관리번호
안내서-0306-00

세포치료제 품질관리 시험항목 설정 가이드라인 [민원인 안내서]

(Guideline on Release Tests for Cell Therapy Products)

의견수렴용

2023. 4.

식품의약품안전처
식품의약품안전평가원

바이오생약심사부 세포유전자치료제과

지침서·안내서 제·개정 점검표

명칭	세포치료제 품질관리 시험항목 설정 가이드라인 (민원인 안내서)

아래에 해당하는 사항에 체크하여 주시기 바랍니다.

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

상기 사항에 대하여 확인하였음.

2023년 4월 일

담당자 **백 정 희**

확 인(부서장)

이 안내서는 세포치료제 품질관리 시험의 합리적인 설정 방향에 대한 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 2023년 4월 현재의 과학적·기술적 사실 및 유효한 법규를 토대로 작성되었으므로 이후 최신 개정 법규 내용 및 구체적인 사실관계 등에 따라 달리 적용될 수 있음을 알려드립니다.

※ '민원인 안내서'란 민원인들의 이해를 돕기 위하여 법령 또는 행정규칙을 알기 쉽게 설명하거나 특정 민원업무에 대한 식품의약품안전처의 대외적인 입장을 기술하는 것(식품의약품안전처 지침서 등의 관리에 관한 규정 제2조)

※ 본 안내서에 대한 의견이나 문의사항이 있을 경우 식품의약품안전평가원 바이오생약심사부 세포유전자치료제과로 문의하시기 바랍니다.
전화번호: 043-719-3534
팩스번호: 043-719-3530

제·개정 이력

세포치료제 품질관리 시험항목 설정 가이드라인

제 · 개정번호	승인일자	주요 내용
B1-2014-3-015	2014. 12.	제정
안내서-0306-01	2017. 6.	등록번호 재부여
안내서-0306-02	2019. 12.	제제학적 시험항목 추가, 외래성 바이러스 부정시험 미설정 요건 추가 등 개정
안내서-0306-02	2023. 4.	무균시험 검체량 등 제시

의견조회용

목 차

1. 적용범위 ····· 1

2. 일반적 고려사항 ····· 1

3. 시험항목별 고려사항 ····· 3
3.1 성상시험 ····· 3
3.2 무균시험 ····· 3
3.3 마이코플라스마 부정시험 ····· 6
3.4 엔도톡신시험 ····· 7
3.5 외래성 바이러스 부정시험 ····· 8
3.6 총세포수시험 ····· 11
3.7 세포생존율시험 ····· 12
3.8 확인시험 ····· 13
3.9 순도시험 ····· 14
3.10 역가시험 ····· 15
3.11 제제학적 시험 ····· 16

4. 참고자료 ····· 18

의견수렴용

1. 적용범위

이 가이드라인은 「첨단바이오의약품 품목허가·심사 규정」(이하 '규정'이라 한다) 제14조(세포치료제의 품질평가 자료 요건) 제4호에서 규정하고 있는 세포치료제 원료의약품 및 완제의약품의 품질관리시험에 적용되는 기준 및 시험방법 설정 시 고려사항을 제시하고자 마련하였다. 이 가이드라인에서 언급되는 '품질관리시험' 용어는 세포치료제 원료의약품 및 완제의약품의 기준 및 시험방법에서 정하고 있는 시험으로 한정한다. 또한 같은 규정 제15조(유전자치료제의 품질평가 자료 요건)에서 세포를 이용하는 경우에도 참고 가능하다.

2. 일반적 고려사항

의약품의 '기준 및 시험방법'은 품질관리에 적정을 기할 수 있도록 설정하여야 한다. 다만 세포치료제는 기존 의약품과는 달리 환자 맞춤형 또는 소규모 제조로 인해 원료의약품 및 완제의약품의 품질관리시험 설정 시 시험에 사용할 검체(바이알 수, 시료량 등)가 제한적인 경우가 많고 제품의 사용기간이 매우 짧아 출고된 이후에 일부 시험결과를 모니터링하게 되는 경우도 있으므로 품질관리 시험항목과 시험방법 설정 시 세포치료제 특수성을 고려하여 제품의 안전성과 성능을 확보하도록 하는 것이 매우 중요하다.

원료의약품 및 완제의약품에서 품질관리 시험을 실시하는 것은 검증된 시험방법을 통해 제조공정의 일관성을 확보하고 의약품이 환자에게 투여되기까지 안전하고 유효하다는 것을 확인하기 위함이다. 따라서 품질관리시험은 특별한 제한(또는 조건)이 없는 한 원료의약품 혹은 완제의약품으로 정한 단계에서 그 제품을 대상으로 시험하는 것이 원칙이다.

