

국내 유전자치료 의약품 개발 및 평가 시 고려해야 할 사항

김진석

숙명여자대학교 약학대학
(2000년 5월 20일 접수)

Points To Consider in Development and Evaluation of the Gene Therapy Products in Korea

Jin-Seok Kim

College of Pharmacy, Sookmyung Women's University, Seoul 140-742, Korea
(Received May 20, 2000)

ABSTRACT – Gene therapy is becoming a very promising and feasible medical intervention as the understanding of human diseases extends to their molecular levels. Since the first US Food and Drug Administration (FDA)-approved human gene therapy protocol was approved in 1990, over 300 human clinical trial protocols had been approved worldwide so far. Even though some of the domestic gene therapy clinical trials also proved promising and more are awaiting, it should be emphasized that many safety aspects as well as effectiveness aspects should be considered during the development process. Moreover, there seems to be less restricted guidelines from the National Control Authority (NCA) in initiating human clinical trials. This article is intended to suggest some basis and points to consider in the development and evaluation of gene therapy products including antisense oligonucleotides pharmaceuticals.

Keywords – Gene therapy products, Antisense oligonucleotide, NCA

서론

최근 생명공학기술의 눈부신 발달로 인해 인간의 생명을 위협하는 많은 질병에 대한 분자수준 (molecular level)의 이해가 이루어지고, 또 이러한 이해를 바탕으로 한 새로운 치료법이 발달하고 있다. 특히 유전자 조작기술은 1980년대 이후 비약적인 발전을 이루었고, 농축산, 수의학을 비롯하여 의학의 발전 및 관련 산업의 발전에 지대한 영향을 미쳤다. 1997년 초 영국 로슬린 연구소가 복제양 ‘돌리’를 만든 이래, 쥐, 원숭이, 소 등 각종 복제동물들이 쏟아져 나오고 있고, 국내에서도 체세포 복제를 이용한 복제젓소와 한우, 그리고 유전자 조작 동물인 염소 ‘메디’의 탄생은 이를 뒷받침 해주는 좋은 예라고 할 수 있다. 또한 세계최초의 antisense oligodeoxynucleotide (ODN) 치료약(Vitravene™, 미국 ISIS 社)이 1998년 미국 FDA/CDER로부터 신약허가 (NDA approval)를 받은 것 또한 유전자치료가 머지 않은 장래에 상용화 될 가능성을 제시해 주는 것이다.

미국의 에너지성 (DOE)과 국립보건원 (NIH) 및 유럽

과 일본등이 중심이 되어 약 30억 달러(한화 약3조6천억원)라는 엄청난 규모의 예산을 투입하면서 연구를 진행하고 있는 인간게놈프로젝트(human genome project)가 성공리에 끝나는 2000년 말 경이면, 인간유전자의 염기서열을 포함한 구조적 규명과 기능유전자의 조절분석을 토대로 많은 유전자 결함에 의한 질병의 진단이 가능해 질 것이고, 그 결과 치료유전자는 더욱 활발히 발굴 될 것으로 전망된다. 이미 사람의 22번 및 21번 염색체의 염기서열이 거의 완성 (almost continuous)되어 지난 1999. 12. 2일자 및 2000년 5월18일자 Nature에 각각 발표 되었다.^{1,2)} 이로써 22번 염색체의 이상에 의해 유발되는 것으로 알려져 있는 만성 백혈병 (chronic myeloid leukemia), 정신분열증 (schizophrenia) 등의 질병과 21번 염색체의 이상에 기인하는 것으로 알려져 있는 다운증후군 및 알츠하이머 등의 질병에 대한 유전자치료법의 가능성을 한층 높여주기도 하였다.

