



**유전자편집기술을 이용한 유전자치료제의
품질, 비임상 및 임상 평가
가이드라인[민원인 안내서](안)**

(Guideline on Quality, Non-clinical, and Clinical
Assessment of Human Gene Therapy Products
Incorporating Genome Editing)

2024. 12.



식품의약품안전처

식품의약품안전평가원

바이오생약심사부 세포유전자치료제과

지침서 · 안내서 제 · 개정 점검표

명칭

유전자편집기술을 이용한 유전자치료제의 품질, 비임상 및 임상 평가 가이드라인
(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"/> 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.		
지침서·안내서 구분	<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
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.

2024 년 12 월 일

담당자
확 인(부서장)

이재린, 홍지희
왕소영

이 안내서는 유전자편집기술을 이용한 유전자치료제의 품질, 비임상 및 임상 평가 시 고려사항에 대한 식품의약품안전처의 입장을 기술한 것입니다.

본 안내서는 대외적으로 법적 효력을 가지는 것이 아니므로 본문의 기술 방식('~하여야 한다' 등)에도 불구하고 참고로만 활용하시기 바랍니다. 또한, 본 안내서는 2024년 12월 ○일 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 바이오생약심사부 세포유전자치료제과로 문의하시기 바랍니다.

전화번호: 043-719-3545

팩스번호: 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

제 · 개정 이력서

유전자편집기술을 이용한 유전자치료제의 품질, 비임상 및 임상 평가 가이드라인

[illegible]

목 차

1. 서론	1
2. 적용범위 및 법적근거	2
3. 품질에 대한 고려사항	2
3.1 일반적 고려사항	2
3.2 제조 및 품질관리 시 고려사항	5
4. 비임상시험 시 고려사항	13
4.1 비임상시험에서 평가된 제품	13
4.2 활성평가	14
4.3 안전성 평가	15
5. 임상시험 시 고려사항	16
5.1 시험모집단	17
5.2 용량 및 투여일정	17
5.3 치료계획	18
5.4 모니터링 및 추적관찰	18
5.5 시험 평가변수	19
5.6 아동 관련 연구를 위한 특별 고려사항	19
6. 참고문헌	20

1. 서론

지난 10년간 인간 질병의 치료에 사용된 과학 기술로서 사람 체세포의 유전자편집(Genomic Editing, GE)을 접목한 유전자 치료법에 대한 관심 수준이 크게 증가하였으며, 유전자치료제도 급속히 발전하였다. 질병 치료를 위한 이러한 의약품의 잠재력은 명확하나, 잠재적 위해성에 대한 이해도는 높지 않다. 이 제품들의 연구결과가 임상시험에 진입할 수 있도록 돕기 위해, 본 가이드라인에는 제품의 안전성·유효성 및 품질을 평가하고, 이들 제품의 잠재적 위해성을 해결하는 방식에 대한 권고사항이 포함되어 있다.

유전자편집이란 핵산분해효소 의존적 또는 비의존적 유전자편집 기술을 사용하여 생체 외(ex vivo) 또는 생체 내(in vivo)에서 사람 체세포 유전자의 특정한 위치에 있는 DNA 염기서열을 삽입, 제거, 변형 또는 교체하는 과정이다. 유전자편집을 접목한 유전자치료제는 본 가이드라인에서 유전자편집 제품이라고 명명한다.

과학적 근거에 기반한 방식으로 각 제품의 유익성과 위해성을 평가한다. 각 제품별 유익성-위해성 프로파일은 제안된 적응증과 환자 모집단, 달성한 치료 유익성의 범위와 기간, 대체 치료제 옵션의 이용가능성에 따라 달라진다. 유전자 편집 접근 방식과 관련된 일부 특이적 위해성에는 비표적 부위 편집, 표적 부위 편집으로 인한 의도하지 않은 영향, 표적 및 비표적 부위 편집으로 인한 알려지지 않은 장기 효과가 포함된다.

2. 적용범위 및 법적근거

본 가이드라인은 「첨단재생의료 및 첨단바이오의약품 안전 및 지원에 관한 법률」 제2조제5호에 따른 ‘첨단바이오의약품’으로서 ‘유전자치료제’ 중 유전자편집된 세포가 유효성분인 제품 및 유전자편집도구를 이용하여 편집된 유전자가 유효성분인 제품에 적용된다. 유전자치료제 품목허가를 위한 자료는 「첨단바이오의약품의 품목허가·심사 규정」 제6조(국제공통기술문서의 작성)에 따라 국제공통기술문서(Common Technical Document, CTD) 양식으로 작성하여야 하며, 제15조(유전자치료제의 품질평가 자료 요건)와 제17조(비임상시험 자료 심사기준)에 적합하여야 한다.

본 가이드라인은 유전자편집도구를 이용한 제품의 설계, 품질, 비임상 및 임상시험 시 고려사항에 대한 정보를 다루고 있다. 본 가이드라인에 기술되지 않은 유전자치료제의 일반적인 품질·비임상 관련 고려사항은 “임상시험용 유전자치료제의 특성분석, 제조 및 품질관리 평가 가이드” 및 “유전자치료제 비임상시험 평가 가이드라인” 등을 참고할 수 있다.

3. 품질 평가 시 고려사항

3.1 일반적 고려사항

유전자편집 기술은 하나 또는 여러 개의 요소로 구성될 수 있다. 이러한 유전자편집 구성요소에는 핵산분해효소, DNA 타겟팅 구성요소(예; 가이드 RNA와 같은 표적 DNA 서열을 읽는 데 사용되는 구성요소), 해당하는 경우 공여자 DNA 템플릿(예; 표적 염기서열을 복구하기 위해 제공되는 DNA 염기서열)이 포함될 수 있다.