의견조회용

규정 제14조(세포치료제의 품질평가 자료 요건) 4. 별첨 규격, 기준 및 시험방법에는 세포치료제 품질관리시험 항목들이 규정되어 있으며, 이를 기반으로 자사 제품에 필요한 품질관리시험을 설정하여야 한다. 일반적으로 유효성분인 세포를 함유하는 세포배양액의 제조가 완료되는 단계에서 원료의약품을 설정하고 규격을 설정한다. 다만, 배양된 세포를 지지체에 부착하는 등 별도의 제조공정을 거쳐 완제품을 생산하는 경우와 같이, 공정중 산물인 세포에 대한 관리가 필요한 경우 세포치료제의 원료의약품으로 설정할 수 있다. 생산규모를 고려할 때 원료의약품은 주로 동종, 이종 세포치료제에서 설정하게 되며, 자가 세포치료제의 경우에도 제조 중간산물로서 다수의 바이알을 저장하여 완제의약품 생산에 사용하게 된다면 해당되는 공정 중 산물(동결 바이알 또는 세포 원액)을 원료의약품으로 설정할 수 있다. 원료의약품으로 지정한 단계의 생산규모, 원료의약품 이후 완제의약품 단계까지의 제조 공정, 생산규모 등 제품의 특성을 고려하여, 반드시 전 항목을 설정할 필요는 없으나 일부 시험항목을 면제시에는 그에 대한 타당한 근거를 제시할 수 있어야 한다.

원료의약품의 ‘별첨규격’ 및 완제의약품의 ‘기준 및 시험방법’은 규정의 [별표 3]과 [별표 4]의 작성 요령과 예시를 참고로 하여 작성할 수 있다.

의견조회용

3. 시험항목별 고려사항

3.1 성상시험

성상시험은 해당 품목의 외형적 특성과 형상이 잘 나타날 수 있도록 그 기준을 설정하여야 한다. 다른 합성의약품, 생물의약품과 마찬가지로 세포치료제의 성상시험은 제품에 대한 기본적인 외형의 적합여부를 시험하는 것으로 육안으로 관찰한다. 주사제인 경우 약물이 충전된 직접용기(바이알, 시린지, 백 등)를 포함하고, 해동 전·후 또는 희석제에 용해 전·후에 원료(완제) 의약품의 색, 형상 등에서 나타나는 차이가 품질관리 측면에서 중요하다고 판단된다면 이러한 내용이 반영되도록 하여야 한다. 또한 지지체가 사용된 제품은 지지체의 형태나 크기에 관한 정보를 포함하도록 한다.

3.2 무균시험

무균시험은 제조가 완료된 제품에서 미생물(세균 및 진균) 오염여부를 확인하는 가장 마지막 절차로서 대한민국약전 등 식약처장이 인정하는 공정서에 수록된 시험방법에 따라 시험을 실시하는 것이 원칙이다. 그러나 사용기간이 짧은 제품 등 경우에 따라서는 밸리데이션된 신속시험법을 사용할 수 있다. 이 시험에 '적합'하다는 결과는 해당 로트 전체 제품에 미생물이 오염되지 않았음을 의미하는 것은 아니며 이 시험조건에서 시험한 검체 중에 오염 미생물이 검출되지 않았음을 의미하는 것이므로, 무균시험 결과는 제조기간 중에 실시하는 환경 모니터링 결과와 공정중관리(In-process-control) 시험결과를 병행하여 해석하여야 할 필요가 있다.

무균시험은 미생물 발육저지활성시험 등의 측정법 적합성 시험으로 밸리데이션을 실시하여야 하며, 이 시험은 새로운 제품에 대한 시험이거나, 시험조건이 변경된 경우 실시한다. 배지 성능시험이나 무균성 시험과 같은 배지의 적합성시험은 배지를 조제할 때마다, 시판 액체배지는 구입할 때마다 그

성능을 시험한다. 제조 로트별로 실시하는 무균시험에는 적절한 음성대조군을 설정하여 시험하고 시험실 교차오염 등을 고려하여 배지성능시험 시험결과를 함께 해석하는 것이 중요하다.

‘생물학적제제 기준 및 시험방법(식약처 고시)’에서는 로트당 제조용기 수에 따른 최소 검체수와 각 배지당 최소 검체량을 제시하고 있으며, 세포치료제의 경우에도 이를 참고할 수 있다.

무균시험은 충전이 완료된 원료의약품 또는 완제의약품의 매 제조로트에서 실시하는 것이 원칙이나, 불가피한 경우 첨가제 배합 완료 후 충전 직전의 최종원액을 대상으로 무균시험을 실시할 수 있다. 최종 원액을 대상으로 시험하는 경우에도 충전 공정 등 완제의약품에서 무균성이 확보될 수 있음을 입증하여야 하며 시험 검체에 대한 발육저지 활성시험 등의 적합성 시험도 실시하여야 한다.

한 로트에서 생산된 용기가 1 ~ 39 개인 경우와 같이 제조 규모가 작아 검체량에 대하여 생물학적 제제의 기준 및 시험방법에서 제시된 양을 따르기 어려운 세포치료제의 경우, 10%에 해당하는 수의 용기(소수의 경우 정수로 올림)를 적용할 수 있다. 로트 크기가 40개 이상일 경우에는 ‘생물학적 제제 기준 및 시험방법(식약처 고시)’에서 제시된 양을 따르는 것이 타당하다.

최종적으로 1차 포장용기 하나에만 충전되는 자가유래 또는 1:1 공여 세포치료제는 검체 사용량이 제한될 수 밖에 없다. 이러한 경우, 제품용기당 의약품의 충진량이 10 mL 이상 1000 mL 이하면 검체 최소량을 1%로, 충진량이 1 mL ~ 10 mL 인 경우에는 검체량을 0.1 mL로 시험할 수 있다. 의약품의 용기당 총량이 1 mL 미만인 경우에는, 앞서 언급한 바 대로 첨가제 배합 완료 후 충전 직전의 최종원액을 대상으로 무균시험을 실시할 수 있다. 이와 같이 완제의약품의 시료의 양이 매우 제한적이어서 시험 검체의 회수단계 및 사용량을 조정하는 경우 해당 시험법의 검출한계 등 검체 사용의 타당성이 함께 제시되어야 한다.

