

## 당뇨병 및 골다공증 치료제의 효율적인 신약개발을 위한 생체표지자 및 대리 결과 변수의 역할 및 활용

성수현 · 윤휘열 · 백인환 · 강원구\* · 장정윤\*\* · 서경원\*\* · 권광일#  
충남대학교 약학대학 임상약학 연구실, \*대구 가톨릭대학교 약학대학 임상약학 연구실,  
\*\*식품의약품안전청 기관계용의약품팀  
(Received April 2, 2008; Revised August 23, 2008)

### The Role and Application of Biomarkers and Surrogate Endpoints for New Drug Development : Focused on Diabetes Mellitus and Osteoporosis

Soo-Hyeon Seong, Hwi-Yeol Yun, In-Hwan Baek, Wonku Kang\*, Jung Yun Chang\*\*,  
Kyung Won Seo\*\* and Kwang-Il Kwon#

College of Pharmacy, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

\*College of Pharmacy, Catholic University of Daegu, Kyungbuk 712-702, Korea

\*\*Gastrointestinal, Urinary and Metabolic Drug Team, Korea Food and Drug Administration, Seoul 122-704, Korea

**Abstract** — Recently, the FDA (Food and Drug Administration) of the United States and many advanced countries remark biomarkers and surrogate endpoints as a critical path tool on model based drug development. Economic, technical and social profit on model based drug development like a reduction of the length of research and development have been achieved. Therefore we summarize previous studies about biomarkers and surrogate endpoints and suggest a development direction of therapeutic agents. In diabetes mellitus (DM) and osteoporosis, there are remarkable increases in number of patients and most of patients take medicine during their whole lifetime. For this reason, many patients with DM and osteoporosis have a tolerance on their medicine. We expect that research and development on biomarkers and surrogate endpoints will contribute to new drug development on DM and osteoporosis. Biomarkers for DM are blood levels of glucose, insulin, HbA<sub>1c</sub>, CRP, alpha-glucosidase, adiponectin and DPP-4. Among these, validated surrogate endpoints for DM are blood levels of glucose, insulin and HbA<sub>1c</sub>. Biomarkers for osteoporosis are BMD, BMC, trabecular volume, ICTP, DPD, osteocalcin, the activity of osteoclast and production of osteoblast. The validated surrogate endpoints for osteoporosis are BMD only. This review summarizes all suggested biomarkers and surrogate endpoints in DM and osteoporosis. The biomarkers are classified by drugs, and the method of validation for surrogate endpoints is suggested. This information would contribute to suggest a direction of DM and osteoporosis therapeutic agent development.

**Keywords** □ biomarker, surrogate endpoint, diabetes mellitus, osteoporosis, critical path

오늘날 신약이 개발 되어서 시장에 나오기 까지 걸리는 기간이 평균 15년이 소요되고 연구, 개발 과정에서 소요되는 비용이 10억 달러에 달하며 비용의 대부분이 제약 시장에 채 나오기도 전에 소실된다. 많은 비용으로 전임상 실험을 진행 하지만 FDA (Food and Drug Administration)의 IND(investigational new drug) 승인에 통과되는 약물은 10% 정도에 불과하다.<sup>1)</sup> 매년 신

약개발을 위한 투자 비용은 증가하는 반면 신약의 허가는 감소 또는 정체하는 추세를 보이고 있다. 임상 시험 진행을 위해 연구 목적으로 허가를 받은 IND의 경우 50% 이상이 임상 3상에서 시험 실패하여 드롭 아웃(drop out)되는 실정이고 이러한 현상은 신약 개발 사업이 저효율, 고비용 산업으로 되는 결정적인 역할을 하고 있다.<sup>2)</sup> 이러한 문제점을 해결하기 위한 방안으로 연구, 개발(research and development)과정의 새로운 접근이 요구되고 있다. 그러한 노력의 일환으로 최근 FDA에서는 연구, 개발 과정에 critical path란 개념을 도입하여 근거에 기반한 보다 과학적이고 효율적이고 생산적인 방법 개발에 주력하고 있다.<sup>1)</sup> FDA에

#본 논문에 관한 문의는 저자에게로  
(전화) 042-821-5937 (팩스) 042-823-6781  
(E-mail) kwon@cnu.ac.kr

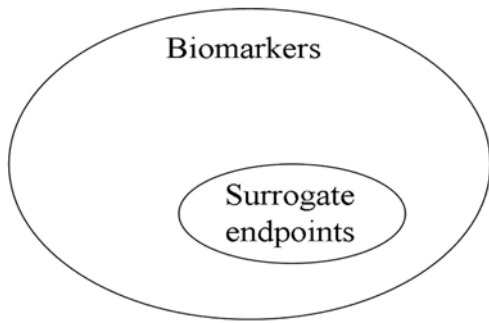


Fig. 1 – Relation of surrogate endpoints and biomarkers.<sup>3)</sup>

서는 보다 구체적으로 신약 개발 과정에 효율성과 생산성을 동시에 증가시킬 수 있을 만한 76개의 후보 프로젝트를 제시했다. 그 중 중요한 비중을 차지하는 프로젝트가 생체표지자 개발(biomarker development)이다.<sup>1)</sup> 본 종설에서 다루고자 하는 생체표지자(biomarker)의 개발은 세계적인 추세이고 특히 발리데이션(validation)이 용이한 생체표지자의 개발은 효과적인 신약 개발에 중추적인 역할을 할 수 있다.

생체표지자는 일반적인 생물학적, 병리학적 과정 또는 치료 시술에 대한 약리학적 반응의 지표로서 객관적으로 측정가능하고 평가될 수 있는 특징이며 대리 결과 변수(surrogate endpoint)나 임상 결과 변수(clinical endpoint)와 깊은 연관성을 가진다(Fig. 1).<sup>3)</sup> 대리 결과 변수는 임상 결과 변수로 대체할 수 있을 만큼 연관성이 큰 생체표지자이고 전염병학적, 치료학적, 병태학적, 또는 다른 여러 과학적 증거에 기반을 둔 임상적 이로움, 해로움을 예측할 수 있을만한 생체표지자를 의미한다. 임상 결과 변수는 환자가 어떻게 느끼고 반응하고 살아 있는가를 반영해 주는 특징 또는 변수를 의미한다.<sup>3)</sup> 대리 결과 변수가 신약개발에 응용하는데 가장 유용한 생체표지자이다. 그러나 현재까지 밝혀진 생체표지자 중 대리 결과 변수로 인정받고 있는 생체표지자는 극소수이며, 앞으로 연구가 계속적으로 이루어져 대리 결과 변수로 인정받을 수 있는 생체표지자가 많이 개발되어야 한다.

당뇨병과 골다공증은 대중적인 질병이고 동시에 한번 진단을 받게 되면 평생 약을 필요로 하는 만성질환이다. 그런만큼 내성(tolerance)이 생기는 경우가 많다. 이로 인해 같은 기전의 약은 내성을 가지게 되어 용량을 늘여 줘야 하고 결국은 효능을 얻지 못하는 경우가 빈번하다. 따라서 당뇨병과 골다공증은 현재 있는 기전과는 다른 기전의 신약의 개발이 필수적이다. 본 종설에서는 이러한 점에 착안하여 당뇨병과 골다공증의 생체표지자와 대리 결과 변수를 조사하였다.

본 종설에서는 위에서 언급한 생체표지자, 대리 결과 변수의 개념을 대사성 질환인 당뇨병과 골다공증에 적용시켜 현재까지 발견된 생체표지자, 대리 결과 변수를 정리하였다. 생체표지자와 대리 결과 변수를 당뇨병과 골다공증에 직접 적용시켜 봄으로서

현재까지의 연구, 개발 상황을 평가하고 앞으로의 연구 방향을 설정하는데 도움이 되고자 하였으며 나아가서는 당뇨병과 골다공증 외 질병에도 생체표지자와 대리 결과 변수의 연구, 개발이 진행되어야 함을 인지시키고자 한다.

### 생체표지자(biomarker) 및 대리 결과 변수(surrogate endpoint)

#### 생체표지자(biomarker) 및 대리 결과 변수(surrogate endpoint)의 선택

Biomarkers Definition working group(BDWG)에서는 생체표지자와 대리 결과 변수의 총체적인 영향력 평가(global intervention assessment)를 위한 개념적인 모델을 제시함으로써 생체표지자 및 대리 결과 변수를 통한 임상시험 시 고려해야 할 사항에 대한 정보를 주고 있다(Fig. 2).<sup>4)</sup> Fig. 2에 의하면 임상 결과 변수와 역학적, 병태생리학적, 치료학적으로 연관을 가진 생체표지자는 임상시험에서 효능(efficacy)과 독성(toxicity)에 대한 정보를 제공할 수 있고, 이러한 정보를 바탕으로 하여 환자군에 대한 임상적 호전 또는 악화에 대한 평가를 할 수 있다. 이렇게 얻은 데이터를 바탕으로 하여 총체적인 영향력 평가를 할 수 있다.<sup>4)</sup> 임상 결과 변수와 역학적, 병태생리학적, 치료학적으로 연관을 가진 생체표지자, 즉 올바른 대리 결과 변수를 선택하는 것은 매우 중요하다. 대리 결과 변수로서 생체표지자가 임상 결과 변수와의 관계는 아래 4가지로 분류할 수 있다(Table I).<sup>5)</sup>

Table I에 있는 A type은 생체표지자와 치료의 정도가 상호 관련이 없는 관계로서 대리 결과 변수로 사용할 수 없는 생체표지자를 의미한다. 전립선암의 생체표지자 중 prostate-specific antigen은 전립선암을 밝힐 수 있는 유용한 생체표지자이나 치료의 정도를 표현할 수 없으므로 이에 해당된다. B type은 생체표