3.1.1 유전자편집 방법

유전자편집은 핵산분해효소에 의존적이거나 비의존적인 방법으로 얻을 수 있다. 핵산분해효소 의존적 유전자편집 기술은 DNA에 부위 특이적 손상을 유도하며, 이는 절단 부위의 DNA 염기서열의 변형을 유발할 수 있다. 핵산분해효소 의존적 유전자편집 기술의 몇 가지 예시로는 징크핑거 뉴클리에이즈(ZFN), 탈렌(TALEN), 메가뉴클리에이즈(meganucleases), 크리스퍼/캐스(CRISPR/Cas)가 있다. 핵산분해효소 비의존적 유전자편집 기술은 DNA 절단 없이 DNA 염기서열을 바꿀 수 있다. 핵산분해효소 비의존적 유전자편집 기술의 예시에는 염기서열 편집 및 합성 3중 나선 구조 형성 펩타이드 핵산이 포함되나 이에 국한되지만은 않는다.

특정 유전자편집 기술을 선택할 때는 작용 기전, 원하는 DNA 염기서열을 특이적으로 표적화할 수 있는 능력, 효율성, 특이도 또는 안정성을 개선하기 위한 유전자 편집 구성요소를 최적화하는 능력을 고려해야 한다.

3.1.2 유전자편집 전략 및 그 타당성

원하는 치료 효과를 위한 유전자편집 방식은 중요한 고려사항이다. 편집하려는 목표 부위와 해당부위를 선택한 이유, 목표로 하는 편집방식(예. 유전자 녹아웃 또는 주형과의 상동재조합(Homology Directed Repair, HDR)을 통한 DNA 교체), 유전자편집을 통해 목표하는 유전자 발현 양상 등을 고려해야 한다. 유전자편집 방식은 내인성 DNA 손상 복구 경로에 의존적이며, 일반적으로 활용되는 두 가지 DNA 손상 복구 경로는 상동재조합(HDR)과 비상동적말단결합(Non-Homologous End-Joining, NHEJ)이다. HDR은 상동 DNA 염기서열을 사용하여 DNA 손상을 복구하는 반면, NHEJ는 절단된 DNA의 두 말단을 다시 결합함으로써 상동 복구용 템플릿 없이 DNA 손상을 복구한다. HDR과 NHEJ 모두 유전자를 치료적으로 변형하는 데 사용할 수 있다. NHEJ는 상대적으로 세포 주기에 영향을 받지 않지만, HDR은 S/G2기에 가장 활성화된다. 내인성 DNA 손상 복구 경로의 정확도는 높을 수 있지만 의도하지 않은 DNA의 삽입이나 결실을 유발할 수도 있다. 또한, 사람 유전자의 다양성으로 인해 편집 목표 부위에 여러 변이가 존재할 수도 있으므로 이러한 변이의 종류 및 빈도에 대해 기술하고, 이를 극복하기 위한 방법

을 고려해야 한다.

또한, 원하는 치료효과에 필요한 유전자 변형 정도(즉, 치료적 편집 임계값)는 적응증과 의도된 환자 집단에 따라 달라진다. 사람 유전자 편집을 접목한 치료제를 개발할 때 치료 편집 임계값(예: 편집 빈도, 편집된 세포 수)을 고려할 것을 권고한다.

3.1.3 유전자편집 구성요소의 전달방법

유전자편집 구성요소를 목적세포로 전달하기 위한 방법을 결정할 때, 각 방법들의 장점과 한계를 고려하는 것이 중요하다(예. 전달 벡터가 함유할 수 있는 핵산의 양, 표적화된 전달의 효율성, 유전자 편집 구성요소의 지속성 및 안정성). 유전자편집 구성요소(예. 핵산분해효소)의 지속성이 길수록 의도하지 않은 비표적 돌연변이 발생을 증가시킬 수 있는 위험성이 있다. 따라서 유전자편집 구성요소의 지속시간을 최소화하며 위험성에 대해 과학적으로 타당한 근거가 제시되어야 한다.

유전자 편집 구성 요소를 전달하는 방법은 유전자 편집 제품의 유형(생체 외/생체 내)에 따라 달라질 수 있다.

생체 외 유전자편집 제품은 신체 외부에서 세포의 변형을 유도한 다음 그 변형된 세포를 환자에게 투여하게 된다. 이 경우 세포에 전기천공 또는 기계적 방법을 사용할 수 있는데, 이 경우 유전자편집 구성요소는 CRISPR/Cas9 작용을 위하여 DNA, RNA, 단백질, 또는 리보핵산단백질(ribonucleoprotein, RNP) 형태로 전달될 수 있다. HDR이 복구 경로로 사용된다면 공여자 DNA 템플릿이 플라스미드로 공급되거나 아데노부속바이러스(Adeno-associated Virus, AAV)와 같은 바이러스 벡터를 사용하여 공급될 수 있다. 형질도입 또는 전기천공법에 따라 세포의 생존율이 달라지므로 최적의 전달방법을 고려해야 한다.

