

등록번호

안내서-1404-01



키메라 항원 수용체(CAR) T 치료제 개발 시 고려사항[민원인 안내서]

2024. 12.



식품의약품안전처

식품의약품안전평가원

바이오생약심사부 세포유전자치료제과

지침서·안내서 제·개정 점검표

명칭

키메라 항원 수용체(CAR) T 치료제 개발 시 고려사항(민원인 안내서)

아래에 해당하는 사항에 체크하여 주시기 바랍니다.

등록대상 여부	<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"/> 1년 이내 한시적 적용 또는 일회성 지시·명령에 해당하는 내용입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 외국 규정을 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.		
지침서·안내서 구분	<input type="checkbox"/> 내부적으로 행정사무의 통일을 기하기 위하여 반복적으로 행정사무의 세부기준이나 절차를 제시하는 것입니까? (공무원용)	<input type="checkbox"/> 예(지침서) <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 대내외적으로 법령 또는 고시·훈령·예규 등을 알기 쉽게 풀어서 설명하거나 특정한 사안에 대하여 식품의약품안전처의 입장을 기술하는 것입니까? (민원인용)	<input checked="" type="checkbox"/> 예(안내서) <input type="checkbox"/> 아니오
기타 확인 사항	<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.	
상기 사항에 대하여 확인하였음.		
2024년 12월 20일		
담당자 확 인(부서장)		박동현, 홍영기 왕소영

이 안내서는 키메라 항원 수용체(CAR) T 치료제 개발 시 고려사항에 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 2024년 12월 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 바이오 생약심사부 세포유전자치료제과로 문의하시기 바랍니다.

- 전화 : 043-719-3542
- 팩스 : 043-719-3530



【공직자 부조리 및 공익신고안내】

** 신고자 및 신고내용은 보호됩니다.

▶ 부조리 신고 : 식약처 홈페이지 "국민신문고 > 공직자 부조리 신고" 코너

▶ 공익 신고 : 식약처 홈페이지 "국민소통 > 신고센터 > 부패.공익신고 상담" 코너

목 차

1. 서론	1
2. 배경	1
3. CAR-T 치료제의 설계와 개발에 대한 일반적 고려사항	3
3.1 CAR 구조체(Construct)	4
3.2 벡터(Vector)	5
3.3 세포 출발물질(Cellular Starting Material)	6
3.4 신선 상태 또는 동결 보관된 완제품	7
4. 품질평가 시 고려사항	8
4.1 벡터 제조 및 시험	10
4.2 세포 출발물질의 수집, 취급 및 시험	11
4.3 CAR-T 치료제 제조 및 시험	13
4.4 CAR-T 치료제의 제조 변경 관리 및 동등성 평가	25
5. 비임상시험 시 권고사항	30
5.1 CAR 구조체에 대한 비임상 평가 시 고려사항	31
5.2 CAR-T 치료제의 세포 성분에 대한 비임상 평가 시 고려사항 ..	33
5.3 CAR-T 치료제의 생체 내(in vivo) 시험	34
5.4 추가적인 변형이 있는 CAR-T 치료제	35

6. 임상시험 시 권고사항	37
6.1 연구 대상 집단	37
6.2 치료 계획	40
6.3 임상 약리학적 고려사항	45
6.4 안전성 평가 및 관찰	48
6.5 CAR-T 치료제의 지속성	52
6.6 동종 CAR-T 치료제	53
참고문헌	54

키메라 항원 수용체(CAR) T 치료제 개발 시 고려사항

1. 서론

키메라 항원 수용체(CAR, Chimeric Antigen Receptor) T 치료제(이하, CAR-T 치료제)는 종양 등의 치료 목적으로 T 세포가 특정 항원을 인식할 수 있도록 T 세포 특이성을 유전적으로 변형시켜 만든 *ex vivo* 유전자치료제이다. 본 안내서는 CAR-T 치료제 개발 시 품질평가 및 품질관리·약리·독성·임상시험(항암제 위주) 관련 일반적인 권고사항을 제시하고 있으며 동종 CAR-T 치료제에 대한 특이적 고려사항 및 비교동등성 시험에 대한 권고사항도 일부 포함하고 있다. 본 안내서에 제시된 권고사항은 주로 CAR-T 치료제에 적용되나 일부 사항은 CAR-NK(Natural Killer) 세포, TCR(T Cell Receptor) 변형 T 세포 등 다른 유전자 변형 림프구 제품 개발 시 참고할 수 있다. 또한, 본 안내서에 기술되지 않은 개별 제품 관련 특이사항(예: 제조 공정별 고려사항)이나 항암제 이외의 다른 질환 치료제 개발 등은 식약처와 사전에 논의하여 진행할 것을 권고한다.

2. 배경

CAR-T 치료제는 「첨단재생의료 및 첨단바이오의약품 안전 및 지원에 관한 법률」에서 정의하고 있는 첨단바이오의약품 중 유전자치료제에 해당한다. CAR 형질도입 유전자(transgene) 및 전달 벡터를 잘 설계하고, 제품 특성을 고려하여 적절한 시험을 수행하는 것은 제품의 안전성, 특이성 및 기능 평가에 매우 중요하다. CAR-T 치료제는 다양한 생물학적 원료물질을 이용하여 여러 단계의 복잡한 제조 공정을 거쳐 제조되는데,

이는 제품 로트 간의 잠재적인 변동성 요인이 된다. 따라서 CAR-T 치료제의 안전성, 품질 및 로트 간 일관성을 확보하기 위해서는 원료물질부터 제조 과정, 제품 출하 전에 적절한 시험을 수행하여 제조 공정을 철저히 관리하는 것이 매우 중요하다. 또한, CAR-T 치료제와 같이 새로운 개념의 제품들은 개발 과정 중에 제조 공정을 변경하는 사례가 많은데, 해당 변경 사항이 제품의 품질과 안전성, 유효성에 어떤 영향을 주는지 면밀히 파악하는 것이 필요하다. 따라서, 제조 공정 변경에 따른 품질 및 안전성·유효성에 미치는 영향을 확인하기 위해 제조과정 및 로트 출하 시 품질평가, 비교 동등성, 안전성 연구 등을 수행시 잘 규명된 중요품질특성(CQA, Critical Quality Attribute)를 근거로 평가 요소를 선별하는 것이 중요하다. 이를 위해 제품 개발 시 포괄적인 제품 특성 평가 연구를 수행하는 것이 권고된다. 제조된 배치(batch)가 일관되게 CQA를 충족하는지 확인하기 위해 공정 적격성 평가를 통해 중요공정변수(CPP, Critical Process Parameters)를 설정할 수 있다.

첨단바이오횜약품의 제조 및 품질관리에 관한 일반적 고려사항은 「유전자치료제 품질평가 가이드라인」, 「임상시험용 세포유전자치료제 품질평가 가이드라인」 및 「세포치료제 품질관리 시험항목 설정 가이드라인」을 참고한다.

CAR-T 치료제에 대한 임상시험 수행 시 해당 제품의 투여가 안전함을 뒷받침할 수 있는 비임상 평가가 필요하다(「의약품 임상시험 계획 승인에 관한 규정」 제5조(제출자료의 요건) 제4항제4호 참고).

비임상시험 설계 시 제품 유형의 생물학적 복잡성과 가변성, 안전성 및 적절한 동물 모델 제한점 등 다양한 요소에 대한 신중한 고려가 필요하다.

또한, 수행하고자 하는 임상시험에서 CAR-T 치료제 사용의 적절성을 뒷받침할 수 있도록 이용 가능한 비임상 및 임상 자료와 함께 시험관 내(*in vitro*) 및 생체 내(*in vivo*) 시험, 가상 시험결과(*in silico*) 확보 등을 활용하여 사례별로 비임상시험 수행 전략을 마련할 필요가 있다.

초기 단계 임상시험은 제품의 안전성, 위해성 완화 조치의 적절성, 용량-반응 관계, 질환별 최적 용량 차이, 유효성 및 제조 공정의 타당성 등에 대한 예비 증거를 확보할 수 있도록 잘 설계하는 것이 중요하다.

자가 CAR-T 치료제의 경우, 초기 단계 연구는 제품을 제조하기 위해 소요되는 시간과 시험 대상자가 CAR-T 치료제 투여를 기다리는 동안 질병의 진행을 통제하기 위한 가교 치료(bridging therapy)의 적용 여부와 관련된 정보를 제공할 수 있다.

동종 CAR-T 치료제의 경우, 초기 단계 연구는 이식편대숙주질환 (GVHD, graft versus host disease)의 위험과 관련된 정보를 제공할 수 있다.

이러한 초기 단계 연구에서 얻은 정보는 후기 단계 임상시험에서 CAR-T 치료제의 개발을 뒷받침하고 임상 개발을 촉진할 수 있다.

3. CAR-T 치료제의 설계와 개발에 대한 일반적 고려사항

CAR-T 치료제는 여러 기능적 요소들이 통합된 복합 제품이다. 이러한 기능적 요소들의 특성, 기능적 요소가 세포에 형질도입된 방식(예 : 벡터 유형), 세포 출발물질 및 최종 의약품 제형은 제품의 안전성, 특이성 및 효능에 영향을 미친다. 본 안내서는 CAR-T 치료제 설계 및 개발 시 주요 고려사항에 대해 제시하고자 한다.

3.1. CAR 구조체(Construct)

CAR는 일반적으로 두 가지 유형의 도메인으로 구성되는데 하나는 항원 인식 다른 하나는 신호전달을 담당한다. 항원 인식 도메인은 CAR-T 치료제가 하나 이상의 표적 항원에 결합하게 할 수 있다. 이런 경우에는 각 항원 인식 도메인의 표적 항원에 대한 특이적 결합능을 평가하는 것이 권고된다. 대다수의 항원 인식 도메인은 설치류 기원의 단클론항체에서 유래되어 인간에서 면역원성을 나타낼 수 있고, 이는 CAR-T 치료제에 대한 거부반응 또는 기타 안전성 위험(예 : 아나필락시스)을 초래할 수 있다. 인체에서의 면역원성을 줄이려는 접근 방식(예 : 상보성 결정부위(CDR, Complementarity-Determining Region) 치환을 통한 인간화)을 사용하는 경우, 임상시험 계획 승인 신청 시 이러한 변경 사항에 대한 상세 설명과 해당 제품의 표적 결합 및 생물학적 활성 등을 평가한 결과를 제출하여야 한다. 단일 의약품에서 여러 종류의 CAR를 발현하는 경우, 가능한 한 재조합 발생 위험이 감소하도록 CAR 구조체를 설계해야 한다.

신호전달 도메인은 T 세포 활성화를 개시한다. 본 안내서 5.1절에 기술한 바와 같이 신호전달 도메인의 기능을 이전 비임상 및 임상 경험에서 얻은 정보를 통해 뒷받침하거나 상세하게 기술할 것을 권고한다. 구조체의 서로 다른 기능적 부위를 구분하는데 사용되는 막횡단 도메인(transmembrane domain), 힌지(hinge) 및 연결 부위(linker regions)의 경우 CAR-T 치료제의 특이성, 지속성 및 활성에 영향을 미칠 수 있으므로 이러한 구조 단위의 역할을 충분히 평가해야 한다.

3.2. 벡터(Vector)

벡터는 유전 물질 전달을 위해 설계된 생물학적 물질로 구성되거나 생물학적 물질로부터 유래된 운반체이다. 이러한 벡터의 예로 유전 물질을 전달하도록 변형된 플라스미드, 바이러스 및 박테리아 등이 있다. CAR-T 치료제에서 벡터는 질병 치료를 위한 약리학적 활성을 제공하는 중요한 구성 요소이다(「유전자치료제 품질평가 가이드라인」 I. 서론, II. 법적 근거, III. 품질평가자료(본문) 참고). 세포의 DNA에 삽입될 수 있는 벡터(예: 레트로바이러스 기반 벡터 또는 트랜스포존)는 삽입되지 않는 벡터에 비해 도입유전자의 장기적인 발현을 유도할 수 있다.

벡터는 CAR 외에도 추가 기능을 발현할 수 있다. 예를 들어, 벡터는 제조 중 세포 하위 집합(subsets)의 선택(selection) 또는 농축(enrichment)을 가능하게 하는 추가 기능을 발현할 수 있다. 이것은 T 세포의 지속성 및/또는 활성을 변화시키거나, 또는 생체 내(*in vivo*)에서 CAR-T 치료제의 선택적 제거(예: 자살 유전자)를 유도할 수 있다.

각각의 추가 기능 요소는 CAR-T 치료제의 안전성과 효과성에 영향을 미칠 수 있다는 점에 유의해야 한다. 따라서, 추가 기능 요소가 포함된 제품 개발시 CAR-T 치료제의 특이성, 기능, 면역원성 또는 안전성에 미치는 영향 등을 평가하여 해당 추가 기능 요소 포함에 대한 과학적 타당성을 입증하여야 한다(본 안내서 5.4절 참고). 제품의 생물학적 기능에 불필요한 형질도입 유전자의 서열은 생체 내에서 면역원성을 나타내거나 제품의 지속성 또는 활성에 예상하지 못한 다른 영향을 미칠 수 있다. 따라서, 벡터에 불필요한 도입유전자(예: 플라스미드 선별용 항생제 내성 유전자 등)를 포함하지 않도록 설계하는 것이 권고된다.

3.3. 세포 출발물질(Cellular Starting Material)

CAR-T 치료제 제조를 위한 세포 출발물질은 일반적으로 환자 본인(자가 유래 제품) 또는 건강한 기증자(동종 유래 제품)로부터 백혈구성분채집술(leukapheresis)을 통해 수집된다. 자가 또는 동종 유래 여부에 따라 안전성 및 규제 관련 고려사항이 다를 수 있다.

