전시키는 (예. 치료백신) 면역반응의 기능적 능력을 포함한다. 면역증강제 함유 백신 조성을 확인하고 스크린하기 위해 설계된 이러한 파이롯 또는 탐색적 연구들은 GLP 기준을 따르지 않아도 되지만, 불명료하거나 잠재적인 부작용을 확인해야 하고 GLP 수준에 따른 독성시험 설계를 위한 중요한 정보를 제공할 수 있다. 또한, in vivo 개념증명 연구들은 면역증가 백신 제품의 임상시험 동안에 제조변경과 면역증강 백신 제형, 용량 및 투여경로 최적화에 대한 과학적 타당성을 제공할 수 있다.

면역증강제 사용 유무에 대한 백신조성 평가에 있어 면역증강제 사용을 뒷받침하기 위한 개념증명 연구가 권고된다. 특정 항원과 고려되는 면역증강제에 따라 이러한 유형의 연구들의 예시로서 다음 사항들을 포함한다.

■ 체액성 면역의 정도 (예. 평균 항체가 또는 농도), 품질 (예. 친화도 또는 결합도), 기능활성 (예. 중화 활성) 평가;

■ 특정 유형의 세포 반응 유도에 대한 조사를 포함한 세포 반응의 평가 (예., Th1 또는 Th2 사이토카인 생성 양상 또는 세포독성 T 세포 유도를 위한 시험)

■ 적절한 동물 또는 in vitro 질환모델을 이용한 관련 병원체에 대한 예방 또는 치료 반응과/또는 기능적 면역반응에 대한 평가 (예. 중화 활성, 혈청 살균제 또는 opsonophagocytic antibody titres)

■ 유도된 면역반응에 의한 지속시간 및 교차방어의 정도에 대한 평가.

이러한 연구들은 면역증강제의 작용기전을 밝히는데 기여할 수 있으며 특정 면역증강제에 따른 면역조절효과의 예시를 제공할 수 있다. 추가적으로, 이러한 연구들은 비임상 안전성 시험들을 결과해석하고 임상적 개발 과정에서 관찰되어야 할 잠재적 부작용을 파악하는데 도움을 줄 것이다. 특히 사람 세포를 이용하는 in vitro 모델 시스템은 면역증강제 작용기전을 밝히는데 추가적인 연관된 정보를 제공해 줄 수 있는 가능성이 있다.

4.2. In vitro 추가적인 연구

기능적 in vitro 생물학적 검사법은 특정면역증강제의 작용기전의 이해하는데 도움이 되었고 동물실험들에 대한 가치있는 보충적이며 보완적인 자료를 제공해 줄 수 있다. 이는 동물종특이적차이(예. TLR)와 같이 동물 모델에 제한이 있는 경우에 특히 중요하다. 항원제시세포들이나 다른 면역세포들은 활성지표들(세포 표면 분자들의 발현 변화 또는 사이토카인 분비 유형의 측정)에 의한 면역증강제의 직간접적인 효과를 평가하고 관찰하는데 널리 사용되고 있고, 좀 더 최근에는 그러한 사람 세포들이 in vivo 면역증강제 안전성을 예측할 수 있는 in vitro 검사법을 개발하는데 사용되고 있다. 림프조직과 흡사하게 사람 면역세포들이

혼합되어 있는 좀 더 복잡한 조직 배양 시스템들이 사람의 면역반응을 in vitro 연구에서 평가하기 위해 연구되고 있다.

5. 비임상시험 동물종 선정 시 고려사항

면역증강제와 면역증강제 함유 백신제제의 안전성과 약리활성에 영향을 주는 특성들을 연구하는 데는 적절한 동물종의 선택이 요구된다. 약리 및 안전성 평가에 사용되는 동물종은 신중하고 적절하게 선정되어야 한다. 윤리적 관점에서, 과학적으로 적절한 이유가 있어 동물을 사용해야 할 때는 3 R 원칙(축소, 대체, 고통경감; Reduction, Replacement, Refinement)을 적용하는 것이 바람직하다. 제조사, 규제기관이나 국가표준실 직원들은 in vitro assay들을 더 개발하고 그것들이 백신허가에 적절한지 검증하는 노력들을 계속해야 한다.

5.1. 비임상 약리 시험의 동물종 선정

이 가이드라인의 목적상, 면역증강제 함유 백신의 비임상 약리활성은 그 백신제제가 동물종에서 면역반응을 유도하거나 변화시키는 능력으로 정의된다. 특정 동물종을 선택하는데 고려해야 할 사항들은 백신 항원, 선택된 면역증강제, 유도되어야 할 면역반응(즉, 세포매개성 혹은 체액성), 투여경로 등이 포함되나 여기에 국한되는 것은 아니다. 개념증명 실험들은 (1) 백신항원에 대한 면역반응이 유도되고, (2) 사람에서 기대되는 기전과 유사하게 항원에 대한 면역반응이 면역증강제에 의해 증진되는(예, 면역증강제에 의해 자극된다고 알려진 TLR이 발현되며 증진된 체액성 및/혹은 세포성 면역반응이 관찰되는) 동물종을 사용하여 수행되어야 한다. 그러나 사람과 비교하여 동물종에서 유발되는 면역반응에 있어 종특이적 차이가 있을 수 있다는 사실도 알려져 있다. 개념증명 실험들은 항원에 노출되지 않은(naive) 동물과 및/혹은 병원체에 노출된 적이 있는 동물을 대상으로 수행되는 것이 보통이다. 백신항원 단독 및 면역증강제 존재 하에 유발되는 면역반응을 평가하는 것에 덧붙여 백신항원이 존재하지 않는 상태에서의 면역증강제의 작용기전도 평가되어야 한다.

만일 면역증강제 함유 백신이 감염질환에 대한 치료백신일 경우에는 가능하면 질환동물모델을 개발하여 약리활성과 더불어 질환에 대한 효과 관찰이 필요할 수도 있다. 예방 백신의 경우도 가능하면 사람에서 병을 일으키는 병원체에 감수성이 있는 동물종을 사용하여 질환으로부터 보호되는 기전에 대해 중요한 정보를 제공받을 수 있다 (예, 사람 인플루엔자 바이러스 패렛 감염 모델).

비임상 약리시험은 비 GLP 조건에서 수행될 수 있다. 시험 설계 시 GLP 비임상 독성 시험 계획 수립에 도움이 되도록 필요한 경우 독성평가지표를 포함시키는 것이 고려될 수 있다. 선정된 동물종에서 임상예정 경로로 투여하여 백신항원과 면역증강제에 대한 반응성이 증명되면 이러한 시험들을 소동물에서 수행하는 것으로도 충분하다. 영장류(nonhuman primate)는 다른 적절한 동물종의 사용이 가능하지 않을 경우에만 사용되어야 한다.

5.2. 비임상 안전성 시험의 동물종 선정

비임상 안전성 시험에서 동물종을 선택할 때 그 종에서 면역증강제 존재 시와 비존재 시 백신의 약리활성에 대해 기술하는 것이 중요하다. 비임상 안전성 시험은 GLP 수준에서 수행하고, 백신항원에 대한 면역반응과 면역증강제에 의한 증진효과는(이상적으로는) 사람 유사 기전에 의해 일어나는 동물종을 사용할 것을 추천한다. 그러나 비임상 안전성 시험을 꼭 개념증명 또는 비임상 약리시험에 사용한 동물종을 사용해야만 하는 것은 아니다. 하지만, 영장류의 사용은 다른 적절한 동물종이 없는 경우에만 고려되어야 한다. 만일 개발된 면역증강제 함유 백신에 대해 반응성이 있는, 사용 가능한 동물종이 없을 경우에는 동물종 선정의 정당성을 증명해야 한다. 어떤 경우에는 사람유래세포를 이용한 in vitro 시험계를 사용하여 백신제제의 독성을 평가함으로써 독성시험 데이터를 보완하는 추가 정보를 제공할 수 있다.

동물종을 선택할 때, 타당하고 충분한 과거 대조 데이터를 가지고 있는 동물을 선택하는 것이 바람직하다. 독성시험의 데이터를 분석/해석할 때 동시에 시행한 비활성 대조군과의 비교·대조를 포함하는 것이 보통이다. 그러나 그 시험이 시행된

같은 실험실에서 시행되었고, 같은 나이의 동물, 같은 동물종(species)이나 동물주(strain)에서 시험되었던 과거 대조 데이터로 추가적 정보를 제공할 수 있다. 과거 대조 데이터 배경대조자료(historical control data)가 사용되는 경우, 필요에 따라 해당 자료가 규제기관에 제출될 수 있다.

독성시험에 사용되는 투여경로는 임상 예정투여경로와 같아야 한다. 그리고 임상에서 특정 기구를 사용하여 투여할 계획이면 가능한 한 동물시험에도 같은 기구를 사용해야 한다. 예를 들어, 작은 설치류 동물종은 비강으로 투여하는 백신을 평가하는 데는 적절한 선택이 아닐 수 있는데, 투여된 백신제제가 폐까지 내려갈 수 있기 때문이다. 이러한 경우에는 비강 표면적, 해부학적 구조 및 생리학적 특성이 사람과 유사한 대동물을 사용하는 것이 더 적절할 것이다.

많은 경우에서 하나의 동물종을 사용하여 시험을 수행한 경우들이 있었으며, 이러한 방식은 현실적 측면에서 통상적으로 용인되어 왔다. 예를 들어, 동물모델을 통해 사람의 면역반응을 예측하는 것은 항원 및 혹은 면역증강제에 대한 반응들의 종 특이성처럼, 사람의 면역반응을 예측하기 위한 적절한 동물모델의 부재로 여러 동물종에서의 평가가 의미 없게 되는 경우들이 있다.

5.3. 동물시험의 한계

면역증강제와 면역증강제 함유 백신의 약리 및 독성을 동물을 이용하여 평가하는 것은 그 한계가 인정되고 있다 동물을 이용한 약리학적 실험을 통해 사람에서 일어나는 면역반응을 예측하는 것은 항원 및/혹은 면역증강제에 대한 반응들의 종 특이성 때문에 한계가 있을 수 있다. 같은 맥락에서 비임상 독성시험에서 관찰된 국소 및 전신 부작용들을 사람에서의 예측에 그대로 적용하는 것도 한계가 있다. 또한 사람에서 백신제제 접종 후 드물게 나타나거나 오랜 시간이 지나야 나타나는 부작용들은 동물시험에서 관찰하기 어려울 가능성이 있다. 그럼에도 불구하고, 이러한 동물실험들은 현 상황에서 백신제제의 임상 전 약리 및 안전성평가에 있어 사용가능한 가장 타당한 수단일 수밖에 없다.

6. 동물에서 비임상 안전성 평가

6.1. 일반적 고려사항

백신의 안전성에 대한 우려는 항원과 다른 백신 성분 자체의 독성과 최종 제형 내에 존재하는 성분들 간의 상호작용에 의한 독성 반응을 모두 포함한다. 면역증강제 함유 백신은 면역조절 및/또는 염증 반응 유도로 인한 부작용을 야기할 수 있는 가능성과 면역반응과는 상관없이 염증성 사이토카인과 독성을 야기시킬 수 있는 매개물질 분비 가능성을 염두해 두어야 한다. 비임상 시험을 통한 안전성 평가는 적절한 면역증강제 항원 비율과 안전 용량을 결정 할 뿐만 아니라, 추후 제품 개발시 고려사항 또는 임상시험에서 알려져 있지 않거나 잠재된 부작용을 모니터링 하는데 도움이 된다.

6.2. 면역증강제 및 최종 면역증강제 함유 백신제제의 독성 시험

최종 백신제제의 비임상 독성시험은 최초 임상시험 진행이 안전하다는 결론에 이를 수 있을 정도의 잠재적 부작용들을 찾아내고 특성을 구명할 수 있어야 한다. 면역증강제나 면역증강제 함유 백신에서 작용기전이 불명확한 경우, 생체 내 효과와 연관된 결과가 확실하지 않기 때문에, 독성시험에서 광범위한 지표들을 평가할 수 있어야 한다. 독성시험은 임상에서 사용하고자 하는 투여경로를 선택하고, 국소 반응원성(예, 주사 위치 염증), 전신 독성(첫 투여 부위이 외의 독성) 등을 평가할 수 있도록 해야 한다. 필수(pivotal) 독성시험은 최종 제형과 용량을 기준으로 진행하며, GLP 기준을 준수하여 수행하여야 한다.

적절하게 설계, 수행 및 해석된 독성시험의 결과에서 주요 독성이 관찰되지 않은 경우, 하나의 동물종으로 반복용량 독성시험을 시행하는 것이 가능하다. 그러나, 제품 개발 과정에서 제조 또는 제형화 과정에서 변경사항이 있을시 제품의 안전성에 변화가 없다는 것을 확인하기 위한 추가 독성시험을 권장한다. 또한, 임상시험에서 부작용이 관찰되거나 특정 집단에서의 사용을 허가받기 위해서 추가 독성시험들(생식/발생 독성시험)이 필요할 수도 있다.

최종 백신제제에 대한 포괄적인 독성평가가 필수적이라고 생각되는 동물에서 면역증강제 단독 포괄적 독성시험(또는 두 가지 이상의 면역증강제가 조합 되었을 경우 각 성분)은 별개의 프로그램으로 수행될 필요가 없을 수 있다. 그러나 면역증강제 포함 백신의 면역원성 및 안전성 시험들의 더 원활한 해석을 위해 최종 제제의 포괄적 독성 평가의 일환으로서 면역증강제 단독 투여군을 반복용량 독성시험에 포함할 수 있다(6.2.2장 참조).

6.2.1. 안전성 약리시험

안전성 약리시험의 목적은 후보 백신의 주요 생체기능에 미치는 영향을 조사하는데 있다. 안전성 약리시험은 일반적으로 요구되지는 않지만, 전임상 및/또는 임상시험 데이터가 백신제제가 면역계 이외의 약리작용이 나타날 가능성 (예, 중추신경계, 호흡기계, 심혈관계, 신장기능, 체온 등)이 있는 경우, 안전성 약리시험이 필요 할 수 있다.