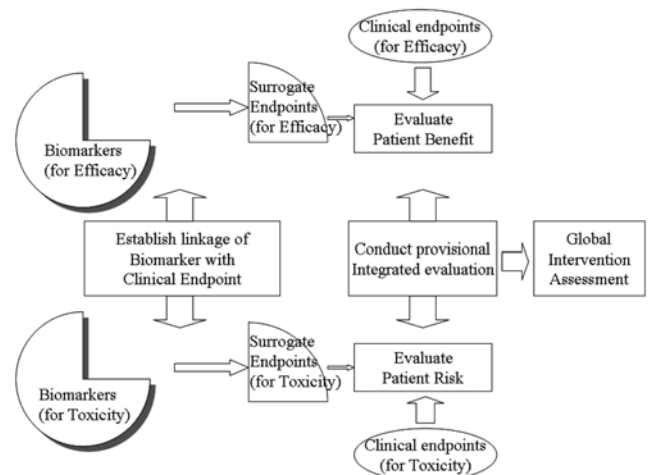
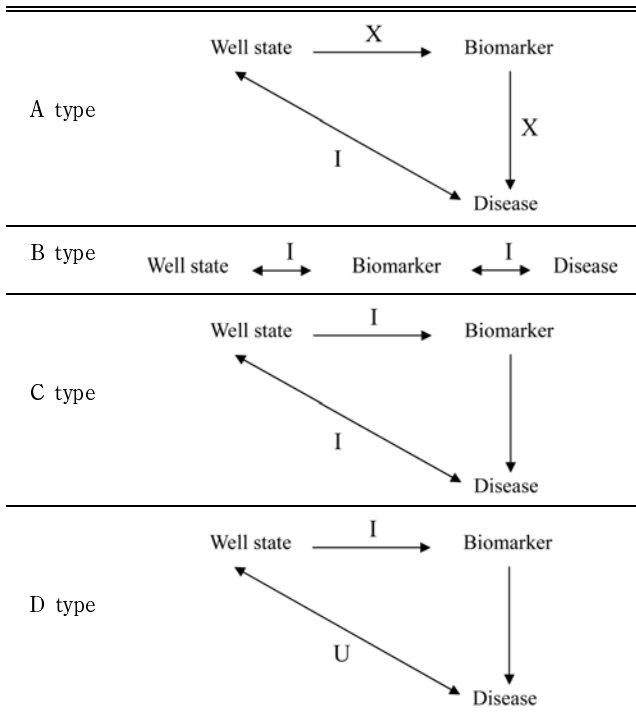


Fig. 2 – Relationship of biomarkers and surrogate endpoints and conceptual model for therapeutic intervention (BDWG).<sup>4)</sup>

**Table I** – Type of relationship between biomarker and clinical endpoint



I : Affected by intervention  
 X : Not affected by intervention  
 U : Unintended effect of intervention

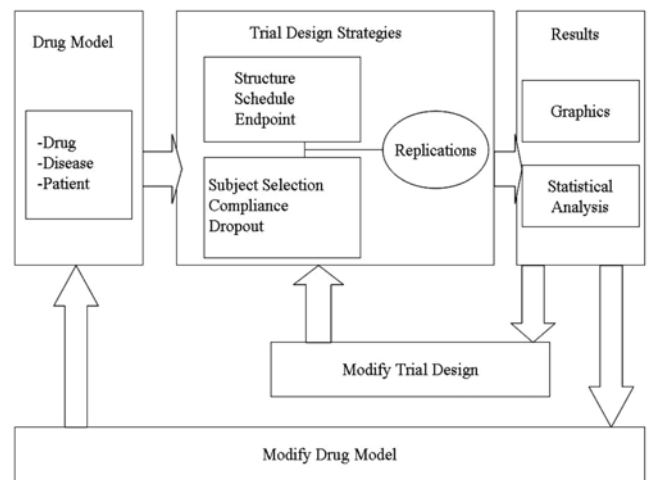
지자를 통하여 치료의 정도를 완벽하게 판단할 수 있는 관계로서 가장 이상적인 생체표지자라고 할 수 있으며 대리 결과 변수로 사용할 수 있다. 현재까지 이러한 생체표지자는 아직 발견되지 않았다. C type은 생체표지자가 임상 결과 변수와는 직접적인 관련성이 있지만 질병의 치료에는 직접적으로 관련되지 않은 유형이다. 치료의 정도에 독립적으로 영향을 주는 관계로서 치료에 전적으로 영향을 주지는 못한다고 볼 수 있다. C type은 대리 결과 변수로서 사용할 수 있으나 치료학적 효과에 대한 과정을 설명할 수 없다. 대부분 시험에 사용중인 대리 결과 변수가 이에 속한다고 할 수 있다. D type은 생체표지자에게는 유의한 영향을 주지만 치료의 정도에는 유의한 영향을 주기 힘든 관계로서 대리 결과 변수로서 생체표지자를 사용할 수는 없지만 실험적인 측면에서의 생체표지자로서 사용 가능한 type이다. 심근경색에 따르는 부정맥의 생체표지자로서 심실성 기외수축이 이에 해당된다.<sup>5)</sup>

위에서 언급한 대로 임상 시험 및 가교 시험에 사용될 수 있는 생체표지자의 경우 B타입과 C타입으로 한정할 수 있다. 임상적으로 나타날 수 있는 결과의 다양성과 임상 결과 변수끼리의 상호작용을 고려할 경우 B타입에 적합한 대리 결과 변수를 찾는 것은 극히 드물 것으로 예상된다. 그러므로 C타입의 생체표지자 개발 및 선정에 중점적인 연구가 이루어져야 할 것이다.<sup>5)</sup>

**FDA 및 선진국의 최근 신약 개발의 critical path and Model-based drug development**

**Critical path** – 매년 신약개발을 위한 투자 비용은 증가하는 반면 신약의 허가는 감소 또는 정체하는 추세이다. 2000년을 전후로 이러한 현상은 더욱 가속화 되었으며 신약물 후보군 발굴 단계에 비하여 신약개발의 속도를 결정하는 단계인 전임상 및 임상 시험을 위한 비용 및 기간은 더욱더 늘어나고 있다. 그러므로 FDA는 신약개발 방법의 효율성 향상을 위해 기존의 경험에 의존한 신약 개발 방식을 탈피하여 근거에 기반한 과학적이고 효율적인 신약의 개발(model-based drug development)을 위한 모든 방법 및 도구를 critical path라 명명하고 이에 대한 정보 등을 제공하고 있다. '생체표지자 및 질병 모델의 개발을 통한 진보된 유효성, 안전성 평가 기술의 개발 및 적용'의 발전 및 적용을 위한 critical path의 도구로서 biomarker, PK/PD modeling 및 임상 시험 설계 등이 명시 되어 있다.<sup>6)</sup>

**Model-based drug development** – 앞으로의 신약 개발 과정에서 효율성 확보를 위해서는 성공적인 임상 시험 수행 및 각 개발 단계에서의 시험 성공 예측력 확보가 반드시 필요하고, 이를 위해서는 기존의 신약 개발 방식과는 다른 새로운 관점의 신약 개발 접근이 필요하다. 이러한 새로운 관점의 신약 개발 과정 중 중요한 부분이 모델 기반학적 신약 개발(model based drug development)이다. 모델 기반학적 신약 개발은 전임상 및 임상 시험 수행을 위해 수학적 모델을 설정하고 설정된 모델을 바탕으로 시뮬레이션을 통해 예측력을 확보함으로써 신약 개발의 결정 과정을 보다 객관적으로 만들어 준다.<sup>7)</sup> Fig. 3은 모델 기반학적 신약 개발의 연구 흐름도로서 기존의 신약 개발의 방식과는 다르게 설정된 모델을 적극적으로 활용하여 예측력 확보 및 시험 디자인의 개발, 시험 결과의 해석 등에 사용하고, 얻어진 결과를 사용하여 보다 견고한 모델을 확보함으로써 재임상 시험 또는 다



**Fig. 3** – Research sequence model-based drug development.<sup>7)</sup>

른 임상 시험에 보다 많은 사전 정보를 제공할 수 있다(Fig. 3).<sup>7)</sup>

### 생체표지자(biomarker) 및 대리 결과 변수(surrogate endpoint)의 적절한 사용 및 모델링과 시뮬레이션 기술 사용을 통해 얻을 수 있는 효과

2002년도 미국 제약 협회(PhRMA)회원의 R&D 비용은 321억 달러였으며, 2008년까지 매년 8%씩 비용이 증가한다고 발표하였다. 그리고 2004년도 신약 개발 프로젝트들의 10%가 생체표지자에 의해 영향을 받을 것으로 예측하였고, 2008년에는 50%로 예상하였다. 생체표지자로 인해 도움을 받는 프로젝트들의 개발 비용은 2004년도에는 15%로 시작하여 2008년에는 45%까지 증가할 것으로 예상하였다. 이러한 계산으로 예측할 경우 생체표지자의 적극적인 활용을 통해 비용을 23%(321억 달러 기준으로 하여 115억 달러 절감) 이상 절감할 수 있는 경제적 효과가 있다.<sup>8)</sup> Fig. 4은 모델링, 시뮬레이션 기술이 기존 신약 개발의 단계에서 활용 가능 범위를 나타내고 있다. 모델링, 시뮬레이션 기술의 적극적인 활용은 신약 개발의 연구 기간의 단축 뿐 아니라 임상 시험 성공률을 높임으로써 수천억 원에 달하는 신약 개발 연구비를 절감할 수 있는 경제학적 효과가 있다(Fig. 4).<sup>9)</sup>

본 중설에서 연구하고자 하는 당뇨병의 경우에도 당뇨병 최신 치료제인 DPP-IV 저해제 개발 시 적절한 생체 표지자와 모델링 기술 사용을 통해 약물의 초기 임상 시험 단계의 단축 효과를 나타낸 사례가 있다. DPP-IV 저해제인 sitagliptin 개발의 경우, 기존 임상 1상과 2상에 소요되는 시간이 약 3.5년 정도 걸리는 것에 비하여 적절한 생체표지자의 사용과 모델링 기술을 통해 기존 기간 보다 1.4년 정도 단축한 2.1년의 개발 소요기간이 걸렸다.<sup>10)</sup>

이러한 경제적 측면 뿐 아니라 임상가설의 조기 검증과 조기에 임상용량 범위 설정이 가능토록 함으로써 제 1상 및 제 2상 임상 시험에서의 안전성 및 유효성을 과학적으로 확보할 수 있는 시험 기술적 측면의 긍정적인 영향을 줄 수 있으며, 환자 반응성을 정

밀하게 예측함으로써 피험자의 수를 줄일 수 있는 효과가 있어 임상 시험에서 가장 큰 문제로 인식되고 있는 피험자 윤리에 대한 문제를 부분적으로 극복함으로써 임상 시험에 활성화를 도모할 수 있다.