이전에 CAR-T 치료제를 투여받던 이력이 있는 환자 대상 CAR-T 치료제 개발시 별도의 고려사항이 적용될 수 있다. 이전에 투여받은 CAR-T 치료제에 효과가 없거나 질병이 재발하였거나 다른 악성 종양의 치료가 필요한 환자인 경우 다른 CAR-T 치료제 임상시험에 참여하는 것을 고려해 볼 수 있다. CAR-T 치료제를 투여받은 경험이 있는 환자의 세포 출발물질(예: 백혈구성분채집술)을 사용하여 제조된 CAR-T 치료제는 투여 경험이 없는 환자의 세포 출발물질을 사용하여 제조된 CAR-T 치료제와 다를 수 있다. 이전에 CAR-T 치료제를 투여받은 환자의 세포 출발물질은 CAR-T 치료제의 제조(예: 체외증식 또는 형질도입 속도), 역가, 생체 내 증식, 안전성 및 유효성에 예상하지 못한 영향을 미칠 수 있다. 따라서 세포 출발물질에서 이전에 투여된 CAR-T 치료제의 잔류 수준을 평가하는 것이 권고된다. 가능한 경우라면, 이전에 투여된 CAR-T 치료제의 잔류 여부를 평가하기 위해 공통 벡터 또는 CAR의 특성을 검출하는 방법을 사용할 수 있다. 또한, 자가 CAR-T 치료제 임상시험에서 이전에 CAR-T 치료제를 투여받은 환자와 그렇지 않은 환자를 모두 포함시켜 등록하는 경우, CAR-T 투여 경험 유무에 따른 잠재적 차이를 평가할 수 있도록 임상시험 설계 및 분석방법을 마련해야 한다. 제품별 구체적 특성 평가 방법이나 임상시험 설계 등에 관한 고려사항은 임상시험 계획 승인 신청 전 식약처와 사전에 논의할

것을 권장한다.

3.4. 신선 상태 또는 동결 보관된 완제품

CAR-T 치료제는 신선한 상태로 투여가 가능하게 제형화하거나 나중에 투여하도록 동결하여 보관할 수 있다. 이 때 제형의 선택은 제품 개발 전략과 현장에서의 제약 사항에 따라 달라질 수 있다.

CAR-T 치료제 중 신선한 상태로 제형화된 제품은 품질이 비교적 빠르게 저하되어 유효기간이 짧은 경우가 많다. 안정성 연구를 통해 최종 제형화에서 실제 투여 시점까지의 최대 유효기한을 정의하고 이에 대한 근거를 확보할 것을 권고하며 투여 전 준비 과정도 고려되어야 한다. 또한, 해당 제품의 특성상 출하시험을 수행할 시간이 충분하지 않을 수 있다. 따라서 품질 관리를 위해 잘 설계된 실행계획을 설계하고 적용하는 것이 중요하며, 여기에는 구체적으로 로트 출하 시 검체 채취 및 시험수행 시점, 품질관리(QC, Quality Control)시험 결과 보고 및 품질 보증(QA, Quality Assurance) 검토, 제품 운송 일정 관리 및 임상시험 실시기관에서의 제품 수령 및 취급 방안 수립 등의 내용이 포함된다.

반면에, 동결 보관된 제품은 출하시험을 완료하는 데에 충분한 시간이 확보되어 환자의 투여 일정에 맞춰 시험 일정을 조율할 수 있다. 동결 보관된 CAR-T 치료제의 경우 동결보호제 투여와 관련된 위해성을 평가해야 하며 제품의 품질 유지를 위해 임상시험 실시기관에서 제품 해동 과정을 잘 관리하는 것이 중요하다.

또한, 제형에 관계없이 CAR-T 치료제를 임상시험 실시기관으로 운송 시 제품의 품질을 보장할 수 있도록 적절한 절차를 마련하고, 이를 임상시험 계획 승인 신청 시 제출자료에 기술하여야 한다. 운송,

반입, 보관, 투여 준비 과정에서 CAR-T 치료제의 품질을 확보하기 위한 절차는 품목허가 신청 전에 검증되어야 한다.

4. 품질평가 시 고려사항

본 절에서는 CAR-T 치료제의 품질평가 시 고려사항을 주로 제시하였으며 여기에 언급하지 않은 사항은 세포치료제 및 유전자치료제에 대한 품질관리 관련 가이드라인을 함께 참고하도록 한다.

「첨단바이오횰약품의 품목허가·심사 규정」 제6조(국제공통기술문서의 작성)에 제시한 바와 같이, CAR-T 세포에 대한 품질평가 자료는 각각 별도의 원료의약품(DS, Drug Substance) 절과 완제의약품(DP, Drug Product) 절로 구분하여 구성하고, 벡터의 품질평가 자료는 완전한 DS 절로 작성하여 제출할 것을 권고한다. DS와 DP 사이에 명확한 구분이 없는 연속 공정을 사용하여 제조하는 경우, CTD(Common Technical Document, 국제공통기술문서) 제출 양식 제2부(module 2)의 요약 정보에 DS/DP 구분에 대한 적절한 설명을 기술하는 것이 권고된다. CTD DS 절은 「첨단바이오횰약품의 품목허가·심사 규정」 [별표 1] 의약품 국제공통기술문서 작성방법의 제3부(module 3) 품질평가 자료에서 권고하는 형식 및 번호 지정 체계를 따라야 한다. 각각의 DS절을 명확히 구분하기 위해 해당 절의 제목에 DS 이름과 제조원 명칭을 기재하도록 한다(예 : 3.2.S.1절 일반 정보[명칭, 제조원]).

개발 단계 전반에서 품질평가 시 가장 중요한 사항은 제품의 안전성과 제조 공정 관리에 대한 내용이다. 제품개발 과정에서 단계별로 수집된 정보를 기반으로 전주기 접근 방식을 이용하여 CAR-T 치료제를 개발하는 것이 권고된다. 임상시험 계획 승인 신청 시 제출하는 품질평가 자료의

양은 수행하고자 하는 임상시험 단계와 범위에 따라 다를 수 있다(「의약품 임상시험 계획 승인에 관한 규정」 제2조의2(기본 원칙) 참고). 그러므로 임상시험 계획 승인 신청 시 제출되는 자료(CTD 또는 IMPD(Investigational Medicinal Product Dossier))는 관련 규정에서 정하고 있는 요건 중 일부 자료를 구비하지 않을 수도 있다. CAR-T 치료제 및 벡터는 개발 단계에 적합한 제조 및 품질관리기준(GMP, Good Manufacturing Practice)을 준수하여 제조해야 한다(「첨단재생의료 및 첨단바이오의약품 안전 및 지원에 관한 법률」 제23조제2항 참고). 제품 개발과 임상시험을 나란히 진행하는 경우, 특히 임상시험이 신속 개발 프로그램에 따라 빠르게 진행될 경우 추가적인 품질평가 자료가 필요할 수 있다. 예를 들어, 품질평가 시험은 초기 단계 임상시험을 지원하는 목적에 적합해야 하며, 품목허가 관련 핵심 임상시험을 시작하기 전에 적격성이 평가되어야 한다.

개발 초기 단계에 있는 CAR-T 치료제에 대한 정해진 규격은 대부분 없으며 일부 시험은 아직 개발 중일 가능성도 있다(「의약품 임상시험 계획 승인에 관한 규정」 제2조의2(기본 원칙) 참고). 초기 연구 동안 수집된 세포 특성분석 데이터는 제품 및 공정 일관성을 보장하기 위한 출하기준으로 이후 개발 단계에 적용되게 된다. 따라서 특성평가 연구는 제품 개발 및 동등성 평가를 뒷받침하기 위해 매우 중요하다. 임상시험의 주요 목적이 제품 유효성에 대한 유의미한 데이터 수집인 경우, 임상시험 목적에 맞게 허용 기준을 개선하여 배치(batches)를 잘 정의하고 일관되게 제조할 것을 권고한다. 품목허가 신청 시 임상시험에서 안전성·유효성을 확인한 제품의 배치 정보를 기반으로 상업용 제품 배치의 출하기준을 설정하여 제출하여야 한다.

4.1. 벡터 제조 및 시험

벡터 제조 및 시험 관련 일반적 권고사항은 「유전자치료제 품질평가 가이드라인」에 제시되어 있다. 벡터의 안전성과 품질은 임상시험 시작 전에 충분히 특성평가가 이루어져야 한다. 후기 단계 임상시험과 품목허가 준비 단계에서는 GMP 기준(「첨단재생의료 및 첨단바이오의약품 안전 및 지원에 관한 법률」 제23조제2항, 「의약품 제조 및 품질관리에 관한 규정」참고)에 따라 벡터를 제조해야 하며, 시험방법은 밸리데이션되어야 한다(「의약품 제조 및 품질관리에 관한 규정」, 「첨단바이오의약품의 품목허가·심사 규정」 제13조 참고).

벡터의 품질은 CAR-T 치료제의 품질과 일관성에 직접적으로 연관된다. 따라서, 해당 제품의 벡터 구조, 마스터 세포은행(MCB, Master Cell Bank) 및 제조용 세포은행(WCB, Working Cell Bank)의 특성평가 및 시험, 표준품(표준물질)의 특성평가, 벡터 제조 및 품질평가 시험에 대해 잘 설명하는 것이 권고된다. 또한, 「유전자치료제 품질평가 가이드라인」 3.2.4 안정성을 참고하여 공정중 보관에 대하여 근거를 확보하고 제조가 완료된 벡터의 보관을 뒷받침하기 위하여 벡터 안정성 시험을 실시한다. 벡터 로트 출하시험에는 안전성, 확인시험, 순도 및 생물학적 활성 평가를 포함해야 한다(본 안내서 6.3절 약력학 참고). 형질전환 유전자의 생물학적 활성 평가를 위한 분석 방법은 CAR-T 치료제 역가시험과 연계하여 개발할 수 있다. 초기단계 임상시험에서는 형질전환 유전자 발현만으로도 충분히 뒷받침될 수 있으나, 품목허가 관련 핵심 임상시험 수행 시 생물학적

활성 평가가 추가로 요구될 가능성이 높다.

추가적으로, 벡터 로트 출하시험에 CAR-T 치료제 제조 중 형질도입에 사용되는 벡터의 양을 정하기 위한 벡터의 강도(vector strength, 감염된 세포에서 목적 단백질을 발현시키는 정도)를 확인하는 것을 권고한다. 예를 들어, 적합한 세포주 또는 건강한 기증자 세포에서 형질도입하기 위한 바이러스 벡터의 역가를 밀리리터(mL) 당 트랜스듀싱 유닛(TU, Transducing Units)으로 측정하는 것이 권고된다. 이를 통해 CAR-T 치료제 DP에서 목표하는 CAR 양성 세포 백분율을 달성하기 위한 세포당 첨가되는 벡터의 양을 결정할 수 있다.

벡터 안전성 시험에는 CAR-T 치료제 DP의 오염 여부를 확인하기 위한 무균, 마이코플라즈마, 엔도독신 및 외래성 인자 시험과 같은 미생물학적 시험을 포함해야 한다. 사용되는 형질전환 유전자 벡터의 유형에 따라 추가 검사가 필요할 수 있다. 예를 들어, 레트로바이러스 기반 벡터 관련 안전성 문제에 대해 추가 시험이 요구된다(「유전자치료제 품질평가 가이드라인」 3.1.1.4 원료의약품 관리, 3.1.2.5 완제의약품 관리 및 「복제가능 레트로바이러스 평가 가이드라인」 참고). 일반적으로 벡터가 삽입되는 경향에 따라 추가적인 고려사항이 요구될 수 있다.

4.2. 세포 출발물질의 수집, 취급 및 시험

본 절에서는 백혈구성분채집술을 통해 수집된 출발물질(이하 ‘백혈구성분채집술 출발물질’이라고 함)을 예로 들어 세포 출발물질에 대한 고려사항을 제시하고자 한다. 해당 내용은 다른 유형의 세포 출발물질에도 적용될 수 있다. 동종 세포나 조직 유래 세포은행에 대한 시험 권고사항은 「첨단바이오의약품 안전 및 지원에

관한 규칙」 제31조(인체세포등 관리업자의 준수사항), 「인체세포등 및 첨단바이오의약품의 허가 및 안전 등에 관한 규정」[별표 3], 「세포치료제 세포은행 평가 가이드라인」을 참고한다.