생체 내 유전자편집의 경우, 유전자편집 구성요소가 바이러스 벡터나 나노입자를 통해 전달될 수 있다. 생체 내 유전자편집을 위한 전달 방법을 선택할 때는 비표적 조직에 대한 분포를 최소화하는 것이 중요하다. 또한, 유전자편집 구성요소의 발현을 제어할 수 있는 능력(예. 조직 특이적 프로모터,

저분자 억제제의 사용)도 고려해야 한다. 바이러스 벡터는 유전자편집 구성요소 중 전이유전자(transgene)의 지속적인 발현을 유도하며, 나노입자는 메신저 RNA 또는 단백질로서 유전자편집 구성요소의 일시적 발현을 유도하므로 사용 용도에 적합한 전달 방법을 선택해야 한다. 또한, 유전자편집 구성요소와 벡터에 대한 기존의 면역성을 비롯하여 벡터 매개 독성의 잠재성도 고려하여 선택해야 한다. 또한, 표적 세포 또는 조직에 특이적으로 전달되는지에 대한 평가, 전체 세포 중 도입세포 수, 세포 당 도입된 벡터 카피 수 평가 등을 통해 전달방식이 적절한지를 평가해야 한다.

3.2 제조 및 품질관리 시 고려사항

3.2.1 유전자편집 구성요소의 설계

목표로 하는 유전자편집에 가장 적용 가능성이 높은 설계 플랫폼을 활용하여야 한다. 플랫폼의 설계 및 스크리닝 과정에 관한 설명 및 이론적 근거가 제시되어야 한다. 또한, 유전자편집 구성요소의 염기서열, 목표 부위에 대한 정보, 유전자편집 효소의 기원 종과 서열정보(예. NCBI no), 인지부위 및 절단부위에 대한 내용도 포함되어야 한다.

가능한 한 오프타겟 유전자편집 가능성을 낮추도록 유전자편집 구성요소를 최적화하고, 예를 들어 가이드 RNA와 같은 구성요소도 분해를 억제하기 위해 최적화할 수 있다.

3.2.2 특성분석

일반적인 유전자치료제에 요구되는 것과 동일하게 제품의 구조 및 생물학적 특징을 포함하여 전체 특성에 대해 심도 있는 특성분석이 필요하다. 제품의 형태(예. gRNA+단백질+전달체, 유전자편집도구를 발현하는 벡터, 유전자편집된 세포)에 따라 구성요소가 다르므로 각 구성요소를 고려하여 적절한 특성분석 항목을 포함해야 한다.

생체 내 유전자편집 제품의 경우 아래의 주요 항목을 포함하여 분석이 수행되어야 한다.

- 벡터의 유전자 서열

- 유전자편집 효소를 사용하는 경우 해당 효소의 일차, 이차 및 고차구조
- 플라스미드 벡터의 경우 순도, 형태(초나선, 선형, 열린 원형 등) 별 비율, 목적 산물의 발현
- 바이러스 벡터의 경우 복제가능성, 총 바이러스 입자 대 감염성 바이러스 입자 비율, 바이러스 벡터의 입자 크기 및 집합체(aggregate) 분석, 염색체 삽입 경향, 목적 산물의 발현, 감염 후 바이러스 방출
- 벡터와 함께 사용하는 화합물 기반 전달체의 전하, 입도분포
- 투여 후 예상되는 세포도입 양상(표적 세포/조직 특이적 전달, 전달효율, 세포 당 카피 수 등)
- 표적 돌연변이에 대한 분석
- 비표적 돌연변이에 대한 분석

생체 외에서 유전자편집된 세포의 경우 아래의 주요항목을 포함하여 분석이 수행되어야 한다.

- 유전자편집을 위해 사용하는 벡터에 대한 특성분석(위의 생체 내 유전자편집 의약품 특성분석 항목을 참고)
- 세포에 대한 특성분석(예. 세포 확인, 생존율, 표현형, 세포의 기능)
- 유전자편집 이후 세포의 성장 혹은 분화능
- 감염효율
- 도입유전자의 서열에 대한 분석
- 생체 외 배양 또는 분화 시의 유전적 안정성
- 감염된 세포의 벡터 카피 수
- 염색체 내 벡터의 삽입 경향
- 감염된 세포에서 바이러스 방출
- 복제불능바이러스 사용 시 복제가능바이러스 형성
- 유전자편집도구의 세포 내 지속기간
- 표적 돌연변이에 대한 분석
- 비표적 돌연변이에 대한 분석

3.2.2.1 표적 돌연변이 분석

유전자편집도구가 세포 내에서 표적 부위 유전자편집을 일으키는 양상과 비율에 대한 분석을 수행하여야 한다.

표적 부위에서 일어난 유전자편집 양상에 대해 의도한 변이뿐만 아니라 의도하지 않은 변이를 포함하여 분석이 필요하다. NHEJ로 인해 생성된 다양한 결과물 및 전위나 역위 등 염색체 수준의 변이 등을 포함하여 분석한다. 표적 부위 유전자편집 효율을 분석하기 위해서는 deep sequencing 등의 높은 민감도를 가진 분석법을 사용해야 한다.

3.2.2.2 비표적 돌연변이 분석

유전자편집도구는 비표적 돌연변이를 일으킬 수 있고 비표적 돌연변이 발생부위에 따라서는 위험한 결과를 야기할 수도 있기 때문에 비표적 돌연변이에 대한 심도 있는 분석이 필요하다.

비표적 돌연변이 분석에 사용된 전략, 시험법 및 그 타당성에 대한 설명이 필요하다. 비표적 돌연변이 분석전략은 염기서열의 유사도에 따른 *in silico* 분석 결과와 함께 실제 실험을 통한 분석 결과를 포함해야 한다. 실험을 통한 비표적 돌연변이 분석 시에는 서로 다른 원리를 가진 여러 방법을 조합하여 사용하는 것이 바람직하며 전체 유전자에 대해 편향 없이 분석하는 방법들을 포함하는 것이 바람직하다.

또한, [표 1]에 현재 개발된 비표적 돌연변이 분석법 중 일부를 소개했다. 비표적 돌연변이 분석법이 활발히 개발되고 있으므로 [표 1]을 참고로 하여 제품 개발 시 최신의 기술수준에 맞는 적절한 전략과 분석법을 사용해야 한다.