### 당뇨병과 골다공증의 생체표지자(biomarker) 및 대리 결과 변수(surrogate endpoint)

#### 당뇨병의 임상 결과 변수(clinical endpoint)와 생체표지자(biomarker) 및 대리 결과 변수(surrogate endpoint)

당뇨병의 임상 결과 변수는 이환률(morbidity)의 감소, 당뇨병 신경병증(diabetic neuropathy), 사망(death), 시각장애(visual impairment), 신부전(kidney failure)으로 설명할 수 있다.

약물군에 따른 당뇨병의 생체표지자(biomarker)의 분류 - 생체표지자는 약물군별로 다양하게 존재한다. 약물군은 크게 인슐린 요법(insulin therapy), 설폰닐우리아계(sulfonylurea), 비구아나이드계(biguanide), 알파 글루코시테이즈 저해제(alpha-glucosidase inhibitor), 티아졸리딘계(thiazolidinedione), 메글리티나이드계(meglitinide), 엑세나타이드계(exenatide), 아밀린계(amylin analogue), DPP-4 저해제(DPP-IV proteinase inhibitor) 그리고 유전적 생체표지자로 나눌 수 있다. Table II에서 알 수 있듯이 각 약물군별로 다양한 생체표지자를 가지고 있으며 특징적인 점은 대부분의 약물이 혈중 인슐린 농도와 혈중 포도당 농도를 생체표지자로 가지고 있다는 점이다. 그 중 대리 결과 변수는 Table II에서 보듯이 혈중 포도당 농도, 당화헤모글로빈(HbA<sub>1c</sub>), 혈중 인슐린 농도, adiponectin 등으로 소수이다(Table II).

인슐린 요법 - 당뇨병은 인슐린의 분비량이 부족하거나 정상적인 기능이 이루어지지 않아 혈중 포도당 농도가 높아져 소변에 포도당을 배출하는 질환이다. 따라서 당뇨병이 있는 환자들은 혈중 포도당 농도가 높고 인슐린의 분비량이 부족하다.<sup>11-13)</sup> 또한 당뇨병이 있는 사람들은 대부분 당화헤모글로빈을 가지고 있다. 따라서 포도당 농도, 인슐린 농도 그리고 당화헤모글로빈 수치는 당뇨병과의 깊은 연관성을 가지므로 생체표지자이자 동시에 대리 결과 변수라 할 수 있다.<sup>11-13)</sup> 2형 당뇨병의 경우 인슐린의 양의 문제보다는 인슐린 저항성 내재인자가 중요한 원인으로 작용하는데 이를 나타내주는 지표가 당뇨병의 치료에 중요한 역할을 할 것으로 기대된다. 인슐린 저항성을 나타내는 지표는 HOMA-R(homeostasis model assessment of insulin resistance), OGTT(oral glucose tolerance test)수치, QUICKI(quantitative insulin sensitivity check index)이 있다. OGTT를 나타내는 수치는 ISI-composite, Stumvoll index, OGIS index로 세분된다.<sup>13, 14)</sup>

Sulfonylurea계 약물 - Glyburide, glipizide, glimepride 등의 성분을 포함하는 설폰닐우리아계 약물의 주된 기전은 인슐린 분

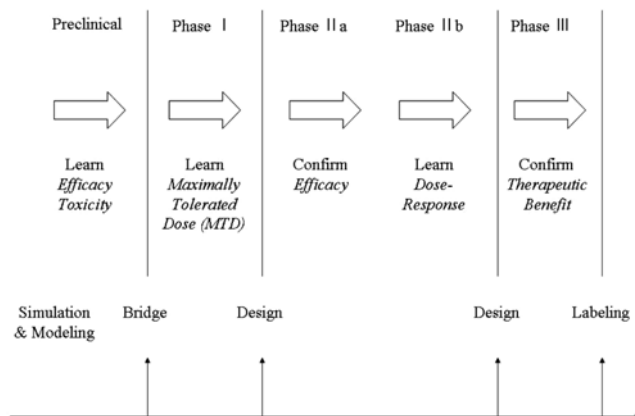


Fig. 4 - Objective of drug development to steps and a role of modeling, simulation.<sup>9)</sup>

**Table II** – Biomarker and surrogate endpoint of diabetes mellitus

Disease	Drugs	Biomarker	Surrogate endpoint	Reference
Diabetes Mellitus	Insulin therapeutics	Glucose concentration in plasma	Glucose concentration in plasma	11, 12, 16, 48, 53
		Insulin resistant intrinsic factor (HOMA-IR, OGTT, QUICKI)		11, 13, 14, 53
		HbA <sub>1c</sub>	HbA <sub>1c</sub>	53, 54, 55, 56, 57
		Insulin concentration in plasma	Insulin concentration in plasma	53
		C-reactive protein (CRP)		16, 58, 59
	Sulfonylurea	Insulin resistant intrinsic factor (HOMA-IR, OGTT, QUICKI)		11, 13, 14, 15, 53, 60
		HbA <sub>1c</sub>	HbA <sub>1c</sub>	53, 54, 55, 56, 57, 61, 62, 63, 64
		Glucose concentration in plasma	Glucose concentration in plasma	11, 12, 15, 16, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77
		Insulin concentration in plasma	Insulin concentration in plasma	15, 53, 60, 61, 63, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 77
		C-reactive protein (CRP)		16, 58, 59
	Biguanides	Glucose concentration in plasma	Glucose concentration in plasma	11, 12, 16, 17, 18, 19, 48, 53, 61, 63, 64, 78
		Insulin resistant intrinsic factor (HOMA-IR, OGTT, QUICKI)		11, 13, 14, 19, 53
		HbA <sub>1c</sub>	HbA <sub>1c</sub>	18, 19, 53, 54, 55, 56, 57, 61, 63, 64
		Insulin concentration in plasma	Insulin concentration in plasma	18, 53, 61, 63
		C-reactive protein (CRP)		16, 58, 59, 63
	Alpha-glucosidase inhibitor	Glucose concentration in plasma	Glucose concentration in plasma	11, 12, 16, 11, 12, 20, 21, 48, 53
		Insulin concentration in plasma	Insulin concentration in plasma	20, 21, 53
		HbA <sub>1c</sub>	HbA <sub>1c</sub>	20, 21, 53, 54, 55, 56, 57
		Glucosetransporter; GLUT-2, GLUT-4		21
		Alpha-glucosidase		21
	Thiazolidinediones	cDNA encoding the protein (Acrp30; specific PPAR-gamma biomarker, Adiponectin)	Adiponectin	19, 22, 61, 79, 80
		Insulin resistant intrinsic factor (HOMA-IR, OGTT, QUICKI)		11, 13, 14, 19, 53
		HbA <sub>1c</sub>	HbA <sub>1c</sub>	19, 53, 54, 55, 56, 57, 61, 64
		Glucose concentration in plasma	Glucose concentration in plasma	11, 12, 16, 19, 48, 53, 61, 64
Insulin concentration in plasma		Insulin concentration in plasma	19, 53, 61	
serum total cholesterol, HDL, LDL, triglycerides			18, 81	
Meglitinides (short acting insulin secretion stimulating agents)	Glucose concentration in plasma	Glucose concentration in plasma	11, 12, 16, 26, 48, 53, 64	
	HbA <sub>1c</sub>	HbA <sub>1c</sub>	53, 54, 55, 56, 57	
	Insulin concentration in plasma	Insulin concentration in plasma	53	

Table II – Continued

Disease	Drugs	Biomarker	Surrogate endpoint	Reference	
Diabetes Mellitus	Exenatide (Glucagons-like peptide-1)	Glucose concentration in plasma	Glucose concentration in plasma	11, 12, 16, 27, 28, 48, 53,	
		Insulin reaction		28	
	Amylin analogues	Glucose concentration in plasma	Glucose concentration in plasma	11, 12, 16, 29, 48, 53	
	Genetic biomarkers	cDNA encoding the protein (Acrp30; specific PPAR-gamma biomarker, Adiponectin)	Adiponectin		22, 79, 80
		C-reactive protein (CRP)			16, 23, 58, 59
		Insulin-like growth factor-1 (IGF-1)			23
	DPP-IV Proteinase inhibitor	Insulin like growth factor binding protein-3			23
		DPP-4 activation in plasma			23, 24, 25
		Total Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) concentration in plasma			23, 24, 25
		Glucose concentration in plasma	Glucose concentration in plasma		11, 12, 16, 23, 48, 53
		Glucagon concentration in plasma			23
		Insulin concentration in plasma			23, 53

비 촉진이다.<sup>15)</sup> 인슐린분비가 촉진됨으로 인해서 포도당의 농도와 당화헤모글로빈이 모두 영향을 받으므로 설포닐우레아계 약물은 인슐린, 포도당, 당화헤모글로빈을 생체표지자로 활용할 약물이란 할 수 있다. Smirnakis 등(2007)은 당뇨병이 심해질수록 염증시 나타나는 CRP(C-reactive protein)도 증가하는 것을 연구하였다. 따라서 CRP(C-reactive protein)도 당뇨병에 작용하는 생체표지자이다.<sup>16)</sup>

Biguanides계 약물 - 간에서 당 생성을 강력하게 억제하여 혈중 포도당의 농도를 조절하는 약물로서 metformin으로 대표된다. Biguanide계 약물군의 생체표지자는 인슐린, 포도당, 당화헤모글로빈, CRP(C-reactive protein)가 있다.<sup>17-19)</sup>

Alpha-glucosidase inhibitor - Bischoff 등(1995)은 alpha-glucosidase 저해제의 기전에 대해 연구하였다. Alpha-glucosidase는 탄수화물의 소화와 관여하는 효소로서 탄수화물의 분해에 관여하여 혈중 포도당을 만드는데 결정적인 역할을 하는 효소이다. 따라서 당뇨병 환자의 혈당 조절에 응용될 수 있는 중요한 생체표지자로서 제시될 수 있다.<sup>20,21)</sup> Glucose transporter(GLUT)도 중요한 생체표지자로서 응용될 수 있다.