이와 같이, 정상 (치료)유전자를 이용하여 필수 단백질 (성장인자, 암 전이억제단백질, 효소등)의 생성을 유도하거나 또는 불필요한 단백질 (oncogene product 등)의 생성을 억제함으로써 인간의 질병을 치료하고자하는 의료행위를 통칭하여 “유전자 치료법 (gene therapy)”라고 하는데, 이러한 유

†본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
Tel : 02) 710-9417, E-mail : jskim@sdic.sookmyung.ac.kr

전자 치료법이 성공적인 효과를 거두기 위한 3가지 필수요건을 들면, i)치료유전자의 발굴, ii)안전하고 효과적인 delivery vector의 개발, iii)적절한 투여계획설립 및 임상적 치료전략 이라 할 수 있다. 이러한 3가지 필수요건 중 앞서 언급한 인간게놈프로젝트에 의해 해당질병을 일으키는 단백질의 유전정보가 완전히 밝혀지고 나면 남아있는 과제는 당연히 이러한 유전자의 잘못된 부분을 수정하거나 혹은 정상적인 유전자로 교체 해주는 등의 작업이 남게되는데, 문제는 이러한 치료유전자를 환자의 체내로 얼마나 안전하고 효율적으로 주입(혹은 전달: delivery)시켜 줄 수 있는 delivery vector의 개발이 뒤따르지 않으면 치료효과를 얻을 수 없다는 것이다. 따라서, 효율적이고 안전한 delivery vector의 개발이야말로 인간게놈프로젝트를 비롯한 많은 유전자 관련 연구가 최종결실을 맺을 수 있게 해주는 고 부가가치 연구과제가 아닐 수 없다.

정부공인 세계최초의 유전자 치료는 1990년 9월14일, 미국 NIH (National Institute of Health)에서 Blaese 박사등이 이끄는 팀에 의해 처음으로 시행되었으며, 대상환자는 그 당시 4살난 A. DeSilva라는 소녀였는데, 선천적으로 adenosine deaminase (ADA) 생성 유전자에 문제가 생겨 severe combined immunodeficiency (SCID)를 앓고 있는 환자였다. DeSilva의 T-cell을 혈액으로부터 끄집어내어 adenosine deaminase를 정상적으로 생성시킬 수 있는 유전자를 체외에서 주입시키는 방법 (ex vivo gene therapy)을 이용하여, 4달에 걸쳐 4번의 infusion을 시행한 결과, 지금은 건강한 모습으로 정상적인 생활을 하고 있는 것으로 알려져 있다. 이후, 유전자치료는 전 세계적으로 기초연구 및 임상실험이 활발히 행해져 1998년 4월까지 약 300여건의 임상시험이 각국 허가기관의 심사를 거쳐 전 세계적으로 행해지고 있다.³⁾ 국내에서도 이미 대학부속병원을 중심으로 한 연구기관에서 MHC class I molecule 이나 IL-12, p53등을 이용한 임상시험이 암 환자를 대상으로 진행되었거나 현재 진행되고 있고, 또 앞으로도 이 분야에서의 임상연구가 활발히 진행될 것으로 예상되고 있다.

이에 본 소고에서는 국내에서의 유전자 치료에 사용될 각종 delivery vector나 transduced cell 등을 치료용 의약품으로 규정하고 이의 적절한 사용을 위한 허가기준 설정에 도움이 될 만한 시험방법과 기준에 대한 제안을 하고자 한다. 이러한 제안을 통해, 현재 병원 IRB (Institutional Review Board) 승인등을 토대로 행해지고 있는 국내의 유전자치료 임상시험을 양성화하고, 이 분야의 학문적 발전 및 국제교류도 폭 넓게 이루어 질 것으로 기대한다.

본 론

유전자치료의 정의 및 종류

현재 세계 각국에서 정부공인 하에 행해지고 있는 유전자 치료는 모두 체세포 치료법 (somatic cell therapy)에 국한되어있고, 생식세포 (germ cell)의 변형을 포함하는 치료는 아직 허가 해 주지 않고 있는 상황이다. 유전자 치료 (gene therapy)는 “살아있는 세포의 유전물질을 변형함에 근거를 둔 모든 의료행위”로 정의 될 수 있고,⁴⁾ 이 세포변형은 체내 (in vivo)에서 유전물질의 직접주입으로 이루어 질 수도 있고, 혹은 체외 (ex vivo)에서 변형한 후 체내로 주입하는 방법이 있다. Somatic cell therapy는 통상 체외에서 (ex vivo) 유전자 변형 (조작)된 체세포를 진단이나 예방 혹은 치료의 목적으로 환자의 몸 속으로 주입하는 것을 말한다. 이러한 somatic cell therapy의 종류는 유전자 변형된 세포의 implantation이나 lymphokine activated killer cell의 infusion 등이 있고, 이러한 과정에서 polymer matrix나 fiber, beads 등이 첨가제의 형태로 들어갈 수 있다. 단지 이렇게 들어간 첨가제 등도 유전자 조작된 cell과 함께 생물학적 제제의 일부로 평가받아야 함이 마땅하다.