세포기반 분석법의 경우 세포에 따라 결과가 다르므로 전달효율이 높은 세포주, 목적세포, 줄기세포 등 여러 종류의 세포를 사용하여 분석하는 것이 바람직하다.

유전자편집도구가 서로 다른 개인에게 적용되는 경우에는 비표적 돌연변이의 차이의 가능성에 대해서도 고려가 필요하다.

도출된 각각의 비표적 돌연변이에 대해서는 생물학적 위험도 평가가 필요

하다. 세포 증식·분화·종양형성·발암억제 유전자 등과 관련된 부위에서 비표적 돌연변이가 나타날 경우 그에 대한 과학적인 타당성이 충분히 설명되지 않는다면 임상에 사용하기 적절하지 않을 것이다.

[표 1] 비표적 돌연변이 분석방법 구분 및 예시

in silico 분석법은 gRNA의 서열과 reference DNA 서열의 유사성을 각각의 알고리즘에 따라 분석하여 비표적 돌연변이 가능성이 높은 위치를 예측하는 방법이다.

DNA 기반 분석법은 gDNA 혹은 gDNA를 변형한 것(예. 원형화된 gDNA 라이브러리) 등을 유전자편집효소로 처리한 다음 DNA가 절단된 부위를 분석하는 방법이다. 이런 방법은 개별 환자로부터 추출한 DNA에서 비표적 돌연변이를 확인하는 용도로도 사용할 수 있다.

세포기반 분석법은 세포 내에 유전자편집도구를 전달한 다음 세포에서 일어나는 현상을 관찰할 수 있는 장점이 있으나 세포종류, 전달방법 등에 따라 민감도가 달라질 수 있다.

아래 방법들은 염기서열에 기반한 예측으로 인한 편향이 없는 방법이다.

구분	분석법	개요
DNA 기반 분석법	Digenome-seq	gDNA를 유전자편집도구로 처리한 다음 whole genome NGS 수행하여 절단부위 확인
	Circle-seq	gDNA를 조각내어 원형화시킨 다음 유전자편집도구를 처리하여 선형화된 DNA만 PCR 증폭 후 서열분석 수행
	SITE-seq	gDNA를 유전자편집도구로 처리한 다음 절단부위에 비오틴 및 어댑터를 결합시키고 해당부위를 선별, PCR 증폭 후 서열분석 수행
세포기반 분석법	GUIDE-seq	세포 내에서 이중나선 올리고DNA가 DNA 절단부위에 삽입되면 해당부위를 PCR로 증폭시킨 후 NGS로 분석
	LAM-HTGTS	유전자편집에 의한 염색체 재배열을 확인할 수 있는 방법
	BLESS	고정된 세포에 유전자편집도구를 처리하고 DNA 절단부위에 비오틴 링커를 결합시키고 이를 선별하여 PCR 증폭 후 서

	열분석
--	-----

[표 1] 비표적 돌연변이 분석방법 구분

3.2.3 유전자편집 구성요소의 제조 및 시험

• 유전자편집 구성요소의 제조

유전자편집 구성요소는 나노입자, 플라스미드 또는 바이러스 벡터를 사용하여 체내에 투여하거나 생체 외에서 세포를 변형시키는 데 사용될 수 있다.

각 유전자편집 구성요소의 제조, 정제 및 시험 방식에 대한 자세한 설명을 제시해야 한다. 각 유전자편집 구성요소의 제조공정 및 공정관리에 대한 설명에 공정흐름도와 자세한 서술을 포함하는 것을 권고한다. 이러한 공정 중에 사용된 시약의 목록과 분석증명서를 제공하여야 한다.

전체 제조방법, 원료관리, 공정 중 관리, 개발도중 제조방법 변경에 대한 사항 등을 기술해야 한다. 이러한 제품을 제조하기 위한 전 과정에 대해 각 단위공정 별로 사용된 시약, 용매, 기기 등의 정보, 공정과정에 대한 기술, 공정 중 관리항목이 포함된 표 형식으로 작성하고 제조공정도를 제출한다. 배치의 크기 및 생산 규모에 대한 정보도 기재한다.

• 유전자편집 구성요소의 원료관리

제조에 사용된 원료(출발물질, 세포배양배지, 성장인자, 시약, 컬럼수지 등)의 종류, 용도, 사용되는 공정, 품질관리 기준을 포함한 목록을 제출한다. 공정서 미수재 물질은 품질 및 관리에 대한 정보를 제출한다. 해당 물질이 제조에 사용하기 적합함을 증명하는 정보가 필요할 수도 있다.

제품을 제조하는데 사용되는 세포은행, 바이러스은행 등의 중요 원료들은 제품의 일관된 제조를 담보할 수 있도록 그 적합성에 대해 명확히 규명되어야 한다.

생체 내 유전자편집을 일으키는 의약품의 경우 해당 제품의 형태에 따라 유전자편집효소 제조에 사용되는 세포은행, 유전자편집효소 또는 가이드 RNA를 발현하는 벡터(플라스미드, 바이러스 등)의 제조에 사용되는 세포은행 또는 바이러스은행 등에 대해 수립, 검증, 보관에 대한 자료가 요구된다.

유전자편집된 세포의 경우에는 세포와 유전자편집도구 제조에 사용되는 세포은행 또는 바이러스 은행 각각에 대한 자료가 요구된다. 예를 들어 플라스미드를 도입하여 유전자편집된 세포 제품이 있다면 세포 및 플라스미드 각각에 대해 원료의약품에 요구되는 것과 마찬가지로 제조방법, 원료관리(세포은행 제조, 적합성 포함), 특성분석, 기준 및 시험방법, 안정성 등에 대한 자료가 제출되어야 한다.