6.2.2. 반복투여독성시험

임상시험에서 한 용량 이상의 항원이나 면역증강제에 대하여 평가하는 경우, 필수독성시험에서는 최고용량(i.e. ‘worst case’)을 포함하고 있는 제제로 필수 독성시험을 수행하여야 한다. 최종 제제의 단회 독성시험은 일반적 의약품에 적용되는 가이드라인 등을 따를 필요는 없다. 반복투여 독성시험에서 단회독성을 평가할 수 있도록 설정할 수 있으며 (예, 1차 투여 후 평가), 또는 국소내성 시험 중 단회독성을 평가할 수도 있다. 최초 임상시험을 뒷받침하기 위한 시험의 경우, 성별, 시험군 그리고 투여간격에 따라 연구될 동물의 수는 생성된 자료의 의미있는 과학적 해석이 되도록 충분하여야 한다. 투여군의 크기는 선택된 동물의 종에 따라 다를 수 있다. 비설치류(예, 미니돼지)를 사용하는 시험은 설치류를 이용할 경우보다 더 적은 숫자를 사용할 수밖에 없을 것이다. 마우스와 랫드의 경우 각 투여기간 종료 시기에 부검을 위해서 시험군 당 각 성별로 최소한 10마리가, 회복 후 부검에는 최소한 5마리가 권장된다. 토끼는 투여기간별로 시험군 당 각 성별로

최소 5마리를 사용하는 것을 권고된다. 일반적으로, 시험 시작 시 설치류는 6-8주령, 토끼는 3-4월령을 사용해야 한다.

6.2.2.1. 용량, 용량설정 및 조절

면역증강제 함유 백신들의 용량-반응 평가는 기본 독성평가의 일환으로 일반적으로 요구되지 않는다. 반면, 대부분의 경우 용량-반응 평가는 비임상 약리시험에서 탐색되고 있다. 독성시험의 투여용량은 임상 적용 최고 용량으로 선택하여야 하며, 이상적으로는 후보 백신에 노출된 동물에서 이 용량이 적절한 면역반응을 유도해야 한다. 신규 면역증강제의 경우는 최초 임상에서의 사용될 안전한 용량을 확인하기 위하여, 여러 용량(더 낮고, 높은)의 면역증강제 함유 백신제제 면역증가제 단독 투여군을 포함하는 것이 바람직하다.
만일 투여될 용량이 단회 투여로서 가능한 총액량에 제한이 있다면, 총액량을 여러 부위에 동일 경로로 투여할 수 있으나, 투여부위의 국소평가에 대한 신뢰성이 낮아질 수 있으므로 유의하여야 한다.
반복투여 해야 할 면역증강제 함유 백신제제들의 경우, 반복투여 독성 시험에서 동물에게 투여할 횟수는 사람에서 예정된 투여 횟수와 같거나 더 많아야 한다. 그러나 많은 경우에 있어 백신이 여러 번 접종되기 때문에 동물 독성시험 접종간격은 임상시험 시의 간격(통상 2-3주 이상)을 감안하여 조정될 수 있다(예, 2-3주로). 기본적으로는 비임상시험 투여 간격은 동물실험에서 관찰된 1차 및 2차 항체반응의 동력학 등을 감안하여 결정되어야 한다.
일반적으로, 시험계획은 반응 기준점을 잡기 위해 식염수 같은 무활성 위약(placebo)을 투여한 음성대조군, 백신제제의 안전성 시험 데이터를 해석하는데 도움을 주기 위해 면역증강제 단독 투여군을 포함해야 한다. 또한, 시험군은 투여 후 시험 시 관찰된 부작용의 회복양상 및 지연성 부작용을 잠재적으로 평가하기 위해 충분한 숫자의 동물을 포함해야 한다(6.2.2.3장 참조).

6.2.2.2. 투여경로

투여경로는 임상적용 경로를 따른다. 임상적용시 별도의 투여기기가 사용되는 경우 가능한 동일한 투여기기를 사용하여야 한다.

6.2.2.3. 독성시험의 최종평가항목(end-point)

다음 이어지는 항목들에서는 최종제형을 사용한 반복투여 독성시험에서 면역증강제 함유한 백신의 평가에 특별히 연관되고 중요한 최종 평가항목들에 대하여 논의한다. 면역증강제 함유 백신의 잠재적 부작용은 표적장기, 용량, 노출경로, 노출 기간과 빈도, 독성효과들의 잠재적인 가역성 등에 대한 반복투여 시험에서 평가되어야 한다.

6.2.2.3.1. 전신독성 관찰항목

독성시험, 특히 반복투여 독성시험은 면역계에 대한 전신효과를 포함해야 하는데, 단지 이에 국한되지는 않는다. 독성시험에서는 광범위한 정보가 획득되어야 하고, 생존 및 사후 데이터 모두를 수집해야 한다. 이는 일상적으로 체중 및 사료섭취량, 체온, 조직병리, 임상병리, 혈액학, 혈액응고 지표 및 급성염증 표지자(acute phase reactants) 등의 주의 깊은 관찰을 포함한다. 덧붙여서, 투여군에서 기대하는 면역반응이 독성시험 과정에서도 일어났는지를 확인하기 위해 면역반응도 평가되어야 한다. 시험방법에 대한 자세한 설명이 독성시험 결과와 함께 제출되어야 한다.
일반적으로 의약품에서 측정되는 표준 생존지표(예, 일반증상, 체중, 사료섭취량)들은 적절하다고 사료되나, 면역증강제 함유 백신에 대해서는, 특히 각 용량 투여 후 첫 1주일 동안 더 자주(예, 매일) 체중과 사료섭취량을 측정하는 것이 필요하다. 이들 지표는 전신적 부작용을 감지하는데 민감성이 높은 지표들이기 때문이다. 1주일 이후에는 체중을 더 낮은 빈도로(매주 2-3회) 측정해도 된다. 체온은 각 용량을 투여하기 전, 투여 후 3-8시간 그리고 24시간에 측정하여야 한다. 만일 체온증가가 관찰되면, 추가로 매 24시간마다 체온이 정상화될 때까지 측정해야 한다. 시험 중간 혈액학 및 혈액생화학적 검사를 첫 번째와 마지막 투여 후 약 1-3일째, 그리고 회복기간의 마지막 날에 실시하는 것을 고려해야 한다. 이 때 투여 전 혈청을 확보하는 것이 좋다. 혈액응고 지표들은 일상적으로 검사되어야 하고, 때에 따라서는 소변 검사와 혈청 면역글로불린 측정이 필요할 때가 있다. 덧붙여서, 급성염증 표지자(예, C reactive protein)를 면역증강제와 최종 백신제제 투여 전,

투여 후 여러 시간대에 측정하여 최고 상승치를 정하고(보통은 24-48시간 후), 회복기 7일 후에 측정하는 것이 바람직하다. 급성염증 표지자는 동물종에 따라 다르기 때문에 시험 동물에 따라 달리 선택할 수 있다. 이상에서 논의된 데이터는 투여 전, 투여 중은 물론이고 회복기(즉, 마지막 용량 투여 후 2주 또는 그 이상) 후에도 수집하여 부작용의 지속성, 약화 여부 또는 가역성들을 평가해야 한다.

6.2.2.3.2. 국소 독성시험

국소 독성은 면역증강제와 면역증강제 함유 백신의 투여 부위와 방법에 따라 투여 후 영향을 받는 부위에서 관찰되어야 한다. 근육 내 투여된 백신들의 국소 독성시험은 주로 사람 사용 최종제제 용량을 검사할 후 있을 정도의 근육량을 가지고 있는 동물에서 시행되어야 한다.
투여 후 주사부위 반응은 modified Draize test 등을 따르고, 수포, 궤양, 가피 형성 및 심각한 독성(예, 사지 부전)도 함께 관찰해야 한다. 투여부위와 면역증강제 및 면역증강제 함유 백신 접촉되는 다른 부위(에어로졸 투여 시 노출된 눈 또는 경구투여 시 소화기)도 조직병리학적으로 관찰해야 한다. 또한, 세포침윤이 관찰되는 경우 투여부위 및 투여부위 주변 조직/장기에 대하여 함께 관찰을 실시한다. 또한, 통상적인 조직염색 관찰결과 세포침윤이 있을 경우에는 사후 부검 평가의 일환으로 주사부위와 함께 그 주변의 해부학적 구조들(예, 좌골신경 [sciatic nerve] 또는 후각신경구 [olfactory bulb])의 명확한 조직손상과 함께 보고되어야 한다.

6.2.3. 생식・발생독성시험

백신접종 프로그램들이 가임기의 여성들을 포함할 수 있기 때문에 발달 및 생식독성 시험에 대한 요구를 고려하는 것이 중요하다. 일반적인 독성시험에서와 같이 새로운 면역증강제를 사용할 경우 면역증강제 단독 생식독성을 요구할 수 있으나, 백신의 예정된 임상 사용에 따라 독성시험 설계는 달라질 수 있다. 예를 들어, 임신 초기에 임신부를 보호하기 위해 백신 접종을 하거나, 생후 신생아를

직접 보호하기 위하여 수동면역 유도를 하기 위해서 임신 말기에 투여되기도 한다. 일반적으로 백신제제의 구성성분들의 잠재적 또는 직접적 배아독성을 평가하기 위해 장기발달 과정(경구개 폐쇄) 중에 한 번 또는 여러 용량을 투여하는 것을 추천한다. 또한 동물모델에 따라 모체의 항체가 임신 중이나 수유 중에 신생아에게 전달되도록 한다. 면역증강제에 따라 발열 같은 전신 염증반응을 일으켜 임신 초기에 부작용(예, 태반 착상에 영향)을 야기할 가능성에 대한 우려가 있는 경우에는 면역증강제가 초기 임신 지표에 미치는 영향을 평가하기 위해 추가 투여군을 포함하도록 한다. 시험군에 교배 전에 접종하기보다는 교배 후 착상 전(즉 교배 하루 후)에 투여하는 것이 더 바람직하며 시험에 주로 사용되는 동물종이 임신기간이 짧은 점을 감안하여 최고 항체 반응을 장기간 유지하기 위해 감작 용량을 교배 전에 유지시킬 필요가 있다.

배아-태아/주산기-산후 독성검사의 최종 목표점(end-point)은 수태저해, 유산, 초기 유산(resorption) 횟수, 태아 체중, 형태, 이유 전 발달 및 성장, 생존율 및 발달 지표 등을 포함하며, 자세한 지침은 국내・외 관련 가이드라인 (‘생물의약품 비임상시험 가이드라인’(식약처)), ‘Guidance for industry; considerations for developmental studies for preventive and therapeutic vaccines for infectious diesease indications’(US FDA)과 ‘백신 비임상시험 가이드라인’(WHO) 등을 참고한다.

일반적으로 생식·발생독성시험은 임상시험과 동시에 시행될 수 있으며, 생식・발생독성시험이 끝나기 전에는 후기 임상시험에서 가임기 여성을 배제할 것을 요구하거나, 임상시험에 참여하는 여성들에게 적절한 방식의 피임을 요구하기도 한다.

6.2.4. 체내분포시험

면역증강제들은 국소적으로 항원과 밀접하게 연관되어 활성을 나타내지만, 투여 후 생체분포시험을 통해 체내 분포를 확인하는 것이 좋다. 해당 시험의 타당성과 필요성은 사례별로 고려하도록 한다.

6.2.5. 유전독성 및 발암성시험

신규 화학성분의 면역증강제나 신규 화학성분을 포함한 면역증강제에 대해서는 일반적으로 표준적 유전독성시험을 추천하나, 일반적인 백신제제는 유전독성시험을 요구하지 않는다. 이전 경험에 의하면 면역증강제나 면역증강제 함유 백신에 대해서는 발암성시험이 일반적으로 필요하지 않다.

6.2.6. 면역증강제 단독 독성시험

6.2장 도입부분에서 설명한 바와 같이, 면역증강제 함유 백신의 시험계획의 일부로 동물에서 면역증강제 단독의 포괄적인 독성시험이 포함될 수 있다. 그러나 이전에 시험된 바가 없는 새로운 면역증강제나 여러 성분의 백신제제에 사용될 새로운 면역증강제에 있어서는 초기 임상적용 용량에 대한 안전용량과 안전성 지표들을 확인하기 위한 목적으로 여러 용량에 대하여 시험할 필요가 있다.
일반적으로는 필요하지 않으나, 새로운 면역증강제가 생리학적 기능 (중추신경, 호흡기계, 심혈관계, 신장, 체온 등)에 부작용이 없음을 증명하기 위해 안전성 약리시험이 요구되기도 한다. 필요시 최종제제의 반복투여 독성시험에서 면역증강제 단독 시험을 포함시킬 수 있으며, 최초 임상시험 시작 전에 시행하는 것이 바람직하다.

6.2.7. 시험 시점에 대한 권고 요약

일반적으로 이 지침서에 실린 임상시험과 관련하여 추천되는 시험 시점들은 다른 지침서들에서와 같다. 반복 독성시험(안전성 약리 최종관찰 지표도 포함해서)은 최초 사람 임상시험 전에 수행되어야 한다. 임상시험을 시작하기 전에 면역증강제 단독 시험들(예, 전신독성 및 유전독성, 6.2.5장과 6.2.6장에서 논의된 바와 같은 필요가 있을 경우)을 수행하는 것이 중요할 수 있다. 임신부에게 사용하기 위해 개발된 백신의 경우 임상시험을 시작하기 전에 발달독성시험을 시행하여야 한다. 가임기 여성들에 사용될 수 있는 백신들의 임상시험의 경우에는 임신검사를 하거나 피임을 권장하여 임신 중에 백신에 노출되지 않도록 주의를 기울여야 한다. 이러한 백신제제들의 경우 임상시험과 같이 발달독성시험(6.2.3장)을 수행할 수 있다.