이러한 유전자 치료법의 대상이 될 수 있는 질환은 단지 유전자 결함에 의한 유전성질환 (genetic disease) 뿐만 아니라, 암, HIV (human immunodeficiency virus) 감염에 의한 AIDS등을 비롯한 각종 감염성 질환이나 autoimmune disease등이 적용 대상이 될 수 있다. 실제 1998년까지 미국 FDA/NIH를 통과한 300여건 정도의 유전자 치료 임상 protocol을 살펴보면 약 70%정도가 암과 관련된 질병이고, 그 외 위에서 언급한 각종 질환에 대한 임상 protocol이 승인 받았음을 알 수 있다.

광의의 생물학적제제

『유전자 치료 의약품』의 국내 약사관련법규상 가장 근접한 약품분류는 광의의 생물학적제제인 것으로 생각되나, 현행 약사관련법규 (1998. 4. 16 식품의약품안전청고시)의 「의약품 등의 안전성·유효성 심사에 관한 규정」 제1장 제2조에 의하면,

- a. <“생물학적제제”라 함은 물리적, 화학적 시험만으로는 그 역가와 안전성을 평가 할 수 없는 생물체, 생물체에서 유래한 물질 또는 그 유사합성에 의한 물질로서 백신, 혈청 및 항독소 등을 말한다>로,
- b. <“유전자재조합의약품 (이하 “재조합의약품”이라 한다)” 이라 함은 유전자조작기술을 이용하여 제조되는 펩타이드 또는 단백질 등을 유효성분으로 하는 의약품을 말한다

Table I- Various Gene Therapy Products

구분	구체적인 예
Transduced Cell	ADA gene transduced T-cells TNF gene transduced T-cells
Delivery System 이용 -viral vector	retrovirus adenovirus adeno-associated virus sindivirus 등
-non-viral vector	liposome 합성 생분해성 고분자 chitosan 등

>로, 그리고

c. <“세포배양의약품”이라 함은 세포배양기술을 이용하여 제조되는 펩타이드 또는 단백질 등을 유효성분으로 하는 의 약품을 말한다>로 정의되어 있다.

다시 말해 『유전자 치료 의약품』은 위 의약품분류 어디 에도 속하지 않음을 알 수 있다. 이러한 상황은 국내에만 국 한되는 것이 아니라, 미국의 의약품관계 모법인 Public Health Services Act⁵⁾ 나 ICH (International Conference on Harmonisation)⁶⁾에서도 『유전자 치료 의약품』을 별도의 의약품으로 분류하지 않고 있음을 알 수 있다. 이는 『유전 자 치료 의약품』이 광의의 생물학적제제 범주에 속함을 목 시적으로 나타낸다고 보고, 국내 허가기준설정도 위에서 언급한 「의약품 등의 안전성·유효성 심사에 관한 규정」 중 의 a) 생물학적제제, b) 유전자재조합의약품, c) 세포배양의약 품 모두를 포함하는 그런 『광의의 생물학적 제제』 범주에 서 다름이 적절할 것으로 사료된다. 이러한 『유전자 치료 의 약품』의 종류는 유전물질 자체를 일정한 delivery system에 넣어 사용하는 경우 외에도 transduced cell을 이용하는 경우 가 있으며, 또 delivery system에 따라서 viral vector를 이 용한 것과 non-viral vector를 이용한 것으로 나눌 수 있다 (Table I).

