

# 일본뇌염 백신의 안전성 · 유효성 평가 가이드라인 (민원인 안내서)

2021. 10.



식품의약품안전처

식품의약품안전평가원

바이오생약심사부 생물제제과

# 지침서·안내서 제·개정 점검표

**명칭**

**일본뇌염 백신의 안전성·유효성 평가 가이드라인**

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 style="font-size: 1.2em;">2021 년 10 월 27 일</p> <div style="display: flex; justify-content: space-between; margin-top: 20px;"> <div style="text-align: center;"> <p>담당자 확 인(부서장)</p> </div> <div style="text-align: center;"> <p>송 주 경 김 재 옥</p> </div> </div>		

이 안내서는 일본뇌염 백신의 안전성·유효성 평가 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 2021년 10월 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 행정기관의 대외적인 입장을 기술하는 것(식품의약품안전처 지침서등의 관리에 관한 규정 제2조)

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

전화번호: 043-719-3475

팩스번호: 043-719-3450

## 제·개정 이력

연번	제·개정번호	발행일자	주요내용
1	안내서-1169-01	2021.10.27	제정

# 목 차

I. 서론 .....	1
II. 적용범위 .....	7
III. 용어정의 .....	9
IV. 일본뇌염 불활화 백신에 대한 비임상시험 고려사항 .....	12
1. 면역원성 연구 .....	12
2. 능동적 방어연구 .....	12
3. 수동적 방어연구 .....	13
4. 독성연구 .....	13
V. 일본뇌염 약독화 생백신에 대한 비임상시험 고려사항 .....	14
1. 제품 특성분석 및 공정 개발 .....	14
2. 비임상 면역원성 및 방어효과 .....	15
3. 비임상 독성 및 안전성 .....	16
VI. 일본뇌염 백신의 임상시험 고려사항 .....	22
1. 일반 고려사항 .....	22
2. 면역원성 평가 .....	22
2.1 면역 반응 평가 .....	22
2.2 평가변수 및 분석 .....	23
2.3 용량 및 투여계획 .....	25
2.4 비교 면역원성 연구 .....	26
2.5 백신 병용 투여 .....	27
3. 안전성 .....	27
4. 품목허가 후 연구 .....	29
부록1. ....	31
부록2. ....	34
VII. 참고문헌 .....	40

# I. 서론

## 1. 개요

일본뇌염은 모기가 매개하는 일본뇌염 바이러스(JEV, Japanese encephalitis virus) 감염으로 유발되며, 연간 임상증례의 약 25-30%의 사망률을 차지하는 아시아에서 가장 중요한 바이러스성 뇌염이다<sup>1</sup>. 2011년의 한 연구에 따르면, 일본뇌염이 유행하는 24개 국가<sup>1)</sup>에서, 발생률은 1.8/100,000명으로 매년 약 67,900건의 일본뇌염 증례가 발생하고 있다<sup>2</sup>. 중증 질환은 드물지만 신경정신계 잔존 후유증이 높은 빈도로 발생하며 치명적일 수 있다. 우리나라에서 일본뇌염은 「감염병의 예방 및 관리에 관한 법률」에 따라 제3군 감염병으로 지정되어 관리 중이다.

## 2. 역학

일본뇌염 바이러스는 풍토병성(enzootic) 주기로 유지되는데, 통상적으로 논에서 번식하는 빨간집모기(culicine mosquito) (주로 *Culex tritaeniorhynchus* 작은 빨간집 모기) 및 집돼지 혹은 백로과(ardeidae) [백로(egret) 및 왜가리(heron)]가 연관되어 있으며, 이들이 바이러스를 증폭하는 척추동물 숙주의 역할을 한다. 사람 및 기타 비조류(non-avian) 척추동물에서는 모기를 감염시키기에 충분한 역가의 바이러스혈증이 발생하지 못하기 때문에 추가적인 전파가 발생하지 않는 종결숙주(dead-end host)로 간주한다<sup>3</sup>.

1980년대 이후 특정 국가에서는 일본뇌염 바이러스 전파가 심화되어 이 질환은 호주 북부지역뿐 아니라 이전에는 전파가 인지되지 않았던 아시아 지역으로 지리적 범위가 확대되었다. 온대 지역에서 일본뇌염 바이러스 전파 기간은 4월이나 5월에 시작되어 9월이나 10월까지 계속된다. 열대 및 아열대 지역에서는 전파의 계절적 변동이 적거나 혹은 우기에 전파가 고조된다. 관개(灌漑)로 인해 연중 모기 번식이 가능한 지역에서는 건기에도 전파가 발생할 수 있다. 많은 국가에서는 일본뇌염

---

1) 일본뇌염 유행국가 : 오스트레일리아, 방글라데시, 브루나이, 미얀마, 캄보디아, 중국, 괌, 인도, 인도네시아, 일본, 라오스, 말레이시아, 네팔, 파키스탄, 파푸아뉴기니, 필리핀, 러시아, 사이판, 싱가포르, 스리랑카, 대만, 태국, 베트남, 동티모르 등  
<https://www.cdc.gov/japaneseencephalitis/maps/index.html>

감시가 잘 확립되어 있지 않고 실험실 확증이 어렵기 때문에, 바이러스 전파의 실제 범위 및 유행률 그리고 질환 부담이 잘 파악되고 있지 않다.

일본뇌염의 연간 발생률은 발생 국가들 사이에서 그리고 국가 내에서도 상당한 차이를 보인다. 일본뇌염이 풍토병인 많은 국가에서는 이미 일본뇌염 백신 접종 프로그램을 실시하고 있으며 연간 발생률 역시 연령군 별로 다르다. 유행 국가에서 전반적인 발생률은 만 0 - 14세 연령군에서는 5.4/100,000명이며  $\geq 15$ 세 연령군에서는 0.6/100,000명으로 추산된다<sup>2</sup>. 일본뇌염은 전통적으로 소아 질환으로 간주하지만, 일본뇌염 바이러스가 기존에 면역이 형성되어 있지 않은 새로운 지역으로 유입되는 경우, 모든 연령에서 발생할 수 있다. 성공적인 백신 접종 프로그램으로 소아에서의 증례 발생이 감소하고 있기 때문에, 더 높은 연령의 미접종 그룹에서 증례의 비율이 증가하는 변화가 자주 발생한다. 일부 국가의 자료에서는 상당한 비율의 성인이 여전히 감염에 취약함을 제시하고 있다. 일본뇌염 백신 접종 프로그램이 없는 방글라데시와 같은 일부 국가에서는 증례의 50% 이상이 성인에게서 발생한다<sup>4</sup>.

일본뇌염과 관련된 위험 요소에는 논과 근거리에서 거주 혹은 가족이나 이웃의 돼지 소유가 포함된다<sup>5</sup>. 일본뇌염은, 전적인 것은 아니지만, 시골 지역 발생이 지배적이다. 농촌 지역 방문이 없음에도 카트만두 및 뉴델리와 같은 도시에서 증례가 관측되었는데<sup>6, 7</sup>, 이는 토지 사용 유형의 변화 혹은 벡터(매개체)의 적응으로 인해 일본뇌염 바이러스 전파 지역이 확대되고 있음을 암시하는 것일 수 있다.

### 3. 일본뇌염 바이러스

일본뇌염 바이러스는 *Flaviviridae* 과와 *Flavivirus* 속에 포함된 70가지 바이러스 중 하나로, 단일 가닥 RNA 바이러스이다. 일본뇌염은 1924년 일본에서 처음 보고되었으며, 이후 1955년 호주에서 보고되면서 다른 아시아 국가에서 보고가 이어졌다. 일본뇌염 바이러스는 웨스트나일, 머레이 밸리(Murray Valley) 및 세인트루이스(St. Louis) 뇌염 바이러스와 항원적으로 관련되어 있다.

일본뇌염 바이러스는 5개의 유전형으로 분류된다. 일본뇌염 바이러스는 5' 말단에는 cap이 형성되었으나 3' 말단은 폴리아데닐화되지 않은 약 11kb의 positive-sense, single-stranded RNA로 구성된 유전체를 지니고 있다. 이 유전체에는 3개의 구조

단백질[core(C), membrane(M), envelope(E)]과 7개의 비구조 단백질(NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, NS5)을 생성하게 되는 다단백질(polyprotein)을 암호화하는, 5'- 및 3'- 비번역부위로 둘러싸인 단일 오픈리딩프레임(ORF)이 있다. C/PrM 및 E 유전자의 뉴클레오타이드 서열분석을 기반으로 5개의 유전형이 확인되었다.

- 제1 유전형(Genotype I) : 호주, 캄보디아, 중국, 대만, 인도, 일본, 라오인민민주공화국, 대한민국, 태국, 베트남에 분포하는 바이러스 분리물이 포함(1967-현재).
- 제2 유전형(Genotype II) : 호주, 인도네시아, 말레이시아, 파푸아뉴기니, 대한민국, 태국에 분포했던 바이러스 분리물이 포함(1951-1999).
- 제3 유전형(Genotype III) : 아시아의 주로 온대기후인 지역에 분포하는 분리물이 포함(예: 중국, 대만, 인도, 인도네시아, 일본, 말레이시아, 미얀마, 네팔, 필리핀, 대한민국, 러시아연방, 스리랑카, 태국, 베트남)(1935-현재)
- 제4 유전형(Genotype IV) : 인도네시아에 분포했던 분리물만이 포함(1980-1981).
- 제5 유전형(Genotype V) : 본래 말레이시아에서 일본뇌염 감염자로부터 분리했으며, 이후 중국과 대한민국의 모기로부터 분리함

일본뇌염 바이러스의 주요 유전형은 지리적 분포상 다양하게 중첩되나 모두 동일한 혈청형에 속하며 독성과 숙주 선호에 있어서 유사하다<sup>8</sup>. 20세기 후반까지, 제3 유전형이 사람 감염에 관련된 지배적인 순환 유전형이었으나, 유전형의 순환에는 변화가 발생하였다. 일본뇌염 바이러스의 유전형은 4, 3, 2, 1 순으로 분화했다. 1980년대 이후 유전형 대체가 진행되었고, 이를 통해 제1 유전형이 우세한 유전형으로서 제3형을 대체하고 있다<sup>9</sup>. 현재 일본뇌염 백신은 제3 유전형 바이러스주를 기반으로 하지만, 이 백신들로 다른 유전형에 의한 감염도 예방이 가능하다. 일본뇌염의 외피 당단백질은 중화항체가 인식하는 주요 항원결정기를 포함하고 있다.

#### 4. 질환

대부분의 일본뇌염 바이러스 감염은 무증상이다. 일본뇌염 바이러스 감염 증례 중 심각한 질환은 1/250명 비율로 발생하는 것으로 추산된다<sup>10</sup>. 4-14일의 잠복기

이후, 임상적 징후가 발현되는데, 대부분 갑작스런 고열 및 오한, 두통, 근육통, 정신 착란, 활모양강직(opisthotonus)이 특징이며, 급성 이완마비(acute flaccid paralysis)가 발생할 수 있다. 성인은 경련 발생 빈도가 소아에 비해 낮지만, 소아 환자의 >75%에서는 경련이 발생한다<sup>11</sup>. 소아에서는 위장관 통증 및 구토가 지배적인 초기 징후이다.

질환은 빠르게 정신장애 및 전신 혹은 국소 신경학적 이상, 혼수상태로의 점진적 의식 쇠퇴와 함께 중증 뇌염으로 발전할 수 있다. 환자는 인공호흡기 지원이 필요할 수 있다.

중증 증례 중, 생존 환자의 약 30%에게 후유증으로 심각한 신경학적 및/혹은 심리 사회적, 지적, 신체적 장애가 발생하며, 소아에 대하여 보고된 후유증의 비율이 더 높다. 임상 증례에서 증례-치사율은, 저연령 소아(<만 10세)에서 더 높은 중증 질환 위험 및 증례-치사율을 보이며, 약 20-30%로 추산된다<sup>10</sup>.

## 5. 자연 획득 면역

일본뇌염 바이러스 감염 시에는 평생 면역을 획득하는 것으로 알려져 있다. 서로 다른 플라비바이러스들은 항원을 공유하며 교차 반응성(cross-reacting) 항체를 유도한다. 사용 가능한 자료는 제한적이지만, 관련성 있는 플라비바이러스의 이전 감염은 일부 교차 방어를 제공할 수 있으며, 이후 일본뇌염 바이러스의 감염으로 인한 후유증 발생 및 증증도를 감소시킬 수 있다<sup>8</sup>.

## 6. 치료

일본뇌염에 대한 특정한 항바이러스 치료제는 없다. 임상적 지지요법(supportive clinical care)은 증상을 완화하고 환자를 안정시켜주기 때문에 중요하다. 일본뇌염 관련 사망의 주요 원인은 기도 내 흡인(aspiration) 및 발작, 뇌압 상승, 저혈당증이다<sup>12</sup>.

## 7. 일본뇌염 바이러스 백신 현황

현재 사용 중인 백신 모두가 제3 유전형 바이러스주를 기반으로 한다. 바이러스는 척추동물과 무척추동물에서 유래한 다양한 배양 세포에서 복제된다. 1960년대 이래

일본뇌염에 대해 능동적 면역을 제공하는 생백신과 불활화 백신이 모두 개발되었다. 일본뇌염 백신은 마우스 뇌 조직 유래 불활화 백신, 베로세포 유래 불활화 백신, 약독화 생백신, 재조합(키메릭) 생백신의 4개 군으로 분류된다.

**마우스 뇌 조직 유래 불활화 백신(inactivated mouse brain-derived vaccines):** 1935년 일본 그리고 1949년 중국에서 사람 환자로부터 분리한 바이러스가 각각 원형 Nakayama, Beijing(Beijing-1) 및 P3(Beijing-3) 바이러스주가 되었고, 이들이 일본뇌염 불활화 백신 생산에 사용되는 주요 바이러스주들이다. 마우스 뇌 조직 유래 불활화 백신은 Nakayama 및 Beijing-1(P-1) 바이러스주를 기반으로 한다.