의견조회용

제품의 사용기간이 짧아서 무균시험 최종결과를 확인하기 전에 환자에게 반드시 투여하여야 하는 경우에는 다음의 두 가지가 모두 적용되도록 시험법을 설정하는 것이 바람직하다. 첫째 제조과정 중 마지막 배양 단계에서 최종 배양된 세포를 회수하기 48시간에서 72시간 전에 얻어진 배양액을 이용하여 무균시험을 실시한다. 둘째 제조가 완료된 시점에 완제의약품으로 무균시험을 별도로 추가 실시하고, 출고시점에서 시험결과 확인이 가능한 그람염색법 등 신속검출법을 병행한다.

배양기반 신속검출법은 대한민국약전에 수재된 시험법에 사용되는 배지와 동등하거나 그 이상의 성능이 입증된 배지를 이용하여 미생물을 배양한 후 미생물 증식 여부를 다양한 기술로 판단하는 검출법을 포함한다. 배양기반 신속검출법을 사용할 때에는 위험기반 접근법으로 발생할 수 있는 위험성을 평가하여 그 필요성과 위험성에 대하여 적시하고 설명할 수 있어야 한다. 배양기반 신속검출법 사용 시 검출한계(limit of detection, 균주에 따라 약 10 CFU 미만), 완건성/둔감도(robustness/ruggedness), 반복성(repeatability), 특이성(specificity), 적합성(suitability) 등의 항목에 대한 시험법 밸리데이션 자료 및 동등성 평가 자료를 함께 제출해야 한다. 적합성 시험은 무균시험을 진행하고자 하는 검체와 동일한 매트릭스를 이용하는 것이 적절하나 제품과 동등한 종류의 세포와 세포수의 시료, 제품 잔여물 등을 이용하는 것도 고려해 볼 수 있다. 이 경우, 적합성 시험 검체 선정에 대한 타당성을 제시할 수 있어야 한다. 동일 시험조건에서 대한민국약전에 고시된 표준균주를 포함하여 성장 속도가 느린 균주, 세포치료제 제조소의 환경 모니터링에서 자주 검출되는 균주까지 특정 배양기간 이내(예, 7일)에 모두 검출되는지 증명한 경우, 무균시험 배양기간을 변경할 수 있으나 최소 7일 이상으로 설정해야 한다.

품질관리시험 완료 전에 제품 출고를 승인해야만 하는 경우에는 조건부 출하승인을 위한 절차(제조기록서, 공정중시험 결과, 환경모니터링 결과, 공정밸리데이션 결과, 시험분석 결과, 배양액시험 결과 등의 평가 포함)를 정

의견조회용

하여 이에 따라 출고하고, 제품 출고 이후 기준일탈 결과가 확인된 경우 조치(의료진과의 연락, 환자 모니터링 등) 절차를 마련하고 철저한 조사 및 재발 방지를 위한 시정·예방조치를 문서화하여야 한다. 또한 동결된 완제의약품을 해동한 후 품질관리가 어려운 공개된 장소에서 세척하는 경우와 같이 별도로 조작하여 사용하는 경우 무균의 유지가 어려울 수 있어 바람직하지 않으나, 이것이 제품사용에서 불가피하다면 조작 장소의 제한, 세척용액의 관리 등 무균을 최대한 확보하기 위한 방법들을 강구하고 용법에 반영하여야 한다.

3.3 마이코플라스마 부정시험

마이코플라스마는 인공배지에서 증식 능력을 가진 가장 작은 세균의 하나로 작업원 및 제조공정 중 사용된 동물 유래 원료·시약 또는 제조 시설·환경에 의해 주로 오염된다. 세포치료제의 주원료가 인체(동물) 유래물이며 제조공정 중 특수한 정제과정을 거치지 않는 경우가 많다는 점, 또 제조 중 세포의 배양·분화를 위해 사용하는 혈청, 성장인자 등의 시약이 동물에서 유래된 경우가 많다는 점을 고려할 때 마이코플라스마가 오염될 가능성은 다른 의약품보다 높다.

마이코플라스마 부정시험 배양법은 '생물학적제제 기준 및 시험방법(식약처 고시)' 또는 식약처장이 인정하는 공정서에 수록된 시험방법에 따라 실시한다. 배양법을 사용할 때에는 마이코플라스마 발육저지활성시험, 배지성능시험과 같은 밸리데이션 시험이 선행되어야 한다.

2012년 「핵산증폭검사법을 이용한 마이코플라스마 검출법 밸리데이션 가이드라인」이 발간되어 핵산증폭기술(NAT)을 도입한 신속시험법 적용이 가능하게 되었다. 핵산증폭검사법을 이용함으로써 세포치료제의 생산규모, 사용기간 등에 따른 시험법의 제약 사항을 극복하는 것이 가능해졌으며 밸리데이션된 핵산증폭검사법은 공정서에 수록된 배양법과의 동등성을 확보한 경우

배양법을 대체할 수 있다. 사용기간이 짧은 제품에는 직접법과의 비교동등성이 확보된 대체시험법을 적용하여 최종 결과를 확인하고 출고하는 것이 바람직하다.

