

## 세포치료제 · 유전자치료제의 역가시험 설정 시 고려사항 [민원인 안내서]

(Considerations on the Potency Test for Cell and Gene Therapy Products)

2025. 6. 30.



식품의약품안전처

식품의약품안전평가원

바이오생약심사부 세포유전자치료제과

## 지침서·안내서 제·개정 점검표

**명칭**

세포치료제·유전자치료제의 역가시험 설정 시 고려사항 (민원인 안내서)

**아래에 해당하는 사항에 체크하여 주시기 바랍니다.**

<b>등록대상 여부</b>	<input type="checkbox"/> 이미 등록된 지침서·안내서 중 동일·유사한 내용의 지침서·안내서가 있습니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 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: )	
	<input type="checkbox"/> 법령(법·시행령·시행규칙) 또는 행정규칙(고시·훈령·예규)의 내용을 단순 편집 또는 나열한 것입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 단순한 사실을 대외적으로 알리는 공고의 내용입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 일회성 지시·명령에 해당하는 내용입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 외국 규정을 단순 번역하거나 설명하는 내용입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 신규 직원 교육을 위해 법령 또는 행정규칙을 알기 쉽게 정리한 자료입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
☞ 상기 사항 중 어느 하나라도 '예'에 해당되는 경우에 지침서·안내서 등록 대상이 아닙니다. 지침서·안내서 제·개정 절차를 적용하실 필요는 없습니다.		
<b>지침서·안내서 구분</b>	<input type="checkbox"/> 행정사무의 통일을 기하기 위하여 내부적으로 행정사무의 세부 기준이나 절차를 제시하는 것입니까? (공무원용)	<input type="checkbox"/> 예(☞지침서) <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 민원인들의 이해를 돕기 위하여 법령 또는 행정규칙을 알기 쉽게 설명하거나 특정 민원업무에 대한 행정기관의 대외적인 입장을 기술하는 것입니까? (민원인용)	<input checked="" type="checkbox"/> 예(☞안내서) <input type="checkbox"/> 아니오
<b>기타 확인 사항</b>	<input type="checkbox"/> 상위 법령을 일탈하여 새로운 규제를 신설·강화하거나 민원인을 구속하는 내용이 있습니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	☞ 상기 질문에 '예'라고 답하신 경우 상위법령 일탈 내용을 삭제하시고 지침서·안내서 제·개정 절차를 진행하시기 바랍니다.	
<p><b>상기 사항에 대하여 확인하였음.</b></p> <p><b>2025년      6월      30일</b></p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; margin-top: 20px;"> <div style="text-align: center;"> <b>담당자</b>  <b>확 인(부서장)</b> </div> <div style="text-align: center;"> <b>문 명 숙</b>  <b>왕 소 영</b> </div> </div>		

이 안내서는 세포치료제·유전자치료제의 역가시험 설정 시 고려사항에 대하여 알기 쉽게 설명하거나 식품의약품안전처의 입장을 기술한 것입니다.

본 안내서는 대외적으로 법적 효력을 가지는 것이 아니므로 본문의 기술방식('~하여야 한다' 등)에도 불구하고 참고로만 활용하시기 바랍니다. 또한, 본 안내서는 2025년 6월 30일 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 민원인들의 이해를 돕기 위하여 법령 또는 행정규칙을 알기 쉽게 설명하거나 특정 민원업무에 대한 식품의약품안전처의 대외적인 입장을 기술하는 것(식품의약품안전처 지침서등의 관리에 관한 규정 제2조)

※ 본 가이드라인에 대한 의견이나 문의사항이 있을 경우 식품의약품안전평가원 바이오생약심사부 세포유전자치료제과로 문의하시기 바랍니다.

전화번호: 043-719-3532

팩스번호: 043-719-3530



**【공직자 부조리 및 공익신고안내】**

**\*\* 신고자 및 신고내용은 보호됩니다.**

- ▶ 부조리 신고 : 식약처 홈페이지 "국민신문고 > 공직자 부조리 신고" 코너
- ▶ 공익 신고 : 식약처 홈페이지 "국민소통 > 신고센터 > 부패·공익신고 상담" 코너

제 · 개정 이력서

# 세포치료제 · 유전자치료제의 역가시험 설정 시 고려사항

[illegible]

# 목 차

1. 서론 .....	1
2. 배경 .....	1
2.1. 역가시험의 정의 .....	1
2.2. 품목허가 시 역가시험에 대한 규제 요구사항 .....	2
2.3. 임상시험계획 승인 시 역가시험에 대한 규제 요구사항 .....	3
2.4. 역가와 임상적 유효성 간 상관관계 .....	5
3. 역가시험 개발을 위한 권고사항 .....	5
3.1. 역가시험 설정을 위한 지표 .....	5
3.2. 제제별 역가시험법 개발 .....	7
3.3. 역가시험에 사용하는 분석법 .....	10
3.4. 생물학적 활성과 비생물학적 분석시험법 간 상관성 확립을 위한 요구사항 .....	12
3.5. 역가시험 개발시기 .....	13
3.6. 개발 단계별 점증적 역가시험법 확립 .....	14
4. 역가시험법 설계 및 검증 .....	17
4.1. 역가시험법 설계 시 고려사항 .....	17
4.2. 표준물질과 대조군의 사용 .....	18
4.3. 역가시험법 검증 계획 시 고려사항 .....	19
5. 참고문헌 .....	22

# 1. 서론

이 가이드라인은 세포치료제 또는 유전자치료제의 임상시험계획 승인 또는 품목허가 신청 및 품목허가 이후 품질 변경 시 역가시험법 개발에 대한 권고사항을 제공한다. 역가시험은 제품별로 다르게 설계되므로 이 가이드라인에서 특정 역가시험법을 권고하거나 제품 출하 관련 역가 기준을 제시하지 않는다. 이 가이드라인은 세포치료제 또는 유전자치료제에 국한된 내용으로 치료용 백신 또는 생물학적제제, 의료기기 등에 적용되지 않는다.