개발 및 평가 시 고려사항

유전자치료는 병원에서 흔히 행해지고 있는 수혈이나 bone marrow transplantation (BMT) 와는 근본적으로 달라 서, 축적된 고도의 분자생물학적 지식과 기술이 필요하고 또 한 사용되는 의약품 (transduced cell 포함)에 대한 엄격한 관리통제하에서 행해져야 하고 이는 많은 선진국에서도 마 찬가지이다. 유전자치료 분야의 학문적 발전이라는 미명하 에, 과학적 근거가 공인된 국가기관으로부터 검증되지 않고 그 품질보증 또한 확보되지 않은 상태에서, 환자를 대상으 로 하는 임상시험을 실시하는 것은, 환자의 인권보호측면에서 Declaration of Helsinki에도 위배 될 뿐 아니라, 장기적

안목에서 보면 오히려 이 분야 학문의 퇴보를 자초하는 것 이다. 이 분야의 기술이 우리보다 앞선 선진국의 관리 체 계를 보아도 유전자치료의약품은 다른 생물학적 제제보다 더 엄격한 관리기준을 세워놓고 국가적 차원에서 관리하고 있다.⁷⁾

물론, 여기서 얘기하는 국가적 차원에서의 관리라 함은 National Control Authority (NCA) 및 National Control Laboratory (NCL)에 의한 엄격한 품질관리 및 사후관리를 뜻하는 것이다. 이러한 국가적 관리가 이 분야 연구의 발전 을 저해하는 단순한 규제로써의 기능만을 가진다면 이것 또 한 국민 보건에 합당하지 못하다. 이를 위해서는 과학에 근 거를 둔 엄격하면서도 타당한 국가적 차원에서의 기준설정 이 시급한 문제가 아닐 수 없다.

미국 FDA의 유전자 치료 guideline에 따르면,^{8,9)} 유전자치 료 의약품과 같은 생물학적 제제들은 그 구성성분의 복잡성 으로 인해 그 자체의 성상이 완전히 규명되지 않는 경우가 많아서, 최종제품뿐만 아니라 제조과정 모두의 엄격한 품질 관리 (quality control)가 필요하다. 왜냐하면, 오염물질 (contaminants) 이나 외래의 물질 (adventitious agents)이 제조과정에서 유입은 되었으나 최종 제품에서는 발견이 되 지 않는 경우가 있기 때문이다. Cell bank나 중요한 중간체 (intermediate)의 QC는 물론이고, 최종제품이나 vector를 포 함하고있는 상층액 (supernatant)의 lot-to-lot 재현성도 충분 히 검토되어야 할 사항이다. 이렇게 해서, 그 안전성과 과학 적 토대(rationale)가 입증된 유전자치료 의약품만 해당 병원 의 IRB (Institutional Review Board) 승인을 득한 후에 제 1상 임상 시험부터 진행 할 수 있도록 해야한다. 대상질환의 성격에 따라서 차이는 있겠지만, 만약 생명을 위협하는 시급 한 질환인 경우라면, 제출자료가 조금 미흡하지만 먼저 임상 시험을 진행시키고 추후에 관련된 부족 자료를 보충할 수 있 는 제도적 유연성도 필요하다. 이는 현재 신약의 허가에 있 어, 안전성 및 유효성 심사과정에서 장기간의 실험기간을 요 하는 독성시험일부는 임상시험과 병행진행 함으로써 추후 그 결과를 제출할 수 있게 만들어 놓은 것과 같은 맥락이라 할 수 있겠다.

체세포 치료법 (Somatic Cell Therapy)

세포를 이용한 somatic cell therapy의 경우에는, 사용한 세포의 종류 (autologous, allogenic, xenogenic 등), 조직의 종류 (MHC antigen matching 등), 세포 공여자의 선정/탈 락 기준 (HIV, HBV, HCV 감염 등), 세포배양 과정/배양액 /identification/오염 등에 관한 quality control 등이 허가 시 고려사항으로 포함되어야 할 것이다. 세포은행 (master cell bank/ working cell bank)을 사용한다면 역시 그 기원, 동정,

오염물질에 대한 시험, 또한 동결 및 해동된 세포에 대한 활성도(viability), 고유성(identity), 멸균성(sterility) 등도 빼 놓을 수 없는 항목이 될 것이다.