6.3. 추가 고려사항

새로운 면역증강제 함유 백신의 표적 집단에 신생아 등의 아주 어린 대상들을 포함하고 있는 특수한 경우에는 안전성 평가를 위한 추가적인 시험들이 고려되어야 한다. 그러나 신생아들의 미성숙 면역계가 면역증강제 함유 백신들에 대해 제대로 반응할지, 또는 면역증강제가 신생아 면역계를 바람직하지 못한 방향으로 변화시킬지를 평가할 수 있는 적절한 동물모델에 대한 지식이 아직 충분하지 않다. 노인인구들에서의 백신접종에 대한 반응성이 다르다는 사실도 관찰되고는 있지만 노인인구들에서 면역증강제와 면역증강제 함유 백신에 대한 면역반응을 평가할 수 있는 동물모델도 마찬가지로 불충분하다. 신생아나 노인인구를 지향하는 면역증강제 함유 백신들의 비임상시험에 사용될 방법론들을 개선할 수 있는 연구들이 장려되고 있다.

이제까지 면역증강제들이 자가면역 증상(즉, 자가면역질환)이나 과민반응의 원인이 된다는 강력한 임상적 증거는 나온 바가 없다. 면역증강제들이나 면역증강제 함유 백신들이 자가면역질환이나 과민반응을 일으키는지를 검사하는 동물모델을 개발하고자 하는 관심들이 있었지만 그런 동물모델은 아직까지 확립된 바 없다. 따라서 현 시점에서는 어떠한 비임상시험이 수행되어야 할지에 대한 권고는 할 수가 없다. 자가면역이나 과민반응 현상은 복잡하고 여러가지 인자들이 관여하기 때문에 이와 관련된 추가적 바이오마커를 찾아내기 위한 더 많은 연구가 필요할 것이다.

7. (인체에 대한) 최초 인체 적용 임상시험에 있어서의 고려사항

새로운 면역증강제 함유 백신들을 최초로 인체에 대해 임상시험에 적용하는 경우, 비임상 안전성 평가시 고려해야하는 점은 면역증강제를 함유하지 않은 백신들의 경우와 유사하다. 그러나 신규 면역증강제를 함유하고 있는 백신들의 임상평가라면, 일부 특별한 이슈들이 고려되어야 한다. 면역증강제 함유 백신의 초기 임상시험은 주로 다음과 같은 목적을 위해 수행된다. 대상자의 항원 및 면역증강제 용량 범위에 대한 내약성과, 이후 면역원성과 임상 유효성 평가에 필요한 투여용량을 결정한다. 예측되는 이상반응의 특성에 대한 정보들을 수집한다.

비임상시험에서 얻어진 정보들이 사람에 대한 최초 임상시험 계획을 수립하는데 도움을 줄 수 있기 때문에, 이 장에서는 면역증강제 함유 백신의 개발을 비임상시험에서 임상시험으로 진전시켜 나가는데 고려해야 할 논점들에 대한 지침을 제공하고자 한다.

사람에서의 안전성을 예측하는데 있어 동물실험과 in vitro 실험들이 한계가 있기는 하지만, 면역증강제 함유 백신의 최초 임상시험의 계획을 수립할 때 약리학적 활성을 나타내는 용량과 전반적인 독성 프로파일에 대한 정보 등 관련 비임상시험 자료 전부를 고려하도록 한다. 이 시험결과들은 안전한 초회 투여 용량, 투여 일정, 투여경로, 최초 임상시험에서 특별히 모니터링할 이상사례(adverse effect) 등을 결정하는데 사용된다. 면역증강제 함유 백신에 대한 최초 임상시험 계획의 승인을 더 용이하게 받기 위해서는, 비임상시험 데이터는 물론 유사하거나 연관성이 있는 면역증강제 함유 백신들의 어떠한 임상시험 데이터라도 제출하는 것이 좋다. 용량을 제한하는 독성이 동물실험에서 발견되어 이상사례를 일으키지 않는 용량을 찾기 위한 저용량의 동물시험이 추가적으로 시행되었을 경우, 비임상시험에서 관찰된 특이적 독성반응들을 적시하고 설명하는 것이 중요할 수 있다.

백신에 특정 면역증강제를 사용하는 근거와 과학적 증거가 제시되어야 한다. 여기에는 임상시험 이전에 수행된 비임상시험에서 나타난 면역증강제 사용에 따른 '추가이득'(added benefit)에 관한 정보들이 포함된다. (예, In vitro 시험 및/또는 개념증명(proof-of-concept) 동물시험들로 필요할 경우 적절한 유도 면역 후 공격시험(challenge test)을 포함한다.)

면역증강제를 포함함으로써 얻어지는 추가이득을 증명하기 위해서, 초기 임상시험에서는 면역증강제 함유 백신 시험군과 면역증강제 단독 시험군 모두 임상평가를 수행할 것을 추천한다. 이 자료에는 예를 들면 면역반응 향상이나 항원절약(antigen sparing)의 증거 등이 포함될 수 있다.

앞서 설명된 권고에 따라 독성시험이 적절하게 계획 및 수행되어 면역증강제 함유 백신의 안전성이 평가되었고 또한 이상사례가 관찰되지 않았다면, 해당 독성시험의 사람 용량을 최초 임상시험의 시작 용량으로 적용할 수 있다.

그러나 임상시험들은 항원 및/또는 면역증강제 용량을 점증적으로 증가시키는 용량점증 시험으로 계획될 수도 있다. 이를 염두에 두고 동물시험들의 한계점을 감안한다면, 임상 최초 용량을 정할 때 안전계수(safety factor)를 고려하여(전통적으로 안전계수 10이 널리 사용되어 왔음) 독성시험에서 사용된 사람에서의 추정 용량을 안전계수로 나눈 용량에서부터 용량점증 시험을 시작하는 것이 바람직하다. 면역증강제 사용이 항원절약효과를 가져올 수 있으리라 기대되므로, 최초의 임상시험은 면역증강제가 필요한지, 그렇다면 적절한 면역원성을 달성하기 위해 필요한 최소 면역증강제 용량은 얼마인지를 확립할 수 있도록 계획되어야 한다. 비활성 대조군(위약군)은 최초 임상시험에서는 필요하지 않을 수도 있지만, 초기단계 임상시험에서는 식염수 위약과 같은 비활성 대조제제 투여군을 포함하는 것이 위약 효과와 그 지역에서 유행하고 있는 질환들의 비교분석을 통한 안전성 해석에 도움이 된다. 면역증강제 단독 투여군을 포함할지의 여부는 규제기관과 상담한 후 결정하는 것이 좋다. 규제기관에 따라서는 그러한 시험계획을 윤리적인 이유로 권장하지 않는 경우가 있기 때문이다. 이런 경우는 항원 단독 투여군을 대조군으로 하는 것을 선호한다. 면역증강제 함유 백신들의 최초 임상시험은 면역증강제 비함유 백신들의 경우와 마찬가지로 안전성을 주요 목표로 제한된 수의 건강한 성인 지원자(예, 18-50세)를 대상으로 수행된다. 이 때 대상자 수는 전형적으로 20~80명 범위 이다. 그러나 시험계획, 시험할 백신제제의 제형, 그리고 다른 타당한 이유들에 따라 대상자수를 더 줄이거나 늘일 수 있다.

면역증강제 함유 백신의 포괄적 위험/이득(risk/benefit) 평가를 돕기 위해, 시험대상자들을 선정 및 제외 기준에 따라 명확하게 분류하고, 안전성을 면밀하게 관찰해야 한다. 임상시험 계획서에는 백신접종 후 적극적 모니터링의 자세한 방법이 적힌 안전성 모니터링 계획 및 임상적 및 실험실적 수치들의 위중한 정도를 평가하는 독성 기준이 포함되어야 한다.

덧붙여서, 항원과 면역증강제 용량을 사전에 정의된 단계별 증량 기준에 따라 증가시키는 계획도 함께 제출해야 한다. 또한, 특별히 신규 면역증강제가 사용될 경우에는 안전성 관찰을 마지막 접종 후 12개월까지 연장할 것을 권고한다(이 때 최종 추적은 전화통화로 할 수 있다). 따라서 혈청 시료들을 보관하여, 최초

임상시험이 시행된 한참 후에 발생할 수도 있는 심각한 이상사례, 새로운 의학적 상황, 특별한 관심을 필요로 하는 이상사례 등의 경우, 필요하면 새로운 검사를 시행할 수 있도록 하는 것이 바람직하다.

사용가능하다면 동일한 면역증강제로 다른 항원과 제형화한 다른 백신의 사용 경험에 대한 모든 안전성 자료는, 면역증강제 함유 백신을 위한 안전성 관찰 계획을 세우는데 도움이 될 수 있다. 그러나, 최초 임상시험을 통해 평가할 백신제제에 포함된 면역증강제 성분의 인체내에서의 작용기전은 일반적으로 알려져 있지 않고, 면역증강제들은 복합적인 면역반응들을 유발하는 다양한 특성을 가질 수 있기 때문에, 최초 임상시험 대상자들에게는 특이한 부작용 여부를 질문해봐야 한다. 그 예로, 국소반응(통증, 발적, 종창, 육아종 형성, 농양, 괴사, 국소 림프절 종창 등), 전신반응(발열, 오심, 설사, 식욕부진 등), 면역매개 독성(사이토카인 유리, 면역저하, 자가면역질환 등), 기형 등의 여부 등이 포함될 수 있다.

특별한 관심을 기울여야 할 이상사례로는 신경염증 장애(시신경염 및 횡단성 척수염 등), 근골격계 및 결체조직 질환(류머티즘 관절염, 전신성 루푸스, Wegener 육아종증 등), 위장관계 장애(크론병 및 궤양성 장염 등) 등이 있다. 추가적으로 표적 실험실 검사(C reactive protein, 피브리노겐, 항핵항체, 항호중구 세포질 항체, 류머티즘 인자 등)들이 이상사례와 의학적 상황들의 평가에 도움이 될 수 있다.

별첨 1.

반복투여독성시험 시에 채취할 조직 리스트:

부신 (adrenal glands)

동맥 (aorta)

대퇴골 및 관절 (bone(femur) and articulation)

흉골 및 골수 (bone(femur) and articulation)

골수 도말[2] (bone marrow smears)

뇌 (brain)

기관지(중심) (bronchi(main-stem))

맹장 (caecum)

결장 (colon)

십이지장 (duodenum)

부고환 (epididymides)

눈 (eyes)

심장 (heart)

회장 (ileum)

주사 부위(주사 영역에서 검체 채취)(injection site(s))

공장 (jejunum)

신장 및 요관 (kidneys and ureters)

후두 (larynx)

간 (liver)

폐 (lungs)

림프절(하악부) (lymph node(mandibular))

림프절(장간막) (lymph node(mesenteric))

유선 (mammary gland)

---

2) 골수 도말은 시험 도중에 도살한 사망 직전의 동물을 포함하여, 모든 동물에 대해 미리 일정을 정한 부검 시점에 만든다. 도말을 메탄올로 고정하고 May Grunwald-Giemsa 방법으로 염색한다.

식도 (oesophagus)

시신경 (optic nerves)

난소 및 난관 (ovaries and oviducts)

췌장 (pancreas)

부갑상샘 (parathyroid glands)

PP(Peyer's patches)

뇌하수체 (pituitary gland)

전립샘 (prostate)

직장 (rectum)

침샘(턱밑샘, 귀밑샘, 혀밑샘) (salivary glands(mandibular, parotid, sublingual)

좌골신경 (sciatic nerves)

정낭 (seminal vesicles)

골격근 (skelectal muscle)

피부 (skin)

척수(경부, 흉부, 요부) (spinal cord(cervical, thoracic, lumbar))

비장 (spleen)

위 (stomach)

고환 (testes)

가슴샘 (thymus)

갑상샘 (thyroid glands)

혀 (tongue)

기관 (trachea)

요관 (ureters)

방광 (urinary bladder)

자궁(자궁각 + 자궁 경관) (uterus (horns + cervix))

질 (vagina)

모든 육안적 병소 (all gross lesions)

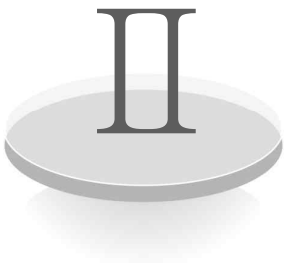
별첨 2. 면역증강제 분류 및 예

면역증강제의 주분류는 현재 허가된 백신에서 사용되거나 개발 중인 것이다. 이 목록은 유럽에서 발간된 가이드라인*에 명시된 내용으로 각 범주별로 대표 예시가 제공되어 있다.