- **유전자편집 구성요소의 규격**

각 유전자편집 구성요소의 기준규격 항목은 특성분석 결과를 바탕으로 도출하여 적절하게 시험하기를 권고한다. 각 구성요소의 확인, 순도, 역가 및 안전성 관련 항목(예. 무균, 엔도톡신) 등을 포함한 시험항목 및 기준 규격을 설정해야 한다. 또한 해당하는 경우, 공정 잔류물에 대한 시험이 제조 공정에 따라 포함되어야 한다. 분석방법의 민감성 및 특이성을 포함한 유전자편집 구성요소의 규격 시험에 활용되는 분석 절차에 관하여 설명하여야 한다. 의뢰자는 적절한 경우 구성요소의 품질을 보장하기 위해 수행된 모든 공정 중 시험을 개략적으로 설명해야 한다.

또한 유전자편집 구성요소의 안정성을 평가하는 것을 권고한다. 안정성 시험 계획과 안정성 결과 데이터가 제시되어야 한다. 안정성 시험은 모든 유전자편집 구성요소(예: 해당하는 경우, 동결건조 및 재구성 물질)에 관해 수행된다. 안정성 시험에는 보관 중 영향을 받을 수 있는 순도, 불순물 프로파일과 역가와 같이 주요한 제품 속성을 평가하는 안정성 시험이 포함되어야 한다.

3.2.4 완제의약품의 제조 및 시험

- **완제의약품의 제조**

완제의약품 제조공정 및 모든 공정 중 관리에 대한 자세한 설명과 제조공정 흐름도를 제출해야 한다. 최종적으로 멸균 처리할 수 없는 완제의약품의 경우, 무균성을 보장하기 위해 공정 중 무균성을 증명할 수 있는 자료를 제출해야 한다.

- **완제의약품의 규격**

완제의약품에 대해 확인, 순도, 역가 및 안전성 관련 항목(예. 무균, 엔도톡신, 복제가능바이러스 시험) 등을 포함한 시험항목 및 기준규격을 설정해야 한다. 시험항목은 제제학적으로 요구되는 시험항목을 포함하여 설정한다.

특히, 생체 외에서 유전자편집된 세포로 구성된 제품의 경우, 유전자편집 효율성(예. 온타겟 부위의 절단 정도) 및 특이성(예. 오프타겟 부위의 절단 정도)의 결정이 포함되어야 한다.

완제의약품의 규격 시험에 사용된 분석 절차를 자세히 설명해야 한다. 분석법의 정확성, 정밀성, 민감성 및 특이성을 비롯하여 적절한 분석 성능을 위해 사용된 모든 대조 물질과 참조 물질에 관한 설명이 포함되어야 한다.

제품의 안전성을 보장하기 위해 출발물질, 제조공정, 원하는 최종 제품의 속성, 비임상 시험에 기반하여 완제의약품 사양을 개발하여야 한다. 앞서 논의된 바와 같이, 완제의약품은 체내 투여 목적인 유전자편집 구성요소 또는 생체 외 변형된 세포로 구성될 수 있다. 다음은 이러한 유전자편집된 완제의약품 유형 각각의 특이적인 권고사항을 제시한다.

1) 생체 내(In vivo) 투여 유전자편집 완제의약품

유전자편집 구성요소가 플라스미드 또는 바이러스 벡터를 통해 환자의 체내에서 발현되는 경우, 최종 제제의 플라스미드/벡터는 완제의약품으로 간주되며, 따라서 플라스미드/벡터 제조 및 시험에 대한 전체 설명이 제시되어야 한다.

나노입자를 사용하여 유전자편집 구성요소를 투여하는 경우, 나노입자 제제에 관한 자세한 설명, 나노입자 성분을 비롯하여 완제의약품의 제조에 관한 설명이 제시되어야 한다. 각 나노입자 성분을 비롯하여 완제의약품에 대해 수행한 시험에 대한 설명도 제시되어야 한다. 이 시험에는 각 유전자편집 구성요소를 나노입자에 통합하는 효율성을 평가하기 위한 분석이 포함되어야 한다.

유전자편집 완제의약품에 대해 생체 내 역가 시험을 확립하는 경우, 유전자편집 구성요소가 표적 세포 또는 조직에서 목표하는 유전자의 변형 및 다

운스트림의 생물학적 변형을 측정할 수 있는 분석법을 개발하길 권고한다. 또한 완제의약품 안정성 시험에 이와 같은 역가 시험을 포함하는 것을 권고한다.

2) 생체 외(Ex vivo) 변형 유전자편집 완제의약품

생체 외 변형 유전자편집 완제의약품의 제조 공정에서 유전자편집의 효율성과 특이성에 영향을 미칠 수 있는 주요 공정 단계(예, CRISPR 매개 편집의 경우 RNP 형성 단계)에 적절한 공정 중 관리 및 시험을 설정하고 타당한 허용기준 또는 한계가 제시되어야 한다.

생체 외 변형 유전자편집 완제의약품 시험에는 다음의 평가가 포함되어야 한다.

- 표적 부위에서 발생하는 유전자편집의 특성 분석을 포함한 온타겟 편집 효율성
- 오프타겟 편집 빈도
- 염색체 재배열
- 잔류 유전자편집 구성요소
- 총 유전자편집된 세포의 수

또한 안전성 시험 항목으로 편집된 세포의 생존율, 생존농도 및 순도 등을 설정하는 것을 권고한다.