마이코플라스마 신속검출 시험법의 밸리데이션 및 배양법과의 동등성 확보에 관한 내용은「핵산증폭검사법을 이용한 마이코플라스마 검출법 밸리데이션 가이드라인」및「첨단바이오의약품 규제과학 상담 사례집」을 참고한다. 특히, 세포치료제 검체 내에 존재했었을 수 있는 마이코플라스마가 핵산증폭시험을 위해 DNA를 추출하는 과정에서 손실되어 위음성의 결과가 나올 수 있으므로 매 시험 안에 추출대조군(extraction positive control) 등을 설정하여 시험하는 것이 필요하다.

마이코플라스마부정시험 배양법 또는 핵산증폭검사법에 사용하는 시험검체는 마이코플라스마 검출이 가장 용이한 시점에서 채취하는 것이 적절하다. 일반적으로 마지막 배양이 완료된 시점에서 모은 배양액과 세척하기 전의 세포를 함께 사용하는 것이 바람직하다. 제품을 동결하는 경우 동결 전에 시험을 실시하는 것이 타당하다.

사용 기간이 짧은 제품에서 마이코플라스마 배양법을 사용하는 경우에는, 출고 시점에 시험결과를 확인하지 못하므로 특이성, 민감도 등이 확보된 신속검출 방법을 병행한다. 신속검출방법 결과를 토대로 출하하고, 배양법 시험의 최종결과에 따른 환자 보호 등의 조치사항을 포함하여 3.2에 기술된 품질관리시험 완료 전에 제품 출고를 승인시 요구되는 관리방안을 준수해야 한다.

3.4 엔도톡신시험

엔도톡신 시험은 그람음성균에서 유래된 지질다당류(lipopolysaccharide)의 일부분인 엔도톡신을 검출하는 품질관리 시험항목이다. 세포치료제 제조공정 중에 작업자 또는 사용되는 다양한 종류의 배지·시약(예. 혈청, 세포 성장·분화 유도물질) 등을 통해서 엔도톡신이 오염될 수

있어 세포치료제의 원료의약품, 완제의약품의 각 단계에서 오염 여부의 확인이 필요하다.

원료의약품 및/또는 완제의약품의 투여방법, 투여시간, 체중 등을 고려하여 시험기준을 설정하여야 하며, 대한민국약전에 수재된 바와 같이 엔도톡신의 작용에 의한 라이세이트 시액의 겔형성을 지표로 하는 겔화법과 라이세이트 시액의 겔화 과정에서의 탁도 변화를 지표로 하는 비탁법 및 합성기질의 가수분해에 의한 발색을 지표로 하는 비색법 중 하나를 선택하여 시험한다. 개발사에서 원료 혹은 완제의약품의 제품 배합 시 사용된 첨가제를 고려하여 적절한 시험법을 선택하되 시험의 정밀도와 유효성을 보증하기 위해 예비시험을 실시하는 것이 필요하다. 겔화법의 경우 라이세이트 시약의 표시감도 확인시험 및 반응간섭인자 시험을 실시하며 비탁법 또는 비색법은 검량선의 신뢰성 확인시험 및 반응간섭인자 시험을 실시한다.

위의 시험을 통해 밸리데이션 되고 유효희석 배수가 결정된 시험법을 사용하여 매 제조 로트마다 엔도톡신 시험을 실시한다. 엔도톡신 시험 시 결과에 의심이 되는 경우에는 겔화법에 따라 최종 판정을 하도록 하고 있다.

3.5 외래성 바이러스 부정시험

세포를 이용하여 의약품을 제조하는 경우에는 바이러스에 오염될 가능성이 항상 존재하며, 이러한 바이러스는 환자의 안전과 직결되므로 제품에서 바이러스의 오염이 없음을 입증하는 것은 매우 중요하다. 외부로부터 유입된 바이러스가 최종 제품에 오염될 가능성은 여러 가지 경로를 통해 이루어질 수 있으나, 주로 제조공정에 사용하는 원료·시약 등 물질 또는 작업자로부터 오염되는 경우를 들 수 있다. 특히 세포치료제의 주원료가 인체(동물)유래물이라는 점과 사용되는 배양배지 조성에 동물 또는 인체 유래 성분이 포함되는 경우가 많다는 점, 제품의 최종 제조 단계까지 정제과정 등 바이러스를 제거·불활화시키는 공정이 없다는 점 등 세포치료제의 특성상 바이러스의 잠재

의견수렴용

적 잔류 가능성은 다른 제품에 비해 높다고 할 수 있으므로 자사 제품의 특성과 제조방법 등을 검토하여 원료의약품 및/또는 완제의약품의 품질관리 시험항목으로 설정하는 것을 고려하여야 한다.

예를 들면 세포은행 또는 원료의약품 단계 이후의 완제의약품 제조과정에서 생산규모가 확장되는 경우, 공정 중에 바이러스가 혼입되거나 증폭될 가능성이 커질 수 있으므로 배양이 완료된 시점의 완제의약품 단계에서 시험항목으로 설정하는 것이 필요하다.