Ex vivo gene therapy

체외세포 치료법에 사용되는 cellular gene therapy products를 사용할 경우에도, 많은 부분은 체세포 치료법(somatic cell therapy)과 중복될 것이고, potency 측정(bioassay가 가능한 경우)나 엔도톡신 test (LAL test) 등도 꼭 행해야 될 시험 항목이다. 사용되는 vector (혹은 plasmid) 에 대한 고려사항은, 생물학적 제제에 공통적으로 적용되는 test (역가, 멸균, mycoplasma등)외에도, 구조에 대한 충분한 설명, helper virus 에 관한 정보, 그리고 최종 construct를 생산한 producer cell line에 관한 정보와, promoter 및 enhancer 에 관한 정보도 명확히 밝혀져야 한다. 사용 vector에 대한 lot-to-lot release testing에는 DNA/RNA 함량, 크기, 구조 (supercoiled 혹은 linear), 오염물질 (protein, host DNA 등), 비 감염성 virus (empty capsid 등), 그리고 기타 독성물질의 존재여부 등 순도에 관한 전반적인 test가 행해져야 한다. 또한, 제한효소 지도(restriction enzyme mapping)이나 PCR을 이용한 vector의 동정(identification)도 이루어 져야 한다. Plasmid vector를 생성하는 세포를 기르는 과정에서는, 항생제 (특히 penicillin이나 β -lactam계)의 사용은 주의를 요한다. 왜냐하면, 환자가 이러한 항생제에 대한 과민반응을 나타낼 수 있기 때문이다. 또한, 이러한 plasmid vector는 lipid나 고분자 화합물과 함께 투여 될 때는, 이러한 첨가물에 대한 양이나 독성에 대한 정보도 충분히 고려되어야 한다.

Virus 혹은 Non-viral vector 이용

레트로 바이러스를 이용하는 경우는 RCR (replication competent retrovirus)의 존재유무에 대한 정보 (PG4 S+L- 혹은 marker rescue assay)가 있어야 한다. Adenoviral vector를 사용하는 경우는, 정확한 particle : infectious unit의 측정이 있어야 한다. 이는 adenoviral particle 자체가 가지는 독성 때문에, 임상 용량을 정함에 있어서 infectious unit 보다는 particle 수에 근거를 뒴야 한다. (adenovirus particle 수는 SDS등을 사용하여 virus를 lysis 시킨 후 OD 260 nm로 genomic DNA의 양을 측정함으로써 계산이 가능하고 또 전자현미경을 사용하기도 한다).

리포좀(liposome) 이나 생분해성 고분자 등의 비바이러스성 벡터(non-viral vector)를 사용하는 경우는 이러한 물질의 안전성에 대한 자료가 신약의 첨가물 수준에서 이루어져야 할 것이고, 대부분의 이러한 전달체는 체내로 직접 주사하는 in vivo gene therapy에 사용 될 때가 많으므로, 이에 준 하

는 기본 독성시험자료, 체내동력학 및 동태학적 자료 등이 필요할 것으로 생각된다. 또한, 이러한 필요자료는, plasmid DNA 와 복합체를 형성한 최종제형 (제품)에 대한 자료이어야 함을 다시 한번 강조하는 바이다.

허가 과정의 흐름도 제시

연구자나 회사 혹은 병원등의 기관이 유전자치료의약품관련 허가 자료를 준비하여 국가기관에 제출함에 있어 그 과정 또한 가능한 단일 창구로 일원화하여, 기관별 심사에 필요한 최소 심사기간 내에 심사가 이루어 져야한다. 유전자치료 의약품은 그 자체가 의약품인 만큼 국내에서 유통되는 모든 의약품의 허가 및 관리를 맡고있는 식품의약품안전청 (K-FDA)의 철저한 감독 하에 허가가 진행되어야 한다. 식품의약품안전청의 경우는 산하 국립독성연구소의 약리부와 독성부 각각에서 유전자치료 의약품의 약리 및 독성에 관한 자료를, 평가실의 해당 부서와 상호 협조 하에 심사가 이루어 져야 할 것이다. 경우에 따라서는, 임상 protocol 이나 이를 뒷받침 해주는 과학적 근거에 대한 심사는 국립보건연구원 (K-NIH)과의 공동위원회 (ad-hoc committee)를 구성하여, 보