생체 외 변형 유전자편집 완제의약품에 대해 역가 시험을 확립하는 경우, 세포의 속성과 유전자편집으로 인한 유전자 변형의 의도한 기능적 결과를 측정하는 분석법을 개발하는 것을 권고한다. 예를 들어, 유전자편집된 CD34+ 조혈 줄기/전구세포 제품에 대한 역가 시험으로 유전자편집으로 인한 줄기/전구세포의 활성 및 기능적 결과를 측정하는 것을 권고한다. 몇몇 경우에는, 대체 역가 시험이 허용될 수도 있으나, 이 경우 제공된 데이터가 대체 역가 시험의 결과와 유전자편집의 기능적 결과 간의 상관관계를 뒷받침하는 것이 중요하다. 유의할 점은, 생체 외 변형 유전자편집 완제의약품의 제품 로트가 동종세포일 경우, 「첨단바이오의약품 안전 및 지원에 관한 규칙」 제31조제2항에 근거하여 공여자를 선별하고 추가적인 시험과 허용 기준의 마련이 필요

할 수 있다. 온/오프 타겟 부위 모두에서 발생하는 유전자편집에 대해 광범위한 분석, 추가적인 외래성 오염인자 부정시험, 동종 반응성 림프구 수에 대한 엄격한 허용기준 수립 및 이상증식 유무(즉, 완제의약품이 동종 T세포 제품인 경우) 역시 보증되어야 한다.

보다 복잡한 제품(예. 다중 주기의 유전자편집을 이용한 제품, 다양한 세포은행의 생성이 접목된 제품)에는 추가적인 공정시험, 로트 출하시험, 특성분석 시험이 필요할 수 있다.

4. 비임상시험에 대한 고려 사항

4.1. 유전자편집 치료제 비임상시험의 목적

유전자편집 치료제에 대한 비임상시험의 전반적인 목적은 다음과 같다.

- 1) 약리학적 활성을 나타내는 용량 범위 확인
- 2) 초기 임상 투여 용량, 용량 증량 계획, 투여 요법 제안
- 3) 임상 투여 경로의 실행 가능성 및 안전성 확인
- 4) 목표 환자집단에 대한 지원
- 5) 임상 모니터링과 위해성 완화 계획 수립에 관련된 잠재적 독성 및 생리학적 변수 확인

4.2. 유전자편집 치료제의 비임상시험 설계 시 고려 사항

비임상시험에 대한 일반적인 고려사항은 「유전자치료제 비임상시험 평가 가이드라인」을 참고하도록 한다.

- 비임상 개념증명 연구는 임상시험에서 유전자편집 치료제의 과학적 근거와 투여 가능성을 확립하기 위해 요구된다.
 - 시험관 내 시험: 목표 세포에서 시험약의 활성을 평가한다(예: 배양 세포, 조직, 조직 절편, 오가노이드 등).
 - 생체 내 시험: 동물 종 및/혹은 모델에서 시험약의 생물학적 반응을 평

가한다. 사람과 동물 간의 유전체 서열 차이를 고려하여 종 특이적인 대리 물질을 사용하여 수행할 수 있다.

- 비임상 안전성 연구는 유전자편집 치료제 투여와 관련된 잠재적 위해성을 평가할 수 있도록 설계되어야 한다. 잠재적 독성은 유전자편집 치료제의 전달 및 발현, 유전체 구조의 변형 및/혹은 유전자 산물의 발현과 관련이 있을 수 있다.
 - 안전성 평가에는 시험약에 의한 표적 및 비표적 편집, 염색체 이상, 생물학적 반응의 확인 및 평가가 포함되어야 한다.
 - 시험약의 생체 내 안전성을 평가하기 위한 시험에 가능한 한 임상시험의 계획된 요소(예: 용량 범위, 투여경로, 투여전달 기기, 투여 일정, 평가 변수, 동시 치료 등)를 포함하도록 한다. 잠재적인 국소 및 전신 독성, 발병 시기(급성/지연) 및 회복, 용량 수준이 이러한 작용에 미치는 영향을 확인하고 특성화, 정량화할 수 있도록 설계하여야 한다.
- 생체분포 연구에서 유전자편집 치료제의 분포, 지속 및 소실, 유전자 편집 치료제 구성요소의 생체 내 발현, 표적 및 비표적 조직에서의 편집 활성, 의도하지 않은 생식세포 편집 가능성을 평가하여야 한다. 이러한 시험은 효력 및/혹은 독성시험의 일부로 수행할 수 있다.

4.3. 특별 고려사항

1) 비임상시험용 제품

- 임상시험을 목적으로 하는 유전자편집 치료제는 최종 개념 증명 및 안전성 연구를 수행하여야 한다.
- 사람과 동물 간의 유전체 서열 차이로 인해 시험약을 투여하는 것이 의미가 없는 경우, 개념증명 및/또는 안전성 연구에서 대리물질(예: 유전자 편집 치료제 구성요소, 프로모터 및 표적유전자를 포함한 사람 특이적 요소들을 관련 종-특이적인 요소들로 대체)의 사용을 고려할 수 있다. 이 경우, 대리물질 사용에 대한 과학적 타당성과 시험약과 대리물질 간의 생물

학적 관련성이 제시되어야 한다.

- 생체 외 유전자편집 제품의 경우 임상시험에서 사용할 세포와 동일한 기원/유형의 세포에서 비임상 시험을 수행하여야 한다. 만약, 기원/유형이 다른 세포를 사용하는 경우 과학적인 타당성이 제시되어야 한다.
- 비임상 시험에 사용되는 시험약의 로트는 제품 개발 단계를 고려하여 적절한 기준에 따라 특성을 분석한다. 추후 재분석이 요구되는 경우를 고려하여 적절한 수의 비임상 로트 샘플을 보관할 것이 권고된다.