* Guideline on adjuvants in vaccines for human use.(EMEA/CHMP/VEG/134716/2004)

면역증강제 분류	예시
▪ 암염(Mineral salts) 또는 젤(Gels)	☞알루미늄 수산화물(aluminium hydroxide) ☞알루미늄 인산염 젤(aluminium phosphate gels) ☞칼슘 인산염 젤(calcium phosphate gels)
▪ Oil-in-water / Water-in-oil 에멀젼, 양쪽 친매성 분자(amphiphilic molecules), 계면활성제 기반 제제	☞노바티스 MF59 (Tween 80/Span 85로 안정화된 oil-in-water 에멀젼) ☞QS-21(식물로부터 유래된 정제된 사포닌(saponin)) ☞GSK AS03 면역증강제(α-토코페놀을 첨가한 oil-in-water 에멀젼) ☞SEPPIC 유화제용계면활성제(Montanide) ISA 51 ☞Montanide ISA 720
▪ 미립자의 면역증강제	☞리포좀(liposomes) ☞비로좀(virosome: 인플루엔자 헤마글루티닌 결합하는 단일 리포좀 전달체) ☞DC Chol(스스로 리포좀으로 형성되는 지질 면역자극제) ☞면역자극 복합체 - ISCOMS(사포닌과 지질 구조 복합체) - CSL's Iscomatrix(결합하는 항원이 없는 면역자극 복합체) ☞PLGA(Poly(lactide-co-glycolide))와 같은 생물고분자(biopolymers)
▪ 병원체 관련 분자 패턴(천연, 합성)	☞저독성 LPS(Lipopolysaccharides) - monophosphoryl lipid A(MPL 이나 MPLA) - RC-529(합성 아실기함유 단당류(synthetic acylated monosaccharide) ☞디톡스(detox) 면역증강제 (MPL의 oil drop 에멀션과 마이코박테리움 플레이(Mycobacterium phlei) 세포벽 골격) ☞OM-174(지질 A 파생물) ☞CpG motifs(면역자극 CpG motif를 포함하는 합성 올리고디옥시리보뉴클레오티드(oligodeoxynucleotide) ☞유전적으로 항체와 결합하는 박테리아 플라젤린(flagellin) ☞독소가 없는 면역증강 효과를 위해 유전적으로 변형된 박테리아 독소(예: 비내열성 엔테로톡신, 콜레라독소) ☞합성 dsRNA(예: poly IC, poly ICLC(Hiltonol) 과 poly I:poly C12U(Ampligen)

▪ 사람내부의 면역자극제	☞사이토카인(Cytokines) : human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor(hGM-CSF) 또는 단백질이나 플라스미드 정제로 관리되고 있는 IL-12 (DNA 백신 벡터에 포함되어 있는 DNA 시퀀스는 유전자발현을 향상시키고 백신 recipients에 항원에 반하는 면역반응을 증가시키는 능력이 있음)
▪ 비활성화 전달체	☞금입자
▪ 인슐린 유래 면역증강제	☞Vaxine의 델타 인슐린(Advax 같은 식물 유래 다당류)
▪ 면역증강제 혼합 또는 면역증강제 시스템 * 항원 뿐만아니라 면역자극면역증강제 전달에 보다 효과적	☞AS01(리포좀 + MPL + QS-21) ☞AS03(α-토코페놀 + oil-in-water 에멀젼) ☞AS04(MPL + 알루미늄 수산화물) ☞AS15(리포좀 + MPL + QS-21 + CpG oligodeoxynucleotide) ☞glucopyranosyl 지질 면역증강제 안정 에멀젼(안정적인 oil-in-water 에멀젼에 포함된 합성 아실기함유 단당류) ☞CAF01(리포좀 + 네 개로 구성된 암모니아 지질 + 마이코박테리아 지질 합성유사체)



유전자재조합의약품 비임상시험 가이드라인

생물의약품 비임상시험 가이드라인(민원인 안내서)

목 차

1. 서론 ····· 75
1.1. 배경 ····· 75
1.2. 목적 ····· 75
1.3. 범위 ····· 76

2. 시험물질의 특성 ····· 76

3. 일반 사항 ····· 77
3.1. 일반 원칙 ····· 77
3.2. 생물학적 활성/약력학 ····· 78
3.3. 동물종 및 동물 모델의 선택 ····· 79
3.4. 동물 수 및 성별 ····· 81
3.5. 투여량 및 투여경로의 설정 ····· 81
3.6. 면역원성 ····· 82

4. 특별 고려사항 ····· 83
4.1. 안전성약리시험 ····· 83
4.2. 노출 평가 ····· 83
4.2.1. 약동학과 독성동태 ····· 83
4.2.2. 분석 ····· 84
4.2.3. 대사 ····· 84
4.3. 단회투여독성시험 ····· 85
4.4. 반복투여독성시험 ····· 85
4.5. 면역독성시험 ····· 86
4.6. 생식·발생독성시험 ····· 86
4.7. 유전독성시험 ····· 87
4.8. 발암성시험 ····· 87
4.9. 국소내성시험 ····· 88

주석 ····· 89

부 록

1. 서론 ····· 90
1.1. 목적 ····· 90
1.2. 배경 ····· 90
1.3. 범위 ····· 90

2. 종 선택 ····· 91
2.1. 일반 원칙 ····· 91
2.2. 하나 또는 두 개의 종 ····· 92
2.3. 상동 단백질의 사용 ····· 92

3. 시험 디자인 ····· 93
3.1. 용량 결정 및 약동학/약력학 원리의 적용 ····· 93
3.2. 시험 기간 ····· 93
3.3. 회복 ····· 94

4. 면역원성 ····· 94

5. 생식독성과 발생독성 ····· 95
5.1. 일반 원칙 ····· 95
5.2. 수태능 ····· 96
5.3. 배·태아 발달과 출생 전후 발달 ····· 96
5.4. 시험 시점 ····· 97

6. 발암성 ····· 98

주석 ····· 100

참고문헌 ····· 104

유전자재조합의약품 비임상시험 가이드라인

1 서 론

1.1. 배경

유전자재조합의약품의 개발은 1980년대 초기에 시작되어 사이토카인, 호르몬 등 저분자량 단백질의약품에서 최근의 다양한 항체의약품에 이르기까지 비약적인 발전을 거듭해왔다. 이 가이드라인은 유전자재조합의약품의 비임상시험 시 고려하여야 할 일반적인 원칙을 제공하고자 'Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals(ICH S6(R1), 1997년)'를 토대로 하여 2008년 발간되었으며 이번 개정판에서는 그 이후 과학의 발전과 축적된 경험들을 반영하여 부록을 추가하였다.

이 가이드라인과 관련된 규정은 다음과 같다.

「약사법」 제31조, 제35조, 제42조 및 「의약품 등의 안전에 관한 규칙」 제4조, 제8조부터 제12조에 따라 유전자재조합의약품의 제조판매(수입)품목허가 및 변경허가를 위한 심사에 관한 세부사항은 「생물학적제제 등의 품목허가·심사 규정」(식품의약품안전처 고시)에서 정하고 있다. 동 고시 제6조에서는 품목(변경)허가 시 제출되는 심사자료의 종류를 정하고 있으며, 제7조에서는 심사자료의 요건을 정하고 있다.

독성에 관한 자료는 「비임상시험관리기준」(식품의약품안전처 고시)에 적합하며, 「의약품등의 독성시험기준」(식품의약품안전처 고시)에 부합하거나 시험방법 및 평가기준 등이 과학적·합리적으로 타당한 자료여야 한다.

1.2. 목적

이 가이드라인의 일차 목적은 다음과 같다. 1) 사람에서의 안전한 최초 투여 용량 및 용량 증량 계획 확립, 2) 독성이 나타날 수 있는 장기 및 독성의 가역성 여부 확인, 3) 임상시험 모니터링을 위한 안전성 평가변수의 확인이다. 아울러 이

가이드라인의 원칙을 따름으로써 유전자재조합의약품의 개발에 사용되는 비임상 안전성 시험의 품질과 일관성을 개선하는 것을 목적으로 하고 있다.

1.3. 범위

이 가이드라인의 일차 목적은 유전자재조합의약품의 비임상 안전성 평가를 위한 기본 원칙을 제시하는 것이다. 이 가이드라인은 세균, 효모, 곤충, 식물, 그리고 동물세포를 포함한 다양한 발현 시스템을 사용하는 특성화된 세포에서 유래된 산물로서 생체 내 진단, 치료 또는 예방을 목적으로 하는 의약품에 적용 가능하다. 세포배양의약품, 형질전환 식물과 동물 유래 의약품도 이 가이드라인의 대상에 포함 된다.

이 가이드라인은 혈액성분제제, 세균백신, 바이러스백신, 유전자치료제 및 세포치료제, 항생제, 헤파린 등에는 적합하지 않을 수 있다.

2 시험물질의 특성

불순물이나 오염물질의 존재로 안전성에 관한 문제가 생길 가능성이 있다. 불순물이나 오염물질에 대한 비임상시험을 계획하는 것보다는 불순물 또는 오염물질을 정제하는 공정을 두는 것이 더 좋다. 비임상시험을 적절하게 계획하기 위해서는 유전자재조합의약품에 대한 특성분석이 충분히 이루어져야 한다.

일반적으로 유전자재조합의약품에는 세균, 효모, 곤충, 식물 및 포유동물 세포와 같은 숙주세포유래의 성분과 관련된 위험이 수반될 가능성이 있다. 이러한 숙주세포유래 성분은 알레르기 반응이나 그 밖의 면역·병리학적 반응을 일으킬 가능성이 있다. 숙주유래 DNA는 이론적으로 숙주의 유전체에 삽입될 가능성이 있으며, 추가적으로 곤충, 식물 및 포유동물 세포, 또는 형질전환 식물 및 형질전환 동물유래 의약품의 경우에는 바이러스 감염의 위험성도 있다.

일반적으로 약리시험 및 독성시험에 사용하는 시험물질은 임상시험에서 최초로 사용할 예정인 것과 동등해야 한다. 그러나 개발 과정에서 제품의 품질 및 회수율을 향상시키기 위해 제조공정을 변경하는 것이 일반적이기 때문에 비임상시험에서 관찰된 시험결과를 사람에게 외삽할 때는 이러한 변경이 미치는 영향을 충분히 고려하여야 한다.

개발 기간 중에 새로운 또는 변경된 제조공정을 이용했을 경우, 제품 또는 완제품 조성에 중대한 변경을 가한 경우에는 개발 과정 중에 사용된 시험물질의 동등성을 입증하여야 한다. 동등성은 확인시험, 순도시험, 안정성시험, 역가시험 등을 통한 생화학적 및 생물학적 특성에 근거해서 평가할 수 있으며, 약동학시험, 약력학시험 및 안전성시험과 같은 추가시험이 필요한 경우도 있다. 이 경우 동등성 입증에 대한 과학적 근거가 제공되어야 한다.

3 일반 사항

3.1. 일반 원칙

비임상시험의 목적은 임상시험 실시 이전 뿐 아니라 임상시험 전 단계를 통해서 의약품의 약리작용 및 독성작용을 밝히는 것이며, 생체 외(*in vitro*) 및 생체 내(*in vivo*) 시험을 통해서 이러한 약리 및 독성학적 특성을 파악할 수 있다. 임상적으로 널리 사용되는 의약품과 구조적 및 약리학적으로 동등한 유전자재조합의약품의 경우 독성시험이 간소화될 수 있다.

비임상시험에서는 아래 항목에 대하여 고려해야 한다.

- 적절한 동물종의 선택
- 연령
- 생리적 상태
- 투여방법 : 투여량, 투여경로, 투여일정
- 사용조건 하에서의 시험물질의 안정성

독성시험은 「비임상시험관리기준」(식품의약품안전처 고시)(이하 'GLP'라고 한다)에 적합하게 실시되어야 하며, 안전성약리시험의 경우 GLP에 따른 수행이 필수적인 요구사항은 아니나 GLP에 따른 시험 수행이 권고된다. 유전자재조합의약품에서 필요로 하는 많은 특수한 시험계 중에는 완전하게 GLP에 준하여 실시할 수 없는 것이 있다. 이러한 경우에는 시험방법 및 평가기준 등이 과학적·합리적으로 타당한 것이어야 하며, GLP에 적합하지 않은 부분을 명확히 하고 전반적인 안전성 평가에 미치는 영향 등에 대하여 평가해야 한다.

유전자재조합의약품에서는 특이하고 다양한 구조와 종 특이성, 면역원성 및 예측하지 못한 다형질 발현 활성(pleiotropic activities) 등 생물학적 성질 때문에 일반의약품의 전형적인 독성시험법이 적절하지 않은 경우가 있다.

3.2. 생물학적 활성/약력학

제품의 어느 작용이 임상 효능과 관련되어 있는지 명확히 하기 위하여 생체 외(*in vitro*) 시험법으로 생물학적 활성을 평가할 수 있다. 세포주 또는 초대 배양세포(primary cell culture)를 사용하는 것은 세포의 표현형이나 증식에 미치는 직접적인 효과에 대해서 검토하기 위해 유용하다. 많은 유전자재조합의약품에는 종 특이성이 있기 때문에 독성시험에서는 적절한 동물종을 선택하는 것이 중요하다. 생체 내(*in vivo*) 활성에 대해 어느 특정 성질을 예측하거나 사람을 포함하는 복수의 동물종의 생물의약품에 대한 상대적 감수성을 정량적으로 평가하기 위해 포유동물 유래의 배양세포계를 이용할 수 있다. 이러한 시험은 수용체 점유율, 수용체와의 친화성 또는 약리학적 효과, 생체 내 약리시험이나 독성시험을 수행하기 위한 적절한 동물종의 선택을 위해 디자인 될 수 있다. 이 생체 외(*in vitro*) 및 생체 내(*in vivo*)의 시험결과를 함께 평가하는 것은 시험결과를 사람에게 외삽할 때 유용하다. 작용기전 설명 등의 약리 활성을 평가하기 위한 생체 내(*in vivo*) 시험은 임상시험에서 그 제품이 이용되는 근거를 제공하기 위해 종종 이용된다.

단클론항체에 관해서는 항원 특이성, 보체 결합성 및 표적 조직 이외의 사람 조직에 대한 의도되지 않은 반응성 및 세포독성 등을 포함해서 항체의 면역학적 특성에 대해서 상세하게 검토되어야 한다. 이러한 교차반응성 시험은 일련의 사람 조직을 사용한 적절한 면역 조직화학적 방법으로 실시되어야 한다.

3.3. 동물종 및 동물 모델의 선택

많은 유전자재조합의약품에서는 종, 조직 특이성을 수반하는 생물활성 때문에 일반적으로 사용되는 동물종(랫드, 개)을 사용한 표준 독성시험이 종종 의미를 갖지 않는다. 안전성 평가는 적절한 동물종을 사용하도록 계획한다. 적절한 동물종은 예를 들어 단클론항체의 경우 그 동물종에 수용체 또는 항원결정부위(epitope)가 발현되고 있어 시험물질이 약리학적 활성을 나타낼 수 있는 동물종이다. 다양한 시험(예 : 면역화학적 시험, 기능시험)을 통해 적절한 동물종을 정할 수 있다. 수용체 및 항원결정부위의 분포를 아는 것은 생체 내에서 독성을 나타낼 가능성을 이해하는데 도움이 된다.