Thiazolidinediones계 - 인슐린 저항성을 개선시켜 표적조직(골격근과 지방세포)에서 인슐린 작용성을 증가시키는 약물군이다. 주로 지방세포에서 발현되는 PPAR- $\gamma$ (peroxisome proliferators-activated receptor)를 활성화시켜 인슐린 저항성을 개선시킨다. PPAR- $\gamma$ 와 관련된 adiponectin이 당뇨병 환자에서 정상인에 비

해 떨어진다는 연구결과가 있다.<sup>22)</sup> 위 내용을 종합해보면 adiponectin과 인슐린 저항성 내인적 인자(HOMA-IR, OGTT, QUICKI)은 당뇨병 치료제 개발 시 유용하게 응용할 수 있는 생체표지자라 할 수 있다.

DPP-IV Proteinase inhibitor - DPP-IV(dipeptidyl peptidase-4)는 혈당 조절물질인 GLP-1(glucagons-like peptide-1)과 GIP(glucose-dependent insulinotropic peptide)를 급속하게 감소시키는 물질이다. 따라서 DPP-IV를 저해시킴으로서 GLP-1과 GIP의 기능을 정상화시켜 혈당 조절을 원활히 조절할 수 있다. DPP-IV proteinase inhibitor는 sitagliptin으로 대표될 수 있다.<sup>23-25)</sup> 이 약물군은 DPP-IV의 활성도와 GLP-1을 생체표지자로 활용한 경우를 할 수 있으며 이를 응용해 더 많은 당뇨병 치료제의 개발이 가능할 것이다.

기타약물군 - 이외에도 meglitinide계(단기간 인슐린 분비 촉진제), exenatide계(GLP-1), 아밀린계(amylin analogue) 당뇨병 치료제가 있다.<sup>26-29)</sup> 이들은 특징적인 생체표지자는 없었고 당뇨병의 보편적인 생체표지자인 포도당 농도, 인슐린 농도 그리고 당화헤모글로빈 수치를 생체표지자로 활용하였다.

**골다공증의 임상 결과 변수(clinical endpoint)와 생체표지자(biomarker) 및 대리 결과 변수(surrogate endpoint)**

**골다공증의 임상 결과 변수(clinical endpoint)** - 골다공증의 임상 결과 변수는 골밀도(bone mineral density, BMD)의 증가,

수질골 구멍 크기(trabecular pore size)의 감소로 설명할 수 있다.<sup>30-32)</sup> 그리고 중요한 임상 결과 변수의 하나로 통증의 정도(pain level)와 QOL(quality of life)를 들 수 있다. QOL은 Visual Analogue Scale(VAS), Modified Face Scale(MFS), Beck Depression Index(BDI), Nottingham Health Profile(NHP)으로 측정할 수 있다.<sup>31)</sup>

**검출방법에 따른 골다공증의 생체표지자(biomarker)의 분류** - 검출방법에 따라 imaging marker, 혈청 표지자(serum marker), 뇨중 표지자(urinary marker)로 나눌 수 있다. Imaging marker는 MRI(magnetic resonance imaging), XTM(X-ray tomographic microscopy), DXA(dual X-ray absorptiometry) 등으로 관찰될 수 있는 생체표지자를 의미한다. Imaging marker로는 bone mineral density(BMD), micro-architecture deterioration, trabecular pore size를 들 수 있다. 혈청 표지자는 혈청에서 얻어질 수 있는 생체표지자를 의미한다. 혈청 표지자는 C-terminal telopeptide of collagen type I(CTP), osteocalcin(효소), total alkaline phosphatase activity(ALP), bone isoenzyme alkaline phosphatase activity(boneALP), C-terminal propeptide of procollagen type I(PICP)이 포함된다. 뇨중 표지자(urinary marker)는 뇨중에서 얻을 수 있는 생체표지자를 의미한다. N-terminal telopeptide of collagen type I(NTx), N-terminal propeptide of procollagen type I(PINP), deoxypyridinoline, hydroxy proline, proline-hydroxy proline dipeptide가 이에 포함된다.<sup>33)</sup>

**기전에 따른 골다공증의 생체표지자(biomarker)의 분류** - 기전별로는 골 재흡수와 관련된 생체표지자(biomarker of bone resorption), 골형성과 관련된 생체표지자(biomarker of bone formation), 골밀도와 관련된 생체표지자(biomarker of bone densitometry)로 구분될 수 있다.

골 재흡수와 관련된 생체표지자는 serum C-terminal telopeptide(CTP), urinary N-terminal telopeptide(NTx) of collagen I이다. 골형성과 관련된 생체표지자는 serum C-terminal(PICP)과 N-terminal(PINP) propeptides of procollagen I, bone-specific alkaline phosphatase, osteocalcin이다. 그리고 골 밀도와 관련된 생체표지자는 bone mineral density(BMD)가 해당된다.<sup>33)</sup>

**약물군에 따른 골다공증의 생체표지자(biomarker)의 분류** - 생체표지자는 약물군별로 다양하게 존재한다. 약물군은 칼시토닌(calcitonin), 에스트로겐 대체 요법(estrogen replacement therapy, ERT), 비타민 K요법, 비타민 D요법, bisphosphonate계 약물, benzothioephene 계 약물, 스트론튬(Sr ranelate)요법, 그리고 statin계 약물을 이용한 요법이 있다(Table III).

Calcitonin - 칼시토닌은 혈액 속의 칼슘량을 조절하는 호르몬으로서 갑상선 C세포에서 분비된다. 혈액 속의 칼슘의 농도가 과

다할 경우 칼슘의 농도를 저하시키는 역할을 한다. 따라서 칼시토닌을 이용하여 골 소실을 억제하는 효과를 기대할 수 있다. 이러한 원리를 응용해 실제적으로 칼시토닌을 골다공증에 이용하는 요법이 있다. Ellerington 등(1996)은 폐경기 골다공증환자를 대상으로 연어 칼시토닌의 비강 내 주입을 이용하여 위약군(placebo)과 유의한 차이가 있는지를 연구한 사례가 있다. 그 결과 골밀도가 위약군과 비교하여 증가함을 확인할 수 있었다. 따라서 칼시토닌이 골다공증의 치료에 중요한 역할을 할 것으로 기대된다.<sup>30)</sup> 또한 Ofluoglu 등(2007)은 최근에 골다공증의 주요 임상적 증상이라 할 수 있는 허리통증과 QOL에 관한 칼시토닌의 작용을 연구하였으며, 칼시토닌과 베타 엔도르핀( $\beta$ -endorphin)의 연관성을 연구하였다. 그 결과 칼시토닌이 베타 엔도르핀의 형성을 유도하여 통증경감의 효과가 있는 것을 QOL를 측정함으로써 증명하였다. QOL은 Visual Analogue Scale(VAS), Modified Face Scale(MFS), Beck Depression Index(BDI), Nottingham Health Profile(NHP)으로 측정한다.<sup>31)</sup> 칼시토닌을 이용한 골다공증의 효과를 확인하는 방법으로 MRI(magnetic resonance imaging)를 이용한 방법도 있다. 수질골 구조(trabecular micro-architecture)를 직접 확인하는 방법으로 Chesnut 3<sup>rd</sup> 등(2005)이 이를 연구하였다.<sup>32)</sup> 이렇듯 칼시토닌을 이용한 치료요법에 사용되는 골밀도와 수질골 구조는 골다공증의 중요한 생체표지자라 할 수 있다.