백혈구성분채집술 출발물질의 수집은 「첨단바이오의약품 안전 및 지원에 관한 규칙」 제31조(인체세포등 관리업자의 준수사항), 「인체세포등 및 첨단바이오의약품의 허가 및 안전 등에 관한 규정」[별표 3]의 규정에 따라 수행되어야 한다. 자가유래 백혈구성분채집술 출발물질은 기증자 적합성 평가를 수행해야 하나, 평가항목에 대한 시험결과가 모두 적합이어야 하는 것은 아니다. 반면에 동종유래 백혈구성분채집술 출발물질은 관련 전염성 병원체 및 질병에 대한 스크리닝 및 검사를 포함한 기증자 적합성 확인이 필요하다. 1:1 공여자로 제조하는 백혈구성분채집술 출발물질도 동종 유래와 마찬가지로 기증자 적합성을 확인하여야 하나, 세포은행을 구축할 필요는 없다. 임상시험 계획 승인 신청 시 백혈구성분채집술 출발물질의 수집부터 제조공정 시작시까지 출발물질 취급 절차를 「첨단바이오의약품 안전 및 지원에 관한 규칙」 제31조(인체세포등 관리업자의 준수사항)에 따라 설명하는 것이 권고된다. 이러한 설명에는 세척 단계 또는 동결 보존 절차를 포함해야 한다. 모든 백혈구성분채집술을 수행하는 현장에서 출발물질의 품질 확인 시 세포의 취급과 제조소로의 운송에 관한 사항을 포함한 관리 절차를 마련하고 이를 적절히 시행하는 것이 권고된다. 제조 현장으로 운송하는 동안 백혈구성분채집술 출발물질을 적절하게 관리할 수 있는 적합한 절차(예: 온도 관리)를 마련하고, 운송 용기 및 온도 모니터링에 관한 정보도 제공해야 한다. 만약 품목허가를 득하고자 할 경우 의도된 조건에서의 백혈구성분채집술 출발물질 안정성 평가를 포함하여, 운송이나 모든 일시적 유지보관 조건,

또는 동결보존 단계에 대한 검증이 포함되어야 한다. 백혈구성분채집술 출발물질이 제조시설에 도착한 이후 제조 공정은 개발 단계에 적합한 GMP를 준수해야 한다.

환자 또는 기증자별 특성이 다양함을 고려 시 백혈구성분채집술 출발물질은 로트별 CAR-T 치료제의 품질 및 효능 차이를 유발할 수 있는 주요 원인이 될 수 있다. 이에 대한 관리방안으로 백혈구성분채집술 출발물질에 대한 허용 기준을 설명함으로써 제품의 품질 및 효능의 일관성을 높일 수 있다. 예를 들어 허용 기준으로 최소 세포수, 세포생존율 및 CD3+ 세포 백분율 등을 설정할 수 있다. 백혈구성분채집술 출발물질의 특성이 T 세포의 선택, 증식 및 최종 CAR-T 치료제 품질에 영향을 미칠 수 있음을 감안 시 개발 초기 출발물질에 대한 특성 평가(예 : CD4+ 및 CD8+ T 세포, NK 세포, 단핵구, B 세포의 백분율 및 절대 수) 연구는 CAR-T 치료제 제조 공정 개발에 유용한 정보를 제공할 수 있다.

출발물질 수집부터 CAR-T 치료제 투여에 이르기까지 CoI(Chain of Identity), 표시기재(라벨링) 및 물질의 추적에 대한 정보를 유지하는 것이 필요하다.

4.3. CAR-T 치료제 제조 및 시험

CAR-T 치료제 제조 시 목표로 하는 제품 프로파일(profile)을 달성하기 위해 복잡한 공정을 거치게 된다. CAR-T 치료제를 포함하여 체외 변형 세포(ex vivo modified cells) 제조에 대한 권고사항은 「유전자치료제 품질평가 가이드라인」을 참고한다. 개발 초기 제품 특성 평가(3.1.1.3 특성분석, 3.2.2 특성분석) 및 순도 특성

평가(3.1.1.4 원료의약품 관리, 3.1.2.5 완제의약품 관리), 제조 공정 개발(3.1.1.2.5 제조 공정 개발, 3.2.1.4 제조 공정 개발)에 대한 적용 가능한 정보를 얻기 위해 「유전자치료제 품질평가 가이드라인」의 권고사항에 따라 CAR-T 치료제의 품질평가를 수행할 것을 권고한다. 해당 지침에는 CAR-T 치료제 제조 및 시험에 대한 특정 권고사항과 추가적인 세부 정보가 제시되어 있다.

4.3.1. CAR-T 치료제 제조 공정 관리

기증자간 세포 출발물질의 내재된 가변성 뿐만 아니라 여러 단계의 제조 공정도 제품 가변성의 원인이 될 수 있다. CAR-T 치료제 로트 간의 가변성을 최소화하고 제품이 일관성 있게 생산될 수 있도록 제조 공정을 적절히 관리하는 것이 권고된다. 이것은 고품질 원료물질을 사용하고, 중요공정변수(CPP) 공정 관리 및 시험, CQA를 위한 중간체 및 완제품 시험 등을 제품 개발 단계에 맞게 적절히 실시할 경우 달성될 수 있다.

CAR-T 치료제 제조시 종종 선별(selection)용 시약, 활성화용 시약, 항체, 사이토카인, 혈청 및 성장인자, 배양보조세포(feeder cells)를 비롯하여 다양하고 특수한 원료물질을 사용한다. 배양보조세포의 경우, 품목허가사항 및 임상시험계획 승인사항에 해당되는 원료약품은 아니나 사용 목적에 맞게 적절한 시험항목을 설정할 필요가 있으며, 동물 유래 성분임을 감안하여 종특이적 바이러스 평가를 수행해야 한다. 또한, 적절한 시험법을 통해 완제의약품에 배양보조세포가 잔존하지 않음을 검증하여야 하며, 이에 대한 위험 평가도 필요하다. 이러한 원료물질의 안전성과 품질은 원료물질의 출처 또는 공급업체와 같은

요인에 따라 크게 달라질 수 있다. 따라서 잠재적인 바이러스 및/또는 전염성 해면상뇌증(TSE, Transmissible Spongiform Encephalopathy) 인자 오염에 대한 우려가 있는 지역에서 생산된 인간 또는 동물 유래 성분을 사용하지 않도록 하고, 외래 인자에 대해 적절한 시험을 실시하는 것이 권고된다. 시약의 로트간 변동성과 안정성도 CAR-T 치료제의 품질과 안전성에 영향을 줄 수 있는 잠재적 요인이 될 수 있다. 제조자는 검역, 시험성적서(COA, Certificate of Analysis) 및 원산지 증명서 (COO, Certificate of Origin) 평가, 육안 검사 및 시험 결과를 포함하여 원료물질 공급업체의 적격성을 판단할 수 있는 프로그램과 반입하는 원자재의 적격성 평가 프로그램을 구축하여 원료 및 완제의약품 제조 시 품질, 안전성 및 확인 측면에서 적합한 원료물질을 사용할 것을 권고한다.

제품의 안전성을 보장하기 위해서는 최종 DP에 살아있는 오염 미생물이 없어야 하나, 동시에 제품에 함유된 세포가 완전히 생존하고 활성을 나타내야 하므로 최종 DP 제조 시 무균 여과나 멸균 공정을 수행할 수 없다. 따라서 제조 및 품질관리 기준(GMP) 조건하에서 적격성이 평가된 무균 공정을 사용하여 제조해야 한다.

제품의 안전성은 「대한민국약전」(KP) 등 식약처장이 인정하는 공정서 시험법 또는 적절하게 검증된 시험법을 사용하여 평가해야 한다.

임상시험 계획 승인 신청 시 제출하는 자료에는 개발 또는 엔지니어링 배치 제조를 통해 제안된 제조 공정에 따라 CAR-T 치료제가 제조될 수 있는 능력에 대한 정보를 포함해야 한다. 공정 개발을 지원하기 위해 공정 개발 시 신청 품목과 동일 제조시설에서 제조되며, 관련성이 높은 다른 CAR-T 치료제(예: CAR 구조는 다르나 동일 제조 공정으로

제조되는 경우 등)의 제조 공정을 참고할 수 있다. 일반적으로 건강한 기증자로부터 수집된 출발물질은 제조공정 개발 배치로 적합하다. 그러나 환자 유래 출발물질은 CAR-T 치료제 제조에 영향을 미칠 수 있는 환자의 질병 상태, 이전의 치료 내역 또는 기타 고유한 특성 등에 대한 고려가 요구된다. 따라서, 환자 유래 출발물질을 사용하여 제조한 자가 CAR-T 치료제인 경우 앞서 언급한 요소들을 고려하여 제조공정을 추가 개발하는 것이 필요할 수 있다.

백혈구성분채집술 출발물질 수집 후 CAR-T 치료제 제조 시 반드시 허가된 의료기기 사용이 필요한 것은 아니나, 제조 공정 중 각 장비의 작동 매개변수를 검증해야 한다.

원료물질, 벡터, 제조 장비, 제조 공정 또는 제조 시설을 설명하는 정보가 이미 식약처에 제출된 경우(예: 다른 임상시험 계획 승인 신청 시 기재출 등), 의뢰자는 식약처가 이에 대한 이전 제출 또는 기타 정보를 참고하도록 하여서를 제출할 수 있다. 품목허가 신청자료에는 모든 DS, DS 중간체 및 DP 정보를 포함해야 한다. 품목허가 신청시 제출되어야 하는 자료에 대해 구체적 논의가 필요한 경우 사전상담 또는 사전검토를 통하여 식약처와 긴밀히 협의하도록 한다.

제품 개발 전반에 걸쳐 얻은 정보를 통해 중요공정변수(CPP)를 식별하고 공정 중 관리 사항을 선별하는 것이 중요하다. 이에 대한 구체적 예시는 다음과 같다.

- 활성화 단계에서 사용되는 고정 비드 : 세포의 비율
- 유전자 전달 단계에서의 세포 당 일정한 양의 벡터(예, 바이러스 벡터에 대한 고정된 감염 다중도(Multiplicity of infection, MOI) 및 고정된 지속 시간 사용

- 고정된 전기천공요법 설정 사용

- 배양 중 세포 증식 모니터링 및 배지 추가를 통한 최적 세포밀도 유지

특정 제조 단계에서 적절한 공정중 시험을 수행하는 것은 해당 공정을 적절히 관리하고 유지하는데 매우 중요하다. CAR-T 치료제에 대한 공정 중 시험에서는 세포와 관련된 다양한 매개변수(예: 생존력, 세포수, 세포 표현형, CAR 발현)가 평가된다. 이러한 공정 중 시험의 결과는 배양용 배지를 교체하거나 CAR-T 치료제 회수와 같은 제조 과정 중의 주요 단계를 결정할 때 참고할 수 있다.

「유전자치료제 품질평가 가이드라인」 3.2.4 안정성에 기술된 내용에 따라 CAR-T 치료제에 대한 안정성 연구를 수행하여 세포의 유지 및 보관시간 설정의 과학적 근거를 확보하는 것이 권고된다.

사용 중 안정성 시험은 최종 제형화와 신선 제품의 투여 사이 또는 동결된 제품의 해동과 투여 사이의 보관 시간 설정에 대한 과학적 근거를 확보하기 위해 수행한다. 제품 개발 초기 건강한 기증자 유래 출발물질로 제조한 제품으로 수행한 안정성 시험결과를 활용할 수 있으나, 품목허가 신청시 환자 유래 출발물질로 제조한 제품으로 수행한 안정성 시험결과를 근거로 제품의 사용(유효)기간을 정하는 것이 필요하다.

4.3.2. CAR-T 치료제 품질 평가

CAR-T 치료제의 분석 시험은 해당 제품의 안전성, 확인시험, 품질, 순도 및 역가를 보장하는데 반드시 필요하다(「첨단바이오의약품의 품목허가 심사 규정」 제11조(심사자료의 범위) 및 제15조(유전자치료제의 품질평가 자료 요건 참고). DS 및 DP의 분석 시험에 대한 일반적인

권고사항은 「첨단바이오의약품의 품목허가 심사 규정」 제11조(심사자료의 범위) 및 제15조(유전자치료제의 품질평가 자료 요건)에 제시되어 있으며, 제한된 사용(유효)기간으로 인하여 공정서 시험법을 적용하기 어려운 경우, 적절하게 검증된 대체시험법을 적용하는 것도 가능하다.

하나의 제품 배치로 여러 환자를 치료할 수 있도록 고안된 동종이식 CAR-T 치료제의 경우, 본 절에 설명된 내용 이외에 추가 시험이 필요할 수 있다. 예를 들어, 추가적인 외래성 인자 시험, 잠재적으로 동종 이식 반응성을 나타낼 수 있는 림프구 수에 대한 엄격한 허용 기준, 비정상적인 증식 부정이 배치 출하시험에 포함되어야 한다. 유전자 편집 기술을 이용한 CAR-T 치료제의 분석 시험에 대한 추가 권고사항은 「유전자편집기술을 이용한 첨단바이오의약품 품질평가 가이드라인」을 참고한다.

CAR-T 치료제 분석 시험 시 복잡한 분석법과 제품별 생물학적 분석법 적용이 요구될 수 있다. 따라서, CAR-T 치료제 개발 초기 단계부터 분석법을 개발하고 다양한 분석법을 활용하여 제품의 특성을 적절히 평가하는 것이 중요하다. 분석 성능에 대해서는 일반적으로 받아들여지는 과학적으로 타당한 원칙을 적용해야 한다. 이를 위해 구체적이고 민감도 및 안정성이 확보된 적절한 대조군 또는 표준품을 사용하여 분석 시험을 수행하는 것이 적절하다. 가능하다면 공정서 시험법을 적용하는 것이 타당하며, 안전성 관련 시험들은 임상시험을 시작하기 전에 적격성을 평가해야 한다. 일반적으로 1상 임상시험 단계에서는 시험법 밸리데이션 자료가 요구되지 않으나, 해당 분석 방법이 적절한 관리되고 있음을 입증할 수 있는 정보 제공은 필요하다. 품목허가 관련 핵심 임상시험 수행전 출하시험이나 안정성 시험에 적용할 시험방법에 대해 적격성 평가

및 적절한 밸리데이션을 수행해야 한다(「의약품 제조 및 품질관리에 관한 규정」, 「첨단바이오의약품의 품목허가·심사 규정」 제13조 참고).