단클론항체의 시험을 위한 적절한 동물종은 의도하는 항원결정부위를 발현하고 사람 조직의 경우와 유사한 조직 교차반응성을 나타내는 동물종이다. 이러한 동물종을 사용해서 항원결정부위로의 결합이나 의도하지 않은 조직 교차반응성에 의해 일어나는 독성 평가를 가장 효과적으로 실시할 수 있다. 의도하는 항원결정부위를 발현하지 않는 동물종이라도 의도하지 않은 조직 교차반응성이 사람과 거의 동등하다는 것이 알려져 있다면 몇 가지의 독성 평가에 사용할 여지는 남는다.

안전성 평가는 통상 두 종류의 적절한 동물종을 사용하도록 계획되어야 한다. 그러나 정당한 이유가 제시되어 있으면 한 종의 적절한 동물만으로 충분한 경우가 있다(적절한 동물종이 한 종류만 확인되었거나 유전자재조합의약품의 생물학적 특성이 충분히 해명되는 경우). 또한 단기시험에서 독성을 해석하는 데 두 종류의 동물종이 필요한 경우라도 계속 실시되는 장기시험에서는 두 종 모두의 독성

프로파일이 동등하게 나타날 경우 추가적인 장기 독성시험에 대해서는 한 종류의 동물종으로 시험을 수행할 수 있다.

적절하지 않은 동물종을 사용한 독성시험에서는 잘못된 결론이 도출되는 경우가 있으므로 권고되지 않는다. 적절한 동물종이 존재하지 않는 경우 사람형 수용체를 발현시킨 형질전환 동물 또는 그 동물에 있어서의 상동 단백질 등을 사용하는 것을 검토해야 한다.

해당 의약품과 그 사람형 수용체의 상호작용이 사람에게서 기대되는 상호작용과 동일한 생리학적 반응을 일으킬 경우 사람형 수용체를 발현한 형질전환 동물 모델을 사용해서 얻은 정보가 유효할 수 있다. 상동 단백질을 이용하여 유익한 정보를 얻는 경우도 있지만 상동 단백질과 임상에서 사용 예정인 제품 간에는 제조공정, 불순물 및 오염물질의 정도, 약물동태 및 엄밀한 의미에서의 약리작용 기전이 다를 가능성이 있음을 주의해야 한다. 형질전환 동물이나 상동 단백질의 사용이 불가능할 경우에도 한 종의 동물종에서 제한적인 독성시험[예를 들면 중요한 기능적 지표(예 : 심혈관계와 호흡기계)의 평가를 포함하는 14일 이하의 반복투여독성시험]을 통해 잠재적인 독성 측면을 평가할 필요가 있다.

최근에는 사람의 질환과 유사한 것으로 생각되는 실험동물 모델 개발이 두드러지게 발전하고 있다. 이러한 동물 모델에는 유발성 및 자연발생적 질환 모델, 유전자 결손 모델 및 형질전환 동물 모델이 포함된다. 이러한 모델은 제품의 약리작용, 약물동태 및 용량을 결정할 때 많은 소견을 가져옴은 물론, 안전성(질병의 악화에 미치는 영향 평가 등)을 평가할 때 유익할 것이다. 질환 동물 모델로 실시한 시험이 정상 동물에 의한 독성시험 대신 수용 가능한 경우도 있을 수 있다. 이때에는 이러한 질환 동물 모델을 사용해서 안전성을 평가하는 과학적인 타당성이 명확히 제시되어야 한다.

3.4. 동물 수 및 성별

각 투여량별로 사용되는 동물 수는 독성의 검출 능력에 직접 영향을 미친다. 사례수가 적을 경우 독성의 강하고 약한 정도와 관계없이 발현 빈도만이 관찰되므로 잘못된 정보를 얻을 수 있다. 종종 사람 이외의 영장류를 사용한 실험의 경우에서처럼 사례수에 기인하는 한계는 관찰 빈도를 늘리거나 관찰 기간을 연장함으로써 부분적으로 보완할 수 있다. 일반적으로 성별의 경우 암수 모두를 사용해야 하는데 한쪽을 생략할 경우에는 타당성을 제시해야 한다.

3.5. 투여량 및 투여경로의 설정

투여경로 및 투여횟수는 임상 적용 시 예정된 투여방법에 가능한 한 유사한 형태로 해야 한다. 사용되는 동물종에서 의약품의 약물동태, 생물학적 이용률 및 실험동물에 안전하고 인도적으로 투여할 수 있는 투여용량을 고려하여 설정한다. 예를 들어 유효성분의 소실 속도가 빠른 경우나 용해성이 낮을 경우, 이를 보완하기 위해 실험동물에서는 투여횟수를 임상시험에서 예정된 투여횟수 보다 늘리는 경우도 있을 수 있다. 이러한 경우에는 임상에서의 투여용량에 대한 실험동물에서의 상대적인 투여량에 대해서 명시해야 한다. 또한 투여량, 농도, 제형 및 투여부위의 영향도 고려해야 한다. 투여경로, 동물종에 따른 크기 또는 생리적인 이유로 인한 한계 때문에 생물학적 이용률에 한계가 있어 투여경로를 변경해야 하는 경우에는 임상에서 예정되어 있는 투여경로 이외의 경로로 투여하는 것도 받아들일 수 있다.

투여량은 독성용량 및 무독성용량(NOAEL)을 포함해서 용량-반응 관계에 대한 정보를 얻을 수 있도록 설정해야 한다. 독성이 거의 없거나 전혀 없는 의약품에서는 명확한 최대 용량을 구할 수 없는 경우가 있다. 이러한 경우는 그 용량 설정 및 계획되어 있는 임상에서의 투여횟수에 대한 과학적으로 타당성 있는 근거가 요구된다. 고용량 설정의 타당성을 입증하기 위해서는 예측되는 약리학적/생리학적 효과, 적합한 시험물질의 사용 여부, 임상적 사용에 대한 고려가 제시되어야 한다. 사람의 세포에서 보다 선택된 동물종의 세포에서 더 낮은 친화도나 역가를 갖는 품목의

경우 더 높은 투여량에 대한 시험을 고려해야 한다. 적절한 안전역을 결정하기 위해 필요한 임상용량은 각 유전자재조합의약품의 종류와 임상 적응증에 따라 변할 수 있다.

3.6. 면역원성

사람에게 적용되는 유전자재조합의약품의 대부분은 동물에서 면역원성을 나타낸다. 그 때문에 반복투여 독성시험을 실시할 때는 이 시험의 해석에 활용하기 위해 이 종에서 의약품의 투여에 따라 생성된 항체를 측정해야 한다. 항체 반응의 특성(역가, 반응 동물의 수, 중화항체 여부)을 밝히고, 항체 발현과 약리・독성학적 변화와의 관련성에 대해서 검토해야 한다. 특히 자료를 해석할 때는 항체의 생성이 약동학/약력학적 변수, 이상반응의 정도 및 발현율, 보체의 활성화 또는 새로운 독성 작용의 발현에 어떻게 영향을 미치는가에 대해서도 고려해야 한다. 또한 면역복합체의 형성 및 침착과 관련해서 일어날 수 있는 병리학적 변화에 대해서도 평가해야 한다.

대부분의 실험동물에서 면역반응에 따라 유전자재조합의약품의 약리 또는 독성 작용이 중화되지 않는 한, 항체가 검출되는 것만으로 비임상 안전성시험을 초기 단계에서 중지하거나, 시험 기간을 변경해서는 안 된다. 대부분의 경우, 유전자재조합의약품에 대한 면역반응은 사람의 경우와 마찬가지로 개체차가 크다. 안전성시험자료의 정당한 해석을 방해하는 것이 아닌 이상, 중요하지 않은 사항은 항체 반응에 기인하는 것으로 볼 수 있다.

동물에서 항체의 생성이 유도되었다는 것이 사람에서의 항체 생성 가능성을 예측하는 것은 아니다. 사람에게는 인간화된 단백질(humanized protein)에 대해서도 혈청 항체가 생성되는 경우가 있고, 또 종종 항체가 존재해도 치료효과가 지속된다. 사람에게서는 유전자 변형 단백질에 대한 현저한 아나필락시스 반응이 생기는 경우는 드문 일이다. 이러한 점에서 단백질의약품에 대해 주로 양성을 나타내는 기니픽에서의 아나필락시스 시험의 결과는 사람에서의 반응을 예측할 수는 없다. 따라서 이러한 시험은 단백질제제를 평가하는 시험으로는 의미가 없다고 볼 수 있다.

4 특별 고려사항

4.1. 안전성약리시험

유전자재조합의약품의 안전성약리시험은 생리적 기능에 미치는 바람직하지 않은 잠재적인 약력학적 효과를 파악하기 위하여 실시된다. 표준적으로는 안전성약리 필수시험(core battery)(심혈관계, 호흡기계, 중추신경계)에 적절히 추적시험·추가시험을 첨가하여 실시한다. 안전성약리시험에서는 시험동물뿐만 아니라 추출된 장기와 조직, 세포, 수용체, 세포 소기관, 이온통로 등 다양한 시험계가 사용된다. 약리효과는 각 시험물질의 특성에 따라 다양하기 때문에 안전성약리 시험 설계 시에는 시험계, 투여량, 관찰시점 등을 적절하게 고려하여야 한다.

매우 특이적인 수용체를 표적으로 하는 유전자재조합의약품의 경우에는 약력학적 연구나 독성학의 한 부분으로서 안전성약리시험의 평가지표(end point)를 포함할 수 있는 경우가 있으므로 안전성약리시험이 축소되거나 생략될 수 있다.

4.2. 노출 평가

4.2.1. 약동학과 독성동태

유전자재조합의약품의 약동학 연구를 위해 일률적인 가이드라인을 적용하는 것은 어렵다. 관련 종에서 단회 및 반복투여시의 약동학, 독성동태, 조직 분포 연구를 수행하는 것이 유용하다. 그러나 질량 균형(mass balance) 평가를 위한 일상적인 연구의 시도는 유용하지 않다. 동물종 사이의 약동학 차이는 동물 연구에서의 예측성이나 독성 연구에서의 용량 반응 관계 평가에 중대한 영향을 미친다. 면역 매개 제거 작용기전으로 인한 약동학적 양상의 변화는 독성 양상과 독성 데이터 해석에 영향을 미칠 수 있다. 몇몇 의약품에서는 약동학적 양상에 비해서 약력학적 효과가 매우 느리게 나타나거나(예 : 사이토카인) 또는 매우 오래 지속될 수 있다.

가능하다면, 약동학 연구는 독성시험과 임상에서의 사용을 대표할 수 있는 시험물질을 사용하여야 하며 임상에서 예정된 투여 경로를 적용하여야 한다. 흡수 패턴은 물질의 조성, 농도, 투여부위, 투여량에 영향을 받을 수 있다. 가능하다면 독성 연구 중에 전신 노출을 모니터링 하여야 한다.

방사성 표지한 단백질을 사용한 경우는 표지체와 비표지체의 활성과 생물학적 성질이 동등함을 보이는 것이 중요하다. 방사성 표지 단백질을 사용한 조직에서의 방사성 및/또는 자가방사성(autoradiography) 농도 데이터는 생체에서의 빠른 대사 또는 불안정한 방사성 결합으로 인해 해석이 어려울 수 있다. 특정 아미노산에 결합된 방사성 표지자를 이용한 연구는 아미노산이 약물과 관련 없는 단백질/펩티드로 재활용될 수 있으므로 해석에 주의해야 한다.

임상 시험 이전에 노출도와 용량에 근거한 안전성 마진을 예측하기 위해서 관련 동물 모델에서 흡수, 분포 및 제거에 대한 정보를 얻을 수 있어야 한다.

4.2.2. 분석

사례별로 하나 또는 여러 가지 분석 방법을 사용하여야 하며, 과학적 근거가 제시되어야 한다. 일반적으로 하나의 검증된 분석법으로 충분하다. 예를 들어 방사성 표지된 단백질의 투여 후 TCA(trichloroacetic acid) 침전 방사성을 정량함으로써 적절한 정보를 얻을 수 있으나 분석물질에 특이적인 분석방법을 사용하는 것이 더 좋다. 동물과 사람에게서 동일한 분석법을 사용하는 것이 이상적이다. 혈장/혈청에서 혈장 결합 단백질과/또는 항체가 분석에 미칠 수 있는 영향을 확인하여야 한다.

4.2.3. 대사

유전자재조합의약품은 작은 크기의 펩티드 및 아미노산으로 분해되므로 대사과정은 잘 알려져 있다. 유전자재조합의약품에서 화학의약품에 적용되는 전형적인 대사연구는 필요하지 않다.

생물학적 매트릭스(예 : 혈장, 혈청, 뇌척수액)에서 유전자재조합의약품의 움직임을 이해하는 것과 결합 단백질이 미치는 영향을 이해하는 것은 약력학적 효과를 이해하는데 중요하다.

4.3. 단회투여독성시험

단회투여독성시험은 투여용량과 전신 또는 국소 독성과의 관련성을 설명하는 유용한 자료를 제공하며 반복투여독성시험의 용량선정에 사용될 수 있다. 약리시험이나 질환 동물 모델을 이용한 효력시험에서 얻을 수 있는 용량-반응 상관성에 대한 정보를 단회투여독성시험을 통하여 얻을 수 있다. 이러한 시험을 설계할 때는 안전성약리시험에서의 측정 항목을 함께 고려할 수 있다.

4.4. 반복투여독성시험

반복투여독성시험에 사용하는 동물종을 선택할 때의 고려사항은 '3.3. 동물종 및 동물 모델의 선택'을 참고한다. 투여경로와 투여방법은 예정되어 있는 임상에서의 사용이나 노출 정도를 반영하여야 한다. 가능한 경우 반복투여독성시험에서 독성동태시험을 포함하여 수행한다.