마우스 뇌조직 유래 불활화 백신은 일본뇌염 발생을 줄이기 위해 다수의 국가에서 사용되어 왔고 앞으로도 수년간 국가적으로 그리고 국제적으로 사용될 수 있다. 정기백신접종의 높은 유익성/위해성 비율로 인하여, 일본뇌염 예방접종은 확보 가능한 백신을 사용하여 지속되어야 한다<sup>13</sup>. 그럼에도, 백신 생산에 사용되는 동물의 수를 줄이고자 하는 움직임과 마우스 뇌조직 유래 백신의 잔여 신경 물질과 관련된 잠재적 위해성, 백신 생산 기술의 진보는 전통적인 마우스 뇌조직 유래 백신으로부터 세포배양 유래 백신으로 전환하도록 하는 주요한 추진력이다.

**베로세포 유래 불활화 백신(inactivated Vero cell-derived vaccine):** 베로세포 유래 알루미늄(alum) 면역증강제 첨가 불활화 백신(SA 14-14-2 주, 약독화, IXIARO® 및 JESPECT®)은 마우스 뇌 조직 유래 일본뇌염 백신과의 면역원성 비열등성 비교를 통해<sup>14</sup> 2009년에 허가되었으며, 몇몇 국가에서 허가되었다. 이 백신의 생산은 기술계약을 통해 다른 제조사에 이전되어 2012년 인도에서 허가되었으며(JEEV®), 이후 다른 아시아 국가들에서도 허가되었다<sup>15</sup>. 모기에서 분리한 SA14-14-2 주는 일본뇌염 약독화 생백신 생산에 광범위하게 사용되고 복제 가능 재조합 백신 (replicating recombinant vaccine)의 공여 바이러스주(donor strain)로써 사용된다.

다른 바이러스주[Beijing-1(P-1), Beijing-3(P-3)]주를 기반으로 하는 베로세포 유래 불활화 백신이 중국, 인도, 일본 및 대한민국에서 생산 및 사용되고 있다<sup>2</sup>).

---

2) 일차 햄스터 신장세포 유래 불활화 백신[Inactivated primary hamster kidney (PHK) cell-derived vaccines, Beijing-3(P-3) 바이러스주 기반]은 더 이상 생산되지 않음

**약독화 생백신**(live attenuated vaccine): SA 14-14-2 일본뇌염 바이러스주를 사용한 일차 햄스터 신장(PHK) 세포 유래 약독화 생백신은 1988년 중국에서 허가되어 이후 널리 사용되었다(CD.JEVAX®). 이 백신은 현재 아시아의 더 많은 국가에서 허가되어 사용되고 있다. 동일한 약독화 바이러스주를 기반으로 하는 다른 2가지 약독화 생백신이 중국에서 제조되고 있다.

SA14-14-2 백신은 마우스 및 햄스터, 닭 배아, PHK 세포를 이용해서 자연 발생적 모기 분리물(예: SA14)의 실증적 계대배양(empirical passage)을 통해 중국에서 개발되었으며 PHK 세포로 제조되었다.

**재조합 생백신**(live recombinant vaccine): 재조합(키메라) 약독화 생백신은 2010년 호주에서 허가된 이래 아시아 국가에서 허가 및 사용이 증가해왔다(IMOJEV®, JE-CV®, ChimeriVax-JE®). JE-CV 백신은 일본뇌염 백신 바이러스주 SA14-14-2의 전막(prM) 및 E 구조 유전자를 포함하도록 유전적으로 변형한 황열(YF) 백신 바이러스주 17D(YF-17D)를 기반으로 한다. 이 백신은 배로세포를 사용하여 생산된다.

## 8. CoP(Correlate of protection)

일본뇌염 바이러스에 대한 방어효과는 충분한 수준의 중화항체 형성과 관련되어 있다. 수용된 방어효과에 관한 면역 대리표지자(immunological surrogate of protection)는 혈청방어(seroprotection)라고 일컫는 50% 플라크감소중화시험(PRNT<sub>50</sub>)에서 결정된 최소 1:10의 혈청 중화항체가이다. 항체양전(Seroconversion)은 기저 항체 수준 PRNT<sub>50</sub> 역가의 <10에서 접종 후  $\geq 10$ , 혹은 기저 항체 수준  $\geq 10$ 에서 접종 후 4배 상승으로 정의하고 있다. 면역원성 분석은 PRNT<sub>50</sub> 시험에서 사용하는 세포기질뿐 아니라 바이러스주의 영향을 받는다. 아직 국제표준혈청은 확립되지 않았으므로 정량적 면역원성 결과는 바이러스주와 세포기질의 맥락에서 고려해야 한다.

## II. 적용범위

본 가이드라인은 WHO TRS 963 Aneex 1. Recommendations for Japanese encephalitis vaccine (inactivated) for human use (Revised 2007), WHO TRS 980 Annex 7. Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of Japanese encephalitis vaccines (live, attenuated) for human use (Replacement of Annex 3 of WHO Technical Report Series, 910) 및 WHO JE Vaccine position paper 2015를 토대로 불활화 일본뇌염 백신 및 약독화 일본뇌염 생백신의 비임상 및 임상시험 시 권고사항을 제공하고 있다.

본 권고사항은 지금까지 개발된 마우스 뇌조직 및 배로 세포주로 생산된 불활화 일본뇌염 백신과 일본뇌염 약독화 생백신으로부터 얻은 경험을 기반으로 하고 있다. 다른 종류의 일본뇌염 백신은 본 권고사항의 범위에 포함되지 않는다.

본 가이드라인의 내용은 현재의 과학적 수준에 기반하여 작성되었고, 새로운 과학적 정보에 따라 변경될 수 있으며, 본 가이드라인 및 참고문헌에서 언급되지 않은 부분에 대해 추가적인 기준이 필요한 경우 반드시 식약처와 사전에 논의를 거쳐 적절한 평가 자료가 마련되어야 한다.

본 가이드라인과 더불어 식약처에서 발간한 다음의 가이드라인을 참고하도록 한다.

- 생물의약품 비임상시험 가이드라인
- 백신 임상평가 가이드라인
- 백신 임상시험 이상반응 중증도 평가 가이드라인
- WHO TRS 963 Aneex 1. Recommendations for Japanese encephalitis vaccine (inactivated) for human use (Revised 2007)
- WHO TRS 980 Annex 7. Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of Japanese encephalitis vaccines (live, attenuated) for human use (Replacement of Annex 3 of WHO Technical Report Series, 910)

- WHO TRS 927 Annex 1. Guidelines on Nonclinical Evaluation of Vaccines
- WHO TRS 850 Annex 3. Guideline for good clinical practice(GCP) for clinical trials on pharmaceutical products
- WHO TRS 924 Annex 1. Guidelines on clinical evaluation of vaccines: regulatory expectations

### III. 용어정의

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

#### 기초 접종(Primary vaccination)

최초 접종 또는 임상적 예방 효과를 유도하기 위한 일련의 최초 접종

#### 면역원성(Immunogenicity)

측정 가능한 면역 반응을 유도하는 백신의 능력

#### 면역증강제(adjuvant)

백신의 면역 반응과 그에 따른 임상적 유효성을 증진시키기 위한 성분

#### 백신 유용성(Vaccine effectiveness)

백신 접종에 의한 예방에 대한 추정이다. 보통 특정 모집단에서 일상적인 사용 중에 백신에 의해 예방될 수 있는 질병을 모니터하여 얻을 수 있다. 직접적인 예방과 간접적 예방을 모두 측정한다(즉, 이 추정은 백신접종 집단에서 백신의 사용 효과 다음으로 비접종자의 예방을 부분적으로 반영할 수 있다).

#### 백신 유효성(Vaccine efficacy)

백신 유효성은 직접적 예방(즉, 백신접종군에서 백신 접종에 의해 유도된 예방)을 기준으로 평가한다.

#### 비열등성 시험(Non-inferiority trial)

비열등성 시험의 목적은 시험군이 미리 정한 비열등성 마진의 범위 내에서 대조군보다 나쁘지 않음을 보여주는 것이다. 비열등성시험에서는 대조군이 위약에 비해 유의한 임상적 효과를 가지도록 설정되었다고 가정한다.

#### 신경 침윤(Neuroinvasiveness)

말초 조직에서 복제하고 바이러스 혈증을 유발하고 중추 신경계(CNS)를 침범하는 바이러스의 능력

## 신경 독성(Neurovirulence)

중추신경계(CNS)에서 세포 변성 감염을 시작하고 뇌염을 일으키는 바이러스의 능력. 동물 실험 환경에서 임상, 바이러스 및 조직병리학적 평가는 종종 바이러스의 뇌내 접종 후에 수행된다.

## 약독화(Attenuation)

연속적 계대배양 또는 기타 방법을 통해 방어 면역은 유발시킬 수 있으나 병원성은 제거한 것

## 용법 · 용량(Posology)

- 1회 투여용량 당 전달되는 함량(항원의 양) 및 용량
- 투여요법(즉, 기초접종과 해당되는 경우 기초접종 후에 투여할 투여횟수)
- 투여일정(즉, 기초접종 내에서 그리고 기초접종과 추가 접종 사이에서 지켜야 할 투여 간격)

## 이상사례(Adverse event)

임상시험 참가자에게서 발생하는 예기치 못한 모든 의학적 반응. 반드시 백신과 인과 관계가 있는 것은 아니다.

## 추가 접종(Booster dose)

예방하고자 하는 질병에 대하여 면역력을 높이고 이로 인해 예방 효과를 지속하기 위해 기초접종을 완료한 후에 일정한 간격을 두고 투여하는 접종

## 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 조건과 환경적 안전성 연구 상태와 조직적 과정과 연관된 품질 시스템으로 GLP의 원칙은 시험의 품질, 신뢰성, 완전성, 확인 가능한 결론의 보고, 데이터의 추적성을 보증하는 비임상시험 기준

**GMO(유전자변형생물체, Genetically modified organism)**

교배 또는 자연 재조합 및 선택에 의해 자연적으로 발생하지 않는 방식으로 재조합 DNA 기술(또는 유전 공학 기술)을 사용하여 유전 물질을 변형시킨 생물체

**GMT(기하평균역가, Geometric mean titre)**

모든 값을 곱하고 이 수치의 n차 루트 값을 취해(여기서 n은 가용한 자료가 있는 시험대상자의 수), 시험대상자 집단에 대한 평균 항체 역가를 계산하는 방법

**PFU(플라크 형성 단위, Plaque-forming unit)**

세포가 적절히 염색된 후 세포 배양 단층에서 세포변성 효과로 인해 단일 가시적인 감염 초점을 유발하기에 충분한 바이러스의 양

## IV. 일본뇌염 불활화 백신에 대한 비임상시험 고려사항

새로운 일본뇌염 불활화 백신의 비임상 평가는 ‘생물의약품 비임상시험 가이드라인’ (식약처)<sup>16</sup> 및 WHO 백신 비임상 평가 가이드라인<sup>17</sup>을 기반으로 해야 한다. 백신 개발 중 수행하는 비임상 연구는 품목허가 전 그리고 그 과정 중에 식약처와 논의할 것을 권고한다.

### 1. 면역원성 연구 (Immunogenicity studies)

일본뇌염 바이러스의 경우, 방어에 있어서 항체의 역할은 충실히 연구되었으며 ELISA와 같은 바이러스 결합 분석시험보다 중화항체 분석시험이 더 적절하다고 본다 (VI.2장 참조). 비임상 연구에서는, 달리 근거를 제시하지 않는다면, 임상시험에서 사용하려는 백신과 일반적으로 동일한 제형을 사용해야 한다.

최초 연구에는 다양한 투여계획에 따라 후보백신을 다양한 용량으로 동물에게 접종하고 중화항체 반응의 동력학(kinetics) 평가를 진행한다. 최소 1가지 허가된 백신을 대조약으로 포함한다면 유용한 보조 자료를 제공할 수 있으나 이는 선택사항이다. 일반적으로 마우스가 적절한 면역 반응을 보여주므로 이 동물종을 사용하여 연구를 수행한다.

### 2. 능동적 방어연구 (Active protection studies)

백신의 방어 유효성은 공격 연구(challenge studies)에서 평가할 수 있다. 이러한 연구는 이전의 백신 접종이 동종 바이러스주로 인한 질환에 대하여 방어효과를 제공함을 증명하는 데 중점을 두어야 한다. 이 연구는 임상시험 개시 이전에 수행해야 한다. 공격 시험을 진행하는 방어연구는 다른 제3 유전형 바이러스 중 최소 1가지로 수행해야 한다 (예: 백신 생산에 사용한 다른 바이러스주). 제3 유전형이 아닌 바이러스를 사용하는 유사한 연구 수행을 독려한다. 이러한 연구는 개발 프로그램 중 더 이후 시점에 진행할 수 있다. 생물오염과 관련된 문제에 대해 고려해야 한다.

비접종 마우스에게서 일관적으로 질환 및/혹은 사망을 유발할 수 있는 공격 바이러스의 최적 농도 및 접종 경로를 확립해야 한다. 공격시험에는 일반적으로 뇌내(intracerebral)

경로를 사용하지만, 일부 바이러스는 복강내(intraperitoneal) 경로가 적합하다. 마우스는 일반적으로 최대 면역 반응 시점에서 바이러스로 공격시험을 진행한다.

### 3. 수동적 방어연구 (Passive protection studies)

수동적 방어연구에서는 백신을 접종한 사람이나 동물의 혈청을 비접종 동물에게 투여하고, 이어서 앞서 능동적 방어연구에 대해 서술한 바와 같이 바이러스 공격시험을 실시한다. 이를 통하여 백신 접종에 대한 반응으로 유발된, 방어효과와 상관관계가 있는 중화항체를 추정할 수 있다. 이러한 연구를 반드시 의무적으로 수행해야 하는 것은 아니지만, 백신 접종 후 사람 혈청을 확보한 경우 1상 임상연구와 함께 실시할 수 있다.

### 4. 독성연구 (Toxicity)

백신에 대한 독성연구에서는 인체 투여 시 예상하는 최대 임상 용량 및 투여경로, 예상하는 투여계획을 반영해야 한다.