또한, 시험법 변경 시 위해 평가를 수행하여 해당 변경사항이 CAR-T 치료제에 어떤 영향을 미치는지 판단하는 것이 권고된다. 시험법에 주요한 변경 발생시 변경된 시험법이 분석 성능에 미치는 영향이 허용 가능한 수준임을 보장할 수 있도록 재적격성 평가를 수행하는 것이 권고된다. 만일, 동일한 방식으로 동일한 속성을 측정하는 새로운 시험법으로 대체되는 경우(예: 다른 ELISA 키트 공급업체로 변경) 새로 도입된 분석방법의 적격성을 평가해야 하며, 이것이 이전의 시험법과 동일한 결과를 산출할 수 있다는 것을 입증하는 연구의 수행이 요구될 수 있다. 이 경우 동일한 시험 검액을 사용하여 기존 시험법과 새로운 시험법으로 병행 시험을 수행하는 것이 권고된다. 근본적으로 다른 방식으로 속성을 측정하는 새로운 분석 방법으로 시험법이 변경되는 경우(예: 역가 분석이 세포 사멸 분석에서 사이토카인 방출 분석으로 변경되는 경우) 새로운 분석 방법에 대한 적격성 평가가 이루어져야 하며, 분석 허용 기준이나 안정성 등 다른 요소에 미치는 영향이 있는지 여부를 확인할 수 있는 자료를 제시해야 한다.

4.3.2.1. 유세포 분석(Flow Cytometry)

유세포 분석을 통해 제조 공정 전반에 걸쳐 다양한 CAR-T 세포의 속성(예: 세포생존율, 확인시험, 순도, 역가)을 평가할 수 있다.

- i. 1상 등 초기 임상시험 승인신청시 다음 사항에 대한 자료를 제출하는 것이 권고된다.

- 유세포 분석 항체 패널(panel) 및 감지된 각 세포 집단을 정의하는데 사용되는 게이팅(gating) 전략과 분석과 유세포 분석 패널에서 살아있는 세포와 죽은 세포를 표지하는 방법에 대해 기술한 자료. 최종 제품에서의 세포 구성과 관련된 정보를 수집하는 것이 권고되는데, 여기에는 효과를 나타내지 않을 것으로 사료되는 물질(예 : 해당되는 경우 잔류 종양 세포)도 포함된다.
- 결과의 정확성을 보장하기 위한 기기 교정 및 QC 활동(예 : 사용된 비드와 교정 실행의 빈도)에 대해 요약한 자료
- 시험 대조군 목록. 대조군에는 보정값 계산을 위한 단일염색 보정 대조군, 소수 집단에 대한 형광 확산 및 게이팅 경계를 결정하기 위한 FMO(Fluorescence Minus One) 대조군* 그리고 비특이적 결합을 식별하기 위한 이소타입(Isotype) 대조군을 포함할 수 있다. 분석방법 개발 전반에 걸쳐 각 대조군에 대한 시스템 적합성 기준이 확립되어야 한다.

* FMO(Fluorescence Minus One) 대조군: 여러 가지 형광 표지 항체를 사용하여 세포를 염색할 때 한 개의 형광 염색만을 제거한 검체(FMO 검체). 해당 형광이 없는 상태에서 다른 형광 신호들을 평가하여 각 형광 신호 간의 간섭을 보정하기 위한 기준을 제공한다.

- ii. 시험법 개발시 적절한 검체 염색, 수집 및 데이터 분석에 대한 문서화된 절차를 마련하고 이에 따라 수행할 것을 권고한다.
- iii. 최적의 항체 희석률을 결정하기 위한 항체 역가시험(titration) 수행을 권고한다.
- iv. CAR 양성세포의 백분율을 결정하기 위해 CAR를 직접 검출하기를 권고한다. 만일 CAR를 대리 단백질 발현(예 : 동시 발현 유전자 검출) 또는 기타 광범위한 특이성 시약(예 : 단백질 L)에 의해 간접적으로 검출하는 경우, 검출 양상과 CAR 발현과의 상관관계를 평가해야

한다. 대리지표 사용에 대한 타당성 검증 시 대리지표의 민감도와 특이성에 대한 평가를 포함해야 한다.

- v. 품목허가 신청 시 로트 출하를 위한 유세포 분석 시험에 대한 종합적인 밸리데이션 연구가 반드시 수행되어야 한다 (「첨단바이오의약품의 품목허가·심사 규정」 제13조 참고). 이러한 밸리데이션 연구는 의약품 국제조화회의(ICH, International Conference on Harmonisation) Q2에 따라 이루어져야 하며, 여기에는 CAR-T 치료제 출하에 사용되는 유세포 분석기의 유세포 분석 패널에 있는 각 형광 표지 마커에 대한 밸리데이션도 포함되어야 한다. 또한 염색 전, 염색 후부터 데이터 수집까지의 검체 최대 보관시간 설정 등 완전성 연구도 포함되어야 한다.

4.3.2.2. 벡터 카피 수(VCN, Vector Copy Number)

벡터의 삽입은 잠재적으로 세포의 유전자 발현을 변형하여 종양의 원인이 될 수 있다. 벡터가 삽입되는 경우, 출하시험에 벡터 카피 수를 포함하여야 한다. 만일 삽입되는 벡터 시스템인 경우, 일반적으로 VCN이라고 하는 CAR 양성 세포당 삽입된 평균 유전자 수를 판정하고 각 로트에 대한 시험성적서(COA)를 통해 이를 보고해야 한다. VCN을 CAR 음성 세포를 포함한 전체 세포에 대한 값으로 판정하면 보고되는 벡터 삽입률의 값이 낮아진다. CAR 양성 세포의 백분율을 사용하여 CAR 발현 세포 당 평균 VCN을 계산할 수 있다. CAR 양성 세포에 대한 VCN은 변형된 세포의 VCN을 더 정확하게 대변할 것이므로 삽입 돌연변이 유발에 대한 제품의 위험성을 더 정확하게 파악할 수 있다. 목표 CAR 양성 세포 수준을 충족하면서도 VCN을 제어할 수 있도록

형질도입 단계의 제조 공정을 최적화하는 것이 권고된다.

VCN 출하 기준은 위해 평가를 기반으로 설정한다. 위해 평가에는 유전자 삽입 부위 분석, 클론 우세성, 용량, 적응증 및 연구 대상 인구 등과 같은 연구의 지원 데이터가 포함될 수 있다. 이러한 지원 실험적 데이터는 개발 및 엔지니어링 배치를 제조하여 얻을 수 있다.

확장 배양 없이 제조된 CAR-T 치료제인 경우에는 로트 출하시험 시 안정적으로 삽입된 VCN을 결정하는 것이 어려울 수 있다(예: 삽입되지 않은 에피솜(episome) 벡터 사본이 계속 존재하는 경우). 일부의 경우는 로트 출하 시의 중간 VCN 평가를 수행한 후, 배양된 CAR-T 치료제에 대한 후속 VCN 평가를 실시하여 안정적으로 통합된 VCN을 결정해야 할 수 있다. 안정적으로 삽입된 VCN(및 적용 가능한 경우 다른 출하시험법)을 분석하기 위한 적절한 확장 배양 기간은 제품별로 다르며, 실험적으로 결정되어야 한다.

4.3.2.3. 확인시험(Identity)

확인시험은 제품 개발의 모든 단계에서 필요하며(「첨단바이오의약품의 품목허가 심사 규정」 제11조(심사자료의 범위) 및 제15조 (유전자치료제의 품질평가 자료 요건) 참고), 매 배치별 최종 충전 용기의 내용물에 대해 반드시 확인시험을 수행하여야 한다. 다만, 완제품에서 확인시험을 수행하기 어려운 타당한 사유(예: 검체 용량이 제한적인 경우)가 제시될 경우, 최종 원액으로 확인시험을 실시하는 것이 가능하다. 확인시험을 통해 해당 제품을 적절하게 확인할 수 있으며, 동일한 시설의 다른 제품과 구별할 수 있어야 한다. 이와 관련하여 「유전자치료제 품질평가 가이드라인 3.2.3 원료 및 완제의약품 관리」를 참고하여 CAR-T 세포에

대한 확인시험에 형질전환 유전자의 존재를 측정할 수 있는 시험법(예 : 유세포 분석에 의한 CAR 발현, PCR에 의한 유전자 검출) 및 완제품의 목표 세포 구성에 특이적인 시험법(예 : T 세포 표면 마커)을 포함시키는 것이 권고된다. 조직적합성 항원형 분석(HLA typing)을 수행할 수 있으나, HLA 타이핑으로는 유전자 변형을 감지할 수 없으므로 충분한 확인시험이 될 수 없다. 또한 HLA 유형 지정은 CoI(Chain of Identity) 유지 요건을 대체할 수 없다(본 안내서 4.2절 참고).

4.3.2.4. 역가(Potency)

CAR-T 치료제 DP에 대한 역가(생물학적 활성 포함)시험은 반드시 수행되어야 한다. 항원 결합 시 CAR-T 세포는 다양한 메커니즘을 통해 표적세포를 공격하고 사멸시킨다. 역가시험으로 직교적(Orthogonal) 방법(예 : 세포 사멸 분석, 형질도입 효율 측정, 사이토카인 분석 등)이 권고될 수 있다. 제품 개발 중 CAR-T 치료제 기능의 특성 평가는 동등성 연구를 지원할 수 있으며 상용 로트 출하에 적용할 가장 적합한 시험을 결정하는 데에 도움이 된다. 따라서, 특정 시험법 하나만으로 단독 역가시험을 설정하기 보다는 직·간접적 역가를 측정할 수 있는 하나 이상의 지표를 설정하여 치료 기전에 대해 종합적으로 검토하는 것이 중요하다.

CAR-T 치료제가 여러 형질전환 유전자 요소를 발현하는 경우, 각 형질전환 유전자는 제품 안전성과 유효성에 기여할 수 있으므로 적절히 관리되어야 한다. 각 형질전환 유전자가 제품의 효과에 기여하는 정도에 따라 각 요소의 의도된 생물학적 활성을 측정하기 위한 역가시험이 필요할 수 있다. 설정한 시험법의 타당성은 특성 분석 연구에 의해

뒷받침될 수 있다. 예를 들어:

- CAR-T 치료제가 여러 항원(예 : CD19 및 CD22)을 표적으로 하는 경우, 각각의 개별 표적 항원과 결합할 때 T 세포 활성화가 제품 기능에 필요하므로 개별 표적 항원에 대한 CAR-T 치료제의 활성을 평가해야 한다.
- CAR-T 치료제에 CAR 활성을 강화하기 위한 사이토카인 형질전환 유전자가 포함된 경우, 표적 항원에 대한 CAR-T 치료제의 활성과 형질전환된 사이토카인의 생성을 평가해야 한다. 이는 CAR-T 치료제가 표적 항원에 특이적으로 결합하여 활성을 나타냄에 있어 사이토카인이 주된 역할을 담당하는 것은 아니기 때문이다.
- CAR-T 치료제에 약물 저항성을 부여하는 형질전환 유전자가 포함되어 있는 경우, 약물 저항성과 CAR-T 치료제 활성을 평가해야 한다. 왜냐하면 둘 다 독립적인 작용기전을 가지고 있기 때문이다.

4.3.3. CAR-T 치료제의 안전성 평가

제품의 안전성을 평가하기 위한 무균, 엔도톡신, 마이코플라스마 시험 등의 안전성 시험은 「대한민국약전」(KP) 등 식약처장이 인정하는 공정서 시험법 또는 적절하게 검증된 대체시험법으로 수행해야 한다(예 : 무균의 공정서 대체 시험의 경우 USP<1223> 참고). 특히, 환자에 투여하기 전까지의 보관 기간이 짧은 경우에는 민감도, 특이성, 재현성 및 공정서에 수록된 시험법과의 동등성 등 시험법 적격성을 확보한 신속시험법(예 : 무균배양기반 신속검출법, 핵산증폭법을 이용한 마이코플라스마 신속검출법 등)으로 대체하여 설정할 수 있다.

일반적으로 CAR-T 치료제의 벡터로 주로 레트로바이러스 기반의 벡터를 사용하고 있기에 제품의 안전성 측면에서 추가로 고려해야 할 사항이 있다. 대부분의 바이러스성 벡터는 복제 결함을 가지도록 설계되었으나, 여전히 매우 낮은 빈도로 재조합되어 사람에게 감염성이 있는 복제 가능 레트로바이러스(RCR / RCL, Replication Competent Retrovirus / Lentivirus)가 생성될 가능성이 존재한다. 일반적인 RCR / RCL 시험에 대한 지침 및 권고사항은 「복제가능 레트로바이러스 평가 가이드라인」에 제시되어 있다. 제조 후 환자에 투여하기까지의 기간이 짧아 배양 기반 복제가능 레트로바이러스 시험법 적용이 어려운 경우, 유전자 도입에 사용한 바이러스 벡터에 특이적인 지표를 이용하여 신속시험법을 적용할 수 있다. 예를 들어, 렌티바이러스 벡터 시스템의 패키징 유전자 중 서열 가변성이 가장 낮은 바이러스 외피 당단백질(VSV-G, Vesicular Stomatitis Virus G-protein)을 표적으로 하여 qPCR 기반 RCL 신속시험법을 개발할 수 있다. qPCR 기반 시험법의 민감도를 최대화하기 위한 전략으로 표준물질로 사용하는 플라스미드 DNA의 선형화(linearization), 고품질의 qPCR 마스터 믹스(master mix) 선정, PCR 프라이머(primer)/가수분해 프로브(probe) 서열의 최적화 등을 고려할 수 있으며 개발한 시험법에 대해서는 검출한계, 특이성, 완전성 등을 충분히 검증해야 한다.