## 2. 배경

### 2.1. 역가시험의 정의

역가(potency)는 사전에 정한 예측 치료효과를 확인하기 위해 수행된 적절한 실험이나 적절히 개발·통제된 임상자료에서 관찰된 의약품의 치료적 활성으로 정의된다. 역가시험은 각 제품에 대하여 위에서 정의된 역가의 설명을 충족시킬 수 있도록 적절하게 고안된 시험관 내(in vitro) 또는 생체 내(in vivo) 시험을 의미한다.

역가시험은 많은 다른 시험과 더불어 공정 중 시험과 원료/완제의약품의 품질관리 시험, 비교동등성 평가 및 안정성시험의 일부로 수행된다. 이러한 시험들은 제조 및 품질관리와 관련된 제품의 특성을 평가하는데 사용되며 임상시험의 모든 단계에서 사용되는 제품의 확인, 순도, 역가 및 안정성을 보증하기 위해 수행된다.

## 2.2. 품목허가 시 역가시험에 대한 규제 요구사항

모든 의약품은 품목허가를 신청하기 위해서 안전성, 순도 및 역가에 대한 규제 요구사항을 충족시켜야 한다. 세포·유전자치료제의 경우 『의약품 제조 및 품질관리 관련 규정(식약처고시)』을 비롯하여 『첨단바이오의약품의 품목허가·심사 규정(식약처고시)』에 따라 완제의약품에 대하여 기준 및 시험방법에 따른 품질관리 시험 및 제조공정 관리가 필요하다. 제조자는 제품의 품질관리 시험이 완료되기 전에는 어떠한 로트도 출하할 수 없으며, 여기에는 역가, 무균, 순도 그리고 확인시험이 포함된다. 이러한 요구사항은 하나의 로트가 단위 투여 용량으로 정의되는 자가 및 단일 환자 동종 제품을 포함한 모든 세포·유전자치료제에 적용된다. 다만, 유효기간이 짧은 제품의 경우 역가, 무균시험 등은 공정 중 시험으로 우선 확인하고 출하 후 출하시험 결과를 추후 평가함으로써 제품의 역가 및 제조공정의 신뢰성을 확인해야 한다.

역가시험은 개별 제품의 특성에 기반하여 설정되므로 각 제품별로 평가되며, 출하 규격으로 역가시험 설정 시 아래 사항을 반영하여야 한다.

- 제품 특이적 역가(생물학적 활성)
- 제품 출하를 위한 시험결과 제시
- 정량적 자료 제시
- 미리 정의된 적합/부적합 기준 충족
- 적절한 표준물질(reference materials)<sup>1)</sup>이나 표준품(standards)<sup>2)</sup>, 대조군(controls)<sup>3)</sup>의 포함

1) "표준물질"이란 시험법의 정확성을 검증 또는 교정하기 위한 물질로서 명시된 특성에 대해 충분히 안정하고 균질한 물질로 시험의 목적에 부합하도록 만들어진 물질을 말한다.

2) "표준품"이란 조성성분과 함량이 정확하게 알려져 있는 물질로서 사용 목적에 따라 규격화되어 별도 제조되었거나 이미 제조된 원료물질을 정제하여 얻어진 높은 순도의 표준물질을 말한다.

3) "대조군"이란 시험의 신뢰성을 확보하기 위해 비교 대상으로 설정한 물질로 시험 물질과의 효과 등 비교를 위해 설정한 물질을 말한다.

- 시험법 밸리데이션을 통한 정확성, 민감도, 특이성 및 재현성의 확립 및 문서화
- 모든 유효성분(active ingredients)의 확인과 효력(활성) 측정
- 사용기간(또는 유효기간)을 확립하기 위한 데이터 제시
- 표시기재사항 요구조건 충족

허가된 의약품의 출하 시 역가시험 검체는 모든 제조공정을 완료한 후 최종 제품에서 채취하는 것이 원칙이나, 완제의약품의 역가를 대변할 수 있음을 입증한다면 해당 공정 중 시험 단계에서 채취할 수 있다. 또한 제품의 출하 규격에 포함되는 역가시험에 표준품을 사용한 접근 방식을 허용할 수 있지만 역가가 동등하거나 동등 이상임을 입증하는 경우에만 허용된다.

### 2.3. 임상시험계획 승인 시 역가시험에 대한 규제 요구사항

초기 단계 임상시험에서는 위에서 언급된 품목허가 시 역가시험에 대한 모든 요구사항을 충족시키는 것이 가능하지 않을 수 있다. 그럼에도 불구하고 임상시험의 단계에 상관없이 사용되는 제품에 대하여 확인, 함량, 순도, 역가 및 안정성을 보증하기 위한 데이터를 제출해야 한다. 다만, 제출자료의 수준은 임상시험 단계, 제안된 임상시험 기간, 투여 제형 및 기타 이용 가능한 정보의 양에 따라 달라진다.

[표1]은 세포·유전자치료제의 복잡한 특성으로 인해 역가시험법을 확립하기 어려운 원인과 예시를 제시한다. 제품 개발이 원활히 이루어지기 위해 점증적 접근법(incremental approach)으로 역가시험을 설계할 것을 권고한다(3.6항 참조). 제품 개발이 진행됨에 따라 역가시험이 개선되고 유의하게 변경될 수 있다.