백신이 가임기 여성에 대한 사용을 적응증으로 한다면, 생식발생독성연구를 실시한다. 그러나 백신이 12세 미만 소아 사용만을 권고할 예정이라면, 이러한 연구는 필요하지 않다.

보존제 및 새로운 면역증강제 추가 시, 추가적인 독성 분석이 필요하다. 상세한 독성 연구 미수행 시, 이에 대한 근거를 제시해야 한다. 제조 방법 변경 시에는 비임상 평가가 필요할 수도 있다.

## V. 일본뇌염 약독화 생백신에 대한 비임상시험 고려사항

새로운 일본뇌염 약독화 생백신의 비임상 평가는 ‘생물의약품 비임상시험 가이드라인’ (식약처)<sup>16</sup> 및 WHO 백신 비임상 평가 가이드라인<sup>17</sup>을 기반으로 해야 한다. 시험을 통해 후보 백신의 안전성 및 유효성을 확증해야 한다. 시험으로는 각 제조 단계에서 제품의 특성분석(세포 단백질 및 DNA와 같은 오염물질의 정량화 포함), 개념 증명면역원성 연구(동물을 이용한 용량 탐색 연구 포함), 예상되는 유효기간에 걸친 유효성을 확인하기 위한 백신 역가 시험, 안전성 동물시험을 포함해야 한다. 다음의 특정 문제를 새로운 일본뇌염 약독화 생백신 개발의 맥락에서 고려해야 한다. 백신 개발 중 수행하는 비임상 연구는 품목허가 전 그리고 그 과정 중에 식약처와 논의할 것을 권고한다.

### 1. 제품 특성분석 및 공정 개발 (Product characterization and process development)

백신 생산 공정은 제조의 일관성을 확보하기 위하여 표준화해서 관리하며, 비임상 연구를 통해 인간에게 사용할 백신의 안전성 및 잠재적 유효성을 제시하는 것이 대단히 중요하다. 이러한 표준화 및 관리는 임상시험 단계에 진입하기 위하여 필수적이다.

새로운 일본뇌염 생백신의 제형화(formulation)는 백신 바이러스 유전체가 조직 계대 배양 이후 안정적임을 보여주는 약독화에 관한 핵심적인 유전적 그리고 표현형 지표 (genetic/phenotypic markers)를, 실용적인 한도 내에서, 정의하기 위하여 그 특성을 분석해야 한다. 각 백신 바이러스는 제조 중의 독성 회복(virulence reversion) 혹은 피접종자의 체내 복제의 발생 위험이 없음을 증명할 수 있도록 약독화의 유전적 기반이 충분히 안정적인가를 판단하기 위하여, *in vitro* 및 *in vivo* 접근법을 사용해 평가해야 한다. 이를 위하여, 실험실 및 동물 연구에서는 약독화 과정 중 바이러스 유전체에 발생한 유전적 변이를 정의해야 한다. 표현형 표지자는 사람에서 접종 이후 역학 감시 중 독성 회복 탐지 및 야생형 바이러스주로부터 백신 바이러스주를 구별하는데 유용할 수 있다.

백신 시드 바이러스주의 정량화에서는 모바이러스(parent virus) 유전체의 공통 (consensus) 뉴클레오타이드 서열을 대조군으로 사용하여 후보 백신의 전체 유전체 중 공통 뉴클레오타이드 서열을 획득해야 한다. 이것은 약독화된 표현형과 상관관계가 있을 수 있는 백신 바이러스 유전체 표현형의 돌연변이를 문서화하는데 핵심이 된다. 백신 바이러스를 독성을 띤 모바이러스와 구별해주는 돌연변이의 안정성에 대한 지표의 역할을 할 수도 있는 in vitro 연구를 문서화하는 것 역시 실용적이다. 이러한 표지자에는 플라크 크기, 모기 매개체 체내에서의 복제 효율성, 비인간 영장류에서의 바이러스혈증 유도, 신경독성, 신경침윤(neuroinvasion), 다른 동물모델에서의 독성(virulence), 온도 민감성을 포함하지만 이에 국한되지 않는다. 바이러스 표현형 표지자의 변화를 확인함으로써, 백신 생산 중 발생하였고 상이하며 야생형 바이러스 표현형을 지닐 수 있는, 마스터 바이러스 시드에 존재하는 소수(minor) 혹은 유사종(quasispecies) 유전체의 검출을 용이하게 할 수 있다. 개발자는 공통 유전체 서열분석이 백신 바이러스주나 배치에서 소수 혹은 유사종 유전체를 확인하는데 적합하지 않음을 유념해야 한다<sup>18</sup>.

다형성(polymorphism) 확립을 위한 차세대 염기서열분석이나 마이크로어레이 기술을 탐구적으로 사용할 것을 권장한다. 이러한 방법을 규제적 목적으로 사용하려 한다면 반드시 검증이 필요하다.

## 2. 비임상 면역원성 및 방어효과 (Nonclinical immunogenicity and protection)

동물을 사용한 일본뇌염 백신에 대한 선천면역 및 적응면역 평가는 바이러스가 숙주 안에서 복제되어 항체 생성과 바이러스 특이적 T-세포 면역 반응을 촉진했다는 증거를 제공한다. 동물, 특히 마우스와 비인간 영장류는 일본뇌염 약독화 생백신에 대한 면역 반응의 다양한 요소를 평가하는데 적절한 숙주였다. 일본뇌염 불활화 백신으로 실시한 임상 연구에서는 특정 CoP(correlate of protection)가 해석되었다<sup>19-21</sup>. 혈청 중화 항체 역가가 최소 1:10인 사람은 일본뇌염 바이러스 질환으로부터 보호된다는 것이 일반적으로 수용되고 있다. 21일령 마우스 및 비인간 영장류의 일본뇌염 약독화 생백신 접종은 독력이 있는 바이러스 공격(virulent virus challenge)에 대해 방어하는 중화항체 생성을 자극하였다<sup>22-29</sup>. 중화 분석시험 및 수동적 방어 연구에서는, 일본뇌염 바이러스의 제3 유전형 SA14-14-2 바이러스 혹은 JE-CV로 자극한 항체가 제 1, 2, 3, 4 유전형 일본뇌염 바이러스에 대하여 방어효과를 보였다<sup>30</sup>. 비인간 영장류의 일본뇌염

약독화 생백신 접종은, 독력이 있는 일본뇌염 바이러스의 뇌내(intracerebral) 공격에 대하여 방어하는 높은 역가의 중화항체 생성을 자극하였다<sup>29-30</sup>. 전염증성 사이토카인 (proinflammatory cytokines)의 수준뿐만 아니라 바이러스 특이적 CD4+ 및 CD8+ T-세포를 자극하는 백신의 능력 그리고 동물의 생존을 향상할 수 있는 면역조절 인터루킨-4 및 인터루킨-5 사이토카인의 증가에 대해 고려할 수 있다. 새로운 일본뇌염 약독화 생백신의 임상 연구 개시 이전에, 능동적 바이러스 공격으로 유발되는 일본 뇌염 질환으로부터의 방어효과를 확인해야 하므로, 최소한 비인간 영장류 및 제2 동물종을 사용하여 면역원성을 확인해야 한다<sup>22, 23, 29, 30</sup>. 동물모델에서 새로운 백신이 자극한 항체를 바이러스의 모든 유전형을 대표하는 일본뇌염 바이러스 분리물(JEV isolates)의 중화에 대하여 시험해야 한다<sup>31-35</sup>.

### 3. 비임상 독성 및 안전성 (Nonclinical toxicity and safety)

#### 3.1. 독성 및 안전성 시험 (Toxicity and safety testing)

백신에 적용되는 비임상 독성 평가 및 비임상 연구의 설계에 대한 일반 지침은 ‘생물 의약품 비임상시험 가이드라인’ (식약처)<sup>16</sup> 및 Guidelines on Nonclinical Evaluation of Vaccines<sup>17</sup>에서 제공하고 있다. 독성(toxicity)이라는 용어는 일반적으로 실험동물에서의 용량 의존적 영향과 직접적으로 관련된, 비복제성(non-replicating) 의약품 혹은 생물 의약품 투여에 따른 유해한 결과와 연관된다. 그러므로 독성연구는, 복제성 (replicating) 생물학의약품의 용량 범위에 걸쳐 예상치 못한 직접적인 독성 영향을 검출하기 위하여, 투여 부위로부터 근거리 혹은 원거리의 조직뿐 아니라 모든 주요 장기에 대한 면밀한 분석을 수반한다. 이러한 연구에는 임상적으로 타당성 있는 의도한 투여량을 충분히 초과하는 용량을 포함해야 한다. 약독화 생백신이 실험동물에서 복제하지 않는다면, 일반적으로 직접적인 독성 영향은 검출되지 않을 것으로 예상된다. 약독화 생백신의 경우, 백신 바이러스 감염에 감수성이 있는 동물 체내에서의 백신 바이러스 복제의 결과로 비임상 안전성 증명에 주안점을 두어야 한다.

단회투여 혹은 반복투여 독성, 바이러스혈증, 백신 바이러스 배설에 대한 평가, 백신 바이러스의 조직 내 분포 및 국소 내성은 WHO 가이드라인<sup>17</sup>에 따라 사례별로 고려할 수 있다.

유전독성 및 발암성 연구는 필요하지 않을 수 있다. 일본뇌염 생백신을 가임기 여성의 예방접종에 사용하고자 한다면, 생식발생 독성시험을 수행해야 한다.

생백신의 비임상 안전성 연구는 약독화 생백신의 경우 개발 및 시험의 초기 단계에서 필요하다. 이러한 연구는 백신이 동물모델에서 유사한 야생형 바이러스와 비교하여 독성(virulent)이 낮으며, 예상치 못한 유해한 조직 친화성(tissue tropism)과 조직의 손상을 초래하지 않고, 유해한 면역 반응을 유발하는 능력이 없음을 증명하는 것을 우선적인 목표로 설계해야 한다. 예를 들어, 바이러스혈증 및 조직 내 분포 양상은 친화성에 대한 지표(marker for tropism)로 사용이 가능하며, 바이러스혈증 및 중추신경계의 침윤은 신경독성에 대한 상관지표(correlates for neurovirulence)로 사용할 수 있다. 비인간 영장류 및 마우스는 각각 일본뇌염과 황열 바이러스의 신경독성 평가에 유용한 동물모델이다<sup>25-28</sup>. 임상시험을 뒷받침하기 위하여, 비임상 안전성 연구는 임상시험에서 제안되는 백신 투여경로와 투여빈도를 반영해야 한다<sup>17</sup>.

### 3.2. 마우스 및 원숭이를 이용한 신경독성 시험 (Neurovirulence in mice and monkeys)

일본뇌염 바이러스 감염은 다수의 서로 다른 마우스 모델로 연구되었다<sup>36-38</sup>. 해당되는 경우, 후보 백신 바이러스의 약독화를 야생형 모바이러스와 비교 평가하기 위하여 마우스 모델을 선정할 수 있다. 마우스 실험에서, 바이러스 뇌염의 발병기전을 확정하기 위하여 감염 후 다양한 시점에서의 혈액, 뇌 및 다른 조직의 바이러스 역가를 평가할 수 있다.

마우스에서 바이러스 복제가 검출되지 않았다면, 원숭이를 사용하는 시험을 고려해야 한다.

부록1에서 기술하고 있는 약독화 시험을 적용할 수 있다. 이 시험에는 (i) 마우스 및 비인간 영장류를 사용한 신경독성 시험, (ii) 생산 시 계대배양 수준을 초과한 백신시드 혹은 젓먹이 마우스의 뇌에서 계대배양한 백신 시드, 혹은 임상 연구에서 바이러스혈증 환자로부터 수집한 백신 바이러스를 사용하여, 감수성있는 마우스를 사용하는 신경독성 회복(reversion to neurovirulence) 시험, 그리고 (iii) 마우스를 사용하는 신경침윤(neuroinvasiveness) 시험이 포함된다.

추가 시험 실시도 고려해야 한다. 참조물질(reference preparation)을 준비하여 각 시험을 검증하기 위한 양성 대조물질로서 포함하도록 한다. 1가지 혹은 그 이상의 참조물질 선택은 우선순위가 높은 문제이므로, 신뢰할 수 있는 방식으로 적합한 백신 물질을 비적합한 물질로부터 구분해주는 시험 시스템의 역량을 검증하기 위한 협업 연구의 개발과 실시에 대해서도 조언을 제공하는 신경독성 시험 전문가의 자문을 거쳐 선택해야 한다.

새로운 바이러스 마스터 시드 로트를 평가하기 위하여 마우스를 이용하는 이러한 신경독성 시험을 변형하여 실시하고자 하는 경우에는 식약처와 사전에 논의하여야 한다. 28-32일령의 암컷 ICR 마우스는 SA14-14-2 바이러스 실험실 주에 대하여 신경독성 시험 시스템을 제공할 수 있으며, 쿤밍 스위스(Kunming Swiss) 마우스를 추가로 평가하여 마우스의 대체 모델로 고려할 수 있다<sup>29</sup>. 이제교배한 NIH 마우스도 쿤밍 스위스 마우스를 대체하여 사용되어왔다.

### 3.3. 재조합 DNA 기술을 이용한 새로운 일본뇌염 생백신 (New, live JE vaccines derived by recombinant DNA technology)

백신 신경독성을 위해 확립된 모델은 비인간 영장류로서, 역사적으로 황열 백신의 새로운 시드(17D-204 유래 혹은 17DD 유래한 17D 하위 바이러스주) 및 폴리오 생백신의 새로운 시드를 평가하는 데 사용되어 왔다. 재조합 DNA 기술 혹은 배양세포에서의 연속 계대배양을 기반으로 하는 새로운 일본뇌염 생백신은 비인간 영장류를 사용하여 한 차례 신경독성 시험을 실시해야 한다. 신경독성 시험을 토대로 비인간 영장류에서 백신 바이러스주가 신경독성이 있다고 판명되면, 비임상 안전성 연구의 일환으로 비인간 영장류에서 임상 혹은 말초 접종 경로를 통해 신경침윤 역시 평가해야 한다.