4.4. CAR-T 치료제의 제조 변경 관리 및 동등성 평가

제품 개발 또는 승인 후 CAR-T 치료제의 설계, 제조 공정 또는 제조 시설 등의 변경이 있을 수 있다. 1차 포장 용기, 배양 중 사용된 사이토카인 또는 세포 증식기간 동안 발생할 수 있는 변경을 포함하여

CAR-T 치료제 수명 주기 내 발생한 변경은 제품의 품질, 안전성, 유효성 또는 안정성에 영향을 미칠 수 있다.

일반적으로, CAR 구조나 바이러스 벡터 내 주요 염기서열의 변경, 자가 유래 제품에서 동종 제품으로 변경 등은 기존 제품의 변경이 아닌 새로운 제품 개발에 해당하며 새로운 임상시험 계획 승인 및 품목허가를 신청해야 한다.

앞서 언급한 변경사항들은 위해 기반의 사례별 평가가 요구되는데, 이에 대해 식약처와 사전에 논의할 것을 권고한다. 또한, 변경 계획 시 다음 사항에 대해 고려할 것을 권고한다.

- 벡터 제조 공정에 대한 실질적인 변경(예: 부착 배양에서 부유 배양으로 변경)은 동등성 연구를 통해 그 타당성이 뒷받침되어야 한다. 벡터는 CAR-T 치료제 활성화에 필수적인 역할을 하므로, 이러한 변경이 벡터와 CAR-T 치료제 모두에 미칠 수 있는 영향을 평가해야 한다. 이러한 연구에는 변경 전후 벡터에 대한 병렬식(side-by-side) 분석을 포함해야 한다. 또한 제조공정 변경 전과 후의 벡터로 제조된 CAR-T 치료제는 동일한 세포 출발물질을 사용한 병렬식(side-by-side) 분석을 통해 평가해야 한다(예: 동일한 공여자로부터 수집된 백혈구성분채집술 출발물질을 분할하여 변경 전·후 CAR-T를 제조하여 각각 분석).
- 동등성 평가의 복잡성은 벡터 또는 CAR-T 치료제 제조 공정의 변경 정도에 따라 다를 수 있다. 예를 들어, CAR-T 치료제를 제조하기 위한 배양 배지 부피와 같은 미미한 변화는 일반적으로 세포 생존력 및 증식 데이터를 통해 쉽게 뒷받침될 수 있다. 반대로 배양 배지의 성장 인자나 보충제의 농도 또는 유형을 변경할 경우에는 보다 견고한 동등성 시험을 실시해야 한다.

- CAR-T 치료제 또는 벡터의 제조시설 변경이 있는 경우에는 변경 전, 후의 각 제조 시설에서 생산된 제품 간 비교 동등성을 평가해야 한다.

4.4.1. 변경 관리

변경사항에 관계없이 이를 적용하기 전에 의도하는 변경이 제품의 품질 및 안전에 미치는 잠재적 영향을 평가하기 위해 위해성 평가가 선행되어야 한다. 변경이 미칠 수 있는 영향을 이해하는 것은 변경 전후에 생성된 임상 데이터가 통합될 수 있는지 여부를 평가하는데 중요하다. 이러한 위해 평가는 개발 과정 중 환자에게 투여할 의도로 만들어지지 않은 로트를 사용하여 생성된 실증적 데이터를 기반으로 한 것이어야 한다. 이를 위해 평가를 통해 품질 동등성 시험의 수행이 정당한지 판단할 수 있어야 한다. 추가적으로, 제품 개발단계 중 어느 단계에서 변경이 발생하는지에 따라 비교 동등성 시험이 필요한 지 여부 및 범위가 달라질 수 있다. 초기 개발 단계에서 변경 사항 적용 시 가장 중요하게 고려해야 할 사항은 제품의 안전성에 부정적인 영향을 주는지 여부이다. 그러나 제품 개발 후반 단계 변경 시 해당 변경이 제품의 안전성과 유효성 모두에 영향을 주는지 평가해야 한다. 실행하고자 하는 변경 유형에 따라 제품의 안정성 평가 실시 여부도 고려해야 한다. 제품의 제조방법, 출하규격, 원약약품 및 분량 등의 품질관리사항에 변경이 있을 경우, 임상시험 계획 변경승인 신청을 제출해야 한다(「의약품 임상시험 계획 승인에 관한 규정」 참고). 변경을 실행하기 전에 임상시험 계획 변경승인 신청의 일부 자료로 제안된 변경에 대한 상세 정보 및 변경에 수반되는 위험 평가 및 제안된 변경 관리 전략에 대한 세부 정보를 제출할 것을 권고한다.

ICH Q5E에 설명된 일반 원칙에 따라 변경 전후 CAR-T 치료제의 품질 동등성을 평가할 수 있다. ‘동등성’이라는 용어가 반드시 변경 전후 제품이 동일하다는 것을 의미하는 것은 아니며, 다만 이들이 충분히 유사하여 제품 CQA의 차이가 CAR-T 치료제의 품질, 안전성 또는 유효성에 부정적인 영향을 미치지 않는다는 것을 의미한다. 품질 동등성 입증의 주요 목적은 변경 전 제품을 사용하여 수집한 임상 데이터와 변경 후 제품으로 수집한 임상 데이터가 연관되어 해당 제품의 안전성 및 유효성이 지속됨을 확인하기 위함이다. 품질 동등성을 입증할 수 있는 증거가 충분하지 않은 경우 새로운 비임상 또는 임상시험이 요구될 수 있으며 이로 인해 품목허가가 지연될 수 있다. 품질 동등성 시험 및 데이터 분석을 시작하기 전에 연구 설계 및 허용 기준에 대해 식약처와 사전에 논의하는 것이 권고된다.

어떤 경우에는 변경으로 인해 바뀐 CQA가 분석을 통해 적절하게 측정할 수 없는 경우가 있다. 그러한 경우, 품질 동등성 시험이 실제 제품의 동등성을 평가하기에 부적절하다. 따라서, 확장성 및 완전성 높은 제조 공정 확립에 필요한 변경사항을 미리 예측하고, 이를 품목허가 관련 주요 핵심 임상시험 시작 전에 이를 적용하는 것이 권고된다.

제품 개발 단계에 관계없이 제조 공정 변경시 이에 대한 최신 정보를 반영하여야 하며, 해당 변경사항에 대해 임상시험계획 변경승인을 받아야 한다. 제품 개발 후기 단계에서 제조 변경을 하고자 하나 품목허가 관련 추가 임상시험 계획이 없을 경우 품질 동등성 시험은 품목허가 후 변경관리 수준으로 포괄적이고 철저하게 수행되어야 한다. CQA의 차이로 인해 새로운 비임상 또는 임상시험이 요구될 수 있다.

허가된 제품인 경우, 반드시 기존 변경 관리 절차로 제조 변경이

관리되어야 한다(「첨단재생의료 및 첨단바이오의약품 안전 및 지원에 관한 법률」 제23조제2항, 「의약품 제조 및 품질관리에 관한 규정」 참고). 또한, 이러한 절차는 제조 변경이 CAR-T 치료제의 품질에 영향을 미치지 않도록 설계해야 한다. 만약, 제품 출하기준 변경 시 변경 후 기준을 적용한 제품의 안전성 유효성을 뒷받침할 수 있는 추가 자료(예 : 임상 데이터 등)가 요청될 수 있다.

4.4.2. 비교 동등성 시험의 설계

비교 동등성 시험 범위는 변경사항, 제품의 변화를 측정할 수 있는 시험방법의 감도, 임상 단계에 따라 달라질 수 있다. 비교 동등성 시험 설계에 제안된 분석 방법이 개발 단계에 적절한 제품의 안전성 및 유효성에 대해서 변경의 잠재적 영향을 감지하는데 적합하다는 근거를 포함하는 것이 좋다. 제안된 변경사항을 적용하여 제조된 제품이 현재 로트 출하기준에 충족됨을 입증하는 것만으로 비교 동등성을 입증하는 것은 일반적으로 불충분하다. 비교 동등성 시험은 안전성과 유효성이 확인된 로트를 기반으로 적절한 통계 분석방법과 사전에 정의한 허용 기준을 적용하여 분석한다.

CQA를 설정하기 위해 개발 초기 단계에 수행한 제품 특성 평가는 비교 동등성 시험의 설계를 용이하게 한다. CAR-T 치료제 개발 전반에 걸쳐 다양한 특성 분석 방법을 활용한 시험법은 제품에 대해 더 깊게 이해할 수 있도록 하며, 제안된 제조 변경에 의해 영향을 받을 수 있는 품질 속성의 평가를 뒷받침할 수 있다. 예를 들어, 세포 증식 속도를 변경하기 위해 CAR-T 치료제 배양에 사용되는 사이토카인을 변경하도록 제안할 수 있다. 그러나 이러한 변경은 세포 소집단 및 활성화 상태에도

영향을 미칠 수 있다. 따라서 일반적인 로트 출하시험을 포함하여 세포 표면마커 등 다양한 제품 특성에 대하여 신뢰할 수 있는 분석 방법을 사용하여 모니터링해야 한다.

일부 CAR-T 치료제 특성은 본질적으로 세포 출발물질의 속성과 연결되어 있다. 자가 CAR-T 치료제에 대한 세포 출발물질의 고유한 가변성 감안시, 동등성 평가를 위해 과거 로트를 사용하는 것은 적절하지 않을 수 있다. 가능한 경우 동일한 세포 출발물질을 사용한 병렬식 시험을 통해 CAR-T 치료제 동등성을 평가하는 것을 권고한다. 예를 들어, 동일한 기증자의 백혈구성분채집술 출발물질을 둘로 나누어 한 부분은 변경 전 공정으로 나머지 부분은 변경 후 공정을 사용하여 제품을 제조하는 데 사용할 수 있다. 어떤 경우에는 건강한 기증자로부터 유래한 CAR-T 치료제를 사용하여 동등성 시험을 적절하게 수행할 수 있다. 다만, 비교 동등성 연구설계 및 결과 해석 시 환자와 건강한 기증자 간 잠재적 차이점들에 대해 고려해야 한다. 잠재적인 차이가 확인되면 건강한 기증자 출발물질을 사용한 연구를 보완하기 위해 환자에서 유래한 출발물질을 포함하는 것을 고려할 수 있다.

5. 비임상시험 시 권고사항

임상시험용 의약품에 대한 비임상시험의 목적은 임상시험에서 제품을 투여하는 것이 합리적으로 안전하다는 결론을 뒷받침하기 위한 것이다. CAR-T 치료제를 포함한 유전자치료제(GT, Gene Therapy)는 다양성과 고유한 생물학적 특성으로 인해 사례별 시험 전략이 필요하다. 유전자치료제의 비임상시험에 대한 일반적인 고려사항은 「유전자치료제 비임상시험 평가 가이드라인」을 참고할 수 있다.

5.1. CAR-T 구조체에 대한 비임상 평가 시 고려사항

CAR 구조체의 설계와 도입유전자가 T 세포에 전달되는 과정은 제품의 안전성과 활성을 결정하는 데 중요하다. CAR를 암호화하는 유전 물질은 감마레트로바이러스 및 렌티바이러스 벡터, 트랜스포존 및 mRNA와 같은 다양한 유형의 벡터를 사용하여 T 세포에 전달될 수 있다.

CAR-T 치료제의 안전성 및 유효성에 대한 주요 결정 인자는 표적 특이성을 부여하는 항원 인식 도메인이다. 이러한 항원 인식 도메인은 단클론항체(mAb, monoclonal antibody), 내인성 리간드(ligand)/수용체 쌍 또는 기타 출처로부터 유래할 수 있다. 항원 인식 도메인의 비임상 평가에는 표적 항원/세포에 대한 특이성 및 친화도/결합력에 대한 평가를 포함하여 표적 항원이 존재하는 종양 외 세포(on-target/off-tumor) 및 표적 외 세포(off-target)에 대한 독성의 가능성 평가를 포함해야 한다. 즉, 의도한 표적 항원을 발현하는 건강한 정상 조직이 원하지 않게 표적으로 작용하는 현상(on-target / off-tumor)과 건강한 정상 조직에서 발현된 다른 항원에 대한 의도하지 않은 표적화(off-target)는 제품의 안전성에 영향을 줄 수 있다. 이것은 시험관 내 및/또는 생체 내 연구를 통해 평가할 수 있다. 구체적인 예는 다음과 같다.

- (1) 동일한 항원 인식 도메인을 갖는 단클론항체 또는 융합 단백질을 사용한 조직 교차 반응성 연구
- (2) 단백질 어레이(arrays)
- (3) 여러 장기/조직에 대한 인간 일차 세포, 세포주 또는 유도만능 줄기세포 유래 시험계 패널에서의 세포독성/사이토카인방출

(cytokine release) 시험

(4) 관련 동물모델 분석

가능한 경우 동일한 항원 인식 도메인을 가진 CAR 또는 단클론항체에 대한 이전 임상 경험 정보를 포함할 것을 권고한다. 이러한 정보가 포함될 경우 추가적인 특이성 및 친화성 시험 수행에 대한 권고사항이 축소 또는 생략될 수 있다.

또한, 시험대상자의 위험을 최소화하고 임상시험 설계시 다양한 정보를 제공할 수 있도록 비임상시험 조합을 잘 설계하는 것이 권장된다. 잠재적인 종양 외 표적 활성화 및 표적 외 활성화의 식별은 선정기준과 투여 후 특정 임상적 평가 및 관찰 계획을 수립하는 데 매우 중요할 수 있다.