[표1] 세포·유전자치료제 역가시험 개발 시 애로사항

세포·유전자치료제 역가시험 개발이 어려운 원인	예시
출발물질의 가변성	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 자가 그리고 동종 공여자의 가변성</li> <li>• 세포집단의 이질성(heterogeneity)</li> <li>• 바이러스 복제 시 높은 오류 발생 가능성</li> </ul>
작은 로트 크기로 인한 시험 검체의 제한	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 적은 양의 자가 세포를 사용한 단회투여 치료제</li> </ul>
짧은 사용기한	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 세포 기반 치료제의 생존력</li> </ul>
적절한 표준품(reference standards)의 부재	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 자가 유래 세포 기반 치료제</li> <li>• 새로운 종류의 유전자 도입용 벡터</li> </ul>
다수의 유효성분	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 완제의약품에 포함된 여러 가지 세포집단</li> <li>• 펩타이드로 자극을 받은 종양세포/또는 면역조절 세포의 이질적 혼합물</li> <li>• 복합적으로 사용되는 다수의 벡터</li> </ul>
활성 성분 간의 간섭 또는 상승 작용 가능성	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 동일한 벡터에 의해 발현되는 여러 개의 유전자</li> <li>• 자가/동종 세포치료제 내 다양한 세포 유형</li> </ul>
복잡한 작용기전	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 세포의 다양하고 잠재적인 효과기 기능(effector function)</li> <li>• 도입 유전자(transgene)의 감염, 삽입 및 발현 등 기능에 필요한 여러 단계</li> <li>• 여러 개의 유전자를 포함한 벡터</li> </ul>
제품의 생체 내 운명(fate)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 투여 부위로부터의 이동</li> <li>• 원하는 세포로의 분화</li> <li>• 바이러스 또는 세포의 복제</li> <li>• 바이러스 벡터의 감염, 탈피(uncoating) 및 도입유전자 발현</li> </ul>

## 2.4. 역가와 임상적 유효성 간 상관관계

세포·유전자치료제의 임상적 유효성을 예측할 수 있는 유일한 역가시험법은 없다. 제조자는 “충분한 근거”, 즉 제품 라벨이나 신청된 라벨에서 처방, 권장 또는 제안하는 사용 조건 하에서 효과가 있거나 그러한 효과를 나타낸다는 증거를 통해 임상적 유효성을 입증해야 한다. 일관성 있게 제조된 제품을 사용하여 적절하고 잘 통제된 조건에서 임상적 유효성에 대한 근거를 얻을 수 있다. 역가시험은 특성 분석, 비교동등성 평가 및 안정성시험의 필수 부분으로, 임상시험의 모든 단계에서 일관되게 제조된 제품이 투여되는지 확인하는 데 사용된다.

잘 통제된 임상시험의 유효성 결과는 제품이 생물학적 활성을 가지고 있고, 역가가 있다는 증거로 제시될 수 있다. 그러나 개별 제품 로트의 출하 전에 임상 결과가 제공되지 않을 수 있으며, 임상 결과와 개별 로트와의 관계가 확인되지 않을 수 있다. 그럼에도 불구하고, 임상 결과는 생물학적 활성과의 상관관계를 확립하거나 출하시험, 안정성시험 및 비교동등성 평가에 사용할 수 있는 좀 더 유용한 역가시험법을 확립하는 데 도움이 될 수 있다.

## 3. 역가시험 개발을 위한 권고사항

### 3.1. 역가시험 설정을 위한 지표

#### 3.1.1. 특성 분석

세포·유전자치료제의 복잡성으로 인해 적절한 역가시험법을 개발하기

위해서는 제품의 생물학적 특성을 이해하는 것이 필요하다. 비임상 및 임상 시험을 진행하는 동안 역가 측정에 필요한 제품 특성에 대한 자료(즉, 분자생물학적, 생화학적, 면역학적, 표현형적, 생리학적 및 생물학적 특성 등)를 충분히 수집하여야 한다. 초기 개발 단계부터 제품의 작용기전을 잘 이해하고 속성을 파악하는 데 도움이 되는 특성 분석을 진행하는 것이 좋다.

개발 초기 역가시험법을 설계하기 위한 생물학적 활성을 결정할 때에는 적절한 비임상 연구, 개념 증명 연구, 초기 임상시험, 사용 가능한 이전의 경험(historical experience) 및 해당 제품에 대하여 이용 가능한 표준물질이나 대조군을 고려하여야 한다. 이러한 정보는 역가와 관련된 제품의 특성과 생물학적 활성의 기본적인 사항을 이해하는 데 도움이 될 것이다. 개발 과정에서 얻은 특성 분석 자료가 설정한 역가시험법을 뒷받침하거나 제품의 시판에 대비하여 역가시험법을 개선하는 데 사용될 수도 있다.

제품 개발의 일부로 출하를 위한 시험 이외에 제품의 특성을 광범위하게 평가하는 것을 권장한다. 탐색적 연구는 제품의 어떤 특성이 역가와 상관관계가 높은지를 평가하는 데 도움이 될 수 있다. 탐색적 연구의 목적은 제품 정보를 얻는 것이며, 이는 유의미하고 적절한 역가시험법을 설계하는 데 도움이 될 것이다. 그러나 이러한 시험이 반드시 제품의 출하 규격으로 선정되지 않을 수 있고, 규격을 설정하거나 시험의 허용기준을 설정하는 데에 도움이 되지 않을 수 있다. 평가 대상 시험법 중 일부는 출하에 실용적이지 않을 수도 있으나, 생물학적 활성이나 임상적 유효성과 관련된 제품의 특성에 대한 유용한 정보를 제공할 수 있다.

### 3.1.2. 작용기전

역가시험 개발 시 제품의 작용기전(즉, 관련된 치료적 활성 또는 의도된

생물학적 활성)을 고려해야 한다. 그러나 많은 세포·유전자치료제의 경우 작용기전이 복잡(예를 들어, 복합적인 생물학적 활성에 의존)하거나 특성이 완전히 규명되어 있지 않아 제품의 어떤 특성이 역가를 측정하는 데 가장 적절한지 결정하기 어려울 수 있다. 그럼에도 불구하고 적절한 생물학적 특성을 반영하는 역가시험법을 개발하기 위한 모든 시도를 해야 한다. 예를 들어, 유전자치료제의 벡터는 역가를 위해 적어도 두 개의 생물학적 특성(유전자를 세포로 전달하는 능력 및 발현된 유전자 서열의 생물학적 활성)을 포함한다. 따라서 역가시험 시 유전자 전달력과 전달된 유전자의 생물학적 활성을 둘 다 측정해야 한다.