제품의 외래성 바이러스 부정시험은 식약처에서 발간한「생물의약품 외래성 바이러스 부정시험 가이드라인」의 세포배양 접종시험(*in vitro* test)을 참고하여 설정할 수 있다. 세포치료제 제조규모 상 원료의약품 또는 완제의약품에서 동물을 이용하여 외래성 바이러스 부정시험을 설정하고 있지는 않으나, 기증자(동물)의 기원적 특성과 바이러스 혼입 우려가 큰 원료 조직을 사용하는 경우에는 종 특이적 바이러스 검출시험이 필요할 수도 있다. 세포은행이나 적정규모 이상의 원료의약품에 대해서는 동물접종시험(*in vivo* test) 등이 추가적으로 필요하다. 품목허가 신청시에는 특성분석시험으로서 제품에 대한 동물접종시험(*in vivo* test)이 필요할 수 있다.

세포치료제 개발초기에 원료·시약의 품질에 대한 규명이 완전하지 않거나 제조공정이 외부 바이러스의 유입 가능성을 배제할 수 없다고 판단된다면 이 시험항목을 설정하는 것이 바람직하다. 그러나, 소규모 제조공정 중에 사용되는 주성분, 원료、시약 등에 바이러스가 혼입될 가능성이 적어 완제의약품에서 외래성 바이러스가 잔존할 확률이 지극히 낮다고 판단될 경우 이 시험의 주기를 조정하거나 혹은 이 시험을 품질관리 항목에서 제외하는 것을 검토할 수 있다.

1인 사용 품목(자가 또는 1:1 공여 세포치료제)의 완제의약품인 소규모 제조공정이면서 제조에 사용되는 원료 및 공정 일관성을 확인할 수 있는 아래의 조건들을 만족하는 경우, 바이러스 오염 위험이 매우 낮다고 판단되어

완제의약품에 이 시험을 설정하지 않을 수 있다.

- 약전에서 요구하는 안전성 기준이 있는 동물(인체)유래 성분은 해당 기준을 만족하는 원료 사용(예. FBS, 인혈청알부민)
- 약전에 안전성 기준이 수재되지 않은 동물(인체)유래 성분은 기원종에 적합한 바이러스검사결과나 바이러스 제거 검증으로 안전성이 확보된 동물(인체)유래 원료 사용
- 재조합단백질 원료의 경우 세포은행, 제조에 사용되는 물질, 제조공정을 평가했을 때 바이러스 안전성이 인정되는 원료 사용
- 그 외 사용하는 모든 원료들이 각각의 제조과정을 검토했을 때 동물유래성분으로 인한 바이러스 오염 위험이 매우 낮은 원료 사용
- GMP에서 제조한 3로트 이상의 완제의약품에서 적합한 외래성 바이러스 부정시험 결과

2인 이상 사용 동종 세포치료제는 세포은행 단계에서 바이러스 안전성 시험을 적절하게 수행하고, 제조시 사용하는 원료가 상기 조건들을 만족시키며, 각 개발 단계에서 확립된 공정으로 제조한 완제의약품의 외래성 바이러스 부정시험 결과가 적합일 경우, 축적된 시험결과를 근거로 일정 주기별로 수행하도록 설정할 수 있다.

바이러스 오염 위험이 매우 낮다고 판단되어 외래성 바이러스 부정시험을 완제의약품에서 규격으로 미설정하는 경우에도 이후 제조방법 변경(동물유래 원료의 변경, 제조소 변경 등) 시 연속 3 로트 이상의 외래성 바이러스 부정시험 결과를 통해 공정의 적절성을 제시해야 한다.

외래성 바이러스 부정시험은 최종 배양공정에서 세포를 수집(pooling)하여 세척하기 전 단계의 배양액과 세포를 대상으로 시험을 실시하는 것이 바람직하며 제조규모, 생산량 등을 고려하여 시험에 사용할 세포의 사용량을 조정하는 것이 가능하다. 이 시험이 매 번 동일한 조건에서 실시되도록 하기

의견조회용

위해 시험물질인 지표세포주, 바이러스주 관리에 유의해야 한다.

외래성 바이러스 부정시험 역시 시험 완료 전에 출고해야 할 경우 조건부 출하승인 절차와 출고이후 기준일탈 결과가 확인된 경우에 대한 조치절차 등을 마련해야 한다.

3.6 총세포수 시험

세포치료제에서 총세포수 측정시험은 제품의 용량을 확인할 수 있는 가장 직접적인 시험으로 다른 의약품의 '함량시험'과 유사하다. 용기에 충전된 세포수가 제품의 '원료약품 및 그 분량'을 대변할 수 있어야 하므로 제조공정 중에 각 단계별로 세포의 생산량을 확인할 목적으로 실시하는 공정관리 시험과는 구분된다.

시험검체는 한 로트에서 생산되는 원료의약품 또는 완제의약품 바이알 중 하나 이상의 바이알을 사용하는 것이 바람직하다. 그러나 제품의 사용목적상 제조가 완료된 세포를 모두 환자에게 투여하거나 소규모 생산으로 인해 별도의 품질관리시험용 검체를 확보하기 어려운 1인 사용 품목(자가 또는 1:1 공여 세포치료제)의 경우 충전 직전의 배합물(최종원액)의 일부를 대상으로 실시하는 것도 고려할 수 있다. 이것은 제조공정 및 제품 분량의 특수성으로 인한 경우에만 제한적으로 적용할 수 있으며, 시험시료의 분량이나 채취과정이 원료의약품 또는 완제의약품 단계의 총세포수 시험을 최대한 대변할 수 있도록 선택하여야 한다. 따라서 동결보관하는 세포치료제의 경우, 품질관리시험용 시험검체도 동결·해동과정을 거친 후 시험하는 것이 더 적절하다고 볼 수 있다.