표적 항원의 특성 분석 또한 권고된다. 표적 항원에 대한 기존의 임상 경험과 표적 항원의 조직 발현 프로파일은 연구중인 CAR-T 치료제의 잠재적인 종양 외 표적에 대한 추가 정보를 제공할 수 있다. 그러나, 이전 CAR-T 치료제와 동일한 항원을 표적으로 하는 항원 인식 도메인이 다른 안전성 프로파일을 가질 수 있고 예상치 못한 독성이 발현될 위험도 있다. 항원 인식 도메인은 표적에 대한 친화도 또는 결합력이 다르거나 항원의 다른 부위를 인식할 수 있는데 이는 비임상적으로 평가해야 한다. 또한 동일한 단일사슬 항체단편(scFv, single chain variable fragment)을 사용하는 CAR-T 치료제 및 단클론 항체도 제품 간의 고유한 차이(예 : CAR-T 치료제가 사이토카인을 수송, 확장, 생산하는 능력, 세포독성 및 지속성)로 인해 안전성 프로파일이 다를 수 있다. CAR-T 치료제의 안전성 프로파일을 특성화할 때 이러한 차이점과 제품의 안전성에 미치는 영향을 고려해야 한다.

CD3 ζ 사슬, 4-1BB(CD137), CD28 및 CD40을 비롯한 다양한 활성화

및 공동 자극 도메인이 CAR-T 치료제에 삽입되어 있다. 이러한 도메인은 다양한 조합으로 사용되어 왔다. 세포 유형에 따라 공동 자극 도메인의 특정 조합은 특정 사이토카인 분비 프로파일과 같은 다양한 생물학적 특성을 유발할 수 있다. 이러한 다양한 특성은 생체 내 세포 증식, 지속성 및 다른 면역 세포 유형의 활성화 정도에 영향을 줄 수 있다. CAR-T 치료제가 자극 비의존적 성장(사이토카인 및 항원 비의존적 성장 포함), 그리고 통제되지 않는 증식을 나타낼 가능성에 대해 다루는 것은 비임상 평가의 중요한 측면이다. 또한 사이토카인을 분비하고 세포용해를 매개하는 CAR-T 치료제의 능력은 항원 의존적이어야 하며, 이는 표적 항원이 다르게 발현되는 다양한 세포에 노출시키는 방법으로 시험할 수 있다. 막횡단 도메인 및 힌지 부위 또한 CAR-T 치료제의 안전성 및 활성화에 영향을 미칠 수 있다. 이러한 부위는 항원 인식 도메인의 유연성에 영향을 주어 제품의 표적 활성화에 변화를 일으키며, 표적 외 활성화에 영향을 미칠 수 있다. 이러한 제품 특성에 대한 포괄적인 평가는 시험관 내 및 생체 내 시험을 이용한 항원 의존적 및 항원 비의존적 활성화 평가로 수행할 수 있다.

5.2. CAR-T 치료제의 세포 성분에 대한 비임상 평가 시 고려사항

CAR를 발현하는 형질도입 T 세포의 특성은 최종 연구 제품의 생물학적 활성화에 영향을 미칠 수 있다. CAR를 발현하는데 사용되는 다양한 T 세포 집합의 예시는 다음과 같다.

- (1) 정제된 T 세포 하위 집합
- (2) 다른 오염 세포(예 : NK 세포, B 세포 등)를 포함하는 선별되지 않은 T 세포 집합

(3) 바이러스 항원에 특이적인 T 세포(예 : 거대세포바이러스(CMV, cytomegalovirus), 엡스타인-바 바이러스(EBV, Epstein-Barr virus))

(4) 선별된 줄기세포 유사 T 세포 또는 미성숙 T 세포

통제되지 않는 증식 및 독성 발현의 가능성은 세포의 기원에 따라 다를 수 있다. 따라서, 비임상 평가에는 통제되지 않는 증식에 대한 검사, T 세포 클론 형성능에 대한 시험관 내 및 생체 내 시험, 핵형분석, TCR 레퍼토리 분석, 체외(*ex vivo*) 자극 및 인식 분석을 통한 바이러스 항원 특이성이 포함될 수 있다.

T 세포는 자가 또는 동종 유래일 수 있다. 동종 유래 CAR-T 치료제인 경우 이식편대숙주 반응의 가능성 또는 CAR-T 치료제의 숙주 거부반응 등의 문제 해결에 대한 데이터를 제공할 것을 권고한다. 동종 반응성을 최소화하기 위해 유전자 편집기술을 사용하는 경우, 추가적인 비임상 시험이 요구될 수 있다(본 안내서 5.5절 참고).

5.3. CAR-T 치료제의 생체 내(*in vivo*) 시험

동물 모델을 이용한 생체 내 시험은 CAR-T 치료제의 기능에 대한 개념을 증명하는 데이터로 유용할 수 있다. CAR-T 치료제 및 종양 표적의 종 특이성, 이종 이식편대숙주 반응, 동물에서 인간 면역 반응 모델링의 어려움으로 인해 몇 가지 제한 사항이 있다. 이러한 제한에도 불구하고 마우스 이종이식 모델(즉, 인간 CAR-T 치료제를 투여한 인간 종양 이종이식편 보유 마우스 모델)에서의 생체 내 시험은 CAR-T 치료제의 이동 및 증식 프로파일에 대한 정보를 제공할 수 있다.

대리(surrogate) 제품이 사용될 경우, 동계(syngeneic) 종양 동물

모델은 대리 CAR-T 치료제와 온전한 숙주 면역 시스템의 상호 작용 및 잠재적인 표적/종양 외 독성에 관한 정보를 제공할 수 있다. 다만, 인간 표적 대 동물 표적에 대한 항원 인식 도메인의 결합 친화도 및 종에 따른 표적 항원의 발현 프로파일과 같은 모델 적합성을 뒷받침할 수 있는 데이터를 제공해야 한다. 또한, 표적 의존적 활성화 및 증식, 항종양 반응(예: 종양 크기, 동물 생존율)과 같은 CAR-T 치료제의 특성 평가는 해당 제품으로 임상시험을 수행하는 것에 대한 과학적 근거를 제공할 수 있다.

생체 내에서 다양한 정도로 증식될 것으로 예상되는 CAR-T 치료제의 특성으로 인해 시작 용량 수준의 선택은 종종 동물 연구에만 기초하여 결정되지 않는다. 유사한 CAR-T 치료제에 대한 이전의 임상 경험은 종종 연구 모집단의 시작 용량 수준, 용량 증량 계획 및 투약요법에 대한 정보를 제공할 수 있다. 효과기 대 표적 비율(effector-to-target ratio), 세포 증식 동력학, 그리고 약력/약동학적 항종양 반응을 특성화하는 시험관 내 및 생체 내 연구는 용량을 선택하는데 있어 유익한 정보를 제공할 수 있다.

5.4. 추가적인 변형이 있는 CAR-T 치료제

CAR-T 치료제에는 자살 유전자, 감지/선택 유전자 또는 면역 조절 요소와 같은 도입유전자의 추가 구성 요소가 포함될 수 있다. 또한, 유전자 편집(genome editing) 또는 유전자 침묵(gene silencing) 기술은 면역원성을 감소시키거나(예를 들어, 동종 CAR-T 치료제의 경우) 활성화 또는 지속성을 증가시키기 위해 CAR-T 치료제를 변형시키는 데 사용될 수 있다. 임상시험용 의약품의 특정 요소에 대한 기능과 안전성을

평가하기 위해 새로운 보조 분자 및 유전자 변형에 대한 추가적인 비임상 연구가 필요할 수 있다. 예를 들어, 혼합 림프구 반응(mixed lymphocyte reactions)은 GVHD의 위험성을 줄이기 위해 변형된 제품의 면역원성과 동종 치료제에 대한 면역 반응을 평가하는데 유용할 수 있다.

CAR-T 치료제의 지속성에 영향을 미칠 수 있는 추가적인 변경은 사이토카인 비의존적 성장 분석 또는 적절하게 설계된 생체 내 연구로 평가될 수 있다. 자살 유전자 및 세포 표지(markers) / 태그(tags)가 삽입되어 있는 경우, 그 기능을 입증하기 위해 그리고 CAR-T 치료제의 제거를 위한 추가 약물 또는 생물학 제제의 투여 용량을 확립하기 위해 비임상 연구를 수행할 것을 권고한다.

CAR-T 치료제의 안전성과 활성을 정의하는 매개변수는 다양한 요인에 의해 영향을 받게 되는데, 이에 대한 고려사항은 다음과 같다.

- (1) CAR 구조체(예 : 항원 인식 도메인, 신호전달 도메인, 막횡단 및 힌지 도메인)의 설계
- (2) 생체 외(*ex vivo*) 벡터 전달 방법
- (3) T 세포 기원(source)
- (4) 조작 과정(예 : 활성화, 세포 선별)
- (5) 생물학적 활성(예 : 사이토카인 발현 프로파일, 세포독성, 증식)
- (6) 신규 구성요소(예 : 자살 유전자, 탐지/선별 유전자, 면역조절 요소, 유전자 편집 또는 유전자 침묵 기술)의 추가
- (7) 투여 경로

다양한 시험 전략을 조합하여 종합적인 비임상연구 수행계획을 마련 하도록 한다. 관련 제품들의 이용 가능한 비임상 및 임상 자료와 함께

이러한 정보는 임상시험 설계에 대한 정보를 제공하고 사람 대상으로 임상시험용 CAR-T 치료제를 투여하는 것을 뒷받침할 수 있다.

6. 임상시험 시 권고사항

본 절에서는 종양(혈액 및 고형) 치료를 목적으로 하는 CAR-T 치료제의 개발 초기 단계에서 임상적으로 고려해야 할 사항을 설명하고자 한다. 초기 단계 임상시험의 일차 목표는 안전성을 평가하는 것이다.

다른 목표로는 최적 용량 결정, 약동학/약력학(PK/PD, pharmacokinetics /pharmacodynamics) 연구, 임상 활성 또는 효능 평가, 안전성 및 유효성을 평가하기 위한 후속 임상시험에 적합한 연구 집단의 선택 및 기타 과학적 연구 목적이 포함될 수 있다.

6.1. 연구 대상 집단

연구 대상 집단의 선택은 전반적인 연구 유익성이 위험성보다 크다는 것을 보장하기 위해 시험 대상자에게 예상되는 위험성과 잠재적 유익성을 함께 고려해야 한다.

6.1.1. 질병의 진행단계(초기 vs. 진행된 단계)

CAR-T 치료제는 상당한 독성 반응, 특히 사이토카인 방출 증후군(CRS, cytokine release syndrome) 및 신경학적 독성과 관련이 있다. 어떤 경우에는 이러한 독성이 생명을 위협하거나 치명적일 수 있다. 따라서 연구 집단을 정의할 때 잠재적인 유익성, 질병 진행단계, 이용

가능한 치료법을 감안하여 해당 독성에 대해 고려할 것을 권고한다.

1상 등 초기 단계 임상시험은 이용 가능한 의학적 치료에 적절한 반응을 보이지 않거나, 더 이상 이용 가능한 치료법이 없는 중증 또는 진행성 질환자를 대상으로 실시하는 것을 고려해야 한다. 이러한 시험 대상자를 등록하도록 임상시험이 설계된 경우, 임상시험계획서에 시험 대상자 선정의 타당성을 기술하고 이전 치료방법에 대해 정보를 조사하고 이를 적절히 평가 및 확인하는 절차를 상세히 마련할 것을 권고한다.

최초 임상시험(FIH, First-in-Human)의 경우 사람에서의 CAR-T 치료제 효과성이 아직 명확하지 않으며 위해성 정보도 많지 않음을 감안했을 때 질병 초기 단계의 이용 가능한 치료법이 있는 시험 대상자를 참여시키는 것은 적절하지 않다. 임상시험계획서에 대상 연구 집단 설정의 근거와 정당성을 설명하고, 시험 대상자 동의설명서에 임상시험 및 대체 치료법 관련 예측 가능한 위험성을 기술하여야 한다(「의약품 등의 안전에 관한 규칙」 (별표 4) 의약품 임상시험 관리기준 제7호 아목 참고).

6.1.2. 조직 불문(tissue-agnostic) 접근법

CAR-T 치료제는 암 유형에 관계없이 암세포가 발현하는 특정 항원(또는 항원들)을 표적으로 한다. 암 유형은 다양하나 동일한 표적 항원(예 : 조직 불문 접근법)을 공유하는 대상자를 포함시켜 수행한 초기 단계 임상시험은 유효성과 독성 정도를 평가하기 어려울 수 있다.

시험 대상자들의 근본적인 중복이환(comorbidity, 한 환자가 두 가지 이상의 질환을 동시에 앓고 있는 상태)의 차이, 기존 종양 부담(tumor burden)에 따른 독성 및 용량 반응 차이로 인해 초기 단계 임상시험에서 독성 및 용량을 적절히 평가하는 것이 어려울 수 있다.

조직 불문 접근법을 사용하여 두 가지 이상의 암 유형의 치료 목적으로 CAR-T 치료제를 개발하고자 할 경우 시험 대상자의 질병 유형별로 코호트를 분리하고 병행 용량 증량을 통한 용량-반응 관계 및 독성의 중증도를 평가하는 초기 단계 임상시험 설계를 고려할 수 있다. 임상시험 계획 승인 신청 시 연구 설계 및 분석에 대한 설정 근거를 제출할 것을 권고한다.