또한, 제안된 작용기전이 하나 이상의 유효성분(예를 들면, 여러 종류의 세포, 여러 개의 벡터, 여러 개의 항원 결정기(epitope)를 갖는 경우)에 의존할 수도 있다. 일부 복합 제품의 경우에는 어떤 성분이 역가를 나타내는지 모호할 수 있다. 적절한 실험을 통해 제품의 각 로트에 대하여 출하 전 각 유효성분의 확인 및 역가를 포함하여 최종 규격에 적합함을 확인해야 한다. 따라서 제품이 하나 이상의 유효성분을 포함하고 있다면 단일 시험법으로는 각 유효성분의 활성을 측정하기에 불충분할 수 있으므로 하나 이상의 시험법을 이용하여 역가를 측정해야 한다(3.3.3항 참조). 또한, 역가시험법 설계 시에는 유효성분 간의 간섭이나 상승으로 인해 그 효과가 상가적이지 않을(non-additive) 가능성을 고려해야 한다.

### 3.2. 제제별 역가시험법 개발

역가시험 선정에 대한 권장 접근 방식의 예는 아래에 나와 있다. 이러한 예는 모든 상황을 포괄하는 것이 아니며, 대체 접근 방식(alternative approach)도 허용될 수 있다.

### 3.2.1. 세포치료제

역가시험은 제품의 의도된 치료 효과와 관련된 제품의 속성을 측정해야 하지만 작용기전이 복잡하거나 제대로 정의되지 않은 경우에는 세포 기반 제품에 대한 속성을 식별하는 것이 어려울 수 있다. 역가시험과 관련된 중요품질속성(critical quality attribute, CQA) 결정 시 비임상 결과와 문헌을 참고하고 개발 초기에 광범위한 제품 특성 연구를 평가하는 것이 권장된다. 이러한 연구는 제품의 생물학적 활성과 관련된 특정 단백질의 발현 양상 또는 기타 속성에 대한 것일 수 있다. 제품의 생물학적 활성과 속성 간 유기적 관계를 확립할 수 있는 경우 해당 속성은 역가 관련 중요품질속성으로 고려될 수 있다. 제조공정에서 역가 관련 중요품질속성을 제어할 수 없는 경우 제품의 출하 규격 중 역가시험으로 해당 중요품질속성에 대한 시험을 포함해야 한다.

냉동보관되지 않은 세포치료제와 같이 유효기한이 짧은 제품은 출하 전에 생물학적 시험을 수행할 시간이 충분하지 않을 수 있다. 따라서 출하를 위해 완제의약품 검체에서 수행하는 물리화학적 역가시험 외에도 공정 중 시험으로 역가를 예측하는 속성에 대한 평가를 실시해야 한다. 또한 완제의약품을 제조한 직후에도 생물학적 역가시험을 실시하고 그 결과로 제품의 역가 및 제조공정의 신뢰성을 확인하여야 한다.

### 3.2.2. 바이러스 벡터를 생체 내(in vivo) 직접 투여하는 유전자치료제

도입 유전자를 발현하는 치료제에 대한 출하시험에는 일반적으로 제품 개발의 초기 단계에서도 형질도입된 세포에서 도입 유전자의 mRNA 또는 단백질을 정량하는 역가시험이 포함되어야 한다. 제품 개발 중에 벡터 입자(vector particle, 캡시드 등)와 핵산(vector nucleic acid)의 역가 관련

중요품질속성에 대한 위험을 종합적으로 평가해야 한다. 예를 들어, 벡터 입자의 역가 관련 위험으로 세포에 핵산을 전달하는 능력을 손상시킬 수 있다는 점이고 핵산의 역가 관련 위험으로 유전자의 길이나 염기서열이 변형되어 활성이 손상될 수 있다는 점이다. 해당 위험이 제조공정 설계 또는 제어 전략으로 완화되지 않는 역가 관련 중요품질속성에 해당될 경우 적절한 정량적 허용기준을 사용하여 추가 역가 분석을 실시함으로써 제품의 안전성과 효능에 문제가 없음을 증명해야 하며, 나머지 위험은 허용 가능한 수준으로 줄여야 한다.

### 3.2.3. 벡터가 형질도입된 세포 기반 환자 맞춤형 생체 외(ex vivo) 유전자치료제

해당 제품은 개별 환자별 수요에 따라 제조되므로 벡터로 형질도입된 세포를 포함한 완제의약품 로트가 규격을 충족하지 못할 경우 다음 로트가 제조되는 동안 환자 치료가 상당히 지연될 수 있다. 역가가 낮은 완제의약품 로트를 제조할 위험을 줄이려면 완제의약품 제조에 사용하기 전에 각 유전자 도입용 벡터 로트가 적절한 생물학적 활성을 갖고 있음을 입증해야 한다. 따라서 완제의약품의 역가를 보증하기 위해서는 완제의약품 출하에 대한 역가시험 및 정량적 허용기준 뿐만 아니라 각 벡터 로트의 출하에 대한 생물학적 활성 시험 및 정량적 허용기준도 포함되어야 한다.

### 3.2.4. 조직공학제제

조직공학제제의 역가는 넓은 범위의 물리적, 구조적 및 생물학적 요인에 따라 달라질 수 있다. 따라서 비파괴적 및 파괴적 분석을 사용하여 물리적, 분자생물학적, 생화학적, 면역학적 및 기타 생물학적 특성을 규명하기 위해

세포, 지지체 또는 둘 다(해당되는 경우)에서 포괄적으로 자료를 수집하는 것이 좋다. 이러한 특성 자료는 제품의 생물학적 활성과 관련이 있는 생물학적, 화학적, 생체역학적 또는 생리학적 속성을 파악할 수 있으며, 이를 통해 조직공학제제의 역가를 예측할 수 있다. 이러한 중요품질속성에 대한 위험을 완화할 수 없는 경우 제품의 출하 규격 중 역가시험으로 해당 중요품질속성에 대한 시험을 포함하여야 한다.