총세포수 측정시험은 유럽약전(EP)에 수록된 '세포수 및 생존율 시험방법'에 따라 혈구계수기를 이용하여 용액 내의 세포수를 측정하는 등 현미경을 이용하거나 자동화된 세포수 측정장비를 사용하여 시험할 수 있다. 또한 세포생존율시험과 함께 진행하기 위해 트립판블루 염색 배제 방법(Trypan

blue exclusion assay)을 이용하는 것도 가능하다. 총세포수 시험 시 완제의약품으로부터 극소량의 시료만을 채취하여 시험하게 되므로 시험검체는 최대한 균질하게 채취하는 것이 중요하다. 매 로트 시험 시 검체 채취부터 3회 이상의 반복시험이 가능하도록 하여 시험결과의 정확도를 높이는 것을 권장한다.

3.7 세포생존율 시험

세포생존율은 현미경을 이용하여 측정하는 경우 살아 있는 세포수를 측정된 총세포수로 나눈 비율로 나타내며, 세포로부터 분비되는 사이토카인 등 제품의 효과를 나타내는 바이오 마커의 활성도나 분량과도 연관되므로 원료의약품 및 완제의약품에서 설정하여야 하는 시험항목 중 하나이다.

충전 공정에서의 물리적 요소, 제품의 제형 및 조성 등으로 인해 바이알 내부에 충전된 세포의 생존율은 첨가제 배합 전·후의 세포생존율과 달라질 수 있으므로 원료의약품 및 완제의약품에서 시험을 실시하는 것이 원칙이다. 다만 단 하나의 제품만을 생산하는 경우와 같이 제조공정 및 제품 분량의 특수성으로 인해 불가피한 경우 최소한 품질관리시험용 시험검체를 별도로 제조하여 시험을 실시하거나 혹은 총세포수시험과 유사하게 충전 직전의 배합물(최종원액)의 일부를 대상으로 실시하는 것도 고려할 수 있으나, 그 결과가 최종 제품의 세포생존율을 대변할 수 있음을 제시하여야 한다. 따라서 동결보관하는 세포치료제의 경우, 품질관리시험용 시험검체도 동결·해동과정을 거친 후 시험하는 것이 더 적절하다고 볼 수 있다.

세포생존율 시험 역시 유럽약전에 수록된 '세포수 및 생존율 시험방법'에 따라 트립판블루 염색 배제 방법을 사용할 수 있으며, 총세포수 시험과 동시에 실시하는 경우가 많다. 다만 세포생존율은 제품의 유효성과 밀접하게 연관되는 만큼 이 시험은 민감도와 정밀도가 높은 방법을 선택하는 것이 바람직하다. 7-Aminoactinomycin(7-AAD), Propidium iodide(PI) 등과 같은 염색액을 이용한 유세포분석법 등 자동화된 장비를 적용하는 것도 가능하다. 세

포생존율 기준값은 실제 다수의 로트에 대하여 시험한 측정값을 고려하여 제품별 특성에 맞게 기준을 정한다. 총세포수 시험과 마찬가지로 매 로트 시험 시 3회 이상의 반복시험이 가능하도록 하여 시험결과의 정확도를 높이는 것을 권장한다.

3.8 확인시험

확인시험은 원료의약품 또는 완제의약품에 포함되어 있는 세포가 주성분 세포가 맞는지를 검증하는 것이 목적이며, 세포의 종류나 활성 등 세포가 가지는 본질을 다양한 지표와 시험방법을 이용하여 확인할 수 있도록 설정한다. 확인시험은 규정 제14조에 정하는 바와 같이 세포의 본질을 규명할 수 있는 시험항목으로 형태학적, 면역학적, 생물학적 시험 등을 설정하며, 각각의 특성별로 서로 다른 지표를 설정하는 것을 권장한다.

예를 들어, 완제의약품 세포의 형태적 특징을 확인하기 위해 마지막 배양 단계에서 배양 중인 세포를 현미경으로 관찰하여 시험할 수 있다. 또는 주성분 세포에 발현되는 표면표현형 마커를 선정하여 유세포 분석방법(Flow Cytometry)으로 확인하거나, 특정 유전자 또는 단백질의 발현 수준을 정량적 핵산증폭검사법이나 효소결합면역흡착검사법(ELISA, Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay), 웨스턴블러팅을 통해 확인하는 등으로 설정할 수 있다. 선택된 확인시험 방법에는 적절한 양성대조군 또는 음성대조군을 포함시켜 시험결과를 판정할 때 대조군 시험결과를 함께 검토할 수 있어야 한다.

세포의 분류 또는 특성 상 특정 지표만으로 세포를 명확히 확인하기 어려운 경우가 있으며, 이 경우 확인시험은 다수의 시험항목이 필요할 수 있으므로 문헌조사, 개발사의 추가 연구 등을 통해 세포의 본질 확인에 가장 적합한 시험 지표를 선택하는 것이 중요하다.