2) 유효성 평가

유전자편집 치료제의 활성 평가 시 고려할 사항은 다음과 같다.

- 표적 및 비표적 세포에서 편집의 특이성과 효율
- 편집되거나 발현된 유전자 산물(예: 단백질, RNA)의 기능성
- 의도한 생물학적 활성 혹은 치료 효과를 달성하기 위한 편집 효율
- 유전자편집의 지속성 및 관련 생물학적 반응

3) 안전성 평가

유전자편집 치료제의 위해성을 평가하기 위해 종합적인 안전성 연구가 수행되어야 하며 다음의 사항을 포함하여야 한다.

- 유형, 빈도, 위치 정보를 포함한 표적 및 비표적 편집 평가
 - 잠재적인 비표적 부위 확인 시 편향을 줄이기 위한 유전체 분석이 권장되며 다양한 방법(예: in silico, 생화학적, 세포 기반 분석법)을 사용하도록 한다. 가능한 경우, 여러 기증자의 세포에서 분석을 수행할 것을 권고한다. 생체 내 유전자편집 제품의 경우 편집이 확인되는 주요 세포 유형을 시험에 포함하여야 한다.
 - 비표적 부위 검증은 낮은 빈도로 발생하는 유전자 편집도 검출할 수 있도록 충분히 민감한 분석법을 사용하여야 한다. 생체 외 유전자편집 제품의 경우 여러 기증자에서 제조한 최종 임상시험용 제품을 분석해야 한다. 생체 내 유전자편집 제품의 경우 편집이 확인되는 주요 세포 유형

을 시험에 포함하여야 한다.

- 적절한 대조군은 분석방법의 품질, 결과의 해석 및 사용 용도에 대한 적합성을 확인하는데 도움이 될 수 있다.
- 염색체 이상, 삽입 또는 결실, 잠재적인 종양원성 또는 삽입 돌연변이를 포함하는 유전체 안정성 평가. 유전자가 편집된 세포의 클론성 증식 및/혹은 비정상적인 증식에 대한 평가를 포함함.
- 표적 및 비표적 부위 편집과 관련한 생물학적 평가는 세포 생존 및 기능(즉, 전구세포 분화능)에 국한되지 않음.
- 유전자편집 치료제 구성요소 및 발현된 유전자의 면역원성 평가

5. 임상시험에 대한 고려사항

유전자편집 치료제의 임상시험에서 치료제 자체의 위해성뿐 아니라 투여 시점에서 확인할 수 없는 비-표적 편집 및 표적 편집에 따른 의도되지 않은 결과를 포함한 추가적인 위해성뿐만 아니라 유전자 치료제 자체와 관련된 위해성도 평가할 것이 권장된다. 임상시험 설계 시 시험 대상자군, 자료 기반의 용량설정, 투여 일정 및 치료 계획을 포함한 효율적이며 안전한 투여방법, 안전성 모니터링, 안전성 및 유효성 평가변수를 적절히 포함하여야 한다. 추가로, 임상시험에 포함되어 유전자 편집 치료제를 투여받은 대상자들의 안전성을 평가하기 위한 장기추적을 수행할 것을 권장한다. 일반적으로 전체 임상시험 설계, 이상반응 평가, 대상자 추적 관찰 계획이 임상시험계획서에 잘 기술되어 있어야 한다. 전반적인 고려사항은 「세포·유전자치료제의 초기 임상시험 디자인 가이드라인」을 참고하도록 한다.

5.1. 시험 대상자

시험 대상자에 대한 잠재적 위해성을 최소화하고 최대의 유익성을 얻기 위한 적절한 시험 대상자군을 선택하여야 한다. 이때, 제품의 작용기전과 시험의 타당성에 기반하여 선택하여야 하며 제품의 잠재적 위해성과의 균형도 고

려하도록 한다. 유전자 편집 치료제는 중대한 위해성이 있을 수 있고 잠재적 유익성이 불확실할 수 있다. 따라서 사람을 대상으로 하는 최초의 임상시험은 가능한 치료 방법이 없거나 치료를 받을 수 없는 대상자를 등록하도록 한다. 시험 대상자 집단을 결정할 때 고려해야 할 사항은 다음과 같다.

- 특정 질병과 관련된 제품의 작용기전
- 치료로 기대되는 효과의 지속기간과 크기
- 대상 집단에 대한 대체 치료법의 가용성, 안전성, 내약성 및 효과
- 중증 또는 진행성 질병을 앓고 있는 환자는 임상시험용 유전자 편집 치료제의 잠재적 위험성을 감수하려는 경향이 있을 수 있다. 그러나 이러한 대상자들은 더 많은 이상반응을 경험할 가능성이 있거나 동시에 다른 치료를 받고 있을 수 있어 안전성 혹은 유효성 평가 자료의 해석이 어려울 수 있다. 따라서, 덜 진행되거나 더 중증도의 질병을 가진 대상자를 최초 임상시험에 포함하는 것이 적절할 수 있다.

5.2. 용량 및 투여 일정

안전하고 효과적인 투여 방법을 선택하는 것은 투여 과정에서 발생할 수 있는 잠재적 이상반응을 최소화하는데 중요하다. 투여 방법과 투여 일정은 종합적인 비임상 결과에 기반하여야 설정되어야 하며 유전자편집 여부와 상관없이 세포 유전자치료를 포함한 유사 치료제의 이전 임상시험 결과를 참고할 수 있다.

