



생활 속 작은 실천, 모이면 청림사회

세포치료제 세포은행 평가 가이드라인 (민원인 안내서)

(Guideline For Cell Bank Evaluation
of Cell Therapy Products)

2023. 10.



식품의약품안전처

식품의약품안전평가원

바이오생약심사부 세포유전자치료제과

이 안내서는 세포치료제 세포은행 평가에 대하여 알기 쉽게 설명하거나 식품의약품안전처의 입장을 기술한 것입니다.

본 안내서는 대외적으로 법적 효력을 가지는 것이 아니므로 본문의 기술방식('~하여야 한다' 등)에도 불구하고 민원인 여러분께서 반드시 준수하셔야 하는 사항이 아님을 알려드립니다. 또한, 본 안내서는 2023년 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 대내외적으로 법령 또는 행정규칙 등을 알기 쉽게 설명하거나 특정 민원업무에 대한 식품의약품안전처의 대외적인 입장을 기술하는 것(식품의약품안전처 지침서 등의 관리에 관한 규정 제2조)

※ 본 가이드라인에 대한 의견이나 문의사항이 있을 경우 식품의약품안전평가원 바이오생약심사부 세포유전자치료제과로 문의하시기 바랍니다.

전화번호: 043-719-3539, 3547

팩스번호: 043-719-3530

지침서 · 안내서 제 · 개정 점검표

명칭

세포치료제 세포은행 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.		
2023 년 10 월 31 일		
담당자 확 인(부서장)		안 난 영 최 미 라

제·개정 이력

연번	제·개정번호	승인일자	주요내용
1	안내서-1141-01	2021.8.31.	가이드라인 제정
2	안내서-1141-02	2023.10.31	세포은행 구축 예외사항 명시 및 세포은행 평가 항목 표를 현행화하여 개정

목 차

1. 서론	1
2. 적용범위	2
3. 세포치료제의 세포은행 구축	2
3.1. 세포은행 구축 과정	4
3.2. 세포은행 구축 시 고려사항	4
4. 세포은행 특성 분석	6
4.1. 세포의 확인	7
4.2. 세포의 안정성	8
4.3. 유전적 안정성	9
4.4. 외래성 오염인자 부정시험	9
4.4.1. 바이러스	10
4.4.2. 세균, 진균, 마이코플라스마 외	10
4.4.3. 해면상뇌증 인자	11
4.5. 세포은행 특성 분석을 위한 시험 요약	12
5. 예외사항	14
6. 참고문헌	16

1. 서 론

첨단바이오향품은 살아있는 세포, 조직, 또는 유전자 등을 이용하여 개발되는 치료제로서 희귀 난치성 질환 등 기존 의약품으로는 치료가 어려운 질환의 치료제로 기대받고 있다. 하지만 기증자로부터 얻어지는 살아있는 세포 또는 조직을 이용하여 생산이 이루어지므로 세포의 기원, 출처를 명확하게 확인할 수 있어야 한다. 또한 세포은행 확립, 세포은행의 특성 분석, 품질 관리 등 세포은행이 첨단바이오향품의 제조에 적합함을 입증할 수 있는 자료를 충분히 확보하여야 한다.

첨단바이오향품 중 세포치료제의 경우 원료로서의 적합성을 평가하기 위하여 기증자의 병력조사, 혈액검사, 미생물학적 검사 등의 자료를 확보하여야 하며, 초기의 안전성 평가 자료, 세포은행 확립 과정과 특성분석, 안정성 시험 등에 관한 정보를 확보하여야 한다.

이 가이드라인은 「첨단바이오향품의 품목허가·심사 규정」 제14조 및 제15조 중, ‘세포은행 구축’에 관한 고려사항을 상세히 제시하고자 마련하였다. 이 가이드라인의 목적은 고품질의 세포치료제를 제조하고 효과적인 품질관리를 위하여 세포은행 특성의 이해 및 일련의 과정에 대한 적절한 관리를 위한 원칙을 제시하고 있다.

이 가이드라인에서 제시되는 세포은행 관리 사항 이외에 제품의 특성에 따라서 추가적인 고려사항이 있을 수 있다.

2. 적용 범위

이 가이드라인은 주성분이 사람유래 세포인 세포치료제 및 유전자 치료제의 세포은행¹⁾에 적용한다. 세포치료제 제조 시 사용하는 배양보조세포의 세포은행 및 유전자치료제의 도입유전자 발현용 벡터 제조 시 사용하는 세포은행의 평가에 대해서는 ‘생물의약품 생산에 사용되는 세포기질 관리 가이드라인’을 참고한다.

3. 세포치료제의 세포은행 구축

세포치료제 생산에 있어 세포은행 구축의 장점은 각 생산 배치에 대하여 특성이 결정된 공통된 출발물질인 세포은행을 제조하여 사용함으로써 완제의약품 품질의 일관성을 기대할 수 있다는 것이다. 세포치료제를 제조하려는 자는 자신만의 고유한 세포은행을 만들거나 외부로부터 이미 확립된 세포은행을 얻을 수도 있다. 세포치료제를 제조하려는 자는 각 세포은행의 관리를 위해 특성 분석을 실시하고 이에 대한 적절성을 입증할 수 있어야 한다.