완제품에서 시험시료의 용량이 제한적인 경우 최종원액을 대상으로 시험을 실시하는 것은 가능하나, 충전 과정이 세포 특성에 영향을 줄 수 있다고

판단된다면 완제의약품을 대상으로 실시하는 것이 바람직하다. 확인시험은 주성분 세포의 기능적 측면보다는 세포의 본질을 확인하는 것이 주된 목적이다. 세포치료제 확인시험은 주로 주성분 세포에 대한 시험이 대부분이나, 만일 완제품에 포함된 지지체 또는 세포 외 기질 등 성분에 대한 확인이 필요한 경우 세포에 대한 확인시험과는 별도로 이 역시 확인시험으로 설정하는 것을 고려하여야 한다.

시험방법을 선택함에 있어서 일차적으로 원료(완제)의약품에 포함된 첨가제로 인한 간섭작용 여부를 확인하는 것이 중요하며, 간섭작용이 있는 경우 이를 배제하도록 시험조건을 변경하거나 필요시 다른 시험방법을 사용하는 것을 검토하여야 한다.

3.9 순도시험

순도시험은 최종 제품에 잔류하는 목적 외 산물을 확인하는 시험으로서, 제품을 체내에 투여하고 난 뒤 제품 본래의 사용목적(치료기전)과 다른 이상반응과 부작용을 최소화하기 위해 설정하는 시험항목이다. 세포치료제 순도시험은 크게 두 가지로 구분할 수 있다. 첫째, 의도하지 않은 세포나 제조과정에 사용된 물질 등 제조공정 관련 불순물의 혼입여부를 확인하거나, 둘째, 배합이 완료된 완제품에서 주성분과 첨가제 간의 상호작용으로 인해 생성된 산물, 지지체로부터 분해된 산물과 같이 세포 또는 첨가제 부산물의 생성여부를 확인하는 제품 관련 불순물시험이 있다. 순도시험은 제조공정 중 사용된 물질의 독성여부, 인체(동물)유래 주원료로부터 분리·배양된 세포의 불균질성 등을 고려하여 적절한 항목과 기준을 설정하는 것이 중요하다.

세포치료제 제조 과정에서 안전성에 우려가 있는 물질을 사용하고 있는지를 검토하고 제조 완료 후 원료의약품 또는 완제의약품에서의 이러한 물질들의 잔류여부를 검증하여 적정수준 이하로 관리가 필요한지를 결정하여야 한다. 예를 들어 줄기세포를 분화시켜 주성분을 제조하는 경우 미분화된 세포

나 미성숙한 세포 또는 목표한 것과 다른 세포로 분화된 세포는 모두 불순물로서 관리하여야 한다. 배양보조세포를 제조에 사용하는 경우에도 배양보조세포의 잔류수준을 순도시험으로 설정하여 관리할 필요가 있다. 또한, 제조공정 중 혈청이나 성장인자, 사이토카인, 항생제 등을 사용했을 경우 순도시험으로 설정하거나 공정밸리데이션의 일부로 수행하여 관리하여야 한다. 지지체로부터 폴리머 입자가 분해될 수 있는 경우 순도시험의 하나로 설정하여 일정 수준 이하로 관리하여야 한다.

순도시험 지표에 대한 시험 기준은 지표가 검출된 양, 목적 외 세포의 비율 등에 대한 시험결과를 기반으로 설정하며, 이는 로트 분석결과에 따라 수동적으로 수립하기 보다는 제조공정을 개선하는 작업과 병행하여 능동적으로 설정하는 것이 바람직하다. 순도시험의 시험방법은 확인시험, 역가시험과 마찬가지로 적절한 양성대조군 또는 음성대조군을 함께 두어 시험결과의 신뢰성을 확인할 수 있어야 한다.

3.10 역가시험

역가시험은 제품의 효능을 대변할 수 있는 가장 중요한 품질관리시험 항목으로 생물학적 활성을 확인할 수 있는 지표를 선정하여 이를 정량적 시험 방법을 이용하여 설정하는 것이 원칙이다. 세포치료제 역가시험은 특정 질병에 대한 세포의 임상적 치료효과를 확인할 수 있는 지표를 설정하고, 이는 제품의 작용기전(mode of action)의 탐색과 검증 결과를 토대로 하여야 한다. 즉, 역가시험 지표와 제품의 작용기전에 대한 연관성을 다양한 생체 내(*in vivo*) 및 생체 외(*in vitro*) 시험을 통해 확인하고, 임상시험 결과와도 의미 있게 연관됨을 살펴보는 것이 필요하다. 역가시험과 임상시험 결과와 연관성을 검토하기 위해서는 임상시험 계획 단계부터 제품의 치료기전에 대한 고려는 필수적이며, 임상시험 관찰항목 등에 포함시켜 역가시험의 타당성을 모니터링할 수 있도록 계획하는 것이 중요하다.

연구 초안용

제품의 치료기전에 따라 역가시험의 지표나 시험방법은 다양해질 수 있다. 예를 들어 주성분 세포가 체내에서 분비하는 물질에 의해 효과를 보일 때에는 분비하는 물질의 양을 역가의 지표로 설정할 수 있으나, 세포가 체내에서 작용하는 병변 환경(예. 염증부위에서 활성화되는 특정 지표) 등을 고려하여 역가시험 조건에 포함되도록 설정하는 것이 바람직하다. 세포치료제의 특성 상 치료 기전이 복합적 요소에 의한 것이 많으며, 임상시험을 진행하면서 역가지표 설정에 대한 다양한 시도와 검증을 통해 치료기전을 보다 명확히 밝히는 노력이 필요하다. 이 경우, 특정 시험법 하나만을 단독의 역가시험으로 설정하는 것 보다는 여러 종류의 지표를 설정하여 치료 기전에 대한 종합적인 검토가 가능하도록 설정하는 것이 필요하다. 또 다른 예로 간암 환자에 사용하는 면역세포치료제의 경우 간암 세포주를 이용하여 주성분 면역세포의 항암활성을 측정하는 것을 역가시험으로 설정할 수 있다. 다만, 역가시험에 사용할 목적 세포주의 유지·관리 등에서 시험법의 적용이 어려운 경우 이를 대체할 세포주를 선정하여 항암활성 측정에 대한 동등성 검토 후 적용하는 것이 가능하다.