황열 백신을 바이러스 벡터로 사용하는 일본뇌염 재조합 백신의 경우, 뇌내 접종 경로를 사용하는 비인간 영장류의 신경독성 시험은 적절하게 황열 백신의 신경독성 시험에 관한 WHO의 최신 권고사항을 준수해야 한다<sup>37-39</sup>(절차에 관한 간략한 아래의 서술을 참조).

일본뇌염 백신 마스터 시드 접종에 앞서 일본뇌염 바이러스, 황열 바이러스 및 기타 플라비바이러스에 대해 비면역 상태임이 증명된 군당 최소 10마리 이상의 원숭이의 전두엽에 뇌내 접종해야 한다. 일본뇌염 바이러스, 황열 바이러스 및 기타 플라비바이러스에 역시 비면역 상태임이 증명된 10마리의 원숭이 활성화대조군은 WHO 황열 참조 바이러스 168-73 혹은 적합한 YF-17D 백신을 접종해야 한다. 모든 원숭이는 부검 전까지 뇌염의 징후에 대하여 30일간 관찰해야 한다. 원숭이의 개체 수 혹은 관찰기간, 조직학적 검사를 위한 부검 시점이 이러한 권고사항과 다르다면, 근거를 제시하고 식약처에 의해 허용될 수 있음이 확인되어야 한다. 임상 점수 및 중추신경계의 조직학적 병변의 점수를 기록해야 한다<sup>42</sup>. 조직병리학적 검사 및 자동 영상분석을 위한 첨단기법<sup>43</sup>이 규제기관에 의해 검증되었고 이러한 방법의 사용을 허용한다면, 비인간 영장류 중추신경계의 바이러스-유도 조직병리에 대한 정량적 평가를 위해 이러한 방법을 실시할 수 있다. 시험군의 전반적인 임상 및 조직학 평균 점수는 YF-17D 백신 대조군의 점수를 초과해서는 안 된다. 통계분석법 및 시험군과 대조군 간 통계적 차이의 유의 수준에 대하여 식약처와 논의해야 하고 허용될 수 있음이 확인되어야 한다.

### 3.4. 매개체 모기에서의 성장 특성 (Growth characteristics in vector mosquitoes)

플라비바이러스는 절지동물 매개체를 감염시키고 이들을 통해 전파되는 능력에 있어서 높은 수준의 특이도(specificity)를 보인다. 매개체 역량(vector competence)은 중장 상피(midgut epithelium)의 감수성을 주요 결정요인으로 하며 유전적으로 통제된다<sup>44-47</sup>. 플라비바이러스의 생물학적 전파는 중장상피 내벽의 상피세포를 감염시킬 수 있는 바이러스가 함유된 혈액 섭취물이라는 매개체 흡입을 통해 이루어진다. 이를 통해 바이러스가 탈출하여 혈강(haemocoel)으로 퍼져 침샘을 감염시키며, 감수성있는 숙주를 재흡혈하는 동안 침샘으로부터 바이러스가 침으로 분비된다.

JE-CV 백신은 복제 능력 및 매개체 모기에 의한 전파력에 대해 평가되어왔다. 연구에서, *Culex tritaeniorhynchus* 및 *Aedes albopictus*, *Aedes aegypti* 모기는 바이러스가 가득한 혈액 섭취물을 흡입하였거나 혹은 흉부 내 경로로 접종된다. JE-CV는 이 3가지 모기 중 어느 종에서도 구강 흡입 후 복제되지 않았다. *Cx. tritaeniorhynchus*의 경우, JE-CV 약독화 백신의 흉부 내 접종 이후 복제가 관측되지 않았다<sup>44-46</sup>. 3가지 추가

모기(*Cx. annulirostris* 및 *Cx. gelidus*, *Ae. vigilax*) 모두 JE-CV 백신  $6.1 \log_{10}$  PFU/ml를 구강 흡입한 후 감염되지 않았다<sup>45</sup>. JE-CV 백신을 접종한 사람에게서서의 바이러스혈증은 단기간 지속되었으며 역가가 낮았다. 백신을 투여한 시험대상자의 64%는 접종 후 최소 1일 후에 바이러스혈증이 발생하였다<sup>48</sup>.

*Cx. tritaeniorhynchus* 모기에서의 SA14-14-2 약독화 백신 바이러스 복제에 관한 연구에서는 바이러스로 감염된 혈액 용해물의 구강 흡입을 통해 바이러스가 모기에서 복제되지 않으며, 흉곽 경로로 접종한 모기에서는 복제가 매우 저조함을 보여주었다. SA14-14-2 약독화 바이러스는 감염된 *Cx. tritaeniorhynchus* 모기에게 물린 젓먹이 마우스에게 전파되지 않았다<sup>38, 49-51</sup>.

매개체 모기가 일본뇌염 바이러스에 감염이 될 수 있을지라도, 바이러스가 모기에서 효과적으로 복제되지 않아 전파가 촉진되도록 침샘으로 퍼지지 않는다면, 바이러스는 척추동물 숙주를 감염시킬 수 없다. 이러한 이유로, 감염된 조류나 돼지로부터 사람에게 야생형 일본뇌염 바이러스를 전파할 수 없는 모기는 약독화 백신 바이러스를 야생동물 및 가축, 사람에게 전파할 수 없다. 약독화 및 안전성에 대한 척도로써, 모든 일본뇌염 약독화 생백신은 실험실 환경에서 모기의 중장 세포 내 복제가 저조함을 보여주어야 하며 모기의 침샘으로 전파되지 않아야 한다<sup>38, 44-47, 49-55</sup>.

### 3.5. 매개체 모기 체내의 백신 바이러스 특성분석 (Characterization of vaccine virus in vector mosquitoes)

일본뇌염 생백신의 경우, 환경 위해성은 매개체 모기에 의한 사람에서 사람으로의 전파력 그리고 바이러스의 독성(virulence) 회복을 촉진하는 모기 체내에서의 장기적 혹은 반복적 증식 주기의 가능성과 관련되어 있다. 현재 허가된 일본뇌염 약독화 생백신 바이러스는, 바이러스혈증 연구에서 증명된 바와 같이, 사람 피접종자 체내에서는 복제가 원활하지 못함이 제시되었다. 이들은 모기 내부에서는 복제되지 않기 때문에, 모기에 의한 전파 위험은 매우 낮거나 없다고 한다<sup>34, 44, 45</sup>. 이러한 요소들은 일본뇌염 백신이 모기에게서 독성 표현형(virulent phenotype)으로 복귀할 가능성을 현저하게 감소해준다. 또한, SA14-14-2<sup>38</sup> 및 JE-CV<sup>44, 45</sup> 모두에 대하여 모기 체내에서의 계대 이후 유전적 안정성이 보고되었다. 미래의 후보 백신에 대해서 유사한 연구를 실시

해야 할 것이다.

일부 시험자들은 플라비바이러스 생백신이 야생형 플라비바이러스와의 유전자 내 (intragenic) 재조합을 통해 모기에게서 독성(virulence)을 회복할 수 있다는 우려를 제기 하였다. 이러한 현상은 앞서 기술한 요소들로 인해 발생하지 않을 가능성이 높다고 보지만, 이상적인 in vitro 조건에서조차 플라비바이러스에 재조합이 전혀 발생하지 않을 것인가에는 의문의 여지가 있다<sup>47</sup>.

재조합기술을 기반으로 한 일본뇌염 생백신의 환경 위해성 평가에 관한 지침 사항들은 본 권고사항의 부록2에서 기술하고 있다.

## VI. 일본뇌염 백신의 임상시험 고려사항

### 1. 일반 고려사항 (General considerations for clinical studies)

임상시험은 「의약품 등의 안전에 관한 규칙」(총리령) 제24조, 제30조 및 [별표4] 의약품 임상시험 관리기준을 준수하여야 하며, ‘백신 임상평가 가이드라인’ (식약처), Guideline for good clinical practice(GCP) for clinical trials on pharmaceutical products<sup>56</sup> 및 Guidelines on clinical evaluation of vaccines: regulatory expectations<sup>57</sup>을 참고하여야 한다.

이 고려사항은 앞서 언급한 일반 지침과 함께 읽어야 한다. 또한 제조사는 전반적인 임상 개발 프로그램 및 면역 반응 평가를 위한 계획과 관련하여 식약처와 논의할 것을 권고한다.

일본뇌염이 풍토병인 지역에서의 효과적인 백신 공급 및 광범위한 보급으로, 새로운 일본뇌염 백신 접종군과 비접종군을 비교하는 방어 유효성 연구(protective efficacy studies)(예: 임상적으로 명백한 질환의 예방을 평가변수로 설정하는 연구)를 수행하는 것은 비윤리적이 되었다. 또한, 일본뇌염 백신의 보급과 사용에 따라 임상적으로 명백한 감염의 발생률은, 허가된 일본뇌염 백신 대비 새로운 백신의 상대적인 방어 유효성을 추정할 수 있도록 충분한 검정력을 갖춘 연구를 수행하기 위해서는 실현 가능성이 없는 대규모의 시험대상자가 필요하게 되는 정도까지 감소하게 되었다.

그 결과, 새로운 일본뇌염 백신의 가능한 방어 유효성(protective efficacy) 평가는 동물모델에서의 능동 및 수동적 방어효과로부터 도출한 증거(IV장 및 V장 참조) 그리고 사람에서의 임상적 방어에 대한 연관성이 있는(correlate) 적합한 면역학적 파라미터를 통해 허가된 백신에 대한 비열등성 평가를 기반으로 해야 한다.

### 2. 면역원성 평가 (Assessment of immunogenicity in humans)

#### 2.1. 면역 반응 평가 (Assessment of immune response)

새로운 일본뇌염 백신의 면역원성에 대한 일차 평가는 백신 접종 전과 접종 후 혈청

검체의 혈청 중화항체 측정을 기반으로 해야 한다고 권고하고 있다. 플라크-감소 중화시험(PRNT, plaque reduction neutralization testing)은 중화항체 측정을 위해 가장 일반적으로 사용되는 방법이다. 그러나 PRNT는 고도의 기술을 요하며, 시험법이 세포 기질의 선택, 배양 조건, 외인성 보체, 웰의 크기, 평가변수의 정의와 관련하여 실험실 간 차이를 보인다. 그러므로 임상 연구 시 PRNT 역가 결정을 위해 사용하는 방법을 완전하게 검증하는 것이 매우 중요하다. 임상 개발 프로그램 중 이러한 분석시험을 실시하기 위해 되도록 1개 실험실만을 사용하는 것이 좋다. 이것이 가능하지 않다면, 실험실 간의 교차 검증 자료를 제공해야 한다.

바이러스 부유액과 혼합 후 바이러스 플라크가 50% 감소하는(예: PRNT<sub>50</sub>) 혈청의 최대 희석 배수로 중화항체 역가를 표현하는 것이 플라크 90% 감소(예: PRNT<sub>90</sub>)에 비해 선호된다. PRNT<sub>90</sub> 평가변수는, 밀접하게 관련된 동시 순환 플라비바이러스에 대한 항체와 대비하여, 일본뇌염 바이러스에 특이적인 항체 사이의 구분 능력이 우월하다고 주장해왔다. 그러나 백신 접종에 대한 면역 반응 평가 시, PRNT<sub>50</sub>이 일반적으로 적정 곡선(titration curve)의 직선 부분에서 더 정확한 결과를 제공하는 것으로 보인다<sup>58</sup>.

최초 연구에서는 백신 접종이 백신 바이러스주에 대해 적절한 면역 반응을 유도 하는가 여부(예: 백신 바이러스주와 동종 바이러스)의 확립을 목적으로 해야 하며, 항체 동력학(antibody kinetics)을 평가해야 한다. 추가적 연구에서는 무작위로 선정된 혈청 검체 하위군을 사용하여 다른 일본뇌염 바이러스주(예: 이종 바이러스주)에 대한 접종 후 PRNT<sub>50</sub> 역가를 평가해야 한다. 일본뇌염 바이러스의 5가지 유전형을 대표하는 이종 바이러스주를 규제기관과 합의한 조건하에서 PRNT를 사용하여 시험해야 한다.

백신-유도 세포-매개 면역 평가 또한 고려할 수 있다. 마우스 연구에서는 T 림프구의 적응적 전달(adoptive transfer)이 바이러스 공격에 대해 수동면역을 제공할 수 있음을 증명하였다. 또한, 피접종자로부터 채취한 말초혈액 단핵세포를 자극하여 CD4 및 CD8 반응을 증명할 수 있다. 그러나 세포-매개 면역에 대한 시험의 해석과 관련된 불확실성이 이러한 시험은 이차 면역원성 파라미터로 고려해야 함을 의미하고 있다.

## 2.2. 평가변수 및 분석 (End-points and analyses)

면역 반응의 일차 평가는 백신 접종 전에 혈청학적 음성이었던 시험대상자에게서 접종

후 PRNT<sub>50</sub> 역가가 최소 1:10에 도달한 비율을 기반으로 한다.

시험계획서에 일차 모집단을 사전 정의하고 연구 목적에 따라 선정해야 한다. 면역 반응의 일차 분석의 대상인 모집단은 일반적으로 백신 접종 이전에 일본뇌염 바이러스에 대해 혈청학적 음성인 이들로 제한한다(예: PRNT<sub>50</sub> 역가 <1:10). 그러므로 특정 지리학 적 지역에서의 연구 개시 이전, 접종 전 PRNT<sub>50</sub> 역가가  $\geq 1:10$ 인 시험대상자의 가능한 비율을 추정해야 한다. 일부 경우에는 시험대상자가 이미 혈청학적 양성일 가능성을 줄이기 위하여, 이전 일본뇌염에 백신을 접종한 이력이 있는 이들을 능동적으로 제외하는 것이 적절할 수 있다. 그 대신에 혹은 추가적으로, 연구에 선별검사 목적의 방문을 설정함으로써 시험대상자의 등록 및 백신 투여에 앞서 접종 전 혈청상태 (serostatus)를 확인할 수도 있다.