### 3.3. 역가시험에 사용할 수 있는 분석법

#### 3.3.1. 생물학적 시험법

의약품의 역가 분석에 대한 전통적인 시험방법은 2.2항에 명시되어 있는 요구사항을 충족하면서 주어진 결과에 영향을 주는 특성과 관련된 제품의 특이적 활성을 측정할 수 있는 정량적인 생물학적 시험법(Bioassay, 생물검정법)을 개발하는 것이다.

생물검정법은 살아있는 생물계 내에서 제품의 유효성분 평가를 통해 역가를 측정한다. 생물검정법은 생체 내(in vivo) 동물실험, 시험관 내(in vitro) 장기/조직/세포배양 시스템 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 생체 내 또는 시험관 내 시험법을 사용할 수 있으나 가능하다면 동물을 이용한 시험은 제한하기를 권장한다.

#### 3.3.2. 비생물학적 분석시험법

세포·유전자치료제에 대한 정량적인 생물검정법을 개발하는 것은 제품의 특성이나 기술적인 한계로 인해 복잡할 수 있다(표1 참조).

생물검정법을 개발하는 것이 불가능하다면, 이에 대한 대체 시험법을

고려할 수도 있다. 예를 들어, 출하를 위한 실제적이며 신뢰할 수 있는 비생물학적 분석시험법을 사용해야 한다. 비생물학적 분석시험법은 살아있는 시스템 밖에서 제품의 면역학적, 분자학적, 생화학적 특성을 측정하는 것으로 정량 또는 정성분석 모두 해당할 수 있다. 예를 들면, 유세포분석(flow cytometry), 효소면역분석(ELISA), RT-PCR, microarray, 단백질 결합 또는 효소반응 등이 있다. 만약 대체 시험법이 제품 특이적인 생물학적 활성과 상관성이 있다는 것을 적절히 입증할 수 있다면 이러한 특성을 역가로 사용할 수 있다. 상관성을 확립하기 위해서는 제품의 철저한 특성 분석시험을 수행해야 한다.

### 3.3.3. 시험법 매트릭스(assay matrix)

단일 생물학적 시험법이나 분석시험법만으로 역가 측정이 충분하지 못한 경우가 많으며, 이에 대한 예시는 다음과 같다.

- 작용기전이 복잡하거나 아직 완전히 밝혀지지 않은 제품의 경우
- 여러 유효성분 또는 여러 생물학적 활성을 갖는 제품의 경우
- 안정성이 낮은 제품의 경우
- 생물학적 시험법이 정량적이지 않거나, 시험의 완전성 및 정밀성이 미흡한 경우

하나의 시험법으로 제품의 역가를 확인하기 어려운 경우 품질, 일관성 및 안정성과 관련된 다양한 제품 특성을 측정하는 여러 보완적 시험법을 개발하는 등 대체 접근 방식을 사용할 수 있다. 대체 시험법을 함께 사용 시 그 결과가 해당 생물학적 활성과 상관관계가 있다면 역가를 측정하기에 적절할 수 있다. 이러한 시험법 매트릭스는 생물학적 시험법의 조합, 생물학적



시험법과 분석시험법, 또는 분석시험법 단독 등으로 설정할 수 있다. 시험법 매트릭스는 정량적인 결과(예; 활성 단위) 및/또는 정성적인 결과(예; 적합/부적합)를 주는 시험법을 포함할 수 있다. 만약 정성적 시험법이 로트 출고나 안정성 또는 비교동등성 평가 중 역가를 결정하기 위한 시험법의 일부로 사용된다면 하나 또는 그 이상의 정량적 시험법이 동반 수행되어야 한다.

### 3.4. 생물학적 활성과 비생물학적 분석시험법 간 상관성 확립을 위한 요구사항

생물학적 활성의 대체 시험법으로 비생물학적 분석시험법이나 시험법 매트릭스를 사용하여 역가를 입증하려면 과학적으로 충분한 타당성이 있는 데이터(즉, 적절한 분석법을 기반으로 하여 적절한 수의 반복시험, 여러 개의 로트 또는 다양한 환자 샘플 등을 기초로 얻은 데이터)로 대리평가변수 측정(surrogate measurement)과 역가 관련 생물학적 활성 간의 상관관계를 확립해야 한다.

생물학적 활성과 대체 시험법 간의 상관관계는 비임상/개념증명 데이터, 생체 내 데이터(동물실험 또는 임상시험), 또는 시험관 내 세포 및 생화학적 데이터에 대한 비교 등을 포함하여 다양한 접근법을 이용하여 확립할 수 있다. 만일 품목허가 시 생물의약품에 대한 역가 요구조건을 충족시키기 위하여 생물학적 활성에 대한 대리평가변수 측정으로 분석시험법을 선택하였다면 위에서 언급한 2.2항에 명시된 요구사항을 충족하여야 한다. 또한 해당 시험법이 활성 제품과 비활성 또는 분해된 형태의 제품을 구분할 수 있으며 충분히 통제된 연구를 수행하였고 검증된 분석시험법을 채택하였다는 것을 보여주어야 한다.

대리평가변수 측정과 제품의 생물학적 활성 사이의 상관관계를 뒷받침

하는데 사용된 데이터가 적절한지 여부는 사례별로 평가하되 아래 항목에 대한 영향이 있는지 확인해야 한다.

- 확립된 상관관계의 적절성
- 제품에 대한 정보의 양
- 제품의 생물학적 활성에 대한 이해 정도
- 대체 시험법이 생물학적 활성을 얼마나 잘 반영하고 있는지에 대한 정도

어떠한 역가시험법이든 초기 임상 단계부터 해당 시험법 선택의 근거가 되는 제품 특성 분석 자료를 확보하여야 한다.