ERT(estrogen replacement therapy) - 폐경기 이후 여성들에게서 자주 나타나는 골다공증의 경우 에스트로겐을 보충해줌으로써 골다공증을 치료할 수 있다. Lane 등(1999)은 난소절제술을 한 암쥐에 군별로 17 $\beta$ -estradiol을 단계별로 주입하여 수질골 부피(trabecular bone volume)를 비교함으로써 17 $\beta$ -estradiol의 골다공증에 미치는 영향을 조사하였다. 수질골 크기는 3차원적 X-ray tomographic microscopy(XTM)으로 측정하였다. 그 결과 에스트로겐 결핍시 수질골 크기에 결함이 생긴다는 것을 알 수 있었다.<sup>34)</sup> 골다공증 환자에겐 수질골에 결함이 생기므로 수질골이 골다공증의 생체표지자라 할 수 있다. 이외에도 에스트로겐 대체 요법으로 확인할 수 있는 생체표지자는 혈청 생체표지자로서는 C-terminal telopeptide of type I collagen(CTP)이 있으며, 뇨 생체표지자로서는 deoxypyridinoline(DPD)이 있다는 것을 Okabe 등(2004)의 연구 결과에서 알 수 있다.<sup>35)</sup>

비타민 K, D요법 - 비타민을 통해서 골다공증을 치료할 수 있다. 비타민 K는 뼈의 석회화에 중요한 역할을 한다. 오스테오칼신(osteocalcin)은 우리의 뼈 안에서 찾을 수 있는 주요한 비콜라겐 단백질(noncollagen protein)이다. 비타민 K는 오스테오칼신 분자를 칼슘과 결합시키고, 칼슘이 뼈 안에서 제자리에 있을 수 있도록 만드는 데 필요하다. 비타민 D는 칼슘과 인의 흡수를 촉진, 조직 중의 인산을 칼슘과 결합시켜 뼈에 침착시키는 작용을 한다. 따라서 비타민 K와 비타민 D가 골다공증 치료에 응용될

Table III – Biomarker and surrogate endpoint of osteoporosis

Disease	Drugs	Biomarker	Surrogate endpoint	Reference	
Osteoporosis	Calcitonin	Bone mineral density (BMD)	Bone mineral density (BMD)	30	
		Micro-architecture deterioration		31,32	
	Estrogen replacement therapy (ERT)	Trabecular pore size			34
		C-terminal telopeptide of type I collagen (ICTP)			35
		Deoxypyridinoline (DPD)			35
		Bone mineral density (BMD)	Bone mineral density (BMD)		35
	Vit K therapy	Osteocalcin			36
		Proline dipeptide			37
		Hydroxy proline			37, 38
	Vit D therapy	Bone alkaline phosphatase			39
		Procollagen c-terminal propeptide			40
		Osteocalcin			36
	Bisphosphonate (alendronate sodium, etidronate)	Bone mineral density (BMD)	Bone mineral density (BMD)		41
	Benzothioophene {selective estrogen receptor modulators (SERMs)} (Raloxifene)	Inhibiting production of osteoblasts			42
		Inducing the activity of osteoclasts			42
	Sr ranelate	Bone resorption			42
		Trabecular pore size			42
		Bone mineral content (BMC)			42
Trabecular number				42	
Statin (fluvastatin, atorvastatin, simvastatin, pravastatin, lovastatin)	N-terminal telopeptide			43	
	Bone mineral density (BMD)	Bone mineral density (BMD)		43	

수 있다. Matsunaga 등(1999)은 폐경기 여성의 골다공증 치료에 비타민 K와 비타민 D의 영향을 연구하기 위해 난소를 절제한 쥐를 이용해 5군으로 나뉘어 연구를 하였다. 1군(난소 절제한 쥐), 2군(난소 절제한 쥐+비타민 K 주입), 3군(난소 절제한 쥐+비타민 D), 4군(난소 절제한 쥐+비타민 K+비타민 D), 5군(위약군)으로 나뉘었다. 결과로 2군과 3군은 골소실이 비교적 나타나지 않았고 4군은 골소실이 현저히 줄어들었다. 나머지 1, 5군은 골소실이 나타났다. 이로부터 비타민 K와 D가 함께 작용할 때 효과가 극대화 된다는 것을 확인할 수 있었다. 위 실험으로부터 비타민 K와 D가 오스테오칼신에 작용하여 골소실을 억제한다는 결론을 도출할 수 있으므로 오스테오칼신을 생체표지자로 활용한 경우라 할 수 있다.<sup>36)</sup> 이외에도 골다공증과 관련하여 proline dipeptide, hydroxy proline, bone alkaline phosphatase, procollagen c-terminal propeptide의 변화가 있으므로 골다공증에 응용될 수 있는 생체표지자라 할 수 있다.<sup>37-40)</sup>

기타약물군 - Adachi 등(2001)은 alendronate를 용량별로 투약하고 골밀도를 측정해봄으로서 alendronate의 효과를 알아보았

다. Alendronate로 대표되는 bisphosphonate계 약물도 골밀도를 생체표지자로 활용했다.<sup>41)</sup>

Benzothioophen계 약물을 통해서도 오스테오블라스트(osteoblast)와 오스테오클라스트(osteoclast)의 변화를 확인할 수 있다. 오스테오블라스트는 조골세포로서 raloxifene을 통해 증가되고 오스테오클라스트는 파골세포로서 raloxifene을 통해 감소되는 양상을 보인다. Benzothioophen의 유도체인 raloxifene은 selective estrogen receptor modulator(SERM)으로서 선택적 에스트로겐 항진작용을 하는 약물이다. 그 중 골조직에 에스트로겐 항진작용이 선택적으로 작용하고 이외 젖샘이나 요도에는 길항작용을 한다.<sup>42)</sup>

비방사성 스트론튬의 2원자와 라넬릭 산(ranelic acid)의 복합체인 Sr ranelate은 골의 재흡수 과정을 저해하여 골소실을 억제하는 작용을 한다.<sup>42)</sup> 이외에도 trabecular pore size, bone mineral content(BMC), trabecular number도 영향을 미친다.<sup>42)</sup>

3-Hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A(HMG CoA) reductase inhibitor인 statin계열의 약물도 골밀도를 증가시키는 작용을 한



다. Fluvastatin, atorvastatin, simvastatin, pravastatin, lovastatin으로 대표되는 statin 계열의 약물은 cholesterol의 생성억제작용을 주효과로 사용되고 있지만 최근에 HMG CoA reductase inhibitor 작용이 골밀도를 증가시키는 작용이 있는 것으로 밝혀졌다.<sup>43)</sup>

**당뇨병과 골다공증의 생체표지자(biomarker) 및 대리결과변수(surrogate endpoint)의 validation**

**Validation의 과정**

**Surrogate endpoint validity** - 임상 시험에 일반적으로 사용되기 위해서는 대리 결과 변수에 사용하기 위한 생체표지자의 데이터의 정확성(accuracy) 및 정밀성(precision)을 확보해야 한다. 데이터의 정확성과 정밀성 뿐 아니라 아래와 같은 validation도 필요하다. 대리 결과 변수와 임상 결과 변수 사이에 나타나는 현상이 비슷한 정도를 의미하는 face validity, 임상결과에 영향을 줄 수 있는 변수들의 안정적인 상태에서와 영향력(intervention)에 따른 변화도 간의 상관성 정도를 의미하는 criterion validity, 대리 결과 변수와 임상적 결과 사이에는 메커니즘 적인 공통점 있어야 한다는 construct validity이 필요하다.<sup>44)</sup>

**Fit-for-Purpose validation** - 연구 또는 실험 목적에 적합한 생체표지자를 선정하기 위하여 정성 및 정량법의 표준화 및 평가하는 과정이다(Fig. 5).<sup>45-48)</sup> Fig. 5에서의 exploratory method validation은 빠른 시간에 생체표지자를 검색하기 위해 실험 목적에 적합한 최소한의 기준에 근거한 발리테이션을 의미한다. Advanced Method validation은 추후 약물 개발 과정에서 결정적인 개발방향을 제시하기 위한 발리테이션 방법으로서 exploratory method validation에 비하여 엄격한 기준에 근거하여 평가하는 방법이다.

Fit-for-purpose validation 확보를 위한 구성요소에는 표준액 및 시약에 대한 validation(안정성 및 시약 교체에 따른 효과 등), 생체표지자의 분석을 위한 target range에서의 validation, Sensitivity, 검량선 fitting 방법(linear, non-linear method 등), 희

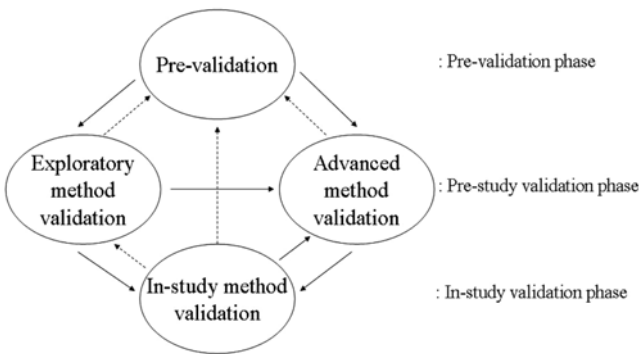


Fig. 5 - Research sequence of fit-for-purpose validation.<sup>45)</sup>

석효과의 측정, 분석법의 정확성 및 정밀성 확보, 분석법의 robustness와 reproducibility, 샘플의 조작법과 채취과정 및 방법, 저장법에 대한 validation, 전 과정의 문서화 과정이 포함된다.

**Validation의 단계** - 기존의 생체표지자의 단계를 분석법의 validation 정도와 임상 결과변수와의 연관성 등을 고려하여 exploration, demonstration, characterization, surrogacy 단계로 세분화하여 설명할 수 있다.<sup>49)</sup>

- Exploration step : 연구 및 개발을 위한 생체표지자로서 *in vitro*/pre-clinical 시험에 정보를 주지만 임상적인 연관성은 부족한 경우를 의미하며 가설의 생성 및 검증에 이용할 수 있고 당뇨병의 생체표지자 중 gene expression이 이에 해당한다 할 수 있다.
- Demonstration step : 충분한 preclinical 감도와 특이성, 임상과의 연계성이 관련되어 있으나 임상 시험을 통한 재현성을 확보하지 못한 생체표지자로서 일차적인 clinical evidence로 약물 개발단계에서 decision-making의 수단으로 이용될 수 있으며 당뇨병의 생체표지자 중 adiponectin이 이에 해당한다 할 수 있다.
- Characterization step : 충분한 preclinical 감도와 특이성, 임상과의 연계성이 관련되어 있고 1회 이상의 임상시험을 통해 재현성이 확보된 생체표지자로서 약물의 치료용량 및 부작용에 대한 관점과 예방 효과 검토에 모두 적용 가능한 단계로 당뇨병의 생체표지자 중 fasting plasma glucose(FPG)이 이에 해당한다 할 수 있다.
- Surrogacy step : 얻어진 데이터를 통해 임상 결과 변수와 생체표지자 또는 대리 결과 변수와의 관계를 규명하여 임상 결과 변수 대신 치환하여 사용할 수 있는 생체표지자로서 신약의 허가 단계에서 유용하게 이용될 수 있으며 당뇨병의 생체표지자 중 당화 헤모글로빈(HbA<sub>1c</sub>)이 이에 해당된다 할 수 있다.