접종 이전에 혈청 음성인 경우, 면역 반응 평가를 위한 가장 적절한 일차 파라미터는 접종 후 PRNT<sub>50</sub> 역가가  $\geq 1:10$ 에 도달한 비율일 것이며, 이는 항체양전율과 동일할 것이다. 조사하는 다른 면역 파라미터에는 순차적 접종 후 역가의 증가 및 기하평균 역가(GMT), 역가의 역누적분포가 포함되어야 한다. 면역 반응에 있어서 시험대상자 사이의 가변성도 보고해야 한다.

질환 유행 지역에서는, 이전의 다른 일본뇌염 백신 접종 및/혹은 일본뇌염 바이러스에 대한 자연적 노출로 인해 이미 혈청양성인 시험대상자들에 대하여 새로운 일본뇌염 백신의 안전성과 면역원성에 관해 일부 자료를 획득하는 것이 중요할 것이다. 그 이유는 정기적인 혹은 긴급(예: 감염병 발생 통제) 백신접종 프로그램에서는 접종 전에 개인들의 혈청상태를 확인하지는 않기 때문이다. 따라서 일부 연구에서는 이미 혈청양성인 시험대상자를 등록하고 접종하는 계획을 세워야 한다. 기저치의 혈청상태와 무관하게 모든 피접종자에게서 도출한 자료를 포함하고 백신 접종 이전에 혈청음성 및 혈청양성 코호트 사이의 반응을 비교하는 분석을 계획해야 한다. 연구 설계와 목적에 따라, 다양한 연령 및/혹은 특정한 기타 인구학적 특성을 지닌 시험대상자들 사이의 면역 반응도 비교할 수 있다.

기저치 혈청양성인 이들의 경우(예: PRNT<sub>50</sub> 역가  $\geq 1:10$ ), 백신 접종에 대한 면역 반응의 일차 평가는, 일반적으로 1회 혹은 그 이상 횟수의 접종 후, 역가의 상당한 증가(예:

최소 4배 증가)를 기반으로 하게 될 것이다.

백신 기초접종(primary course of vaccination) 완료 후의 항체 지속성(antibody persistence)에 대한 평가를 계획하는 것이 중요하다. 시험계획서에는 최소한 선별한 시험대상자 코호트에 대하여 적절한 장기적인 혈청학적 추적관찰을 포함할 것을 권고한다. 일반적으로 시험대상자는 기초접종 완료 후 최소 2년, 이상적으로는 5년까지 추적 관찰될 수 있다. 유행 지역에서, 항체 지속성은 일본뇌염 바이러스 및/혹은 다른 플라비바이러스에 대한 노출 후의 자연적 면역증강(boosting) 뿐 아니라 과거 백신 접종을 반영하는 것일 수 있다. 그러므로, 항체 지속성에 대한 자료는 전염성 질환 비유행 지역이나 플라비바이러스에 대한 노출 위험이 훨씬 높거나 낮은 다른 유행지역으로 외삽해서는 안 된다.

항체 지속성에 관한 자료는 추가접종의 필요성 및 추가접종에 대한 반응에 대하여 지침을 구하기 위해 사용해야 한다. 그러나 선별한 코호트에 대하여 기초 접종 이후 지정된 시점에서 추가 용량 투여를 위한 사전 계획 수립에 유용할 수 있다. 추가 접종의 시기는 현재 허가된 백신을 기반으로 할 수 있다. 추가접종 전/후의 항체반응 및 추가 접종 후 추적관찰은 전반적 평가의 중요한 요소이며 새로운 일본뇌염 백신을 통해 과거 감작(priming)에 관한 증거를 제공해 줄 것이다.

### 2.3. 용량 및 투여계획 (Dose and schedule)

선택한 백신 항원의 용량, 투여 횟수, 투여 간격을 뒷받침하기 위해 충분한 면역원성 자료를 생성해야 한다. 그러나 현실적으로 탐색이 가능한 투여계획의 수는 제한적이라는 점이 인정된다. 따라서 동물 혹은 사람 대상 연구에서 획득한 투여계획의 선택 그리고 가용한 백신의 역가(potency)를 뒷받침하는 것이 핵심적이다. 최소한, 유행 지역에서는 일본뇌염 바이러스 감염 예방을 위한 백신 접종을 개시해야 하는 권고 연령을 고려하여, 소아를 위한 적절한 투여계획을 확인해야 한다.

전체 임상 프로그램을 통하여, 투여할 것으로 예상하는 바이러스 역가의 범위를 뒷받침하기 위하여 충분한 안전성 및 면역원성 자료를 생성해야 하며, 따라서 임상 자료는 로트 출하 및 유효기간 만료 시점에서 백신 바이러스 역가의 상한 및 하한 규격을 설정하기 위한 증거를 제공하는 데 도움이 될 것이다.

비면역 상태일 가능성이 있는, 비유행 지역으로부터의 여행자에 대하여 백신을 제안하고 있다면, 다른 기초 접종 일정을 탐색해야 할 수 있다. 예를 들면, 매우 촉박하게 여행해야 하는 이들에 대한 가속접종프로그램에 대한 연구가 중요할 수 있다.

추가접종의 필요성 및 최적 시기에 대한 평가는 전반적인 임상 개발 계획 내에 설정되어야 한다. 그러나 다른 백신과 마찬가지로, 항체 지속성 및 추가접종에 대한 반응에 관한 특정 자료 없이 최초 품목허가를 획득하고 이후 충분한 자료를 확보했을 때 처방 정보를 변경하는 것이 일반적으로 가능하다.

## 2.4. 비교 면역원성 연구 (Comparative immunogenicity studies)

새로운 일본뇌염 백신의 임상 개발 프로그램에는 후보 백신과 허가 후 널리 사용되는 일본뇌염 백신의 면역 반응을 비교하는 최소 1건의 연구를 포함해야 한다. 이러한 비교는 가급적이면 혈청학적 음성인 이들을 대상으로 하는 것이 좋는데, 그 이유는 이러한 연구는 민감도가 향상되어 백신 사이의 어떠한 실제적 차이를 더욱 잘 검출할 수 있기 때문이다.

일부 경우, 시험대상자가 등록한 지역 및 가용한 일본뇌염 백신에 따라서, 새로운 일본뇌염 백신을 1품목 이상의 허가된 제품과 비교하는 연구를 수행하는 것이 유용하거나 필요할 수 있다. 동일 연구에서 1품목 이상의 대조 백신을 사용한다면, 연구 계획서에서는 일차 분석 시 새로운 백신을 대조 백신 전체(pool)와 비교할지 혹은 개별 대조 백신과 비교할지를 미리 결정해야 한다. 이러한 각 연구 설계는 잠재적으로 복잡한 통계적 문제를 제기하며 시험계획서와 분석계획을 최종화하기에 앞서 전문가 자문을 구해야 한다.

후보 백신과 허가된 백신에 대한 면역 반응 사이의 비교는, 백신 바이러스주가 다르다면, 각 백신 바이러스주 별로 평가해야 한다. 이 경우, 면역 반응 평가를 위해 공통적인 바이러스주를 사용한다면, 항체 측정은 중화시험에서 사용하는 바이러스주에 따라 크게 달라지며 계통발생(phylogeny)과 밀접히 연관된 바이러스주는 중화항체 측정치가 더 높아지는 경향이 있으므로, 바이러스주 선택의 연관성 및 타당성에 대한 근거를 제시해야 한다. 양측 백신 바이러스주에 대하여 혹은 역학적으로 중요한 순환 바이러스 분리물(circulating virus isolates)에 대하여 이중인 바이러스주에 대한 면역

반응도 시험대상자로부터 수집한 혈청의 하위군을 사용하여 평가해야 한다. 일차 면역 파라미터 선택 시에는 VI.2.2장에서 제시한 사항을 고려해야 한다. 일차 면역 평가 변수로 무엇을 선정하든, 비열등성 마진은 매우 면밀한 근거 제시가 필요하므로, 출간된 지침서를 참조하고 통계 전문가의 의견을 구해야 한다. 추가로, 시험계획서에는 면역 반응 파라미터의 전체 범위에 대한 조사를 기반으로 이차 분석을 위한 계획을 수립해야 한다.

## 2.5. 백신 병용 투여 (Concomitant vaccinations)

모든 백신과 마찬가지로, 다른 백신과 병용 투여를 위한 처방 정보에 관한 특정한 승인은 임상 자료로 뒷받침해야 한다(WHO guidelines on clinical evaluation of vaccines: regulatory expectations을 참조)<sup>57</sup>.

새로운 일본뇌염 백신을 다른 플라비바이러스에 대한 백신과 병용 투여할 수 있다고 제안한다면, 추가 고려사항이 뒤따르게 된다. 황열 백신은 국내에 약독황열생바이러스 백신(스타마릴주)이 허가되어 있으며, 뎅기 백신은 국내에 허가된 백신은 없고 국외에 허가된 CYD-TDV(Dengvaxia<sup>®</sup>) 1품목 외에는 개발 중이다. 플라비바이러스 백신의 병용 투여에 관한 자료는 일본뇌염이 황열 혹은 뎅기열과 동시 순환하는 지역 그리고 단회 진료소 방문 시 여행자의 백신 접종에 특히 유용할 수 있다. 그러나 밀접히 관련된 플라비바이러스 항원들의 병용 투여가 안전성 및 면역원성에 미치는 영향은 쉽게 예측할 수 없다. 그러므로 동시 투여 연구를 계획한다면, 혈청 음성인 성인에 대하여 일정 수준의 주의 사항과 함께 연구를 개시해야 한다(예를 들어, 당일 병용 투여로 이행하기에 앞서, 며칠 간격으로 접종).

## 3. 안전성 (Safety)

임상 연구 중 새로운 일본뇌염 백신의 안전성 평가에 대한 일반적 접근법은 WHO guidelines on clinical evaluation of vaccines: regulatory expectations를 준수해야 한다<sup>57</sup>.

특별한 주의가 필요한 일본뇌염 백신과 관련된 사항에는 다음이 포함된다.

- 기초 접종에서 순차적 접종 그리고 서로 다른 간격으로 투여한 추가 접종에 따른 반응성(reactogenicity)

- 자연적 노출의 결과로 일본뇌염 바이러스 및/혹은 다른 플라비바이러스에 대한 기존의 항체가 있는 하위 모집단들 혹은 이러한 항체가 없는 하위 모집단들 사이의 반응성 비교
- 과거 다른 일본뇌염 백신 및/혹은 다른 플라비바이러스 백신을 접종한 이들 혹은 접종하지 않은 이들 사이의 반응성 비교

접종 전 혈청상태 및 접종 이력이 알려지지 않았거나 불확실할 수 있으므로, 2번과 3번째 사항은 실제 사용 시 특히 중요하다.

모든 허가 전 임상 연구 중의 일상적인 안전성 모니터링은 약독화 생백신과 관련된 문제를 고려하면서 일반적인 원칙을 따라야 한다.

일본뇌염 약독화 생백신의 특정 경우에는, 특별관심 대상의 이상사례(AESIs, adverse events of special interest)는 일차적으로 백신 접종 후 처음으로 발생하는 신경학적 장애와 관련이 있다. 이러한 이상사례로는 백신 접종의 후유증을 대표할 수 있는 장애의 최초 발생뿐 아니라(예: 거동장애, 발작) 다른 원인을 찾을 수 없는 급성 뇌염 발생을 포함할 수 있다. 백신 접종 후 최소 6개월 동안 혹은 제조사와 규제기관이 합의한 기간 동안 특별관심 대상의 이상사례 발생에 대하여 시험대상자를 추적관찰 하도록 권고하고 있다. 그러나 가능성 있는 다수의 원인적 요소로 인해, 백신 접종이 이상사례 발생에 관여했는가 여부를 확립하는 것은 어렵다.

새로운 종류의 백신의 경우, 일반적으로 품목허가 전 연구에서 시험대상자 최소 약 3,000명의 백신 투여를 기대하지만, 이 숫자는 최소한 드물게 발생하는 이상사례(예: <1/100명, >1/1,000명의 피접종자에 발생)를 가리킬 뿐이다. 이러한 규모의 데이터 세트에서 특별관심 대상의 이상사례가 관찰되지 않는 경우, 이들이 백신 접종의 결과로 실제 발생한다면 발생률은 <1/1,000이지만, 실제 발생률이 더 높을 가능성을 배제할 수는 없다.

특별관심의 대상인 이상사례의 발생 빈도에 대해 더욱 정확한 측정치를 확보하기 위하여 허가 전 안전성은 3,000명을 크게 초과한 피접종 시험대상자를 대상으로 평가해야 한다. 또한, 일본뇌염 약독화 생백신 투여 이후 관찰된 AESIs 발생률을, 일본뇌염

백신이 사용되지 않고 있는 환경(예: 배경발생률과 비교하게 될 것임) 혹은 안전성 프로파일이 허용 가능하다고 판단되는 일본뇌염 불활화 백신을 이미 사용 중인 환경(예: 상대적 위해성을 허가된 백신과 비교하게 될 것임)에서 관찰된 발생률과 비교해야 한다.

## 4. 품목허가 후 연구 (Post-licensure investigations)

### 4.1. 유용성 (Effectiveness)

새로운 일본뇌염 백신의 방어 유효성(protective efficacy) 연구는 가능하지 않으므로, 백신 접종 프로그램 도입 이후 질환 감시를 통해 그 유용성을 평가하는 계획을 세우는 것이 대단히 바람직하다. 하지만 다음의 문제들을 고려해야 한다.