약리작용 및 독성작용의 가역성 또는 잠재적인 악화 가능성, 지연독성작용의 가능성을 확인하기 위해 일반적으로 시험 설계 시에 회복기간을 설정하여야 한다. 지속성의 약리작용/독성작용을 유발하는 유전자재조합의약품의 경우에는 회복 관찰군의 동물에 가역적인 회복이 인정되기까지 관찰되어야 한다. 반복투여독성시험의 시험기간은 예정되어 있는 임상에서의 투여기간 및 적응증에 근거하여 설정하여야 한다. 일반적으로 동물시험의 투여기간은 대부분의 유전자재조합의약품의 경우 1~3개월이다. 단기 사용(예를 들면 7일 이내) 및 급성인 치명적 질환에 사용하려고 하는 유전자재조합의약품의 경우에는 임상시험승인 및 품목허가를 위해 2주일까지의 반복투여독성시험을 실시하는 것이 적당하다고 여겨진다. 만성질환에 사용하는 유전자재조합의약품의 경우에는 품목허가를 위해 일반적으로 6개월의 시험기간이 적당하다고 여겨진다. 임상에서 장기 사용을 하고자 하는 경우에는 장기 독성시험 기간에 대해서 과학적 타당성을 명확히 하여야 한다.

4.5. 면역독성시험

면역독성 평가의 한 측면에는 발생 가능한 면역원성 평가가 포함된다(3.6항 참고). 대부분의 유전자재조합의약품은 면역계의 항진 또는 억제를 의도하기 때문에 체액성 면역뿐만 아니라 세포성 면역에도 영향을 주는 경우가 있다. 주사부위 염증반응은 자극반응을 나타낸다. 그러나 중요한 점은 주성분이 빠진 조성물(formulation vehicle)에 의한 단순한 주사부위 외상/또는 특정 독성 효과가 주사부위에서 독성 변화를 일으킬 수도 있다는 것이다. 게다가 표적세포에서 표면 항원의 발현이 변하면 자가 면역 가능성을 내포하게 된다. 면역독성시험 전략을 수립할 때는 이러한 이슈들을 명확히 하기 위하여 검색 연구를 실시하고 기전 연구를 하는 것이 필요하다. 그러나 유전자재조합의약품에서는 전형적인 단계별 시험법이나 표준 시험법이 필요하지는 않다.

4.6. 생식·발생독성시험

생식・발생독성시험이 필요한지 여부는 해당 의약품의 임상 적응증 및 예상되는 대상 질환이나 환자군에 따라 다르다. 개별 시험의 디자인 및 투여계획은 종특이성, 면역원성, 생물학적 활성 및 긴 소실반감기와 관련되는 사항에 근거하여 수정될 수 있다. 예를 들면, 지속성의 면역작용을 갖는 단클론항체에 대해서는 신생아의 면역기능을 조사하도록 고안된 시험 디자인에서 발생과정에서의 면역독성(developmental immunotoxicity)의 가능성을 평가할 수 있다.

적절한 동물종이 영장류뿐인 특정 분류의 화합물(예를 들어 인터페론)에서 생식・발생 독성에 관한 많은 정보가 존재할 경우에는, 새로운 유사한 유전자재조합의약품에서 동일한 작용을 나타낸다는 작용기전 시험이 있으면, 일반적인 생식・발생 독성시험은 필요하지 않을 수 있다. 어떤 경우이든 생식・발생 독성시험에 영향을 미칠 가능성의 평가에 대해서는 과학적인 근거를 밝혀야 한다.

4.7. 유전독성시험

일반의약품에서 통상 실시되어온 표준적인 유전독성시험의 범위와 종류는 통상의 유전자재조합의약품에 대해서는 적절하지 않다. 이것은 단백질이나 펩티드가 세포막을 통과해서 DNA나 염색체 성분에 직접 작용할 가능성이 없기 때문이다. 그러나 자연발생의 돌연변이 세포가 축적되어(예를 들면 특정 세포의 증식을 선택적으로 촉진함으로써), 그 결과 발암성 유발이 염려되는 유전자재조합의약품의 경우에는 이 문제에 대응하기 위해 기존의 것을 대신하는 생체 외(*in vitro*) 또는 생체 내(*in vivo*) 모델이 개발되고 평가되어야 한다.

유전독성에 대한 우려가 있는 제품(예를 들면, 약물 결합 단백질의약품내에 유기 결합 분자(organic linker molecule)가 존재할 경우)에서는 새롭게 개발된 방법 등도 포함해서 적절한 시험계로 시험을 실시해야 한다. 제조과정상의 오염물에 대한 유전독성을 평가하기 위해서 표준적인 유전독성시험의 실시는 적절하지 않다. 그러나 그러한 목적 때문에 이 시험을 실시하는 경우에는 그 타당성을 명확히 하여야 한다.

4.8. 발암성 시험

유전자재조합의약품에 대해서는 표준적인 발암성시험은 일반적으로 부적절하다. 그러나 유전자재조합의약품의 임상 투여기간, 환자군, 생물학적 활성(예를 들면 성장호르몬, 면역억제제 등)에 따라서 개별적으로 발암성을 평가할 필요성이 있을 수 있다. 또한 발암성에 대한 우려가 있는 경우는 평가를 위해 여러 가지 시험방법을 고려할 수 있다.

예를 들어 형질전환 세포의 증식이나 종양의 전 단계 변화인 증식성 변화를 유도하는 클론성 증식을 유지 또는 유발하는 것이 우려되는 유전자재조합의약품에 대해서는 대상이 되는 환자군에 대응하는 각종 사람 악성 종양 세포 및 정상세포의 수용체의 발현에 관해서 평가해야 한다. 생체 외 결과에서 발암성이 의심되는 경우는 적절한 동물 모델을 사용하여 시험을 실시해야 한다.

유전자재조합의약품이 설치류에 대해서 생물활성이 있고 면역원성이 없으며, 다른 독성시험의 정보로 충분한 평가를 할 수 없다면 한 종류의 설치류로 발암성시험을 실시하는 것을 고려해야 한다. 용량의 선택은 신중하게 해야 한다. 적절한 용량을 설정하려면 수용체의 특성을 고려한 약동·약력학 평가항목 및 예정되어 있는 사람에서의 노출량을 고려하는 것이 가장 과학적인 방법이다. 그리고 용량설정의 이론적 근거에 대해서는 확실히 밝혀야 한다.

4.9. 국소내성시험

국소내성에 대한 평가가 이루어져야 한다. 시판되고 있는 제형 혹은 (타당성이 있으면) 유사한 제형을 사용해서 국소자극성에 대해서 검토해야 한다. 국소내성이란 일반의약품에서 제조 종사자에 대한 안전성 평가로서의 눈자극성, 피부자극성 시험의 요구가 아니고, 주사한 국소의 자극반응을 관찰하는 것을 의미하고 있다. 따라서 단회 또는 반복투여독성시험에 포함해서 평가할 수 있는 경우에는 꼭 독립된 국소내성시험을 실시할 필요는 없다.

[주석]

주석 1 질환 동물 모델은 독성학적 평가변수를 정의하고, 임상 적응증을 선택하고, 적절한 조성과 투여 경로, 치료법을 결정하는데 유용하다. 이러한 질환 동물 모델에서 연구결과를 평가할 때 참고자료로 사용할 과거 시험자료가 종종 부족하다. 그러므로 대조군 및 베이스라인 데이터 수집은 연구 디자인을 최적화하는데 필수적이다.

주석 2 관련된 종이 사람이 아닌 영장류인 경우, 특정 종류의 물질(예 : 인터페론)이 생식과/또는 발생에 미칠 수 있는 영향에 대해서 사용가능한 많은 정보가 있을 수 있다. 그러한 경우에 새롭지만 관련된 물질이 기전연구에서 유사한 효과를 나타낸다면 전형적인 생식/발생독성 연구를 생략할 수 있다. 각각의 경우에, 생식/발생에 미치는 영향을 평가하기 위한 과학적 근거가 제공되어야 한다.

주석 3 몇몇의 유전자재조합의약품에서 자발적으로 변이된 세포(예 : 특정세포의 선택적 증식을 촉진함으로써)의 축적에 따라 발암성이 나타날 가능성이 있다. 유전독성시험의 기준은 이러한 조건을 검출하도록 설계되지 않았다. 이러한 문제를 해결하기 위한 생체 외(*in vitro*) 혹은 생체 내(*in vivo*) 모델이 개발되고 평가되어야 한다.

[부록]

이 부록은 본문의 서론에서 제시한 대로 ICH S6 가이드라인과 밀접한 연관성이 있으며 2008년에 발간된 내용을 보완하고 있다. 부록의 내용이 본문과 상이할 시 부록을 적용한다.

1. 서론

1.1. 목적

이 부록의 목적은 이 가이드라인에서 논의되고 있는 다음의 사항을 좀 더 명확히 하고 보완하는 것이다 : 종 선택, 시험 디자인, 면역원성, 생식·발생 독성시험, 발암성 평가. 과학의 발전과 가이드라인 발간 후의 축적된 경험들을 부록에 보완하였다.

이 가이드라인은 임상시험을 적시에 수행할 수 있도록 하고, 3Rs[reduce(감소)/refine(개선)/replace(대체)] 원칙에 따라 시험동물 사용을 줄이고 의약품 개발에 필요한 다른 자원의 사용을 줄이는데 도움을 줄 것이다.

1.2. 배경

이 개정판의 권고 사항들은 여러 지역 간 다양한 단계의 임상 개발을 지원하기 위한 유전자재조합의약품의 비임상 안전성 시험을 국제적인 기준과 더 조화시키고자 하였다.

1.3. 범위

이 부록의 적용범위는 본문의 범위와 다르지 않다. 유전자재조합의약품 중 항암제의 경우에는 '항암제 임상시험계획(IND) 및 품목허가(NDA) 승인을 위한 비임상시험자료 심사지침(식품의약품안전처, 2010년)' 또는 'Nonclinical Evaluation for Anticancer Pharmaceuticals(ICH S9, 2009년)'을 참고한다.

2. 종 선택

2.1. 일반 원칙

종 연관성을 결정지을 때 고려해야 할 인자는 여러 가지이다. 종 연관성을 결정하기 위해 우선 종 간 표적 염기서열 상동성 비교를 실시하는 것이 적절할 수 있으며, 이어서 생체 외(*in vitro*) 시험을 통해 상대적인 표적 결합 친화도, 수용체/리간드 점유, 동태에 대한 종 간의 정성·정량적인 비교 연구를 수행한다.

또한 기능적 활성을 평가하는 것이 좋다. 기능적 활성은 종 특이적 세포를 사용한 시험이나, 생체 내(*in vivo*) 약리학 또는 독성학 연구를 통해 평가할 수 있다. 기능적 활성을 통해서 종 간 연관성을 입증하기 위해서는 알려진 생물학적 반응 또는 약력학적 표지자(PD marker)의 변화를 제시할 수 있다.

선택된 종을 이용한 시험모델이 생물학적 반응에 기인한 독성 가능성을 입증할 수 있어야 하며 이를 위해서는 종 선택 시 예정된 임상 용법용량과 관련하여 표적 결합과 기능적 활성에 있어서 종 간의 차이를 고려해야 한다. 건강한 비임상 종에서 매우 낮은 수준으로 발현되는 표적의 경우(예 : 염증성 사이토카인 또는 종양 특이 항원), 결합 친화도와 세포 시험에서의 활성이 종 선택에 충분한 정보를 제공할 수 있다.

동물조직에서 조직교차반응성의 평가는 종 선택에 있어서는 유용하지 않다(주석 1 참고). 그러나 특정한 경우에(예 : 위에서 언급한 방법들을 약리학적 관련 종 평가에 사용할 수 없는 경우) 조직교차반응성 연구는 표적 결합이 예상되는 사람과 동물조직들간 결합 양상을 비교함으로써 독성연구에 사용할 수 있는 종의 선택에 사용될 수 있다.

본문에서 언급한 바와 같이, 유전자재조합의약품이 어떠한 종의 이종상동성(orthologous) 표적과도 반응하지 않기 때문에 관련 동물종이 없는 경우에는 상동분자(homologous molecule) 또는 형질전환 동물의 사용을 고려할 수 있다.

외래 표적(세균, 바이러스성 표적 등)에 대한 단클론항체 및 다른 관련 항체의약품에는, 타당성이 입증된 한 종에서 단기간의 안전성연구를 실시할 수

있으며 생식독성 연구를 포함한 추가적인 독성연구는 고려되지 않는다. 대안으로, 질환 동물 모델이 물질의 작용 원리를 입증하는데 사용될 때, 표적 관련 안전성 정보를 제공하기 위한 안전성 평가가 포함될 수 있다. 이것이 가능하지 않다면, 임상시험에 있어서 적절한 위해성 완화 전략을 시행하여야 한다.

새로운 독성물질(toxin/toxicant)을 포함하는 항체-약물/독소 결합체(ADC)를 평가하기 위한 종 선택 시에는 비 결합 항체에서와 같은 일반 원리를 적용해야 한다(위의 내용 및 주석 2 참고).

2.2. 하나 또는 두 개의 종

임상시험용 물질에 대해 약리학적으로 연관된 동물종이 두 가지인 경우(설치류 한 종 및 비설치류 한 종), 두 종에 대해 단기(한달 이내) 일반 독성 연구를 수행해야 한다. 만약 이 연구에서 발견된 독성 결과가 유사하거나 또는 결과가 약물의 작용기전으로 해석 가능한 경우, 보통 한 종에서 장기 일반 독성 연구를 수행하는 것으로 충분하다. 비설치류를 사용하는 과학적 근거가 없는 이상 설치류를 사용한다. 두 가지의 비설치류 연구를 수행하는 것은 적절하지 않다.

모든 일반 독성 연구에서, 임상시험용 물질이 약리학적으로 한 종에서만 활성을 나타내는 경우에 한 종에 대한 독성시험이 정당화될 수 있다. 상동 물질을 사용한 두 번째 종에서의 연구는 추가적인 정보를 제공하기 어려우며 권고되지 않는다.