### 3.5. 역가시험 개발 시기

역가시험법 개발 시 제품 특성 분석을 통해 품질, 역가, 로트 간 일관성 및 안정성에 영향을 미치는 제품 파라미터에 대한 이해가 필요하다. 또한, 이러한 파라미터를 이해하고 통제하는 것은 생산 로트 간의 일관성을 입증하고 서로 다른 제조 과정 또는 다양한 시험법 간의 비교동등성을 평가하여 제품의 어떤 특성이 생물학적 활성이나 유효성과 관련되어 있는지 결정하는 데 필요할 것이다. 역가 측정은 근본적으로 제품의 특성 분석과 관련되어 제품에 대한 가능한 많은 정보를 얻기 위해서는 비임상과 임상시험 초기 단계부터 제품 특성 분석을 통해 역가시험법 개발을 시작해야 한다. 개발 초기 단계부터 역가를 측정하는 것은 다음과 같은 장점이 있다.

- 제품 개발 전반에 걸친 제품 활성, 품질 및 일관성 확인
- 로트 출하를 위한 기준을 뒷받침하는 자료 수집
- 제조방법 변경을 평가하기 위한 근거 제시

- 제품의 안정성 평가
- 기술적 문제 또는 다른 시험법이 요구되는 이유 인식
- 다중시험법(multiple assay) 평가
- 필요한 경우, 상관성 연구를 뒷받침하는 충분한 자료 수집

### 3.6. 개발 단계별 점증적 역가시험법 확립

#### 3.6.1. 제품 개발 초기 단계

일부 제품은 비임상, 1상 임상, 그리고 초기 2상 임상시험에서는 연관된 생물학적 특성에 대한 제한적인 정보로도 역가시험 설정이 충분할 수 있다. 역가시험 허용기준을 수치 범위로 설정하고, 제조 및 임상 경험이 반영될 수 있도록 제품 개발 단계 전반에 걸쳐 지속적으로 조정해야 한다. 초기 임상시험에 사용된 역가시험이 후기 임상시험에 이용되는 시험법에 비해 더 넓은 범위의 허용기준을 가질 수 있다.

임상시험이 진행되고 제품에 대한 정보가 증가함에 따라 해당 제품의 특성을 정량적으로 평가할 수 있는 개선된 역가시험법을 개발하고 적용하여야 한다.

#### 3.6.2. 제품 개발 후기 단계

후기 임상시험(즉, 3상, 치료적 확증 임상)의 주요 목적은 적절하고 잘 통제된 임상시험을 통해 제품 역가에 대해 의미있는 자료를 수집하는 것이다. 적절하고 잘 통제된 임상시험의 한 가지 측면으로는 역가가 유사한 제품 로트들이 투여되는 것이고, 제품 로트가 용량대로 환자에게 투여 시 예상대로 작용할 것이라는 타당성 있는 확신을 갖기 위해서는 역가에 대하여 확립된

허용범위를 준수하는 것이 필요하다. 따라서 제품 로트가 제대로 정의되고 생물학적 활성이 있으며 일관되게 제조되었다는 것을 확인하기 위해서는 역가시험법이나 시험법 매트릭스 설계, 그리고 허용기준의 적절한 측정 범위가 확립되어야 한다. 치료적 확증 임상시험에 사용된 제품 로트의 역가를 충분히 보증하지 못한다면 그 시험은 “기술된 목적을 달성하기 위한 설계상의 결함이 있는 것”으로 간주하고 임상시험을 보류할 수 있다. 또한 유효기간 설정을 위한 안정성시험 수행 시 확립된 기준이 설정된 역가시험법을 적용해야 한다.

### 3.6.3. 품목허가

품목허가를 받으려면 정해진 허용기준으로 검증된 역가시험법이나 시험법 매트릭스를 기술하고 정당화해야 한다. 이와 같은 허용기준은 제조 경험을 통해 얻은 정보, 제품 개발 및 임상시험 전체 기간에 걸쳐 수행된 시험에서 수집된 자료를 기초로 설정해야 한다. 치료적 확증 임상시험에 사용하기 위해 제조한 로트나 제품의 적합성을 평가하기 위한 로트의 허용기준은 반드시 이러한 자료를 반영하여 개선해야 한다.

품목허가에 명시되는 역가시험의 출하 허용기준은 치료적 확증 임상시험에서 확립된 역가 측정 범위가 반영되어야 한다.

### 3.6.4. 역가시험법 평가 및 변경

제품 개발 과정에서 품목허가 이후에도 제조공정이나 시험법이 계속 발전하므로 역가시험법을 재평가하는 것이 필요할 수 있다. 임상시험승인 신청에 사용된 시험법을 변경하거나 새로운 시험법을 제안하는 경우 반드시 이를 검증하는 연구를 수행함으로써 변경되거나 새롭게 제안된 시험법이

역가를 적절하게 측정할 수 있다는 것을 보여주어야 한다. 또한, 검체 크기 및 계획된 분석법에 대한 통계적 측면을 고려하여 설계된 연구를 통해 기존 시험법과 변경 또는 새롭게 제안된 시험법 사이의 비교동등함을 보여주어야 한다. 시험계획서에는 미리 정한 허용기준을 포함시켜 시험법 간의 동등성을 입증해야 한다. 역가시험법에 대한 변경 제안과 함께 적절한 비교동등성 연구 데이터를 제출해야 한다.

역가시험법에 대한 변경 제안을 뒷받침하기 위해 요구되는 제출자료의 양은 다음 요인에 따라 결정될 것이다.

- 제품 개발 단계
- 기존 시험법 내의 변경 유형
- 시험법이 다양한 제품 특성 측정에 사용되는지 여부
- 제안된 시험법이 위에서 요약된 시험법 기준을 충족시키는지 여부

임상시험 중에 사용된 역가시험법을 변경하는 경우 시험법의 적합성을 평가하고 제안된 변경사항에 대한 타당성(예; 더 적절한지, 더 실용적인지, 더 정량적인지)을 제시해야 한다.

이러한 역가시험법 변경에 대한 동등성 평가를 위해 최대한 보관 샘플(예; 제품, 표준물질, 주요 시약 등)을 유지하는 것이 중요하다. 보관 샘플 분석 없이는 새로운 시험법을 구 시험법과 비교하거나 해당 시험법이 적절하게 수행되었는지를 판단하기 어려울 것이다.