- 특정 일본뇌염 백신이 국가나 지역에서 사용하는 유일한 제품이 아니라면, 측정된 전반적인 유용성은 제품 특이적이 아니라 “예방접종 사업 특이적 (campaign-specific)” 이 될 것이다.
- 한 국가나 지역에서의 일본뇌염 백신의 유용성은, 인구의 기존 면역이 자연적 노출 혹은 이전 백신 접종에서 기인했든, 이것에 의해 크게 영향받을 수 있다. 따라서 한 지역에서 다른 지역으로 발견사항을 외삽하는 것은 불가능할 수 있다.
- 증례를 신뢰가능한 방식으로 탐색하도록 보장하기 위해서는 국가나 지역의 통합 공중보건 네트워크 및 기반시설이 필요하므로, 제조사가 백신의 유용성을 추정하기 위해 연구를 수행하는 것이 가능하지 않거나 적절하지 않을 수 있다. 그러나 제조사는, 신뢰가능한 감시 시스템이 도입된 담당 규제당국과, 연속적인 질환 감시를 위한 계획 및 유용성 추정에 대한 가능성에 관하여 논의해야 한다.
- 유용성 자료는 추가 접종에 대한 필요성 및 시기를 확인하기 위하여 항체 지속성에 대한 자료와 함께 사용해야 한다.
- 일본뇌염 바이러스가 활발하게 전파되는 기간 중 백신을 투여할 수 있기 때문에, 백신 실패(vaccine failure) 증례(예: 야생형 일본뇌염 감염이 유발한 질환)를 발생 가능한 백신 바이러스의 약독화 소실(loss of attenuation)에서 기인한 증례로부터

구분하는 것이 어려울 수 있다. 야생형 바이러스를 백신 유래 바이러스와 구분하기 위해 백신 실패로 의심되는 증례로부터 바이러스를 분리하고 완전히 특성을 분석함으로써 질환의 원인을 파악하도록 모든 노력을 기울여야 한다.

## 4.2. 허가 후 안전성 (Post-licensure safety)

안전성 감시(safety surveillance) 및 약물감시(pharmacovigilance) 계획 수립에 관한 일반 고려사항은 다른 모든 의약품의 경우와 동일하다<sup>57</sup>.

백신 연관 AESIs 발생 위험 추정을 목적으로 하는 허가 전/허가 후 안전성 연구에 관한 추가정보는 VI.3장을 참조한다.

## **[부록1] 일본뇌염 생백신의 약독화 시험 (Tests for attenuation of live-attenuated Japanese encephalitis vaccines)**

본 가이드라인에서는 Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of Japanese encephalitis vaccines (live, attenuated) for human use, 2014 (WHO Technical Report Series, No. 980), Annex 7.의 섹션 A는 다루고 있지 않다. 다만, WHO TRS 980, Annex 7에서 일본뇌염 생백신의 비임상 신경독성 시험에 A.3.2.5.6에서 기술하고 있는 약독화 시험을 적용할 수 있다고 제시하고 있어, 아래에 그 내용을 소개하고자 한다.

SA14-14-2 및 JE-CV 생백신에 적용된 시험은 해당 바이러스의 특성으로 인해 약간 다르다. 각 시험에 포함될 참조물질(reference preparation)은 높은 우선순위로 확인되어야 하며 기준을 충족하는 백신을 생산하는 것으로 보이는 제조용 시드의 형태를 취할 수 있다.

### **1. SA14-14-2 시드의 신경독성 시험 (Tests for neurovirulence of SA14-14-2 seeds)**

#### **1.1. 이유 마우스 신경독성 시험 (Test for neurovirulence in weanling mice)**

마스터 시드와 제조용 시드 둘 다 이유 마우스의 신경독성 시험을 해야 한다. 17~19일령의 스위스 마우스 Kunming 계통의 동물 10마리에 0.03ml의 마스터 시드 또는 제조용 시드를  $5.7 \log_{10}$  PFU/ml 이상의 역가로 뇌내 경로로 접종해야 한다. 접종 후 14일 동안 마우스를 매일 관찰한다. 접종 후 3일 이내에 사망한 마우스는 뇌 외상으로 사망한 것으로 간주하여 시험 평가에 포함하지 않는다. 마우스의 20% 이상이 3일 이내에 사망하면 검사가 무효인 것으로 간주된다. 마우스가 죽거나 일본뇌염 감염의 임상 징후를 보이면 제제는 사용이 허용되지 않는다.

#### **1.2. 젖먹이 마우스 독성회복 시험 (Test for reversion in suckling mice)**

마스터 시드와 제조용 시드 모두 젖먹이 마우스에서 독성으로 되돌아가는지 시험해야 한다. 3-5일령의 스위스 마우스 Kunming 계통의 동물 10마리 각각에

ml당  $5.7 \log_{10}$  PFU 이상 역가의 마스터 시드 또는 제조용 시드 0.02 ml를 뇌내 경로로 접종해야 한다. 임상 징후를 보이거나 접종 후 3일 이내에 사망한 마우스는 평가에 포함되지 않는다. 모든 마우스는 6-8일 동안 뇌염의 임상 징후가 나타날 것으로 예상된다. 뇌염의 임상 징후를 보이는 처음 세 마리의 동물을 안락사시키고 뇌를 무균적으로 제거하고 10% 뇌 균질액을 준비해야 한다. 균질액의 1:10, 1:100, 1:1000 및 1:10,000 희석액을 만들고 각 희석액 0.03 ml를 17-19일령의 Kunming 계통 스위스 마우스 4마리에 뇌내 접종해야 한다. 마우스를 14일 동안 매일 관찰한다. 주사 후 3일 이내에 사망한 마우스는 주사 외상으로 인한 것으로 간주되어 평가에 포함되지 않는다. 10% 뇌 균질액의 종말점 역가(end-point titre)가  $3 \log_{10}$  LD<sub>50</sub> 보다 큰 경우, 바이러스는 어린 마우스에서 계대 시 수용할 수 없는 복귀를 겪은 것으로 간주되며 제제는 사용이 허용되지 않는다.

### 1.3. 이유 마우스 신경침윤 시험 (Test for neuroinvasiveness in weanling mice)

마스터 시드는 이유 마우스의 신경침윤시험을 해야 한다. 17-19일령의 스위스 마우스 Kunming 계통의 마우스 10마리에 멸균 바늘을 뇌내에 주사하여 혈액-뇌 장벽을 국소적으로 파괴하여야 한다. 그런 다음 마우스에 0.1 ml의 마스터 바이러스 시드를 피하(다리와 복부 사이) 접종한다. 그 후 마우스를 14일 동안 관찰한다. 관찰 기간 동안 마우스가 일본뇌염 바이러스에 의한 뇌염의 임상 징후(경련 등)를 보이면 제제가 부적합한 것으로 간주된다. 새로운 바이러스 마스터 시드 로트에 대한 이 시험의 생략은 식약처와 논의하여 동의하에 고려될 수 있다.

### 1.4. 원숭이 신경독성 시험 (Test for neurovirulence in monkeys)

SA14-14-2의 새로운 바이러스 마스터 시드 로트는 원숭이 신경 독성에 대해 시험해야 한다. 원숭이의 불필요한 사용을 피하기 위해 바이러스 마스터 시드 로트를 대량으로 준비해야 한다. 각 시험에는 참조물질(reference preparation)이 포함되어야 한다. 동일하거나 더 큰 민감도가 입증된 경우 식약처와 논의하여 동의 하에 대체 검사를 사용할 수 있다. 원숭이에서 SA14-14-2의 제조용 시드 시험은 필요하지 않다.

## 2. JE-CV의 신경독성 시험 (Tests for neurovirulence of JE-CV)

### 1.1. 마우스 시험 (Test in mice)

마스터 시드와 제조용 시드 모두 마우스의 신경 독성에 대해 시험해야 한다. 8마리의 HSD:ICR(CD-1) 근친 교배 영아 마우스(8일령)로 구성된 그룹에 0.02ml의 시험 물질( $2.0 \times 10^2$  PFU,  $2.0 \times 10^3$  PFU 및  $2.0 \times 10^4$  PFU), 음성 대조군 또는 대조군으로 YF-17D 백신 중 하나를 뇌내 경로로 접종해야 한다. 임상 징후에 대해 21일 동안 관찰하고 필요한 경우 안락사시킨다. 죽거나 심하게 질병에 걸린 동물의 수와 생존 시간을 기록한다. 시험 물질은 통계적으로 YF-17D 대조군보다 독성이 덜한 경우 허용된다. 음성 대조군 마우스의 80%가 생존하고 한배에 2마리 이하의 마우스가 처음 48시간 이내에 사망하면 분석이 유효한 것으로 간주된다.

### 1.2. 원숭이시험 (Test in monkeys)

JE-CV 백신은 YF 백신을 기반으로 하기 때문에 마스터 시드와 제조용 시드 모두 YF 백신에 대한 WHO 최신 권장 사항에 따라 원숭이에서 시험해야 한다.

## **[부록2] 재조합 DNA 기술 기반 일본뇌염 약독화 생백신의 환경위해성평가 (Environmental risk assessment of Japanese encephalitis vaccines (live, attenuated) for human use derived by recombinant DNA technology)**

### **1. 도입 (Introduction)**

#### **1.1. 범위 (Scope)**

일부 국가에서는 재조합 DNA 기술 기반 생백신이 유전자변형생물체(GMOs, genetically modified organism)를 사용하는 것으로 간주하기 때문에, 이러한 백신의 사용과 관련된 환경 문제 및 기타 문제를 다루는 법령을 마련하고 있다.

「생물학적체제 등의 품목허가·심사 규정」 제26조 제1항 제13호에 따라 유전자변형 생물체를 이용하여 국내에서 제조하는 경우에는 해당 유전자변형생물체의 위해성 평가에 필요한 [별표14] 유전자변형생물체 위해성 평가를 위한 자료를 제출하여야 한다.

본 가이드라인 중 이 장에서는 일본뇌염 백신의 개발 시 수행할 수 있는 환경위해성 평가에 대해 고려하고 있다. 환경위해성평가(ERA, the environmental risk assessment)는 대중보건 및 환경에 대한 위해성을 평가한다. 백신 투여를 계획한 피접종자들은 백신의 임상 연구를 통해 평가하기 때문에 이들에 대한 위해성은 평가하지 않는다. 실험실 인력에 대한 위해성도 평가하지 않는다.

#### **1.2. 원칙 및 목적 (Principles and objectives)**

재조합기술을 통해 유전적으로 변형된 일본뇌염 생백신은 GMOs로 간주할 수 있다. 연구 혹은 상업적 사용을 목적으로 하는 이러한 재조합 생백신의 제조, 사용 및 국가 간 이동 시에는 생산국과 수령국의 GMOs에 관한 관련 법령이나 규정을 준수해야 한다. 일부 규제 체제에서는 환경 규정의 준수를 위하여, 생백신을 임상시험에서 시험 중이거나 혹은 시장에 출시한 경우, 환경위해성평가를 실시해야 한다. 일본뇌염 재조합 생백신의 환경위해성평가에 대한 본 지침은 이미 시행 중인 기존의 GMO 법령을 대체하려는 것이 아니라는 점을 유념해야 한다.

WHO Guidelines on the quality, safety and efficacy of dengue tetravalent vaccines(live, attenuated)<sup>59</sup>에서 상세히 설명하고 있는 바와 같이, 환경위해성평가의 목적은 GMO가 공중보건과 환경에 미치는 잠재적 영향이, 간접적 혹은 직접적이거나 즉각적 혹은 지연성인가와 무관하게, 이를 사례별로 확인하고 평가하는 것이다. 즉, 서로 다른 각각의 일본뇌염 재조합 생백신에 대하여 특정한 환경위해성평가를 실시해야 한다는 뜻이다. 환경위해성평가에 필요한 자료는 신청인이 수행한 실험만을 기반으로 해야 하는 것은 아니며, 평가 시에 과학 문헌을 통해 확보할 수 있는 자료를 사용할 수 있다. 환경위해성평가는 제품 특성분석 시험 그리고 비임상 안전성 및 독성연구와 같이 이전에 다른 목적으로 수행한 시험에서 도출한 자료를 기반으로 할 수 있다. 자료는, 그 원천과 무관하게, 관련성이 있는 동시에 수용 가능한 과학적 품질을 갖추어야 한다.

### 1.3. 환경위해성평가를 위한 절차 (Procedure for an environmental risk assessment)

환경위해성평가의 원칙 및 방법은 GMO 방출을 의도한 지리적 위치와 무관하게 적용해야 한다. 환경위해성평가에서는 모기 매개체와 관련된 특이사항 그리고 임상 시험을 실시하게 될 지역이나 품목허가를 의뢰하고 있는 지역에서 바이러스 증폭 숙주가 동물지방병성(enzootic)인가 혹은 비(非) 동물지방병성인가에 대해 고려해야 한다. 몇몇 국가 및 국제문서에서는 환경위해성평가와 관련된 문제를 다루고 있다<sup>60-62</sup>.

## 2. 일본뇌염 재조합 생백신에서 도출한 예시 (Example taken from live-recombinant Japanese encephalitis vaccines)

일본뇌염 생백신의 환경위해성평가는 특히 질환을 전파하는 매개체를 고려하면서 앞서 기술한 일반 원칙에 따라 실시해야 한다. 고려해야 할 중요한 문제에는 독성 회복(reversion) 및 재조합을 포함한 재조합 생바이러스의 유전적 안정성, 그리고 매개체에 의한 숙주들 간의 백신 바이러스 전파 가능성, 인구의 면역상태가 포함된다. 이러한 문제들에 대해서는 이후 추가로 개요를 제시한다.

## 2.1. 유전적 안정성 (Genetic stability)

YF-17D 백신 바이러스주를 기반으로 한 재조합 바이러스의 경우와 같이, SA14-14-2 주를 기반으로 하는 일본뇌염 약독화 생백신이 허가되었다. 이 재조합 생백신에서는, 일본 뇌염 바이러스의 prM/E 구조 유전자가 상응하는 YF-17D 구조 유전자를 대체하도록 YF-17D 백신의 백본(backbone)으로 클로닝된다<sup>63</sup>( I 장 참조).