역가시험은 다른 시험항목과 마찬가지로 원료의약품 또는 완제의약품에 포함된 세포를 대상으로 시험하여야 하나 환자 투여 전에 시험결과를 확인하는 것이 어렵거나 소량의 제조 등 특별한 사유가 있다면 최종 제품으로 충전되기 전 단계의 배양이 완료된 세포 또는 배양액 등을 확보하여 시료로 사용하는 것도 가능하다. 이런 경우는 해당 검체가 최종 제품의 역가를 대변할 수 있음을 입증하는 자료가 필요하다.

3.11 제제학적 시험

규정 제13조 및「생물학적제제 등의 품목허가·심사 규정」제26조, 제10호에 따라 필요한 제제학적 시험항목을 설정해야 한다. 예를 들어 주사제의 경우에는 불용성이물시험, 주사제의 불용성미립자시험, 주사제의 실용량시

험 등을 설정해야 한다.

합리적인 근거를 제시하는 경우 제제학적 시험 중 일부 시험을 설정하지 않을 수도 있다. 일례로 주성분인 세포의 크기가 10μm 이상이라면 주사제의 불용성미립자시험을 수행하는 것이 무의미하므로 해당 시험을 설정하지 않을 수 있다. 이 경우 최종제품에서 시험을 수행하지 못하는 것에 대한 보완조치(예. 첨가제에 불용성미립자시험 설정)가 필요하다. 실용량시험의 경우에도 공정 중 관리시험 등을 통하여 환자 투여량을 보장할 수 있다면, 완제품의 규격에서 제외할 수 있다.

의견조회용

4. 참고자료

1. 의약품 제조 및 품질관리에 관한 규정(식약처 고시)
2. 생물학적제제 등의 품목허가·심사 규정(식약처 고시)
3. 첨단바이오의약품 품목허가·심사 규정(식약처 고시)
4. 임상시험용 세포치료제·유전자치료제 품질평가 가이드라인(안내서-1196-01, 2022.4.)
5. 세포치료제 세포은행 평가 가이드라인(안내서-1141-01, 2021.08.)
6. 세포치료제 기증자 적합성 평가 가이드라인(안내서-0311-01, 2021.05.)
7. 「첨단재생바이오법」 자주 묻는 질의응답집(인체세포등 관리업 분야)(안내서-1193-01, 2022.3.)
8. 생물의약품의 제조방법 변경에 따른 비교동등성 평가 가이드라인(안내서-0316-05, 2022.12.)
9. 첨단바이오의약품 규제과학 상담 사례집(안내서-0833-03, 2020.12.)
10. 핵산증폭검사법을 이용한 마이코플라스마 검출법 밸리데이션 가이드라인(2012.11.)
11. 생물의약품 생산에 사용되는 세포기질 관리 가이드라인(B-2010-3-021, 2010년)
12. 생물의약품 외래성 바이러스 부정시험 가이드라인(B1-2010-3-020, 2010.12.)
13. 첨단바이오의약품 제조 및 품질관리기준 가이드라인(안내서-1020-01, 2020.2.)
14. 의약품등 시험방법 밸리데이션 가이드라인 (식약처, B1-2015-2-081, 2015년)
15. Content and review of Chemistry, Manufacturing, and Control(CMC) information for human somatic cell therapy Investigational New Drug Applications(INDs) (FDA/CBER, 2008년)
16. European Pharmacopoeia (http://online.edqm.eu)
17. Guideline on human cell-based medicinal products

의견조회용

(EMEA/CHMP/410869/2006, 2008년)
18. Guideline on the requirements for quality documentation concerning biological investigational medicinal products in clinical trials (EMA/CHMP/BWP/534898/2008, 2012년)
19. Guideline on validation of the Limulus Amebocyte Lysate test as an end product endotoxin test for human and animal parenteral drugs, biological products, and medical devices (FDA/CDER, 1987년)
20. ICH Guideline Quality of biotechnological products Q5A~Q5E (1995~2004년)
21. Potency tests for cellular and gene therapy products (FDA/CBER, 2011년)
22. Reflection paper on stem cell-based medicinal products (EMA/CAT/571134/2009, 2011년)
23. USP-NF online (http://www.uspnf.com)

의견조회용

청렴韓세상

세포치료제 품질관리 시험항목 설정 가이드라인

발 행 일 2023월 4월

발 행 인

편집위원장

편 집 위 원

도움주신 분들 식품의약품안전평가원 의료제품연구부
첨단바이오융복합연구과
한국표준과학연구원 이다혜 외

발 행 부 서 식품의약품안전평가원 바이오생약심사부
세포유전자치료제과

의견조회용

식품의약품안전처
식품의약품안전평가원