## 4. 역가시험법 설계 및 검증

### 4.1. 역가시험법 설계 시 고려사항

역가시험법은 반드시 그 의도된 목적에 적절한 지 여부를 평가할 수 있는 데이터를 수집할 수 있도록 디자인되어야 한다. 여기에는 통계분석을 고려한 충분한 반복시험, 편향성(bias)(예; 96-well plate의 위치에 따른 편향성)을 줄이기 위한 검체 무작위 배정, 그리고 적절한 대조군 등이 포함된다. 또한 시험법의 설계는 시험법 가변성에 영향을 주는 요인에 대한 정보를 반영해야 한다.

따라서, 시험법 설계 시 가변성에 대한 원인들을 고려하고 이를 제한할 수 있는 조치를 취해야 한다. 가변성을 유발하는 일부 원인은 줄일 수 있지만 피할 수 없으므로 이들 간의 균형을 맞추고 측정한 후 모델화해야 한다. 가변성을 감소시키기 위한 일반적인 원칙은 적합한 시약, 검증 및 교정된 시험기기, 그리고 충분히 훈련된 시험자 등이 포함된다. 또한 상세한 표준운영절차(SOP)와 적절한 관리 수단을 통해 가변성을 충분히 줄일 수 있다. 역가시험법에는 검체 및 시험계 적합성에 대한 사전 정의된 허용기준이 포함되어야 하며, 이러한 적합성 기준은 시험이 제대로 수행되지 않았을 경우를 감지하도록 설계하여야 한다.

시험법 특이적 대조군(assay-specific controls)은 사용된 시험법 뿐만 아니라 분석하려는 제품에 따라서도 달라질 수 있다. 또한 표준물질과 대조군을 포함한 중요한 시약의 사용기간에 대해서도 고려해야 한다. 제조자는 시험법 설계 전략을 세밀히 검토하기 위해 여러 가지 자료를 참고하여야 한다.

## 4.2. 표준물질과 대조군의 사용

잘 설계된 다른 모든 시험법과 마찬가지로 역가시험을 개발하기 위해서는 적절한 대조군과 가능하다면 제품 특이적인 표준물질과의 비교가 포함되어야 한다. 제품 특이적인 표준물질 또는 대조군과 제품을 동시에 실험할 수 있다면 시험법이 예상대로 구현된다는 것을 보증하는데 도움이 될 수 있다. 또한 대조군은 시험 기기와 시약들이 정해진 측정 범위 안에서 제대로 작용하는지를 확인하는데 도움이 된다. 잘 설계된 대조군은 시험 결과가 의미있고 신뢰할 수 있다는 확신을 충분히 보여줄 수 있다.

가능하다면 제품 개발의 일부로 “자사” 표준물질을 개발해야 한다. 자사 표준물질로 특성 분석이 잘 되어 있는 임상시험 로트나 기타 특성이 잘 분석되어 있는 자체 제조 물질 또는 외부에서 구입한 물질(예; 해당 제품과 유사한 프로필을 나타내며, 특성이 잘 분석되어 있는 세포주)을 사용할 수도 있다. 표준물질(제품 특이적인 자사 표준물질/대조군)을 개발한 방법과 이유에 대해 명백한 근거가 있어야 한다.

다른 표준물질 및 표준품은 시험법 개발에 도움을 줄 수 있으며 보다 적절한 자사 표준물질 및 대조군을 개발하고 검증하는 데 사용할 수도 있다. 의약품의 특성 분석 또는 역가시험법에 대한 적·부 판정을 위해서 다수의 표준물질, 표준품 및 대조군을 이용하거나 개발할 수 있다. 예를 들어, 시험장비를 보정하고 정량적 유세포분석을 위한 수용 가능한 변수를 정의하는데 도움이 되는 형광 비즈/항체, 입자 크기에 대한 표준품<sup>4)</sup>, 그리고 가이드라인<sup>5)</sup>이 있다. 또한 현재 아데노바이러스 제5형<sup>6)</sup>, 레트로바이러스

4) National Institute of Standards and Technology, available at [https://www.nist.gov/srmors/view\\_detail.cfm?srm=1932](https://www.nist.gov/srmors/view_detail.cfm?srm=1932) (Item number SRM 1932), accessed September 1, 2010.

5) Fluorescence Calibration and Quantitative Measurement of Fluorescence Intensity; Approved Guideline. NCCLS: I/LA24-A Vol 24 No 26, 2004

6) Adenovirus Type 5 Reference Material (ARM), available at <http://www.atcc.org/microbe-products/virology/viral-reference-materials#t=productTab&numberOfResults=24> (item number VR-1516)

벡터<sup>7)</sup>, 그리고 아데노부속바이러스 제2형 벡터<sup>8)</sup> 및 제8형 벡터<sup>9)</sup>에 대한 표준물질도 이용 가능하다. 다른 세포·유전자치료제에 대한 보편적 또는 표준화된 표준물질 개발을 권장한다.

제품 개발 및 특성 분석의 다양한 단계에서 자사 표준물질이 사용되므로 해당 표준물질에 대한 안정성 연구를 제품의 안정성 연구와 함께 동시에 수행하고, 적절한 재시험기간 또는 유효기간을 설정해야 한다. 또한 표준물질의 새로운 로트에 대하여 적절한 특성 분석을 실시하고, 그 결과를 기존 로트와 비교한 후 새로운 표준물질을 평가하고 검증하는 적절한 절차를 수립해야 한다. 가능하다면 새로 제조된 표준물질과의 비교를 위해서 각 로트의 자사 표준물질 시료를 보관하고 표준물질의 소진 또는 유효기간 만료에 미리 대비해야 한다. 일상적인 분석시험 동안에 표준물질의 지속적인 성능과 안정성을 보여줄 수 있는 통계적 관리 차트를 이용하면 부적합에 대한 경향성을 조기에 감지할 수 있는 유용한 품질관리도구로 이용할 수 있다.