### 2.1.1. 독성 회복 (Reversion)

임상시험에서 관찰된 적은 없으나, 백신 접종 후 일본뇌염 약독화 생백신 바이러스가 일본뇌염 바이러스의 독성 형태(virulent form)로 복귀(revert)할 가능성이 있다. 독성 회복(reversion)의 가능성은 약독화 돌연변이(attenuating mutation)의 횟수 및 안정성, 특성을 기반으로 한다. 단일 염기 변화를 토대로 하는 약독화 돌연변이는 복수 염기 치환으로 안정화된 돌연변이보다 복귀에 더 취약할 수 있다. 또한, RNA 분절의 결실(deletions)로 발생한 약독화 돌연변이는 일반적으로 복귀에 대하여 더 안정성을 보인다. 바이러스 유전형의 변화는 질환의 전파나 벡터 백신의 친화성(tropism), 독성(virulence), 질환의 패턴, 혹은 이들 중 다수 사항에 영향을 줄 가능성이 있으며, 그 결과 알려진 적이 없는 복합적 특성을 지닌 바이러스가 발생할 수 있다. 그러나 이러한 독성 회복(reversion)의 가능성은 발생한 약독화 돌연변이의 수 그리고 백신 바이러스에 관여하고 있는 유전자에 따라 달라진다<sup>64</sup>.

환경위해성평가에서는 독성 회복의 가능성을 고려해야 한다.

YF-17D 유전체의 약독화는 복합유전성(multigenic)이므로, JE-CV의 경우, 독성 회복은 발생하지 않을 것으로 보이며, 수년에 걸쳐 서로 다른 백신 로트 분석에서 동일한 유전체 서열(identical gene sequence)이 밝혀졌으므로 유전체는 상대적으로 안정적이라고 알려져 있다<sup>33, 65</sup>. JE-CV의 경우, 독성 증가를 위해서는 최소 3가지 복귀(reversions)가 동시에 발생해야 함을 보여주었다<sup>36</sup>.

일본뇌염 SA14-14-2 약독화 바이러스주는 독성이 있는 모바이러스주 SA14와 45개의 뉴클레오타이드에서 차이가 있다<sup>66, 67</sup>. SA14-14-2 주의 E 단백질에는 이 바이러스주의 약독화에 중요하다고 생각되는 4가지의 아미노산 변화가 보존되어 있다<sup>68</sup>. 복귀의

가능성이 낮다고 판단되지만, 환경위해성평가에서는 이를 고려해야 한다.

### 2.1.2. 재조합 (Recombination)

플라비바이러스 간의 재조합 발생 여부는 논란의 여지가 있다. 이론적으로는 일본뇌염 생백신 바이러스와 야생형 플라비바이러스 사이의 재조합으로 인해 표현형이 변형된 바이러스가 생성될 수 있으나, 플라비바이러스의 경우 이를 뒷받침하는 증거는 없다<sup>34, 54, 55, 69, 70</sup>.

플라비바이러스 내에서 그리고 이들 바이러스 사이의 재조합 가능성은 문헌을 통해<sup>34, 52-54, 69, 71, 72</sup> 그리고 특정 실험에서 확보한 자료로 인해 광범위한 논의 및 논의의 제기가 진행되어 왔다. 특히, 웨스트나일 바이러스 및 진드기 매개 뇌염 그리고 일본 뇌염 바이러스의 경우, 희귀한 재조합 발생의 산물을 선별하여 증폭할 수 있도록 “재조합 덫(recombination trap)” 이 설계되었다<sup>54</sup>. 유전체 간(intergenomic)이지만 비정상적인(aberrant) 재조합은 일본뇌염 바이러스의 경우에만 관찰되었으며, 웨스트나일이나 진드기 매개 뇌염 바이러스에서는 발생하지 않았다. 그뿐만 아니라, 발생 빈도가 낮은 것으로 보이며, 성장 특성이 손상된 바이러스가 생성되었다<sup>67</sup>. 이와 유사하게, YF-17D 레플리콘(replicon)을 사용하는 동종 재조합(homologous recombination)은 관찰되지 않았다<sup>55</sup>.

그럼에도 불구하고, 재조합 일본뇌염 바이러스의 가능성은 낮지만, 환경위해성 평가에서는 이러한 바이러스에 의한 잠재적 유해 영향을 평가해야 한다. 이 점과 관련하여, 이러한 위해성을 다루기 위해서 키메라에 관한 최악의 시나리오가 구축되었다<sup>71, 72</sup>.

서로 다른 연구에서는 야생형 플라비바이러스와 재조합 백신<sup>69</sup> 혹은 2가지의 야생형 바이러스(일본뇌염 바이러스 및 쿤진(Kunjin) 바이러스, 고독성의 황열 아시비(Asibi) 바이러스를 포함)<sup>34, 72</sup>로부터 인공적으로 구축한 재조합체가 이들의 모바이러스와 비교 시 대체적으로 약독화되었음을 보여주었다. 구축한 바이러스는 배양세포 및 모기 매개체, 동물모델(원숭이 포함)에서 무병원성이었다. 이러한 자료에서는, 혹여 이런 특정 재조합 바이러스가 출현하더라도, 이들이 질병을 유발하거나 전파하는 능력이 낮을 수 있다는 실험적 증거를 제시하고 있다.

## 2.2. 매개체 전파 (Vector transmission)

돼지 및 다양한 야생 조류는 일본뇌염 바이러스의 자연계 병원소(natural reservoir)를 대표하며, 새로운 동물 숙주(host)에 전파가 가능하고 때로는 모기에 의해 인간에게 전파될 수도 있다. 모기 매개체는 플라비바이러스의 전파 그리고 백신 피접종자로부터 다른 사람에게 일본뇌염 생백신의 잠재적 전파에 있어 핵심적 역할을 한다. 일본뇌염은, 혈액 기증자가 일본뇌염 바이러스혈증 상태인 희귀한 경우 수혈을 통한 전파를 제외하면, 인간에서 인간으로 직접적으로 전파되지는 않는다. 따라서 매개체가 없는 지역에서 일본뇌염 바이러스의 전파 가능성은 대단히 낮다. 일본뇌염은 거의 모든 아시아 국가에 존재한다. 기후변화의 결과, 모기 개체군의 지리학적인 변화 가능성이 있다. 이로 인해 일본뇌염이 현재 풍토병이 아닌 지역으로 퍼질 가능성이 있다고 가정해볼 수 있다.

일본뇌염 생백신 바이러스와 야생형 플라비바이러스 사이의 재조합은 이론적으로는 피접종자에게서(부록2. 2.1.2 참조) 그리고 감염된 모기나 일본뇌염 바이러스의 자연계 병원소 내에서도 발생할 수 있다. 재조합된 일본뇌염 바이러스는 - 기후변화와 더불어 - 전파를 위해 새로운 매개체를 사용할 가능성이 있으며, 그 결과 이전에는 알려지지 않은 전파 특성을 갖추게 될 수 있다. 따라서 일본뇌염 생백신에 관한 위해성평가 계획 시에는, 관련성 있는 모기 매개체의 서식 및 일본뇌염 모기에게 유리한 백신 접종 지역의 기후에 대해 고려해야 한다.

피접종자로부터 백신 바이러스의 효과적인 전파 가능성을 평가하기 위해서는 3가지 파라미터를 고려해야 하는데, 다시 말해, 피접종 숙주의 바이러스혈증 수준, 모기 매개체가 일본뇌염 생백신 바이러스를 새로운 숙주에게 전파하는 능력, 그리고 전파를 지속하기 위해 증폭 숙주(amplifying host)가 흡혈 및 감염을 거쳐 다른 흡혈 모기를 감염시키기에 적절한 바이러스혈증을 유지하는 능력 및 이들의 존재이다,

JE-CV의 복제능 및 모기에 대한 전파력에 관하여 연구가 진행되어왔다<sup>34, 44, 67</sup>. 야생형 일본뇌염 바이러스와 비교하면, JE-CV 바이러스는 구강 경로로 감염되지 않으며, 플라비바이러스과(flaviviridae)에 속한 바이러스를 전파한다고 알려진 다른 모기 매개체의 체내에서는 복제되지 않는다. 낮은 수준의 백신 바이러스 복제 그리고 모기 매개체에

의한 바이러스 복제 및 살포(dissemination) 부재가 복합적으로 작용하여 JE-CV의 전파가 가능하지 않게 된다. 그 결과, 돼지 및 조류와 같은 다른 증폭 숙주 역시 감염이 가능하지 않게 될 것이다. JE-CV에 감염된 돼지에게 검출 가능한 바이러스혈증이 발병하지 않는 것으로 나타났다<sup>34, 67</sup>. 그러므로, 백신을 접종한 시험대상자가 모기 전파를 통해 백신 바이러스를 전파할 가능성은 대단히 낮다.

매개체가 존재하지 않는 지역에서의 임상시험에 관한 환경위해성평가에서는 환경위해성이 미미하다는 결과가 도출될 것이다. 모기 매개체가 존재하기 않기 때문에 백신 혹은 이론적인 de novo 재조합 바이러스는 다른 이들에게 전파될 수가 없다. 그러나 유행 지역에서는 환경위해성 평가 수행이 고려될 수 있다.

### 2.3 면역상태 (Immune status)

일본뇌염 생백신은 백신 피접종자에서 복제할 수 있다. 백신 항원, 바이러스 벡터나 교차 반응 플라비바이러스 - 혹은 이러한 요소들의 조합 - 과 관련하여 피접종자의 면역상태는 일본뇌염 생백신의 환경위해성 평가 시 교란요인(confounding factor)이 될 수 있다. 일반적으로, 이전의 일본뇌염 바이러스 노출로 기존 면역이 형성되면 피접종자 체내에서의 백신 바이러스 복제 및 살포의 범위와 기간은 단축될 것이다. 그러므로 백신 바이러스 전파의 잠재력은 바이러스 비노출자 혹은 면역저하자에게서 더 높은 것으로 판단된다. 황열바이러스 노출 이력이 없는 이들을 대상으로 한 임상 연구의 결과 역시 위해성평가에 정보를 제공해줄 수 있다<sup>67</sup>. 그러나 환경으로의 전파 가능성은 바이러스가 모기 체내에서 복제하는 능력의 결핍으로 여전히 제한적일 것이다<sup>34, 44, 67</sup>.

기존의 면역이 없는 미접종 인구는 일본뇌염이 풍토병인 지역의 인구와 비교하여 백신에 노출 시 다르게 반응할 것이다. 더 나아가, 일본뇌염 바이러스 이전에 Dengue 바이러스에 감염된 사람의 경우, 다른 플라비바이러스들과 일본뇌염 바이러스의 교차 반응(cross-activity)으로 항체 역가가 높다는 사실이 보고되었다<sup>73</sup>. 따라서 인구의 면역상태가 백신의 환경적 영향에 영향을 미칠 수 있으므로 환경위해성평가 시 이를 고려해야 한다<sup>74</sup>.

## VIII. 참고문헌

1. Japanese encephalitis vaccines: WHO Position Paper. Weekly Epidemiological Record, 2006, 81:331 - 340 ([http://www.who.int/wer/2006/wer8134\\_35.pdf](http://www.who.int/wer/2006/wer8134_35.pdf), accessed 15 July 2013).
2. Campbell GL et al. Estimated global incidence of Japanese encephalitis: a systematic review. Bulletin of the World Health Organization, 2011, 89:766 - 774E (<http://www.who.int/bulletin/volumes/89/10/10-085233/en/>, accessed 15 July 2013).
3. Background paper on JE Vaccines- SAGE working group. Available at [http://www.who.int/immunization/sage/meetings/2014/october/1\\_JE\\_Vaccine\\_Background\\_Paper.pdf?ua=1](http://www.who.int/immunization/sage/meetings/2014/october/1_JE_Vaccine_Background_Paper.pdf?ua=1), accessed November 2014.
4. Hossain MJ et al. Hospital-based surveillance for Japanese encephalitis at four sites in Bangladesh, 2003-2005. Am J Trop Med Hyg, 2010;82(2):344 - 349.
5. Liu W et al. Risk factors for Japanese encephalitis: a case-control study. Epidemiol Infect, 2010;138(9):1292 - 1297.
6. Partridge J et al. Endemic Japanese encephalitis in the Kathmandu valley, Nepal. Am J Trop Med Hyg. 2007;77(6):1146 - 1149.
7. Kumari R et al. First indigenous transmission of Japanese Encephalitis in urban areas of National Capital Territory of Delhi, India. Trop Med Int Health. 2013;18(6):743 - 749.
8. Griffiths MJ et al. Japanese encephalitis virus infection. In Tselis A, Booss J, editors. Handbook of Clinical Neurology. Vol 123 (3rd series) Neurovirology, pp. 551 - 576.
9. Schuh AJ et al. Phylogeography of Japanese encephalitis virus: genotype is associated with climate. PLoS Negl Trop Dis, 2013;7(8):e2411.
10. Halstead S et al. Japanese Encephalitis Vaccines. In Plotkin S, Orenstein W,

Offit P, editors. Vaccines 6th: Saunders Elsevier; 2013, pp. 312 - 351.

11. Solomon T et al. Seizures and raised intracranial pressure in Vietnamese patients with Japanese encephalitis. *Brain: a journal of neurology*, 2002;125:1084 - 1093.
12. Rao PN. Japanese encephalitis. *Indian Pediatr*,2001;38: 1252 - 1264.
13. World Health Organization. Japanese encephalitis vaccines: WHO position paper. *Weekly Epidemiological Record*, 2006, 81:331 - 340 ([http://www.who.int/wer/2006/wer8134\\_35.pdf](http://www.who.int/wer/2006/wer8134_35.pdf)).
14. Tauber et al. Safety and immunogenicity of a Vero-cell-derived, inactivated Japanese encephalitis vaccine: a non-inferiority, phase III, randomised controlled trial. *Lancet*,2007;370: 1847 - 1853.
15. Public assessment summary report update - Japanese Encephalitis Vaccine (Human) (Purified Inactivated Vaccine-Adsorbed) JEEV®. Available at [http://www.who.int/immunization\\_standards/vaccine\\_quality/pq\\_266\\_je\\_1dose\\_biologice\\_updated\\_vpsar.pdf](http://www.who.int/immunization_standards/vaccine_quality/pq_266_je_1dose_biologice_updated_vpsar.pdf), accessed November 2014.
16. 생물의약품 비임상시험 가이드라인 (식품의약품안전처, 2014)
17. WHO TRS 927 Annex 1. Guidelines on Nonclinical Evaluation of Vaccines
18. Mantel N et al. Genetic stability of a dengue vaccine based on chimeric yellow fever/dengue viruses. *Vaccine*, 2011, 29:6629 - 6635.
19. Hombach J et al. Report on a WHO consultation on immunological endpoints for evaluation of new Japanese encephalitis vaccines, WHO, Geneva, 2 - 3 September, 2004. *Vaccine*, 2005, 23:5205 - 5211.
20. Van Gessel Y et al. Correlation of protection against Japanese encephalitis virus and JE vaccine (Ixiaro(R)) induced neutralizing antibody titers. *Vaccine*, 2011, 29:5925 - 5931.
21. Plotkin SA. Correlates of protection induced by vaccination. *Clinical and*

Vaccine Immunology, 2010, 17:1055 - 1065.