**Biomarker 및 surrogate endpoint 개발 및 선정의 시험 흐름** - 위에 언급된 선행적 문제 및 개념적 모델을 종합적으로 고려할 경우 해당 질환 및 해당 약물군에 대한 생화학적 표지자 및 대리결과 변수 선정을 위한 연구 방법은 Fig. 6과 같은 흐름도를

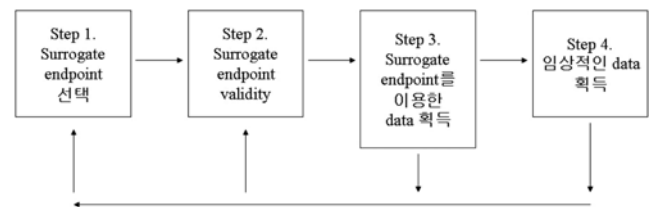


Fig. 6 - Research sequence of surrogate endpoint.<sup>50)</sup>

Table IV - Validity, proximity, specificity of diabetes mellitus biomarker

	Validity	Proximity	Specificity
Insulin concentration in plasma	-	+++	+++
Fasting plasma glucose level	-	++++	++++
HbA <sub>1c</sub> level	++++	+++	+++

Table V – Characteristic of osteoporosis biomarker

Marker	Method	Ease of use	Bone specificity	Validity
Serum marker of bone formation				
Total alkaline phosphatase	Colorimetric	++++	-	++
Skeletal alkaline phosphatase	ELISA	++	+++	+
Procollagen-I extension peptide	RIA	++	+++	++
Osteocalcin	RIA, ELISA	+++	+++	+
Urine markers of bone resorption				
Calcium	AA	+++	-	+++
Hydroxyproline	Colorimetric	++	+	+++
Total pyridinolines	HPLC	+	++	++
Free deoxypyridinoline	ELISA	+++	+++	++
N-telopeptide	ELISA	+++	+++	+++
C-telopeptide	ELISA	++	++	++

RIA : Radioimmunoassay, ELISA : Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay, AA : Atomic Absorption spectroscopy, HPLC : High Performance Liquid Chromatography

통해 진행하여야 한다(Fig. 6).<sup>50)</sup>

#### 당뇨병의 생체표지자(biomarker) 및 대리결과변수(surrogate endpoint)의 validation

생체표지자가 임상적 결과변수와의 연관성(proximity)를 고려할 경우 당뇨병에 사용될 수 있는 생체표지자 및 대리결과변수는 혈중 인슐린의 농도, 공복시의 혈중 포도당 농도, 당화 헤모글로빈(HbA<sub>1c</sub>)과 같은 것이 사용될 수 있으며 각 생체표지자를 validity, proximity, specificity 등에 비추어 평가시 공복시 혈중 포도당 레벨이 가장 의미 있으나 다른 생체표지자와의 영향력(intervention) 고려시 다른 생체표지자의 측정도 의미가 있다. 가령 혈중 인슐린의 농도와 specificity면에서 겹치지 않는 경우에는 Validity가 뛰어난 당화 헤모글로빈을 생체표지자로 측정하는 것도 의미가 있을 수 있다(Table IV).<sup>51)</sup>

#### 골다공증의 생체표지자(biomarker) 및 대리결과변수(surrogate endpoint)의 validation

골다공증 약물의 경우 기전에 근거한 PK/PD model(mechanism based PK/PD model)까지 제시된 당뇨병 치료제와는 다르게 임상 결과 변수와 연관성이 큰(proximal) 생체표지자는 아직 개발 단계에 있다. 임상 결과 변수와 가장 연관성이 큰 골밀도(bone mineral density, BMD)를 측정하는 방법은 인체에 직접적으로 적용하기 어렵고 validity 또한 어려워 다른 생체표지자 개발에 주력하고 있는 실정이다(Table V).<sup>52)</sup>

## 결 론

신약의 개발보다 제네릭 약물의 개발에 초점이 맞추어져 있던 국내 제약 산업의 특성상 모델 기반학적 신약 개발(model-based drug development)의 수준은 초보적인 단계에 불과하다. 하지만

제네릭 의약품이 국내 제약사간의 과다 경쟁 및 특허를 통한 거대 제약회사의 자사 품목 방어 등으로 인해 국내 제약사들도 제네릭 의약품 개발 위주의 정책에서 점차 신약 개발에 초점을 맞추고 있으며 국내 대기업에 의한 국산 신약도 활발하게 개발되고 있는 실정이다. 생체표지자와 대리 결과 변수 연구, 개발의 적극적인 활용이 필요한 비임상 및 임상시험에 대한 기반 확충 및 산업화가 의약품 산업 발전의 10대 과제로 선정됨에 따라 위 기술에 대한 필요성은 폭발적으로 늘어날 전망이다. 국내의 의약품 산업 특성상 가교시험의 숫자도 해마다 증가하고 있는 현 상황에서 생체표지자와 대리 결과 변수의 연구, 개발에 대한 요구가 사회전반에 걸쳐 확산 되고 있는 실정이다.

본 중설 연구는 아직 확립되지 않은 생체표지자와 대리 결과 변수에 대한 개념 및 필요성을 FDA 및 선진국에서 적용하고 있는 critical path를 통해서 제시하고 그로 인해 파생되는 효과를 설명하였다. 그리고 실제 당뇨병과 골다공증에 적용시켜봄으로써 당뇨병과 골다공증의 생체표지자를 약물군별로 연구, 조사하여 앞으로의 당뇨병과 골다공증의 치료제 개발 연구에 도움이 될 것으로 사료된다. 그리고 실제 생체표지자의 validation에 대해 구체적인 사항을 연구, 조사함으로써 앞으로의 새로운 생체표지자의 연구, 개발에 도움이 될 것으로 생각된다. 당뇨병과 골다공증은 많은 종류의 생체표지자가 조사되었지만 여러 종류의 생체표지자가 대리 결과 변수의 후보물질로서 임상결과를 대변할 수 있는 marker가 되기 위해서는 정상군과 당뇨병 골다공증과의 차이 또는 질병의 중등도에 따른 변화에 대한 연구가 더 많이 수행되어야 하며 나아가서 궁극적으로는 신생 생체표지자의 연구, 개발 및 선정이 꾸준히 이루어져야 한다.

## 감사의 말씀

이 논문은 2007년 식품의약품안전청 용역연구개발사업 "07082

의약안 231-생체표지자 및 대리 결과 변수의 PK/PD 모델링 적용에 관한 연구(The study for evaluation of PK/PD modeling using biomarker and surrogate endpoint)" 재원으로 수행된 연구 결과입니다.

## 문 헌

- 1) Woosley, R. L. and Cossman, J. : Drug development and the FDA's critical path initiative. *Clin. Pharmacol. Ther.* **81**(1), 129 (2007).
- 2) Revision of Committee : Challenge and Opportunity on the critical path to new medical product. *FDA* (2004).
- 3) Wagner, J. A. : Overview of biomarkers and surrogate endpoints in drug development. *Dis. Markers* **18**, 41 (2002).
- 4) Biomarkers Definition working group (BDWG) : Biomarkers and surrogate endpoints: Preferred definitions and conceptual framework. *Clin. Pharmacol. Ther.* **69**(3), 89 (2001).
- 5) De Gruttola, V. G., Clax, P., DeMets, D. L., Downing, G. J., Ellenberg, S. S., Friedman, L., Gail, M. H., Prentice, R., Wittes, J. and Zeger, S. L. : Considerations in the Evaluation of Surrogate endpoints in clinical trials: Summary of national institutes of health workshop. *Control. Clin. Trials.* **22**, 485 (2001).
- 6) Revision of Committee : Critical path opportunites reports. *FDA* (2006) : on-line service.
- 7) Stanski, D. R. : Model-based drug development : A critical path opportunity. *FDA* (2006).
- 8) Revision of Committee : Post-genomic biomarker. *Bioview* **12**(3), (2004).
- 9) Bruno, R. : Impact of PK/PD modeling and simulation in drug development. 13th NA ISSX/20th JSSX meeting in Maui Hawaii. (2005).
- 10) Rosenstock, J., Brazg, R., Andryuk, P. J., Lu, K. and Stein, P. : Efficacy and safety of the dipeptidyl peptidase-4 inhibitor sitagliptin added to ongoing pioglitazone therapy in patients with type 2 diabetes: a 24-week, multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-group study. *Clin. Ther.* **28**(10), 1556 (2006).
- 11) Meigs, J. B., Panhuysen, C. I., Myers, R. H., Wilson, P. W. and Cupples, L. A. : A genome-wide scan for Loci linked to plasma levels of glucose and HbA<sub>1c</sub> in a community-based sample of caucasian pedigrees. *Diabetes* **51**, 833 (2002).
- 12) Meigs, J. B., O'donnell, C. J., Tofler, G. H., Benjamin, E. J., Fox, C. S., Lipinska, I., Nathan, D. M., Sullivan, L. M., D'Agostino, R. B. and Wilson, P. W. : Hemostatic markers of endothelial dysfunction and risk of incident type 2 diabetes. *Diabetes* **55**, 530 (2006).
- 13) Kanauchi, M., Kanauchi, K., Inoue, T., Kimura, K. and Saito, Y. : Surrogate markers of insulin resistance in assessing individuals with new categories "prehypertention" and "prediabetes". *Clin. Chem. Lab. Med.* **45**(1), 35 (2007).
- 14) Gungor, N., Saad, R., Janosky, J. and Arslanian, S. : Validation of surrogate estimates of insulin sensitivity and insulin secretion in children and adolescents. *J. Pediatr.* **144**, 47 (2004).
- 15) Groop, L., Groop, P. H., Stenman, S., Saloranta, C., Tötterman, K. J., Fyhrquist, F. and Melander, A. : Comparison of pharmacokinetics, metabolic effects and mechanisms of action of glyburide and glipizide during long-term treatment. *Diabetes Care* **10**(6), 71 (1987).
- 16) Smirnakis, K. V., Plati, A., Wolf, M., Thadhani, R. and Ecker, J. L. : Predicting gestational diabetes: choosing the optimal early serum marker. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **196**(4), 410.e1-410.e7 (2007).
- 17) Stepensky, D., Friedman, M., Raz, I. and Hoffman, A. : Pharmacokinetic-pharmacodynamic analysis of the glucose-lowering effect of metformin in diabetic rats reveals first-pass pharmacodynamic effect. *Drug Metab. Dispos.* **30**(8), 861 (2002).
- 18) Yale, J. F., Valiquett, T. R., Ghazzi, M. N., Owens-Grillo, J. K., Whitcomb, R. W. and Foyt, H. L. : The effect of a thiazolidinedione drug, troglitazone, on glycemia in patients with type 2 diabetes mellitus poorly controlled with sulfonylurea and metformin. A multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann. Intern. Med.* **134**, 737 (2001).
- 19) Fonseca, V., Rosenstock, J., Patwardhan, R. and Salzman, A. : Effect of metformin and rosiglitazone combination therapy in patients with type 2 diabetes mellitus: a randomized controlled trial. *JAMA* **283**(13), 1695 (2000).
- 20) Bischoff, H. : Pharmacology of alpha-glucosidase inhibition. *Eur. J. Clin. Invest.* **24**, 3 (1994).
- 21) Bischoff, H. : The mechanism of alpha-glucosidase inhibitor in the management of diabetes. *Clin. Invest. Med.* **18**(4), 303 (1995).
- 22) Fernández-Real, J. M., López-Bermejo, A., Casamitjana, R. and Ricart, W. : Novel interactions of adiponectin with the endocrine system and inflammatory parameters. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **88**, 2714 (2003).
- 23) Bergman, A. J., Stevens, C., Zhou, Y., Yi, B., Laethem, M., De Smet, M., Snyder, K., Hilliard, D., Tanaka, W., Zeng, W., Tanen, M., Wang, A. Q., Chen, L., Winchell, G., Davies, M. J., Ramael, S., Wagner, J. A. and Herman, G. A. : Pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of multiple oral dose of sitagliptin, a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor: a double-blind, randomized, placebo-controlled study in healthy male volunteers. *Clin. Ther.* **28**(1), 55 (2006).