### 4.3. 역가시험법 검증 계획 시 고려사항

#### 4.3.1. 역가시험의 요구사항에 대한 규정

품목허가 신청 시 해당 제품이 역가시험의 요구사항에 대한 규정을 충족한다는 것을 보여주는 자료를 품목허가 신청 자료로 제출해야 하며, 해당 역가시험법에 대한 검증도 필요하다.

---

7) Retrovirus Reference Material, available at <http://www.atcc.org/microbe-products/virology/animal-viruses#t=productTab&numberOfResults=24> (item number VR-1450)

8) Adeno-Associated Virus2 Reference Material available at <http://www.atcc.org/microbe-products/virology/viral-reference-materials#t=productTab&numberOfResults=24> (item number VR-1616)

9) Adeno-Associated Virus 8 Reference Material, available at <http://www.atcc.org/microbe-products/virology/viral-reference-materials#t=productTab&numberOfResults=24> (item number VR-1816)



시험법 검증은 잠재적인 오류 원인을 확인하고, 시험법 내에서 이를 정량 분석한다. 시험법을 개발하는 과정에서 시험법의 성능 및 용도의 적합성을 평가해야 한다. 분석 방법을 검증함에 있어 다양한 자료들을 이용할 수 있다. 분석 방법 검증 시 다음 항목들을 포함하여 관련된 모든 시험 파라미터들을 분석하고 확인해야 한다.

- 정확성
- 정밀성(반복성, 실험실 내 정밀성)
- 특이성
- 직선성 및 범위
- 시스템 적합성
- 완전성(단, 개발 단계에서 완전성에 대한 적절한 평가를 진행한 경우 해당 자료를 시험법 검증 자료로 활용할 수 있다.)

#### 4.3.2. 통계적 설계 및 분석

역가 측정을 위한 시험 설계와 분석에는 견고하고 적절한 통계학적 방법을 적용하는 것이 중요하다. 만일 그렇지 않을 경우 시험 결과를 통해 얻은 추론은 유효하지 않을 수 있다. 반복 실험을 통해 확인된 측정법의 변동성에 대한 잠재적 원인에 대해서도 결과보고 시 고려되어야 한다. 정당성 및 이론적 근거를 포함하여 확립된 분석법에 대하여 설명하여야 한다.

시험법 검증 결과에서는 대상 검정 파라미터와 이들의 허용기준에 대한 적합성이 검토되어야 한다. 모든 시험에서 얻은 데이터를 포함하여 확립된 기준 및 표준을 준수한다는 것을 보증할 수 있는 시험 기록을 반드시 유지해야 한다.

### 4.3.3. 정성적 시험법의 검증

3.4항에 기술한 바와 같이 만일 적절한 상관성 연구가 수행되었다면 역가 평가를 위한 시험법 매트릭스의 일환으로 정성적 시험법을 사용할 수도 있다. 정성적 시험법에 해당하는 모든 파라미터는 검증되어야 하며 관련성이 없다고 판단한 파라미터에 대해서는 근거를 제시하여야 한다. 예를 들어, 특정 시험법 검증 파라미터(예; 직선성)가 적합/부적합 판정 방식의 정성적 시험에 적용할 수 없다고 하더라도, 적절한 대조군을 사용하여 그 시험법의 수용 가능한 다른 성능(예; 완전성, 시스템 적합성) 및 특이성에 대한 분석법을 수립해야 한다.

정량적 데이터가 없는 경우 정확성 및 정밀성 확인이 어려울 수 있으나, 적절한 시험법 설계(예; 충분한 반복 시험)를 통해 시험법의 적절한 일관성을 입증할 수 있어야 한다. 변동성이 매우 큰 정량적 판독 결과와 같은 반정량적 시험(semi-quantitative assays)(예; 동물 모델에서의 반응성)에서는 시험법의 완전성 및 일관성을 결정하기 위하여 결과에 대한 허용범위를 좀 더 넓게 설정하는 것도 고려해 볼 수 있다. 시험법의 허용 가능 여부를 결정하기 위해 정성적 분석에 사용되는 대조군 및 표준물질에 대한 판정 기준을 확립해야 한다. 세포·유전자치료제의 복잡한 특성으로 인해 시험법의 적합성을 평가하는 방법은 시험법별로 다를 수 있다.

이 가이드라인에서 명시한 것과 같이 제품에 대한 적절한 역가시험법을 개발하기 위하여 상당한 양의 데이터가 필요할 수도 있다. 또한 해당 시험법은 제품을 개발하면서 얻어지는 새로운 정보에 따라 변경될 수도 있다. 따라서, 역가시험법을 설계, 평가 및 검증 시 식약처와 상담할 것을 권장한다.

## 5. 참고문헌

1. 첨단바이오의약품 품목허가·심사 규정 (식약처 고시)
2. 임상시험용 세포치료제·유전자치료제 품질평가 가이드라인 (2022)
3. 세포치료제 품질관리 시험항목 설정 가이드라인 (2023)
4. 유전자치료제 품질평가 가이드라인 (2022)
5. 첨단바이오의약품 규제과학 상담사례집 (2023)
6. Guidance for Industry: Potency Tests for Cellular and Gene Therapy Products (2011)
7. Draft Guidance for Industry: Potency Assurance for Cellular and Gene Therapy Products (2023)
8. ICH Q2(R2): Validation of Analytical Procedures (2024)
9. ICH Q6B: Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for Biotechnological/Biological Products (1999)
10. ICH Q14: Analytical Procedure Development (2023)



## 세포치료제 · 유전자치료제의 역가시험 설정 시 고려사항[민원인 안내서]

---

발 행 일 2025년 6월 30일

발 행 인 식품의약품안전평가원장 강석연

편집위원장 바이오생약심사부장 최영주

편 집 위 원 (제정) 왕소영 백대현 강진욱 백정희 홍영기 이가영 박동현  
유혜선 이재린 문명숙 허혜련 최진실 안난영 이소연

발 행 처 식품의약품안전평가원 바이오생약심사부 세포유전자치료제과

---



식품의약품안전처

식품의약품안전평가원