6.1.3. 표적 식별

CAR-T 치료제의 항종양 효과는 CAR와 암세포에서 발현되는 동족 항원(cognate antigen)의 결합에 의존한다. 따라서 CAR-T 치료제가 표적으로 하는 종양 항원을 발현하는 환자를 등록하는 것이 필수적이다. 표적 항원에 대한 검사가 상업적으로 이용 가능하지 않은 경우, 시험 대상자를 적절하게 선택하기 위한 동반 진단 검사 개발이 요구될 수 있다.

6.1.4. 소아 대상

일부 CAR-T 치료제는 소아 질환의 치료를 위해 특별하게 개발된다. 소아 질환을 치료하기 위해 CAR-T 치료제를 개발하는 경우에는 전반적인 개발 프로그램에 걸쳐 임상시험에 참여하는 소아 시험 대상자의 안전에 대한 추가적인 보호 장치를 포함시키는 것을 고려해야 한다. 소아 대상 질환에 대해 임상 개발 프로그램 마련 시 소아 대상 임상시험을 수행하기 전에 성인 대상 초기 안전성 및 내약성 데이터를 먼저 수집하는 것이 일반적이다. 특정 상황에서는 소아 대상으로 CAR-T 치료제의 임상시험을 수행하는 것이 적절할 수 있는데, 이러한 경우 임상시험계획서에 해당 임상시험 수행의 타당성이 제시되어

야 한다.

6.2. 치료 계획

6.2.1. 용량 선택, 시작 용량 및 용량 증량

6.2.1.1. 용량 선택

CAR-T 치료제의 용량을 선택하는 것은 까다로울 수 있으며, 여러 요인을 함께 고려해야 한다.

형질도입 효율은 로트마다 다를 수 있으며, 그 결과 형질이 도입된 세포의 비율이 달라질 수 있다. 이러한 편차로 인해 동일한 총 세포 용량이 투여된 경우에도 시험 대상자별로 투여된 활성 세포 용량에 상당한 차이가 나타날 수 있다. 이상적으로는, 제조자가 형질도입 과정의 변동성을 제어하기 위해 노력해야 한다. 그러나 제조 공정이 일관되더라도 이러한 형질도입 효율의 편차는 어느 정도 발생할 것으로 예상된다. 투여량에 따른 이러한 변동성을 완화하기 위해 CAR-T 치료제의 용량 수준을 총 세포 수가 아닌 최종 제품에 살아있는 형질도입된 CAR 발현 T 세포 수를 기준으로 설정하는 것이 권고된다. 형질도입 효율 외에도 용량을 결정할 때 고려해야 하는 다른 요소에는 시험 대상자에 투여되는 총 세포 수와 세포 생존율이 포함된다. 또한, 체중이나 신체 표면적을 기준으로 한 균일 용량 또는 계산 용량 설정을 고려할 수 있는데 이러한 경우 연령 및 질병과 같은 요인에 기반한 용량 설정의 타당성이 제시되어야 한다.

6.2.1.2. 시작 용량

시작 용량 설정 시 이용 가능한 전체 자료를 고려해야 한다. 가능한 경우, 유사한 CAR-T 치료제에 대한 이전의 임상 경험은 비록 다른 조건이라 할지라도 임상 시작 용량을 정하는 데 도움이 될 수 있다. 그러나 이러한 접근 방식을 이용하여 시작 용량을 외삽하고자 할 때, CAR-T 치료제의 생체 내 작용이 질병 상태, 항원 부하, 연구 대상 집단 및 CAR 구조체에 따라 다를 수 있으므로 주의해야 한다. 사전에 림프고갈 요법을 처치하는 것은 CAR-T 치료제의 생체 내 증식에 영향을 미칠 수 있으며 이는 CAR-T 치료제의 용량을 선택할 때 고려해야 한다.

6.2.1.3. 용량 증량

CAR-T 치료제 임상시험 시 1/2 로그(약 3배) 수준으로 용량을 증량하는 경우가 있다. 그러나 용량 증량 수준은 용량 증량과 관련된 위험과 활성화에 관한 비임상 및 이용 가능한 모든 임상 데이터를 고려하여 결정해야 한다. 임상시험계획서에 용량 증량 및 감소에 대한 특정 기준을 제공해야 한다. 특히, 용량 제한 독성(DLT, Dose-Limiting Toxicities)에 대한 자세한 정의와 DLT로 간주되지 않는 독성 설정에 대한 타당한 근거를 명확히 제시하여야 한다. 대부분의 CAR-T 치료제의 독성은 다량의 사이토카인의 빠른 방출(CRS를 초래함)과 관련이 있는 것으로 보이며, 생체 내의 종양 항원(종양 부하) 수준에 의해 유도될 수 있는 CAR-T 치료제의 활성화 상태와 상관관계가 있을 수 있다. 종양 부담은 시험 대상자별로 다르기 때문에 종양 부담이 낮은 시험 대상자에게 안전할 수 있는 용량이 더 높은 종양 부담을 가진 다른 시험 대상자에게 동일한 용량임에도 상당한

독성을 유발할 수 있다. 따라서 단일 환자 코호트 및 환자 내 용량 증량은 일반적으로 인간 대상 최초 CAR-T 치료제의 용량 증량 연구에 적합하지 않다. 적절한 근거가 있다면 지속적 재평가 방법(CRM, continual reassessment methods)이 적합할 수 있다.

6.2.2. 반복 투여

CAR-T 치료제는 환자 체내에서 지속되거나 활성 기간이 연장될 수 있다. 또한, CAR-T 치료제 투여 전 림프고갈 요법은 골수를 억제하므로, CAR-T 치료제 반복 투여 상황에서 추가적인 림프고갈 요법을 사용하는 것은 시험 대상자의 생명을 위협하는 위험을 초래할 수 있다. 따라서 대부분의 CAR-T 치료제 시험에서는 단독 투여 또는 일회성 투여 요법을 사용한다. 반복 투여는 제품의 활성 기간 및 독성에 대해 충분한 이해를 바탕으로 고려되어야 한다. 반복투여 설정 시 이에 대한 타당한 근거를 제시하고 위해성 완화 전략 마련하는 것이 권고된다.

6.2.3. 시간차를 두는 투여 전략 (Staggering)

제안된 CAR-T 치료제 또는 관련 제품에 대한 이전의 임상 경험이 없는 경우 여러 대상을 동시에 치료하는 것은 합리적이지 않으며 위험을 초래할 수 있다. 이러한 문제를 해결하고 예상하지 못한 위험에 노출될 수 있는 시험 대상자의 수를 제한하기 위해 코호트 내 혹은 코호트 간의 투여시점을 다르게 설정하는 투약법이 권고된다.

코호트 내 또는 코호트 간 투여시점은 다음 사항을 고려하여 설정하는 것이 권고된다.

- (1) 동일한 용량으로 추가 대상을 치료하거나 후속 대상에서 용량을 증량하기 전에 급성 및 아급성 이상사례를 관찰하기에 충분히 긴 시간
- (2) 동물 연구 및 관련 제품에 대한 이전 임상 경험에서 관찰된 급성 및 아급성 이상사례의 시간 경과를 고려한 시간
- (3) 제품 활성의 예상 지속 기간을 고려한 시간
- (4) 전반적인 개발 일정을 고려한 실용적인 시간

6.2.4. 제조 지연 또는 실패의 경우에 대한 고려

자가 CAR-T 치료제는 시험 대상자별로 별도로 제조되며 제조 시 몇 주가 소요될 수 있다. 제조기간 동안 시험 대상자는 질병이 진행되거나 상태가 악화되어 계획된 림프고갈 요법 및 제품의 투여 가능 시점에 선정기준을 충족하지 못하는 경우가 있을 수 있다. 시험 대상자가 선정기준을 충족하지 않음에도 CAR-T 치료제를 투여 받는 위험을 완화하기 위해 CAR-T 치료제 제조 완료시점에 시험 대상자 선정기준의 충족 여부를 재차 확인하는 절차를 포함시킬 수 있다. 이외에도 환자 선정기준 이외에 림프고갈 요법 및 제품 투여 시점에 별도의 등록기준(즉, 시험 대상자 선정기준과 다름)을 추가할 수 있다.

경우에 따라 제조 실패로 인해 시험 대상자가 해당 제품을 투여 받을 수 없는 상황이 발생할 수 있다. 제조 실패의 가능성과 그러한 실패와 관련될 수 있는 시험 대상자 유래 요인(예: 불량한 세포 수집이 예상되는 시험 대상자의 고유 특성)에 대한 정보를 개발 초기 단계

시험에서 파악하는 것이 중요하다. 이러한 정보는 제조 실패 가능성을 줄이기 위한 시험 대상자 선별 기준을 제안하거나 제조 실패 시 조치 방안을 개발하고 문서화함으로써 후속 임상시험 설계에 도움을 줄 수 있다.

생산 관련(즉, 제조) 실패로 인해 시험 대상자가 위험에 노출되는 상황을 완화하기 위해 제품이 사용 가능하다고 확인할 수 있을 때까지는 시험 대상자가 고위험 림프고갈 요법을 받지 않도록 임상시험을 설계해야 한다. 또한, 추가 제조를 통해 치료를 다시 받도록 할지 여부와 치료를 받지 못한 시험 대상자를 탈락 처리하고 대체자를 추가 등록할 지 여부를 임상시험계획서 등에 명확하게 기술하여야 한다.

치료 실패는 타당성 평가의 한 부분으로서 임상시험의 중요 평가 변수가 될 수 있다. 제품 투여 실패를 예측할 수 있는 요인을 찾기 위해 치료 실패 시험 대상자의 비율을 분석하고, 치료 실패로 인해 시험 대상자에 미치는 영향을 평가하는 계획이 수립되어야 한다.

6.2.5. 가교 치료

제조 지연 또는 실패가 발생할 경우 시험 대상자가 CAR-T 치료제의 재생산을 기다리는 동안 기저 질환을 개선하기 위한 가교 치료를 받을 수 있도록 임상시험을 설계할 수 있다. 다만, 이러한 가교 치료는 후속 CAR-T 치료제의 치료 효과의 해석에 혼동을 줄 수 있는데, 해당 시험 대상자에서 관찰된 종양 반응이 이전 가교 치료 때문인지 CAR-T 치료제 때문인지 혹은 둘 다인지 확인하기 어려울 수 있기 때문이다. 또한 가교 치료 표준화의 부재는 CAR-T 치료제의 임상시험 결과의 해석을 더욱 복잡하게 만들 수 있다. 가교 치료가

전체 연구 결과의 해석에 미치는 영향을 파악하는데 도움이 되는 정보를 수집하기 위해 림프고갈 요법을 받기 전에 질환의 기저 상태(baseline)를 재평가하거나 분석 대상을 다음과 같이 나누고 이에 대한 별도 분석을 수행하는 방안이 권고된다.

- (1) 모든 시험 대상자
- (2) 이전에 가교 치료를 받은 경험이 있는 시험 대상자
- (3) 이전에 가교 치료 경험이 없는 시험 대상자

6.3. 임상 약리학적 고려사항

CAR-T 치료제에 대한 임상 약리학적 평가에는 약동학(노출), 약력학(반응) 및 면역원성 연구가 포함된다. 약동학 및 약력학 평가는 의약품의 안전성과 유효성을 결정하기 위한 중요한 정보를 제공한다. 면역원성 평가는 CAR-T 치료제에 대한 면역 반응으로 인한 잠재적 위험을 평가한다.

6.3.1. 약동학(PK, Pharmacokinetics)

CAR-T 치료제는 투여 후 증식될 수 있다. 따라서 기존의 흡수, 분포, 대사 및 배설(ADME, absorption, distribution, metabolism and excretion) 시험 기준은 CAR-T 치료제의 약동학 모델에 적용할 수 없다. 환자에 투여한 CAR-T 치료제는 체내에서 증식하며 잔류한다. 혈액을 포함한 검체는 CAR-T 치료제의 생체 내 지속성 및 증식을 관찰하기 위해 지정된 일정에 따라 수집해야 한다. CAR-T 치료제의 동역학(kinetics) 프로파일을 더 잘 특성화하기 위해 특정 질병 관련

조직에서 추가 PK 검체를 수집할 수 있다. 전신노출의 경우, CAR-T 치료제의 농도-시간 곡선을 도출하는데 충분한 검체 채취 시점을 설정하고 해당 시점에 혈액 검체를 수집한다. CAR-T 치료제의 세포 증식 및 지속성을 평가하기 위해 다음 사항에 대한 PK 정보를 수집하는 것이 권고된다.

- (1) 최고혈중농도(C_{max})
- (2) 최고혈중농도 도달시간(T_{max})
- (3) 부분곡선하 면적(pAUC)
- (4) 마지막으로 관찰된 측정가능한 농도(C_{last})
- (5) C_{last} 시간

CAR-T 치료제의 세포 증식과 임상 결과 사이의 연관성을 평가하기 위해 CAR-T 치료제의 세포 증식 속도를 측정할 수 있으며, 이를 CAR-T 치료제 노출과 유효성 및/또는 안전성 사이의 상관관계 분석에 사용할 수 있다. CAR-T 치료제의 생체 내 증식 및 지속성에 영향을 미칠 수 있는 인자 평가 시 시험 대상자 관련 요인, 제품 관련 요인 및 병용 요법을 고려해야 한다. 시험 대상자 관련 요인에는 연령, 성별, 표적항원 발현 수준 및 종양 부담이 포함되지만 이에 국한되지 않는다. 제품 관련 요인에는 CAR-T 치료제의 세포 구성 및 분화 상태가 포함되지만 이에 국한되지 않는다.