2.3. 상동 단백질의 사용

상동 단백질의 사용은 본문 3.3항에서 언급한 대체 접근방법의 하나이다. 상동 단백질 연구는 위험성을 확인하고 과도한 약리 작용에 의한 이상 반응의 가능성을 이해하는데 사용될 수 있으나 위험을 정량적으로 평가하는 데는 일반적으로 유용하지 않다. 그러므로 위험성을 확인하기 위한 목적인 경우에는, 시험 디자인과 용량 설정(예 : 최대한의 약리학적 반응을 일으키는 용량)에 대한 과학적 타당성이 인정되는 경우 대조군과 하나의 시험군을 사용한 안전성 평가 연구를 실시할 수 있다.

3. 시험 디자인

3.1. 용량 결정 및 약동학/약력학 원리의 적용

대부분의 유전자재조합의약품의 독성은 목적하는 작용기전과 연관되어 있다. 그러므로 상대적으로 높은 용량은 과도한 약리작용으로 인한 이상반응을 일으킬 수 있다.

시험 용량은 용량 반응 상관관계의 특성에 근거하여 결정하여야 한다. 약동학적-약력학적 접근(예 : 단순한 노출-반응 관계 또는 더 복잡한 모델링과 시뮬레이션 접근)을 통하여 다음 두 가지를 확인함으로써 고용량 선택에 도움을 받을 수 있다 : 1) 비임상 종에서 최대 약리학적 효과를 나타내는 용량 2) 임상에서의 최대 노출의 약 10배에 해당하는 용량. 더 낮은 용량(예 : 사용 가능한 최대 용량) 사용에 대한 정당성이 없는 경우, 이 두 용량 중 더 높은 값을 비임상 독성연구의 고용량군으로 설정한다.

생체 내(*in vivo*)/생체 외(*ex vivo*) 약력학 평가변수가 이용가능하지 않을 때 고용량 선택은 약동학적 데이터와 이용 가능한 생체 외(*in vitro*) 결합과/또는 약리학적 데이터를 근거로 한다.

최대 예상 임상 노출도 한계를 정하기 위해서 비임상 동물종과 사람간의 표적 결합과 생체 외(*in vitro*) 약리학적 활성의 차이를 보정해야 한다. 예를 들어, 결합 친화력 및/또는 생체 외(*in vitro*) 효력에 상대적으로 큰 차이가 있는 경우 비임상시험에서 고용량에 대한 시험이 적절하다. 이러한 방법으로 선택된 용량에 대해 독성을 입증하지 못하는 경우 사람 투여 용량 보다 몇 배 더 높은 용량에 대한 추가 독성 시험은 유용한 정보를 제공하지 못할 것이다.

3.2. 시험 기간

3.1항의 원리에 따라 고용량을 선택한 경우, 장기 사용되는 약물에 있어서 설치류 또는 비설치류에서 6개월 동안의 반복 투여 독성시험이면 충분하다. 이보다 더 장기간의 연구는 임상 개발 과정을 변경할 만한 유용한 정보를 주지 못한다.

진행성 암 환자의 유전자재조합의약품의 장기 사용 시 독성 연구의 기간에 대한 원칙은 '항암제 임상시험계획(IND) 및 품목허가(NDA) 승인을 위한 비임상시험자료 심사지침(식품의약품안전처, 2010년)' 또는 'Nonclinical Evaluation for Anticancer Pharmaceuticals(ICH S9, 2009년)'을 참고한다.

3.3. 회복

임상적으로 유해한 영향과 관련 있는 약리학적 및 독성학적 효과가 임상적 노출 수준에서 발생한다면 이로부터의 회복이 평가되어야 한다. 이러한 정보는 관찰된 특정 효과의 가역성/비가역성에 대한 이해 또는 적어도 한 연구에서 한 투여군에 대한 비투여 기간을 포함함으로써 얻을 수 있다.

비투여 기간의 목적은 이러한 효과의 가역성을 조사하기 위함이지 지연독성을 평가하기 위함은 아니다. 완벽한 회복의 평가는 필수적이지 않다. 면역원성 평가를 위한 추가 회복기 설정은 필요하지 않다.

4. 면역원성

면역원성 평가는 연구결과를 해석하고 이후의 연구를 디자인하는데 도움을 준다. 비임상 동물 연구의 면역원성 분석은, 사람에서의 인간 또는 인간화 단백질의 면역원성 평가와는 무관하다.

비임상연구의 항-약물 항체(ADA) 연구는 1) 약력학적 활성 변화의 증거가 있는 경우, 2) 약력학적 지표가 없는 경우 노출도에 예상하지 못한 변화가 있을 때 또는 3) 면역-매개 반응의 증거가 있을 때(면역 복합 질병, 혈관염, 아나필락시스 등) 평가되어야 한다. 연구 도중에 이러한 분석이 요구될지 여부를 예측하기는 어렵기 때문에 연구 중간에 적절한 검체의 채취가 유용하며, 이후에 시험 결과의 해석에 도움이 될 것으로 판단될 때 분석될 수 있다. 항-약물 항체가 검출되면, 연구결과를 해석하는데 그들의 영향이 평가될 수 있다(본문 3.6항 참고).

중화능 분석은 생체 내(*in vivo*) 독성 연구에서 항-약물 항체가 검출되고, 활성 유지를 입증할 약력학적 지표가 없을 때 요구된다. 중화항체의 활성은 간접적인

생체 외(*ex vivo*) 생물활성 평가 또는 약동학-약력학 분석의 적절한 조합, 또는 직접적인 특정 중화항체 활성 평가에 의해 평가된다.

5. 생식독성과 발생독성

5.1. 일반 원칙

생식독성 연구는 ICH S5(R2) 가이드라인에서 개략적으로 말하는 원리와 연관되어 고려되어야 한다. 그러나 특정 연구 디자인과 투여 일정은 종 특성, 물질의 특성, 작용기전, 면역원성 그리고/또는 약동학적 특성이나 배아-태아 노출 등의 이해를 기반으로 수정될 수 있다.

관련 종을 이용한 개발 물질의 생식독성 평가가 일반적으로 선호된다. 생식독성의 평가는 약리학적으로 관련 있는 종에서만 평가되어야 한다. 개발 물질이 설치류나 토끼에서 약리학적으로 활성을 보이고 배태자 독성 또는 최기형성이 두 종에서 확인된 경우 두 종에서 배태자 발생독성시험을 실시해야 한다.

발생독성 연구는 영장류가 유일한 관련 종일 경우 영장류에서만 고려되어야 한다.

개발 물질이 오로지 영장류에서만 약물학적으로 활성을 가지는 경우에도 개발물질에 대한 시험을 실시하는 것이 바람직하다. 그러나 과학적으로 타당한 경우에는 영장류를 대체하는 모델이 사용될 수도 있다.

개발 물질을 시험하기에 적절한 동물종이 존재하지 않는 경우, 해당 동물 모델에 충분한 배경 지식(예 : 과거 시험 성적, 본문의 주석 1 참고)이 있는 경우 사람 표적을 발현하는 형질전환 마우스 또는 사람 표적의 상동체(ortholog)를 발현하는 종의 상동 단백질 사용이 고려될 수 있다. 세균과 바이러스 같은 외래물질을 직접적 표적으로 하는 의약품은 일반적으로 생식독성 연구를 하지 않아도 된다(2.1 항 참고).

수태능 또는 임신 결과에 부정적인 영향이 있다는 충분한 근거가 제시되는 경우(예 : 활성 작용기전, 유전자 조작 동물로부터 얻어진 표현형 결과, 유사물질군의 효과(class effect)), 생식에 대한 적절한 위해 정보를 얻을 수 있으며 추가적인 비임상 연구가 요구되지 않을 수 있다.

5.2. 수태능

개발 약물의 약리학적 관련 종이 마우스와 랫드인 경우, 수태능의 평가는 이러한 설치류 동물 중 하나에서 고려될 수 있다. 약리학적 관련 종인 경우 다른 동물종에 대해서 시험할 수 있으며 약물의 특성과 면역원성 가능성을 평가할 수 있도록 시험 디자인을 적절히 수정해야 한다.

교배 연구는 영장류에서는 적용하기 어렵다. 하지만, 영장류가 오직 하나의 연관 종인 경우에는, 수컷과 암컷의 수태능에 미치는 영향이 성적으로 성숙한 영장류에 대한 최소 3개월 이상의 반복투여독성시험에서 생식기관 평가(장기 무게와 조직병리학적 평가)에 의해 평가될 수 있다. 약물학적 활성이나 이전의 발견을 근거로 한 우려할 만한 사유가 있는 경우에는 월경의 주기성, 정자 수, 정자의 형태/이동성과 수컷 또는 암컷의 생식호르몬 수준과 같은 특정 항목이 반복투여독성연구를 할 때 평가되어야 한다.

약리학적으로 수태/착상에 영향이 있을 것으로 우려되고 영장류가 유일한 관련 종인 경우, 이러한 우려를 실험적으로 증명해야 한다. 이러한 경우 상동 물질 또는 형질전환 모델이 유일한 실질적인 평가 수단이 될 수 있다. 그러나 단지 설치류에서 교배연구만을 위해 형질전환 모델이나 상동 물질을 생산하는 것은 권고되지 않는다. 비임상 정보가 없는 경우, 환자에게 갈 수 있는 위험의 정도는 임상시험 관리, 시험대상자 동의, 적절한 의약품 라벨링 등으로 관리하여야 한다.

5.3. 배·태아 발달과 출생 전후 발달

유전자재조합의약품의 태반 통과에 대한 차이는 발생독성 연구 디자인과 해석 단계에서 고려되어야 한다(주석 3 참고).

영장류에서만 약리학적 활성을 갖는 의약품의 경우에는 임상적 사용과 예측된 약리작용에 근거하여 몇 가지 연구 디자인이 고려될 수 있다. 개별적인 배·태아 발달(embryo-fetal development, EFD)/출생 전후 발달(pre/post-natal development, PPND) 연구 또는 개발자가 제시한 다른 연구 디자인이 적절할 수 있으며, 특히 활성 작용기전이 배·태아 발달 또는 임신 감소에 부정적인 영향을 미칠 때

고려되어야 한다. 그러나 EFD 및/또는 PPND 시험을 별도로 실시하는 것 보다 영장류에서 임신 20일부터 출생 시까지 투여를 포함하는 잘 디자인된 연구(강화된 PPND)가 고려될 수 있다.

위에 언급한 강화된 PPND 연구 디자인에는, 제왕 절개가 아닌 자연적인 출산의 평가가 포함된다. 이 연구는 또한 자손의 생존 능력, 외부 기형, 골격계에 미치는 효과(예 : X-ray에 의한 평가), 궁극적으로 부검 시 내장 장기의 형태 등을 평가해야 한다. 초음파는 임신 유지 추적에는 유용하나 기형을 감지하는 데에는 적절하지 않다. 후자의 자료는 출생 후 관찰을 통해 획득된다. 새끼에 대한 모성 보호로 인한 혼재된 효과 때문에 모체에 대한 출생 후 투여는 일반적으로 권장되지 않는다. 새끼에 대한 다른 평가변수는 연관된 약리학적 활성이 있을 경우 역시 평가될 수 있다. 출생 후 평가 기간은 활성 작용기전을 근거로 한 추가 평가변수에 따라 고려된다(주석 4 참고).

영장류에서 수행한 발생독성 연구로는 위험성의 확인 정도만 가능하다. 군 당 동물의 숫자는 자료의 의미 있는 해석이 가능할 정도로 충분해야 한다(주석 5 참고). 용량 수준 선정에 대한 타당성이 있는 경우 대조군과 단일 투여군을 이용하여 실시할 수 있다. 예를 들어 임상 용법용량으로 투여 시 표적에 대한 결합이 포화되는 단클론항체의 경우, 만약 선택된 동물종에서 표적 결합이 포화되고 치료 용량 수준 보다 10배까지 높은 경우 단일 용량 군 및 대조군이 배태자 발생 위험성에 대한 충분한 증거를 제공할 것이다.

5.4. 시험 시점

배태자 발생독성에 대한 정보를 얻기 전에 가임여성이 임상시험에 포함된다면, 매우 효과적인 피임 방법의 사용과 같은 적절한 임상시험상의 위해성 관리가 필요하다.

임신을 예방하기 위한 충분한 조치가 취해지고 영장류에서만 약리학적으로 활성을 가지는 유전자재조합의약품의 경우, EFD 또는 강화된 PPND 연구는 임상 3상시험 동안 수행될 수 있으며 허가 신청 시 결과를 제출할 수 있다. 개발자가 임상시험 기간 중 임신 예방을 위한 충분한 조치를 취하지 못한다면, 임상 3상시험

시작 전에 EFD 연구의 최종결과보고서 또는 강화된 PPND 연구의 중간보고서를 제출하여야 한다(주석 6 참고). 제품이 영장류에서만 약리학적으로 활성을 가지며, 작용기전 상 배태자 발생에 대한 심각한 우려가 있는 경우 영장류에 대한 발생독성시험이 요구되지 않으며 라벨에 이러한 주의 사항을 반영하고 임신 가능성 있는 여성에 대한 투여를 금해야 한다.

설치류 또는 토끼가 관련 종일 경우의 생식독성시험 결과의 제출 시기, 설치류가 관련 종일 경우 수태능 시험결과의 제출 시기는 ICH의 관련 가이드라인(M3(R2))을 참고할 수 있다.

항암제의 경우에는 '항암제 임상시험계획(IND) 및 품목허가(NDA) 승인을 위한 비임상시험자료 심사지침(식품의약품안전처, 2010년)' 또는 'Nonclinical Evaluation for Anticancer Pharmaceuticals(ICH S9, 2009년)'의 시험 시기를 참고한다.

6. 발암성

유전자재조합의약품의 발암 가능성에 대한 제품 특이적 평가의 필요성은 임상시험 대상자와 투여기간에 따라 결정된다. 평가가 필요한 경우, 개발자는 발생 가능한 위험성을 평가하기 위한 전략을 수립해야 한다.