22. Guirakhoo F et al. Immunogenicity, genetic stability, and protective efficacy of a recombinant, chimeric yellow fever-Japanese encephalitis virus (ChimeriVax-JE) as a live, attenuated vaccine candidate against Japanese encephalitis. *Virology*, 1999, 257:363 - 372.
23. Larena M et al. Pivotal role of antibody and subsidiary contribution of CD8+ T cells to recovery from infection in a murine model of Japanese encephalitis. *Journal of Virology*, 2011, 85:5446 - 5455.
24. Sil BK et al. Immunogenicity of experimental live attenuated Japanese encephalitis vaccine viruses and comparison with wild-type strains using monoclonal and polyclonal antibodies. *Vaccine*, 1992, 10:329 - 333.
25. Lee T et al. Immune response in mice infected with the attenuated Japanese encephalitis vaccine strain SA14-14-2. *Acta Virologica*, 1995, 39:161 - 164.
26. Jia L et al. Protection of SA14-14-2 live attenuated Japanese encephalitis vaccine against the wild type JE viruses. *Chinese Medical Journal*, 2003, 116:941 - 943.
27. Beasley DW et al. Protection against Japanese encephalitis virus strains representing four genotypes by passive transfer of sera raised against ChimeriVax-JE experimental vaccine. *Vaccine*, 2004, 22:3722 - 3726.
28. Monath TP et al. Recombinant, chimaeric live, attenuated vaccine (ChimeriVax) incorporating the envelope genes of Japanese encephalitis (SA14-14-2) virus and the capsid and nonstructural genes of yellow fever (17D) virus is safe, immunogenic and protective in non-human primates. *Vaccine*, 1999, 17:1869 - 1882.
29. Monath TP et al. Chimeric yellow fever virus 17D-Japanese encephalitis virus vaccine: doseresponse effectiveness and extended safety testing in rhesus monkeys. *Journal of Virology*, 2000, 74:1742 - 1751.
30. Beasley DW et al. Protection against Japanese encephalitis virus strains

representing four genotypes by passive transfer of sera raised against ChimeriVax-JE experimental vaccine. *Vaccine*, 2004, 22:3722 - 3726.

31. Solomon T et al. Origin and evolution of Japanese encephalitis virus in southeast Asia. *Journal of Virology*, 2003, 77:3091 - 3098.
32. Wang HY et al. Molecular epidemiological analysis of Japanese encephalitis virus in China. *Journal of General Virology*, 2007, 88:885 - 894.
33. Chen SP. Molecular phylogenetic and evolutionary analysis of Japanese encephalitis virus in China. *Epidemiology and Infection*, 2012, 140:1637 - 1643.
34. Guy B et al. Preclinical and clinical development of YFV 17D-based chimeric vaccines against dengue, West Nile and Japanese encephalitis viruses. *Vaccine*, 2010, 28:632 - 649.
35. Takhampunya R et al. Emergence of Japanese encephalitis virus genotype V in the Republic of Korea. *Virology Journal*, 2011, 8:449.
36. Arroyo J et al. Molecular basis for attenuation of neurovirulence of a yellow fever virus/Japanese encephalitis virus chimera vaccine (ChimeriVax-JE). *Journal of Virology*, 2001, 75:934 - 942.
37. Chambers TJ et al. JE Nakayama/JE SA14-14-2 virus structural region intertypic viruses: biological properties in the mouse model of neuroinvasive disease. *Virology*, 2007, 366:51 - 61.
38. Yu Y. Phenotypic and genotypic characteristics of Japanese encephalitis attenuated live vaccine virus SA14-14-2 and their stabilities. *Vaccine*, 2010, 28:3635 - 3641.
39. Ding D et al. Long-term disability from acute childhood Japanese encephalitis in Shanghai, China. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 2007, 77:528 - 533.
40. McMinn PC. The molecular basis of virulence of the encephalitogenic

- flaviviruses. *Journal of General Virology*, 1997, 78 (Pt. 11):2711 - 2722.
41. Monath TP et al. Safety testing for neurovirulence of novel live, attenuated flavivirus vaccines: infant mice provide an accurate surrogate for the test in monkeys. *Biologicals*, 2005, 33:131 - 144.
  42. Levenbook IS et al. The monkey safety test for neurovirulence of yellow fever vaccines: the utility of quantitative clinical evaluation and histological examination. *Journal of Biological Standardization*, 1987, 15:305 - 313.
  43. Maximova OA et al. High-throughput automated image analysis of neuroinflammation and neurodegeneration enables quantitative assessment of virus neurovirulence. *Vaccine*, 2010, 28:8315 - 8326.
  44. Bhatt TR et al. Growth characteristics of the chimeric Japanese encephalitis virus vaccine candidate, ChimeriVax-JE (YF/JE SA14--14--2), in *Culex tritaeniorhynchus*, *Aedes albopictus*, and *Aedes aegypti* mosquitoes. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 2000, 62:480 - 484.
  45. Reid M et al. Experimental infection of *Culex annulirostris*, *Culex gelidus*, and *Aedes vigilax* with a yellow fever/Japanese encephalitis virus vaccine chimera (ChimeriVax-JE). *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 2006, 75:659 - 663.
  46. Chen BQ, Beaty BJ. Japanese encephalitis vaccine (2-8 strain) and parent (SA 14 strain) viruses in *Culex tritaeniorhynchus* mosquitoes. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 1982, 31:403 - 407.
  47. Guy B et al. Safety of flavivirus chimeric vaccines: answer to Ishikawa et al. [*Vaccine*, 2008, 26:2772 - 2781]. *Vaccine*, 2008, 26:4107 - 4108.
  48. Monath TP et al. Chimeric live, attenuated vaccine against Japanese encephalitis (ChimeriVax-JE): phase 2 clinical trials for safety and immunogenicity, effect of vaccine dose and schedule, and memory response to challenge with inactivated Japanese encephalitis antigen. *Journal of Infectious*

- Diseases, 2003, 188:1213 - 1230.
49. Liu Z-E et al. Biological and molecular characteristics of live attenuated Japanese encephalitis vaccine virus strain SA14-14-2 inoculated intrathoracically to *Culex tritaeniorhynchus*. *Chinese Journal of Biologicals*, 2007, 20:419 - 421.
  50. Feng Y et al. Observations on the replication of virus and stability of virulence in *Culex tritaeniorhynchus*. *Chinese Journal of Zoonoses*, 2007, 23:279 - 281.
  51. Zhang YZ et al. [Research on *Culex tritaeniorhynchus* and *Culex pipiens quinquefasciatus* intrathoracically infected with attenuated Japanese encephalitis virus SA14-14-2 vaccine strain]. *Zhonghua Shi Yan He Lin Chuang Bing Du Xue Za Zhi*, 2005, 19:344 - 346.
  52. Hombach J et al. Arguments for live flavivirus vaccines. *Lancet*, 2004, 364:498 - 499.
  53. Monath TP et al. Recombination and flavivirus vaccines: a commentary. *Vaccine*, 2005, 23:2956 - 2958.
  54. Taucher C et al. A trans-complementing recombination trap demonstrates a low propensity of flaviviruses for intermolecular recombination. *Journal of Virology*, 2010, 84:599 - 611.
  55. McGee CE et al. Stability of yellow fever virus under recombinatory pressure as compared with chikungunya virus. *PLoS One*, 2011, 6(8):e23247 (doi:10.1371/journal.pone.0023247).
  56. Guidelines for good clinical practice (GCP) for trials on pharmaceutical products. In: *The Use of Essential Drugs. Sixth report of the WHO Expert Committee*. Geneva, World Health Organization, 1995 (WHO Technical Report Series, No. 850), Annex 3.
  57. Guidelines on clinical evaluation of vaccines: regulatory expectations. In: *WHO Expert Committee on Biological Standardization. Fifty-second report*. Geneva, World Health Organization, 2004 (WHO Technical Report Series, No. 924),

Annex 1.

58. Guidelines for plaque reduction neutralization testing of human antibodies to dengue viruses. Geneva, World Health Organization, 2007 (WHO/IVB/07.07) ([http://whqlibdoc.who.int/hq/2007/WHO\\_IVB\\_07.07\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/hq/2007/WHO_IVB_07.07_eng.pdf), accessed 15 July 2013).
59. Guidelines on the quality, safety and efficacy of dengue tetravalent vaccines (live, attenuated). In: WHO Expert Committee on Biological Standardization. Sixty-second report. Geneva, World Health Organization, 2013 (WHO Technical Report Series, No. 979), Annex 2.
60. Directive 2001/18/EC of the European Parliament and of the Council of 12 March 2001 on the deliberate release into the environment of genetically modified organisms and repealing Council Directive 90/220/EEC. Official Journal of the European Communities, 2001, 17.4.2001:L106/1 - L106/38.
61. Commission Decision of 24 July 2002 establishing guidance notes supplementing Annex II to Directive 2001/18/EC of the European Parliament and of the Council of 12 March 2001 on the deliberate release into the environment of genetically modified organisms and repealing Council Directive 90/220/EEC. Official Journal of the European Communities, 2002, 30.7.2002:L200/22 - L200/24.
62. Risk Analysis Framework April 2009. Canberra, Office of the Gene Technology Regulator, 2009 (<http://www.health.gov.au/internet/ogtr/publishing.nsf/Content/riskassessments-1>, accessed 15 July 2013).
63. Wilder-Smith A, Halstead SB. Japanese encephalitis: update on vaccines and vaccine recommendations. Current Opinion in Infectious Diseases, 2010, 23:426 - 431.
64. dos Santos CN et al. Complete nucleotide sequence of yellow fever virus vaccine strains 17DD and 17D-213. Virus Research, 1995, 35:35 - 41.

65. Barban V et al. High stability of yellow fever 17D-204 vaccine: a 12-year retrospective analysis of large-scale production. *Vaccine*, 2007, 25:2941 - 2950.
66. Nitayaphan S et al. Nucleotide sequence of the virulent SA-14 strain of Japanese encephalitis virus and its attenuated vaccine derivative, SA-14-14-2. *Virology*, 1990, 177:541 - 552.
67. Appaiahgari MB, Vрати S. Imojev ((R)): a yellow fever virus-based novel Japanese encephalitis vaccine. *Expert Review of Vaccines*, 2010, 9:1371 - 1384.
68. Ni H et al. Molecular basis of attenuation of neurovirulence of wild-type Japanese encephalitis virus strain SA14. *Journal of General Virology*, 1995, 76 (Part. 2):409 - 413.
69. Pugachev KV et al. Construction and biological characterization of artificial recombinants between a wild type flavivirus (Kunjin) and a live chimeric flavivirus vaccine (ChimeriVax-JE). *Vaccine*, 2007, 25:6661 - 6671.
70. Seligman SJ, Gould EA. Safety concerns with regard to live attenuated flavivirus vaccines. *Journal of Infectious Diseases*, 2008, 198:794 - 795.
71. McGee CE et al. Recombinant chimeric virus with wild-type dengue 4 virus premembrane and envelope and virulent yellow fever virus Asibi backbone sequences is dramatically attenuated in nonhuman primates. *Journal of Infectious Diseases*, 2008, 197:693 - 697.
72. McGee CE et al. Substitution of wild-type yellow fever Asibi sequences for 17D vaccine sequences in ChimeriVax-dengue 4 does not enhance infection of *Aedes aegypti* mosquitoes. *Journal of Infectious Diseases*, 2008, 197:686 - 692.
73. Innis BL et al. An enzyme-linked immunosorbent assay to characterize dengue infections where dengue and Japanese encephalitis co-circulate. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 1989, 40:418 - 427.
74. Unni SK et al. Japanese encephalitis virus: from genome to infectome. *Microbes and Infection*, 2011, 13:312 - 321.

75. Guidelines for national authorities on quality assurance for biological products. In: WHO Expert Committee on Biological Standardization. Forty-second report. Geneva, World Health Organization, 1992 (WHO Technical Report Series, No. 822), Annex 2.
  
76. Guidelines for independent lot release of vaccines by regulatory authorities. In: WHO Expert Committee on Biological Standardization. Sixty-first report. Geneva, World Health Organization, 2013 (WHO Technical Report Series, No. 978), Annex 2.

## “일본뇌염 백신의 안전성·유효성 평가 가이드라인”

발행일 2021년 10월

발행인 서경원

편집위원장 박인숙

편집위원 김재욱, 김영훈, 임재현, 김연희, 진미령, 배창준, 송주경, 이은경, 신진영,  
박소영, 방서영, 이현, 박종식, 천수정

도움주신분 (주)글로박스, (주)녹십자, (주)보령바이오파마, 사노피파스퇴르(주)

발행부서 식품의약품안전평가원 바이오생약심사부 생물제제과

### [공직자 부조리 및 공익신고안내]

▶ **부패·공익 신고** : 식약처 홈페이지 “국민소통 > 국민신문고·제안 > 부패·공익신고” 또는  
국민권익위원회 청렴포털 부패공익신고([www.clean.go.kr](http://www.clean.go.kr)) > 신고하기



### 공익신고자 보호제도란?

-공익신고자등(친족 또는 동거인 포함)이 공익신고등으로 인하여 피해를 받지 않도록  
**비밀보장, 불이익보호조치, 신변보호조치** 등을 통하여 보호하는 제도

### ♣ 보호조치 요구 방법

우편(30102) 세종특별자치시 도움5로 20 정부세종청사 7동, 국민권익위원회 공익보호지원과  
전화 044-200-7770, 7772~8 / 팩스 044-200-7949

“청렴한 식약처 국민 안심의 시작”