5.3. 치료 계획

유전자편집 치료제와 관련된 위험을 완화하기 위해 시험 대상자를 단계적으로 등록하고 코호트 내 및 코호트 간 시차적 투여를 실시할 것을 권고한다. 최초의 사람 대상 임상시험에서 대상자 간 투여 간격은 다음 대상자 투여 전 혹은 용량증량 전 급성 및 아급성 이상반응을 관찰하기에 충분한 기간이어야 하며 제품의 활성이 지속되는 기간도 고려하여야 한다.

코호트의 규모는 환자 집단의 크기와 해당 시험군에서 수용 가능한 위험 정도에 따라 달라지며 내약성, 타당성, 약리적 활성 또한 고려하여야 한다.

5.4. 모니터링 및 추적 관찰

1) 제품과 관련된 이상반응 평가

유전자 편집 치료제의 임상시험을 평가하기 위해 잘 정의된 독성 등급 체계, 독성 관리 계획과 함께 철저한 안전성 모니터링 전략이 필수적이다. 비표적 부위 편집에 대한 적절한 모니터링과 비임상 시험에서 예상된 비표적 부위 편집에 의한 영향, 표적 부위 편집으로 인한 의도하지 않은 영향에 대한 평가가 필요하다. 추가적으로 비정상적인 세포 및 염색체의 변화, 면역원성, 종양원성에 대한 모니터링이 수행되어야 한다. 제품과 관련된 이상반응 모니터링, 독성 등급 및 관리 계획은 임상시험 계획서에 기술되어 있어야 한다. 임상시험에 관한 추가적인 사항은 「의약품 등의 안전에 관한 규칙」 중 「별표 4」 의약품 임상시험 관리기준」을 참고하도록 한다.

2) 장기추적관찰

임상시험 등록에 앞서 장기추적조사에 대한 시험 대상자들의 자발적인 동의가 필요하다. 앞서 논의된 바와 같이 유전자 편집 치료제의 투여 시점에는 표적 부위 편집의 장기 안전성 및 치료 효과, 비표적 부위 편집, 표적 부위에서 의도하지 않은 편집의 영향이 알려져 있지 않을 수 있어 「첨단바이오의약품의 장기추적조사 가이드라인」에 따라 제품 투여 후 최대 15년 동안 장기추적관찰을 수행할 것을 권고한다.

5.5 평가변수

임상시험의 평가변수는 적응증에 기반하여야 한다. 효력시험에서 일차 유효성 평가변수는 유전자 편집 치료제가 환자의 증상, 기능성 또는 생존에 미치는 임상적 유의성을 반영할 수 있어야 한다. 초기 임상시험에서 얻은 정보는 후기 임상시험의 일차 평가변수를 선정하는데 도움이 될 수 있다.

5.6. 소아 대상 연구의 특별 고려사항

가능하다면 임상시험의 절차와 위험을 이해하고 동의할 수 있는 대상자를 모집하여야 한다. 소아를 대상으로 하는 임상시험이 최소한의 위험을 넘어서는 경우 임상시험심사위원회(IRB)는 임상적 유익성이 이러한 위험을 정당화할 수 있는지 검토하여야 한다. 이러한 직접적인 유익성은 성인대상 임상시험 혹은 적절한 비임상시험에서 얻은 증거에 기반하여야 한다. 따라서, 성인을 초기 코호트로 등록하여 안전성, 타당성, 생물학적 활성, 예비 유효성 결과를 얻는 것이 중요하다. 유익성-위해성 평가에 기반하여 소아 대상자 등록이 타당한 경우, 청소년을 먼저 등록한 후 어린이와 유아를 등록하도록 해야 한다.

의견조사회용

6. 참고자료

1. 식약처 연구과제보고서: 유전자 가위 기술을 이용한 치료제 평가 기반 마련 조사 연구
2. Shim *et al.*, Therapeutic gene editing: delivery and regulatory perspectives, *Acta Pharmacologica Sinica* 2017;38:739-753
3. Zischewski *et al.*, Detection of on-target and off-target mutations generated by CRISPR/Cas9 and other sequence-specific nucleases, *Biotechnology Advances* 2017;35(1):95-104
4. Scott and Zhang, Implications of human genetic variation in CRISPR-based therapeutic genome editing, *Nature Medicine* 2017; 23(9):1095-1101
5. Lessard *et al.*, Human genetic variation alters CRISPR-Cas9 on- and off-targeting specificity at therapeutically implicated loci, *PNAS* 2017;114(52):E11257-E11266
6. EMA, Guideline on quality, non-clinical and clinical aspects of medicinal products containing genetically modified cells(draft), 2018
7. Cox D.B., et al. Therapeutic genome editing: prospects and challenges. *Nature Medicine*, 2015. 21(2):121-131.
8. Chemistry, Manufacturing, and Control (CMC) Information for Human Gene Therapy Investigational New Drug Applications (INDs); Guidance for Industry, January 2020
9. Contract Manufacturing Arrangements for Drugs: Quality Agreements; Guidance for Industry, November 2016
10. Guidance for Industry: Potency Tests for Cellular and Gene Therapy Products, January 2011
11. Human Gene Therapy Products Incorporating Human Genome Editing Draft Guidance for Industry, March 2022



유전자편집기술을 이용한 유전자치료제의 품질, 비임상 및 임상 평가 가이드라인

발행일 2024년 12월

발행인 강석연

편집위원장 최영주

편집위원 왕소영 백대현 강진욱 백정희 홍영기 이가영 박동현
유혜선 이재린 문명숙 허혜련 최진실 안난영 홍지희
이소연

발행처 식품의약품안전평가원 바이오생약심사부
세포유전자치료제과



식품의약품안전처

식품의약품안전평가원