이러한 전략은 여러 종류의 관련 데이터 평가를 포함하는 충분한 증거에 근거하여 수립되어야 한다. 데이터에는 이미 알려진 데이터(예 : 형질전환, 결손 또는 질환 동물 모델, 사람의 유전병으로부터의 정보), 유사물질군의 효과, 표적 생물학 및 작용기전에 대한 자세한 정보, 생체 외(*in vitro*) 데이터, 장기 독성 연구와 임상 데이터가 포함된다. 이용가능한 정보를 통해 발암 가능성을 충분히 알 수 있는 경우, 추가적인 비임상시험을 수행하지 않고 임상적 위험성에 대한 정보를 제공할 수 있다.

몇몇 유전자재조합의약품의 작용기전은 발암 가능성에 대한 우려를 높인다(예 : 면역억제제, 성장인자). 위에서 언급한 데이터를 통해 발암 가능성이 예상된다면 일반적으로 발암성시험은 요구되지 않는다. 이러한 경우에는 제품 허가 사항에 반영하고 위해성 관리 계획을 수행하는 것이 적절하다. 그러나 증거가

불분명하다면, 개발자는 작용기전에 근거한 우려사항을 완화시킬 수 있는 추가적인 연구를 수행할 수 있다(본문의 4.8항 참고).

제품 특성 및 발암성과 관련된 작용기전에 대한 정보가 불충분한 경우 더 심화된 평가가 적절할 수 있다(예 : 발암 가능성에 근거한 표적 생물학에 대한 이해, 독성연구의 추가적인 평가변수 포함).

만약 더 확장된 평가로부터 발암 가능성이 확인되지 않는다면, 추가적인 비임상시험은 권고되지 않는다. 발암 가능성이 확인되는 경우, 개발자는 추가적인 비임상시험을 수행하여 우려를 경감시키거나 허가사항에 이를 반영해야 한다.

발암 가능성에 대한 평가결과는 허가사항, 임상적 모니터링, 시판 후 조사, 위해성 관리 계획의 수립에 이용될 수 있다.

동종 물질에 대한 설치류대상 시험(또는 단기간 발암성 연구)은 개발 물질의 발암 가능성을 평가하는데 한계가 있다.

새로운 전략/분석법 개발이 대안적 방법으로 고려될 수 있다.

[주석]

주석 1 조직 교차 반응성 연구는 생체 외(*in vitro*)-결합 시험법으로서 면역조직화학 기술을 사용하며, 조직에서 항원결정기에 대한 단클론항체 및 연관된 유사 항체의 결합 특성을 평가하는데 사용된다. 표적/결합 부위의 분포를 설명하기 위해 면역조직화학 기술 대신에 다른 기술이 사용될 수 있다.

인체 조직 패널에 대한 조직 교차 반응성 연구는 이러한 제품의 초기 임상 시험을 뒷받침하는 독성 시험의 일부로서 실시하는 것이 좋다. 그러나 몇몇의 경우에 시험 물질이 면역조직화학 시험의 좋은 시료가 아니며 조직 교차 반응성 연구는 기술적으로 가능하지 않을 수 있다.

조직 교차 반응성 연구는 표적 분포의 부가적인 지식을 제공하기 위해 유용한 정보를 제공할 수 있고, 잠재적으로 예기치 못한 결합에 관한 정보를 제공 할 수 있다. 조직 결합 그 자체는 생체 내(*in vivo*)의 생물학적 활성을 의미하지는 않는다. 또한 생체 내(*in vivo*)에서(예 : 세포질) 항체가 통상적으로 접근할 수 없는 영역에 결합하는 것은 일반적으로 실제 상황과 관련이 없다. 결과는 전반적인 약리학 및 안전성 평가 데이터를 고려하여 해석되어야 한다. 인체 조직에서 예기치 않은 결합이 있는 경우 선택된 동물 조직의 평가는 발생 가능한 연관성이나 비임상 독성자료의 부족에 따른 추가적인 정보를 제공할 수 있다. 동물 조직의 전체 패널을 사용한 조직 교차 반응성 연구는 권고되지 않는다.

이중 특이적 항체를 사용한 제품은 사람 조직 패널을 사용한 조직 교차 반응성 연구에서 평가되기 때문에 개별 결합 부분들에 대한 연구는 수행하지 않아도 된다.

임상시험용 물질을 사용한 인간의 조직 패널에서의 조직 교차 반응성 연구를 실시한 경우, 동종 물질의 조직 결합 평가는 의미가 없으며 권장되지 않는다.

조직 교차 반응성 연구는 주요 품질 인자들의 미묘한 변화를 감지할 수 없다. 그러므로 조직 교차 반응성 연구는 개발 단계에서 공정 변화에 따른 동등성 평가 시에는 권장되지 않는다.

주석 2 항체 약물 결합체의 안전성을 평가하는데 사용 가능한 두 종이 있다면, 결합되지 않은 독소에 대해 한 종에서 단기 연구의 한 군으로 포함시키거나 또는 추가적인 단기 연구를 수행하여야 한다. 이러한 경우, 설치류에서 독소가 활성이 없는 경우가 아니라면 설치류에서 수행함이 바람직하다. 만약 하나의 약리학적으로 연관된 종이 있다면, 항체 약물 결합체는 그 종에서 시험하여야 한다. 새로운 독성 물질은 새로운 화학물질과 유사한 종 선택의 접근 방식을 필요로 하며 사례별로 접근해야 한다. 새롭지 않으며 이용가능한 과학적 정보가 충분한 경우, 비결합 독소에 대한 별도의 평가는 요구되지 않는다. 동물과 사람에서 항체 약물 결합체의 대사 안정성을 비교하기 위한 데이터가 제공되어야 한다.

주석 3 임신 기간 동안의 배·태아에 대한 노출의 종 특이적 양상이 연구결과를 해석하는데 고려되어야 한다. 5,000달톤 이상의 고분자단백질은 단순 확산에 의해 태반을 통과하지 않는다. 150,000달톤 이상의 분자량을 가진 단클론항체와 같은 경우 Fc 수용체(FcRn)와 같은 특수한 수송 작용기전을 가지며, 이것이 태아 노출도 및 종간 차이를 결정한다.

영장류와 사람에서 IgG의 태반 수송은 기관 형성기에 낮게 일어나며, 임신 제 2분기에 증가하기 시작해서 제 3분기 끝에 이르러 최고치에 이르게 된다. 그러므로 임신 초기에서부터 임신일 50일까지 투여하는 영장류의 일반적인 배·태자 연구는 모체 영향에 따라 간접적으로 배·태자 발생에 미치는 효과가 있음에도 불구하고 기관형성기의 배·태자 효과를 평가하는데 가치가 없을 수 있다. 게다가 영장류에 대한 출산 후 모체 투여는 IgG가 초기에만 모유(예 : 초유)로 분비되며 수유기 및 양육기에는 분비되지 않으므로 유용하지 않다.

설치류는 영장류 및 사람과는 다르다. IgG는 설치류에서 FcRn 수송 작용기전에 의해 난황을 통과하며, 이러한 노출은 영장류와 사람에 비해 임신 단계에서 상대적으로 더 일찍 발생한다. 또한, 설치류의 분만은 영장류나 사람 신생아가 성숙한 만큼 새끼가 성숙하지 못한 발생 단계에서

발현된다. 따라서 랫드/마우스의 어미는 새끼를 노출하기 위해 최소 9일간의 수유를 모유 중에 노출되도록 하여 새끼가 발생 단계에서 사람 신생아와 동등한 단계에 이르도록 해야 한다.

주석 4 출생 후 추적관찰의 최소 기간은 초기 기능적 시험(예 : 성장과 행동)을 포함하여 한 달은 수행하여야 한다. 일반적으로, 일반독성연구 중 면역계(또는 면역 기능)에 이상 효과를 나타내는 증거가 발견되는 경우, 강화된 PPND 연구의 출생 후 기간 동안의 면역 기능 연구가 요구된다. 적절한 경우, 면역표현형 검사는 출생 후 28일에 얻을 수 있다. 면역 기능의 평가를 위해 수행하는 출생 후 추적관찰은 수행하는 기능 시험에 따라 3개월에서 6개월 동안 할 수 있다. 신경행동학적 평가는 임상적 행동관찰로 제한될 수 있다. 도구를 이용한 학습은 출생 후 최소 9개월의 훈련 기간을 필요로 하므로 권고되지 않는다.

주석 5 사이노몰거스 원숭이의 시험군 크기를 결정하기 위한 방법의 상세한 논의는 Jarvis 등이 수행한 2010년의 연구에서 찾을 수 있다(The cynomolgous monkey as a model for developmental toxicity studies: variability of pregnancy losses, statistical power estimates, and group size considerations. Birth Defects Research (Part B) 2010, 89: 175-187). 강화된 PPND 연구에서 시험군 크기는 출생 후 발달을 평가하고 특별한 평가(예 : 면역계)에 대한 기회를 제공하기 위해 충분한 수(출생 후 7일째에 그룹 당 6~8마리)의 산자를 얻을 수 있어야 한다. 대부분의 강화된 PPND 연구는 임신한 동물을 모으는데 수 주에서 수 개월이 소요된다. 시험군에서 시험물질에 의해 출산 전 태아의 사망이 일어난 경우 임신한 동물을 모으는 것을 중단하고 시험 디자인의 변경(예 : 제왕절개)을 고려해야 한다. 대조군 동물은 재사용이 권장된다. 작용기전이 배·태자 발생 또는 유산에 영향을 미칠 수 있다는 우려가 있는 경우, 위험요소를 확인하기 위해 제한된 수의 동물에 대한 연구가 수행될 수 있다.

주석 6 영장류의 강화된 PPND 연구의 중간보고서에 포함되어야 할 평가변수는 다음과 같다.

- 모체 데이터 : 생존, 임상적 관찰, 체중, 임신기간의 노출 데이터(가능한 경우), 다른 특정 약력학 평가변수
- 임신 데이터 : 연구를 시작할 때 임신한 동물의 수, 기관형성기 끝(임신 50일)과 임신 100일에서의 임신 상태, 낙태 발생과 낙태 시기. 중간보고서에는 태아 크기를 결정하는 초음파 결과는 제출하지 않아도 된다. 실제로 출생시 체중을 사용할 수 있을 것이므로 이러한 것이 필수적으로 간주되지 않는다.
- 임신 결과 데이터 : 출산/사산의 수, 태아의 출생 체중, 태아의 생존과 출생 후 7일의 체중, 질적인 외부 형태학적 평가(예 : 외형이 정상 범위 내에 있음을 확인), 태아 노출 데이터(가능한 경우), 적절한 경우 태아에서의 특정 약력학적 평가변수

[참고문헌]

1) WHO Manual of laboratory methods for testing vaccines used in the WHO expanded Programme on Immunization. (Geneva, WHO, 1997, Annex1 (WHO/VSQ/97.04))

2) Laboratory biosafety manual, 2nd ed. (revised) (Geneva, WHO, 2003)

3) OECD principles on Good Laboratory Practice(revised 1997). Paris, Organisation for Economic Co-operation and Development, 1997(ENV/MC/CHEM(98)17)

4) Note for Guidance on Preclinical Pharmacological and Toxicological testing of Vaccines (EMEA, CPMP/SWP/465/95, June 1998)

5) Guideline on Nonclinical Evaluation of Vaccines (WHO, 2004)

6) Detection of Toxicity to Reproduction for Medicinal Product & Toxicity to Male Fertility(S5(R2)(ICH, March 1994)

7) Guidance for Industry. Considerations for Developmental Toxicity Studies for Preventive and Therapeutic Vaccines for Infectious Disease Indications (FDA, CBER, February 2006)

8) Adjuvants in Vaccines for Human Use(EMEA, CHMP/VEG/134716, January 2005)

9) Guidance for Industry. For the Evaluation of Combination Vaccines for Preventable Disease (FDA, CBER, 1997)

10) Note for Guidance on Pharmaceutical and Biological Aspects of Combined Vaccines (EMEA, CPMP/BWP, 1998)

11) Guidelines on the nonclinical evaluation of vaccine adjuvants and adjuvanted vaccines (WHO, 2014, Annex 2 (TRS No. 987))

「생물의약품 비임상시험 가이드라인」(민원인 안내서)

발 행 일	2018년 11월 28 일
발 행 인	이선희
편 집 위 원 장	김대철
편 집 위 원	백선영, 김도근, 오상연, 이연희, 김병철, 최재연, 김정숙, 조수열, 지승완, 임재현, 임종미, 진미령, 배창준, 김현국, 이유림, 이가영, 박애란, 송민지, 곽병옥, 신우영, 윤희성, 방서영, 배현아, 오호정, 김세은, 김지현, 송현, 김진아, 김지영, 박혜원, 권도연, 최경민,
도 움 주 신 분	㈜녹십자(정명은), 씨제이헬스케어(박혜정), 에스케이바이오사이언스(김용관), ㈜엘지화학(한지은), 일양약품(김용석), 바이오톡스텍(문설희), 안전성평가연구소(신천철, 문경식), 켐온(조현)
발 행 부 서	식품의약품안전평가원 바이오생약심사부

공익신고자 보호법이 항상 당신의 양심을 지켜드립니다.
식약처의 공무원이나 관계자가 부조리한 행위를 하거나 부당하게 처리한 경우가 있을때는 다음으로 신고하여 주시기바랍니다. 신고자의 신원은 절대보장하겠으며 향후 민원처리에 있어 추호의 불편함이 없도록 최선을 다하여 도와드릴 것을 약속드립니다.

공익신고자 보호제도란?
공익신고자등(친족 또는 동거인 포함)이 공익신고등으로 인하여 피해를 받지 않도록 **비밀보장, 불이익 보호조치, 신변보호조치** 등을 통하여 보호하는제도

※보호조치요구방법
전화 02-360-3761/우편(120-705) 서울특별시 서대문구 통일로 81 국민권익위원회 공익보호지원과/팩스 02-360-3567
식약처 홈페이지(www.mfds.go.kr) > 국민소통 > 국민신문고 > 공직자 부조리신고