- 24) Herman, G. A., Bergman, A., Liu, F., Stevens, C., Wang, A. Q., Zeng, W., Chen, L., Snyder, K., Hilliard, D., Tanen, M., Tanaka, W., Meehan, A. G., Lasseter, K., Dilzer, S., Blum, R. and Wagner, J. A. : Pharmacokinetics and pharmacodynamic effects of the oral DPP-4 inhibitor sitagliptin in middle-aged obese subjects. *J. Clin. Pharmacol.* **46**(8), 876 (2006).
- 25) Herman, G. A., Stevens, C., Van Dyck, K., Bergman, A., Yi, B., De Smet, M., Snyder, K., Hilliard, D., Tanen, M., Tanaka, W., Wang, A. Q., Zeng, W., Musson, D., Winchell, G., Davies, M. J., Ramael, S., Gottesdiener, K. M. and Wagner, J. A. : Pharmacokinetics and pharmacodynamics of sitagliptin, an inhibitor of dipeptidyl peptidase 4, in healthy subjects: results from two randomized, double-blind, placebo-controlled studies with single oral doses. *Clin. Pharmacol. Ther.* **78**(6), 675 (2005).
- 26) Haidar, S. H., Johnson, S. B., Fossler, M. J. and Hussain, A. S. : Modeling the pharmacokinetics and pharmacodynamics of a unique oral hypoglycemic agent using neural networks. *Pharm. Res.* **19**(1), 87 (2002).
- 27) Kolterman, O. G., Kim, D. D., Shen, L., Ruggles, J. A., Nielsen, L. L., Fineman, M. S. and Baron, A. D. : Pharmacokinetics, pharmacodynamics, and safety of exenatide in patients with type 2 diabetes mellitus. *Am. J. Health-Syst. Ph.* **62**(2), 173 (2005).
- 28) Agerso, H. and Vicini, P. : Pharmacodynamics of NN2211, a novel long acting GLP-1 derivative. *Eur. J. Pharm. Sci.* **19**(2-3), 141 (2003).
- 29) Nyholm, B., Brock, B., Ørskov, L. and Schmitz, O. : Amylin receptor agonists: a novel pharmacological approach in the management of insulin-treated diabetes mellitus. *Expert. Opin. Inv. Drug.* **10**(9), 1641 (2001).
- 30) Ellerington, M. C., Hillard, T. C., Whitcroft, S. I., Marsh, M. S., Lees, B., Banks, L. M., Whitehead, M. I. and Stevenson, J. C. : Intranasal salmon calcitonin for the prevention and treatment of postmenopausal osteoporosis. *Calcif. Tissue Int.* **59**, 6 (1996).
- 31) Ofluoglu, D., Akyuz, G., Unay, O. and Kayhan, O. : The effect of calcitonin on beta-endorphin levels in postmenopausal osteoporotic patients with back pain. *Clin. Rheumatol.* **26**, 44 (2007).
- 32) Chesnut, C. H. 3<sup>rd</sup>, Majumdar, S., Newitt, D. C., Shields, A., Van Pelt, J., Laschansky, E., Azria, M., Kriegman, A., Olson, M., Eriksen, E. F. and Mindeholm, L. : Effects of salmon calcitonin on trabecular microarchitecture as determined by magnetic resonance imaging: Results from the QUEST study. *J. Bone Miner. Res.* **20**, 1548 (2005).
- 33) Abildgaard, N., Brixen, K., Eriksen, E. F., Kristensen, J. E., Nielsen, J. L. and Heickendorff, L. : Sequential analysis of biochemical markers of bone resorption and bone densitometry in multiple myeloma. *Haematologica* **89**(5), 567 (2004).
- 34) Lane, N. E., Haupt, D., Kimmel, D. B., Modin, G. and Kinney, J. H. : Early estrogen replacement therapy reverses the rapid loss of trabecular bone volume and prevents further deterioration of connectivity in the rat. *J. Bone Miner. Res.* **14**, 206 (1999).
- 35) Okabe, R., Inaba, M., Nakatsuka, K., Miki, T., Naka, H., Moriguchi, A. and Nishizawa, Y. : Significance of serum CrossLaps as a predictor of changes in bone mineral density during estrogen replacement therapy; comparison with serum carboxyterminal telopeptide of type I collagen and urinary deoxypyridinoline. *J. Bone Miner. Metab.* **22**, 127 (2004).
- 36) Matsunaga, S., Ito, H. and Sakou, T. : The effect of vitamin K and D supplementation on ovariectomy-induced bone loss. *Calcif. Tissue Int.* **65**, 285 (1999).
- 37) Kruse, K. and Kracht, U. : Evaluation of serum osteocalcin as an index of altered bone metabolism. *Eur. J. Pediatr.* **145**, 27 (1986).
- 38) Anderson, J., Bannister, D. W., Parsons, V. and Tomlinson, R. W. : Total urinary hydroxyproline excretion in osteomalacia. *Calcif. Tissue Res.* **1**, 183 (1967).
- 39) Heikinheimo, R. J., Inkovaara, J. A., Harju, E. J., Haavisto, M. V., Kaarela, R. H., Kataja, J. M., Kokko, A. M., Kolho, L. A. and Rajala, S. A. : Annual injection of vitamin D and fractures of aged bones. *Calcif. Tissue Int.* **51**, 105 (1992).
- 40) Sorva, A., Risteli, J., Risteli, L., Välimäki, M. and Tilvis, R. : Effects of vitamin D and calcium on markers of bone metabolism in geriatric patients with low serum 25-hydroxyvitamin D levels. *Calcif. Tissue Int.* **49**(suppl), 88 (1991).
- 41) Adachi, J. D., Saag, K. G., Delmas, P. D., Liberman, U. A., Emkey, R. D., Seeman, E., Lane, N. E., Kaufman, J. M., Poubelle, P. E., Hawkins, F., Correa-Rotter, R., Menkes, C. J., Rodriguez-Portales, J. A., Schnitzer, T. J., Block, J. A., Wing, J., McIlwain, H. H., Westhovens, R., Brown, J., Melo-Gomes, J. A., Gruber, B. L., Yanover, M. J., Leite, M. O., Siminoski, K. G., Nevitt, M. C., Sharp, J. T., Malice, M. P., Dumortier, T., Czachur, M., Carofano, W. and Daifotis, A. : Two-year effects of alendronate on bone mineral density and vertebral fracture in patients receiving glucocorticoids. *Arthritis Rheum.* **44**, 202 (2001).
- 42) Shah, H. D. : Novel agents in osteoporosis. *Indian J. Pharmacol.* **36**, 48 (2004).
- 43) Edwards, C. J., Russell, R. G. and Spector, T. D. : Statins and Bone: Myth or Reality? *Calcif. Tissue Int.* **69**, 63 (2001).
- 44) Colburn, W. A. : Biomarkers in drug discovery and development: From target identification through drug marketing. *J. Clin. Pharmacol.* **43**, 329 (2003).
- 45) Lee, J. W., Devanarayan, V., Barrett, Y. C., Weiner, R., Allinson,