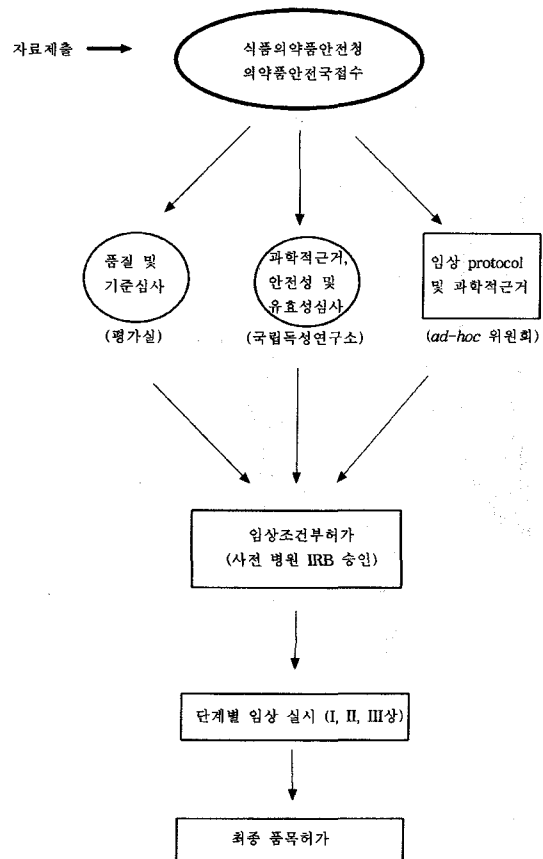


Figure 1-유전자치료 의약품의 허가 흐름도 제시

다 정확한 심사가 이루어지길 두 기관의 상호협조도 기대해 본다. 이러한 허가 흐름도를 아래의 Figure 1과 같이 제시하는 바이다.

업 (HMP-99-B-02-0002)에 의해 연구되었으며 이에 감사드립니다.

결 론

질병의 새로운 치료제 (혹은 치료법)가 개발되면 거기에 따르는 새로운 시험방법이 개발된다. 위에서 언급한 유전자 치료의약품에 대한 허가기준은 최소한의 실천항목을 나타낸 것임을 다시 한번 강조하는 바이다. 이러한 유전자치료의약품 개발하는 연구자나 sponsor는 사용하는 vector 나 transduced cell 에 대한 가능한 모든 정보를 임상시험 전에 밝혀낸 후 그 유효성과 안전성이 확보된 후 비로소 환자에게 투여하여야 할 것이다. 허가기관에서도, 대상질병의 종류나 정도에 따라 요구서류의 제출시점이나 제출 폭을 달리하여 유연성 있게 허가업무를 진행함으로써, 학문 (혹은 치료법)발전도 꾀하고 동시에 국민보건향상에도 도움을 줄 수 있기를 기대하는 바이다.

감사의 말씀

이 논문은 보건복지부주관 1999년도 보건의료기술연구사

문 헌

- 1) I. Dunham *et al.*, The DNA sequence of human chromosome 22, *Nature*, **402**, 489-495 (1999).
- 2) M. Hattori *et al.*, The DNA sequence of human chromosome 21, *Nature*, **405**, 311-319 (2000).
- 3) Report of US NIH's ORDA (1998).
- 4) FDA, Guideline for Human Somatic Cell Therapy and Gene Therapy (1998).
- 5) Section 51 of PHSA (Public Health Services Act, USA) says... "the terms 'biological product' means a virus, therapeutic serum, toxin, antitoxin, vaccine, blood, blood component or derivative, allergenic product, or analogous product".
- 6) ICH says... "Biotechnological/biological products" refers to any products prepared from cells cultivated from cell banks with the exception of microbial metabolites such as, for example, antibiotics, amino acids, carbohydrates, and other low molecular weight substances.
- 7) ICH's Guideline for Preclinical Safety Tests: Biotechnological Products (1998).
- 8) FDA, Gene Therapy Protocol Submission (1998).
- 9) FDA, Appendix M for Gene Therapy Protocol Submission (1998).