CAR-T 치료제의 생체 내 동역학(kinetics)에 대한 특성을 평가하기 위하여 PK 검체채취 일정에 증식 단계(일반적으로 주입 후 처음 2주) 동안 충분한 횟수의 시점을 포함할 것을 권고한다. CAR-T 치료제의 지속성은 도입유전자 및 CAR 발현 수준을 측정하여 관찰할 수 있다. CAR-T 치료제의 노출과 반응 사이의 관계를 조사하기 위

해 가능한 경우 CAR-T 치료제의 기능 분석(예 : CAR-T 치료제의 면역 세포 표현형(CD4, CD8, CCR7, CD45RA 등)과 약동학적 특성 및 치료 효과와의 상관관계를 평가할 수 있다.

6.3.2. 약력학(PD, Pharmacodynamics)

항원 발현 세포에 특이적으로 결합한 CAR-T 치료제는 T 세포 활성화(activation), 증식(proliferation), 효과기 기능(effector functions) 획득, 사이토카인(cytokines) 및 케모카인(chemokines) 생산을 촉진하기 위한 신호 전달 연쇄반응을 개시한다. 이러한 현상은 표적 세포의 제거로 이어진다. CAR-T 치료제의 약력학 평가에는 사이토카인, 케모카인, 효과기, 혈액 면역표현형 및 임상 평가 변수(예 : 종양 세포 사멸)의 변화 관찰이 포함된다. CAR-T 치료제의 작용 기전, 표적 질환별 특성 및 임상 결과를 기반으로 약력학적 바이오마커(biomarker)를 선택할 것을 권장한다. PD 검체 채취 계획에는 PD 바이오마커의 특성과 예상 반응 기간을 반영해야 한다.

CAR-T 치료제의 안전성 및 유효성 프로파일을 개선하기 위해서는 다음과 같은 탐색적 상관 분석 평가가 권고된다.

- (1) CAR-T 치료제의 특성과 CAR-T 치료제의 약동학적 프로파일 간의 관계
- (2) 임상 PK 및 PD 데이터를 사용한 CAR-T 치료제의 노출-반응 관계

6.3.3. 면역원성 (Immunogenicity)

면역원성 평가는 임상 결과에 대한 면역원성의 잠재적 영향을 파악하는데 중요하다. 제품 개발 중 CAR-T 치료제(CAR 및 공동 발현된

도입유전자)에 대한 체액성 및/또는 세포성 면역 반응을 검출하는 분석법을 개발할 것을 권고한다. 면역원성 평가에는 CAR-T 치료제의 면역원성에 영향을 미칠 수 있는 환자 관련 요인과 제품 관련 요인 모두를 고려해야 한다. 환자 관련 요인으로 유전학, 연령, 성별, 질병 상태, 일반적인 면역 상태, CAR-T 치료제에 대한 기존 항체 및 병용 약물 등이 고려될 수 있다. 제품 관련 요인으로 다음 사항이 고려될 수 있다: CAR-T 치료제의 세포 유래(자가 또는 동종), CAR 분자 구조 및 번역 후 변형, 공동 발현된 도입유전자, 제품 불순물, 제형화 부형제, 및 용기 마개 재료 등.

PK, PD 및 면역원성 검체 분석을 위한 시험방법은 제품 개발 전반에 걸쳐 개발 또는 개선될 수 있다. 품목허가를 위한 핵심 임상시험 수행 시 면역원성은 검증된 시험방법을 사용하는 평가하는 것이 권고된다.

6.4. 안전성 평가 및 관찰

CAR-T 치료제의 안전성에 대한 고려사항에는 다음 사항과 관련된 위해성 정보가 포함된다.

- (1) 세포 채취
- (2) 병용 요법(예: CAR-T 치료제 투여 전 면역억제성 림프고갈 요법의 사용)
- (3) CAR-T 치료제 자체

6.4.1. 임상 관찰(Monitoring)

임상시험계획서에 시험 대상자의 안전을 보호하는데 적합한 상세 관찰 계획을 포함할 것을 권고한다. 관찰계획 상의 주요 평가항목,

절차, 일정 등은 개발하고자 하는 또는 관련 제품의 비임상 및 선행 임상 경험을 포함하여 사용할 수 있는 정보를 기반으로 설정한다. FIH 또는 이전의 임상에서의 경험이 제한적인 제품인 경우 시험 대상자가 수용할 수 없는 독성에 노출될 가능성을 최소화하기 위해 시험 대상자를 시간차를 두고 등록하는 방식을 고려해야 한다(본 안내서의 6.2.3절 참고).

CAR-T 치료제 관련하여 잘 알려진 독성은 CRS이다(본 안내서의 6.4.2절 참고). 항-사이토카인 요법(예 : 토실리주맙) 투여 시에는 임상 징후 및 증상에 대한 관리 계획 또는 치료 알고리즘(algorithm)을 마련해야 한다.

CAR 구조체는 자연적으로 존재하지 않는 조작된 유전자이므로 수혜자 입장에서 내인성이 아닌 구성요소를 포함하게 된다. 따라서 CAR-T 치료제 투여시 이러한 외인성 구성요소는 CAR-T 치료제의 지속성에 영향을 미치거나 CAR-T 치료제의 효과(항종양 활성 또는 독성)를 상쇄할 가능성이 있는 면역 반응을 유발할 수 있다. CAR 반응성 면역 반응에 대해 관찰하는 것이 권고된다. 예를 들어, 일부 CAR-T 치료제는 설치류 유래 서열을 포함하고 있으며 이로 인해 인간 항-마우스 항체(HAMA, human anti-mouse antibody)가 생성될 수 있다. 이러한 사항에 대한 관찰 계획(관찰 결과를 다루기 위한 관리 계획 포함)과 적절한 시험방법에 대해 설명하는 것이 권장된다.

6.4.2. 독성 등급

용량 증량, 시험 대상자 관리 등 의사 결정을 요하는 상황에 적용될 수 있는 독성 등급 시스템을 마련하고 이를 임상시험계획서에

반영하는 것을 권고한다. CRS 및 신경독성에 대한 관련 특정 고려 사항과 함께 독성 등급 설정 시 미국 국립암연구소(NCI, National Cancer Institute)의 이상사례 공통용어기준(CTCAE, Common Terminology Criteria for Adverse Events)을 사용할 것을 권고한다. 또한 독성에 대한 관리 알고리즘도 구체적으로 마련되어야 한다.

CRS 및 신경학적 이상사례는 CAR-T 치료제의 주요 독성에 해당한다. 이러한 이상사례는 치명적일 수 있으며 생명을 위협할 수도 있다. 따라서 CRS 및 신경학적 독성의 신속한 인식과 적절한 관리는 임상시험 설계에 필수적이다. CRS 및 신경학적 독성 등급 평가 시 표준화된 합의 기준을 사용할 경우 해당 등급 기준의 타당성을 고려하여야 한다.

6.4.3. 용량 제한 독성(DLT, Dose-Limiting Toxicities), 중단 규칙 및 제품 속성

6.4.3.1. DLT의 정의

임상시험계획서에 적절한 DLT 정의를 제시하는 것이 권고된다. DLT 정의에는 CRS 독성 등급이 포함되어야 한다. CAR-T 치료제 투여시 초래될 수 있는 치료 후 발생(treatment-emergent) DLT의 구체적인 예시는 다음과 같다.

- 4 또는 5등급 CRS
- 7일 이내에 2등급 이하로 해결되지 않는 3등급 CRS
- 3등급 이상의 자가면역 독성
- 3등급 이상의 신경독성

- 세포 주입과 관련된 3등급 이상의 알레르기 반응
- 이전에 존재하지 않았고 기저 질환에 의한 것이 아니면서 세포 주입 후 30일 이내에 발생한 3등급 이상의 장기 독성(심장, 피부, 위장관, 간, 폐 또는 신장/비뇨생식기)

DLT 정의는 기저질환, CAR-T 치료제의 세포 특성, 독성을 특성화하는 데 사용되는 등급 시스템 등 다양한 요인에 따라 달라질 수 있다. DLT 정의에서 치료로 인한 독성에 대한 예외 또는 면제 사항을 명확하게 설명하고 이에 대한 타당한 사유를 제시할 수 있어야 한다. 또한, DLT 관찰기간은 급성 및 지연성 독성을 모두 확인할 수 있도록 적절하게 설정되어야 한다.

6.4.3.2. 제품 속성

기저 질환의 증상, 병용 치료 및 CAR-T 치료제와 같은 교란 요인으로 인해 임상시험 도중에 관찰된 치료 후 발생한 독성에 대해 특정 원인을 확인하기 어려운 경우가 많다. 따라서 명확한 발생 원인을 설명할 수 없는 한 CAR-T 치료제의 속성과 관계없이 독립적으로 DLT를 정의하는 것이 좋다.

6.4.3.3. 치료 중단 규칙

치료 중단 규칙은 관찰된 특정 이상 사례의 발생률을 기반으로 제품 투여를 중단할지 결정하기 위한 기준이다. 치료 중단 규칙을 설정하는 주요 목적은 안전성 우려가 발생한 경우 시험 대상자가 위험에 지속적으로 노출되는 것을 제한하기 위함이다. 치료 중단

규칙을 잘 설계하면 임상시험이 진행되는 동안 식별된 위험을 평가 및 처리할 수 있고, 그러한 위험을 완화하도록 계획서에 반영할 수 있으며, 시험 대상자가 부당하고 중대한 위험에 노출되지 않도록 할 수 있다. CAR-T 치료제의 임상시험 중단 규칙에 대한 예시로 예상된 심각한 이상사례 및 예상하지 못한 심각한 이상사례 발생건수 또는 빈도의 증가(예 : FIH CAR-T 치료제의 경우, 4등급 이상의 CRS 발생 2건 초과), 또는 CAR-T 치료제 투여 후 30일 이내 사망 사례 발생 등이 포함된다.

6.5. CAR-T 치료제의 지속성

CAR-T 치료제의 체내 활성 기간 또는 지속성 평가 계획을 임상시험 계획서에 반영하는 것이 권고된다. 이를 평가하기 위한 검체로 혈액, 체액 및 조직이 포함될 수 있다. 검체 채취를 위해 침습적 절차가 필요한 경우에는 시험 대상자에게 해당 절차의 위험성을 사전에 알리고 별도의 사전 동의 절차를 거칠 것을 권고한다. CAR-T 치료제의 지속성을 평가하기 위한 분석 방법 또한 구체적으로 기술되어야 한다. 이러한 분석 방법에는 CAR-T 치료제 또는 벡터의 존재 및 유전자 발현 또는 바이오마커의 변화를 비롯하여 CAR-T 치료제의 활성화에 대한 시험이 포함될 수 있다.

만일 임상시험 도중 사망 사례가 발생할 경우, CAR-T 치료제의 지속성, 독성 및 활성을 포함하여 사망 원인을 평가하는 사후 연구 수행을 고려해야 한다.

6.6. 동종 CAR-T 치료제

동종 유래 CAR-T 치료제 개발시 앞서 기술한 임상적 고려사항 이외에 추가적인 고려사항이 있다. 공여자와 수혜자를 면역학적으로 일치시킬 계획이 있는지 여부를 임상시험계획서에 명시하고, 만일 있다면 그러한 일치 방법에 대해 명확하게 기술할 것을 권고한다. 또한, 동종 CAR-T 치료제 투여 시 주요 우려사항은 이식편대숙주질환(GVHD, graft versus host disease)이다. 임상시험 수행 시 GVHD 증상 및 징후에 대한 정보 수집 계획을 마련해야 한다. 임상시험계획서에 GVHD 평가 등급 체계와 GVHD 관리 알고리즘이 기술되어야 한다. 아울러 DLT 및 투여 중단 규칙에는 GVHD를 포함해야 한다.

참고문헌

- 의약품 국제공통기술문서(CTD) 가이드라인 해설서(품질)(2015)
- 우수 의약품 개발 가이드라인(2015)
- 세포·유전자치료제의 초기 임상시험 디자인 가이드라인(2015)
- 소아 대상 임상시험 가이드라인(2018)
- 첨단바이오의약품 장기추적조사 가이드라인(2020)
- 세포치료제 기증자 적합성 평가 가이드라인(2021)
- 복제가능 레트로바이러스 평가 가이드라인(2022)
- 임상시험용의약품 GMP 평가 가이드라인(2022)
- 유전자치료제 품질평가 가이드라인(2022)
- 임상시험용 세포유전자치료제 품질평가 가이드라인(2022)
- 세포치료제 품질관리 시험항목 설정 가이드라인(2023)
- 세포치료제 세포은행 평가 가이드라인(2023)
- 생물학의약품의 제조방법 변경에 따른 비교동등성 평가 가이드라인(2023)
- 유전자치료제 비임상시험 평가 가이드라인(2023)
- 임상시험용의약품의 품질 가이드라인(2024)
- 유전자편집기술을 이용한 유전자치료제의 품질, 비임상 및 임상 평가 가이드라인(2024)
- ICH Guideline Q5E: Comparability of Biotechnological / Biological Products Subject to Changes in their Manufacturing Process(2004)
- ICH Guideline Q2(R2): Validation of Analytical Procedures(2023)
- US FDA, Guidance for Industry: Potency Tests for Cellular and Gene Therapy Products(2011).
- US FDA, Guidance for Industry: Considerations for the Development of Chimeric Antigen Receptor (CAR) T Cell Products(2024).



키메라 항원 수용체(CAR) T 치료제 개발 시 고려사항

발 행 일 2024년 12월

발 행 인 강석연

편 집 위 원 장 최영주

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

발 행 처 식품의약품안전평가원 바이오생약심사부
세포유전자치료제과



식품의약품안전처

식품의약품안전평가원