- J., Fountain, S., Keller, S., Weinryb, I., Green, M., Duan, L., Rogers, J. A., Millham, R., O'Brien, P. J., Sailstad, J., Khan, M., Ray, C. and Wagner, J. A. : Fit-for-purpose method development and validation for successful biomarker measurement. *Pharm. Res.* **23**(2), 312 (2006).
- 46) Lee, J. W., Smith, W. C., Nordblom, G. D. and Bowsher, R. R. : Validation of assays for the bioanalysis of novel biomarkers: Practical recommendations for clinical investigation of new drug entities. *Biomarkers in Clinical Drug Development* **132**, 119 (2003).
- 47) Colburn, W. A. : Optimizing the use of biomarkers, surrogate endpoints, and clinical endpoints for more efficient drug development. *J. Clin. Pharmacol.* **40**, 1419 (2000).
- 48) Lesko, L. J. and Atkinson, A. J. : Use of biomarkers and surrogate endpoints in drug development and regulatory decision making: criteria, validation, strategies. *Annu. Rev. Pharmacol.* **41**, 347 (2001).
- 49) Wagner, J. A. : Biomarker validation and qualification: Fitness for use. Biomarker World Congress (2007).
- 50) Rolan, P. : The contribution of clinical pharmacology surrogates and models to drug development-a critical appraisal. *Brit. J. Clin. Pharmacol.* **44**, 219 (1997).
- 51) Herman, G. A., Bergman, A., Stevens, C., Kotey, P., Yi, B., Zhao, P., Dietrich, B., Golor, G., Schrodter, A., Keymeulen, B., Lasseter, K. C., Kipnes, M. S., Snyder, K., Hilliard, D., Tanen, M., Cilissen, C., De Smet, M., de Lepeleire, I., Van Dyck, K., Wang, A. Q., Zeng, W., Davies, M. J., Tanaka, W., Holst, J. J., Deacon, C. F., Gottesdiener, K. M. and Wagner, J. A. : Effect of single oral doses of sitagliptin, a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, on incretin and plasma glucose levels after an oral glucose tolerance test in patients with type 2 diabetes. *J. Clin. Endocr. Metab.* **91**(11), 4612 (2006).
- 52) Rosen, C. J. and Tenenhouse, A. : Biochemical markers of bone turnover. A look at laboratory tests that reflect bone status. *Postgrad. Med.* **104**(4), p. 101-2, p. 107-10, p. 113-4 (1998).
- 53) Waugh, J., Keating, G. M., Plosker, G. L., Easthope, S. and Robinson, D. M. : Pioglitazone: a review of its use in type 2 diabetes mellitus. *Drugs* **66**(1), 85 (2006).
- 54) Lachin, J. M., Genuth, S., Nathan, D. M. and Rutledge, B. N. : The hemoglobin glycation index is not an independent predictor of the risk of microvascular complications in the diabetes control and complications trial. *Diabetes* **56**, 1913 (2007).
- 55) Dailey, G. : Assessing glycemic control with self-monitoring of blood glucose and hemoglobin A(1c) measurements. *Mayo Clin. Proc.* **82**(2), 229 (2007).
- 56) Shultis, W. A., Leary, S. D., Ness, A. R., Scott, J., Martin, R. M., Whincup, P. H. and Smith, G. D. : Haemoglobin A1c is not a surrogate for glucose and insulin measures for investigating the early life and childhood determinants of insulin resistance and Type 2 diabetes in healthy children. An analysis from the Avon Longitudinal Study of Parents and Children (ALSPAC). *Diabet. Med.* **23**(12), 1357 (2006).
- 57) Jørgensen, L. G. M., Petersen, P. H. and Brandslund, I. : Clinical outcome estimates based on treatment target limits of laboratory tests: proposal for a plot visualizing effects and differences of medical target setting exemplified by glycemic control in diabetes. *Clin. Chem. Lab. Med.* **44**(3), 327 (2006).
- 58) Basu, S., Larsson, A., Vessby, J., Vessby, B. and Berne, C. : Type 1 diabetes is associated with increased cyclooxygenase- and cytokine-mediated inflammation. *Diabetes Care* **28**, 1371 (2005).
- 59) Hu, F. B., Meigs, J. B., Li, T. Y., Rifai, N. and Manson, J. E. : Inflammatory markers and risk of developing type 2 diabetes in women. *Diabetes* **53**, 693 (2004).
- 60) Jönsson, A., Chan, J. C., Rydberg, T., Vaaler, S., Hallengren, B., Cockram, C. S., Critchley, J. A. and Melander, A. : Pharmacodynamics and pharmacokinetics of intravenous glibenclamide in Caucasian and Chinese patients with type-2 diabetes. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **55**(10), 721 (2000).
- 61) de Winter, W., DeJongh, J., Post, T., Ploeger, B., Urquhart, R., Moules, I., Eckland, D. and Danhof, M. : A mechanism-based disease progression model for comparison of long-term effects of pioglitazone, metformin and gliclazide on disease processes underlying Type 2 Diabetes Mellitus. *J. Pharmacokinet. Phar.* **33**(3), 313 (2006).
- 62) Gangji, A. S., Cukierman, T., Gerstein, H. C., Goldsmith, C. H. and Clase, C. M. : A systematic review and meta-analysis of hypoglycemia and cardiovascular events: a comparison of glyburide with other secretagogues and with insulin. *Diabetes Care* **30**(2), 389 (2007).
- 63) Roberts, V. L., Stewart, J., Issa, M., Lake, B. and Melis, R. : Triple therapy with glimepiride in patients with type 2 diabetes mellitus inadequately controlled by metformin and a thiazolidinedione: results of a 30-week, randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-group study. *Clin. Ther.* **27**(10), 1535 (2005).
- 64) Culy, C. R. and Jarvis, B. : Repaglinide: a review of its therapeutic use in type 2 diabetes mellitus. *Drugs* **61**(11), 1625 (2001).
- 65) Kradjan, W. A., Takeuchi, K. Y., Opheim, K. E. and Wood, F. C. Jr. : Pharmacokinetics and pharmacodynamics of glipizide after once daily and divided dose. *Pharmacotherapy* **15**(4), 465 (1995).
- 66) Kim, H., Yun, M. and Kwon, K. I. : Pharmacokinetic and pharmacodynamic characterization of gliclazide in healthy volunteers. *Arch. Pharm. Res.* **26**(7), 564 (2003).
- 67) Frey, N., Laveille, C., Paraire, M., Francillard, M., Holford,

- N. H. and Jochemsen, R. : Population PKPD modelling of the long-term hypoglycaemic effect of gliclazide given as a once-a-day modified release (MR) formulation. *Brit. J. Clin. Pharmacol.* **55**(2), 147 (2003).
- 68) Chung, M. : Pharmacokinetics and pharmacodynamics of extended-release glipizide GITS compared with immediate-release glipizide in patients with type 2 diabetes mellitus. *J. Clin. Pharmacol.* **42**(6), 651 (2002).
- 69) Bernaer, M., Czech, A. and Tatoň, J. : Relative effectiveness of tolbutamide, chlorpropamide and gliclazide. *Pol. Tyg. Lek.* **47**(1-2), 35 (1992).
- 70) Jaber, L. A., Antal, E. J., Slaughter, R. L. and Welshman, I. R. : Comparison of pharmacokinetics and pharmacodynamics of short- and long-term glyburide therapy in NIDDM. *Diabetes Care* **17**(11), 1300 (1994).
- 71) Jaber, L. A., Antal, E. J. and Welshman, I. R. : Pharmacokinetics and pharmacodynamics of glyburide in young and elderly patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Ann. Pharmacother.* **30**(5), 472 (1996).
- 72) Yun, H. Y., Park, H. C., Kang, W. and Kwon, K. I. : Pharmacokinetic and pharmacodynamic modelling of the effects of glimepiride on insulin secretion and glucose lowering in healthy humans. *J. Clin. Pharm. Ther.* **31**(5), 469 (2006).
- 73) Badian, M., Korn, A., Lehr, K. H., Malerczyk, V. and Waldhäusl, W. : Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the hydroxymetabolite of glimepiride (Amaryl) after intravenous administration. *Drug Metabol. Drug Interact.* **13**(1), 69 (1996).
- 74) von Nicolai, H., Brickl, R., Eschey, H., Greischel, A., Heinzl, G., König, E., Limmer, J. and Rupprecht, E. : Duration of action and pharmacokinetics of the oral antidiabetic drug gliquidone in patients with non-insulin-dependent (type 2) diabetes mellitus. *Arzneimittelforschung* **47**(3), 247 (1997).
- 75) Rydberg, T., Jönsson, A., Karlsson, M. O. and Melander, A. : Concentration-effect relations of glibenclamide and its active metabolites in man: modelling of pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Brit. J. Clin. Pharmacol.* **43**(4), 373 (1997).
- 76) Coppack, S. W., Lant, A. F., McIntosh, C. S. and Rodgers, A. V. : Pharmacokinetic and pharmacodynamic studies of glibenclamide in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Brit. J. Clin. Pharmacol.* **29**(6), 673 (1990).
- 77) el-Sayed, Y. M., Suleiman, M. S., Hasan, M. M., Abdel-Hamid, M. E., Najib, N. M., Sallam, E. S. and Shubair, M. S. : Comparison of the pharmacokinetics and pharmacodynamics of two commercial products containing glibenclamide. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.* **27**(11), 551 (1989).
- 78) Lee, P. E., Gill, S. S., Freedman, M., Bronskill, S. E., Hillmer, M. P. and Rochon, P. A. : Atypical antipsychotic drugs in the treatment of behavioural and psychological symptoms of dementia: systematic review. *Brit. Med. J.* **329**, 75 (2004).
- 79) Wagner, J. A. : Early clinical development of pharmaceuticals for type 2 diabetes mellitus: from preclinical models to human investigation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **87**(12), 5362 (2002).
- 80) Wagner, J. A. : Overview of biomarkers and surrogate endpoints in drug development. *Dis. Markers* **18**, 41 (2002).
- 81) Schwartz, S., Raskin, P., Fonseca, V. and Graveline, J. F. : Effect of troglitazone in insulin-treated patients with type 2 diabetes mellitus. Troglitazone and exogenous insulin study group. *New Engl. J. Med.* **338**(13), 861 (1998).