세포치료제는 백신, 유전자재조합의약품 등 다른 생물의약품과는 다르게 배양된 세포가 완제의약품으로서 사람에게 투여된다. 이에 따라 원료로 사용되는 세포 또는 조직은 일반적으로 기증자의 동의하에 채취하며, 기증자에 대한 기증자 적합성 평가를 수행하여야 하고, 채취 이후부터 세포은행을 구축하기까지 모든 처리-배양-보관 과정은 ‘인체세포등 관리업자의 준수사항’(「첨단바이오횜의약품 안전 및 지원에 관한 규칙」 제31조)

1) 세포은행이란 특성이 규명된 세포를 동일한 조건에서 배양하여 얻은 균질한 세포를 여러 개의 용기에 같은 양으로 분주하고 정해진 조건에서 보관하는 것을 말한다. (첨단바이오횜의약품의 품목허가·심사규정 제2조)

또는 ‘의약품 제조 및 품질관리기준(GMP)’(「인체세포등 및 첨단바이오의약품의 허가 및 안전 등에 관한 규정」 제5조)에 적합하게 수행하여야 한다. 현재까지 개발된 세포치료제에는 체세포치료제, 성체줄기세포치료제 및 배아줄기세포 유래 세포치료제 등이 있다.

체세포치료제 및 성체줄기세포 유래 치료제는 기증자로부터 조직 또는 세포를 채취할 때 단일 세포군으로 구성되어 있지 않고, 제조 과정에서 단일 세포군을 이루는 경우가 많다. 따라서, 체세포 또는 성체줄기세포 유래 세포치료제를 제조하려는 자는 분리 배양 시 목적으로 하는 세포(이하 목적세포)의 특성을 반드시 확인하여야 하며 확인된 세포가 세포은행을 설정할 때까지 그 특성을 유지하는 지를 확인하여야 한다. 또한, 세포은행 구축 시 목적세포 이외의 세포 혼입을 확인할 수 있는 시험 항목을 설정하여 세포은행의 순도가 유지됨을 확인할 수 있어야 한다.

체세포 및 성체줄기세포의 경우 채취할 수 있는 원료물질의 양이 제한적이기 때문에 세포은행을 자주 변경하여야 하는 상황이 발생할 수 있다. 이 경우 기증자 별로 채취되어 생산되는 세포들 간 [세포은행, 완제의약품(또는 생산종결세포)]에 동등한 특성을 지니고 있음을 확인할 수 있는 시험법들을 설정하고, 관리하여야 한다.

배아줄기세포 유래 세포치료제의 경우 체세포 또는 성체줄기세포의 세포은행 구축과는 다르게 단일 세포군을 이루고 있는 상태에서 제품화가 이루어지는 경우가 많다. 이에 따라 제품의 목표하는 특성에 따라 배아줄기세포은행 또는 분화된 세포로 구성된 세포은행을 구축할 수 있다. 배아줄기세포은행의 경우, 미분화된 세포에 대한 분석 및 전분화능을 입증할 수 있는 분화능에 대한 특성분석(예, 삼배엽 분화) 시험이 필요할 수 있다. 분화된 세포로 구성된 세포은행의 경우에는 미분화된 세포가 포함되어 있지 않음을 입증할 수 있는 특성분석(예, 미분화 마커 잔류 확인) 시험을 포함하여야 한다.

위와 같이 각 세포치료제 세포 기원에 따라 혼입된 세포, 분화 효율

등의 특정 항목에 대한 세포은행 관리가 필요할 수 있고, 직접 분화 등 다양한 방법을 이용한 세포치료제를 개발할 수 있으므로 해당 원료 세포의 특성을 잘 파악하여 세포은행을 구축 및 관리하는 것이 필요하다.

3.1. 세포은행 구축 과정

일반적으로 세포치료제를 생산하는데 사용되는 생산세포를 공급하기 위한 가장 유용한 방법으로 마스터 세포은행(Master Cell Bank, MCB)과 제조용 세포은행(Working Cell Bank, WCB)을 생산에 이용하는 2 단계 세포은행 시스템으로 구축하는 것을 권장한다. 하나 이상의 마스터 세포은행 바이알을 확대 배양하여 제조용 세포은행을 만든다. 구축한 세포은행을 이용하여 완제의약품을 생산하고, 이 완제의약품이 자사 품질관리 기준에 적합한 경우 해당 세포은행을 사용하여 완제의약품을 제조한다.

일반적인 세포은행에서는 마스터 세포은행과 제조용 세포은행의 배양 성분, 배양조건 등이 같은 경우가 있으나 일부 줄기세포치료제 등 분화 과정이 포함된 세포치료제의 경우에는 배양성분, 배양조건 등에서 서로 다를 수 있다는 점을 유의하여 관리하여야 한다. 만약 세포은행 변경 시 배양 조건 등 생산 공정의 변화가 제품의 품질에 영향을 준다면, 새롭게 마스터 세포은행 및 제조용 세포은행을 구축하고 관리하여야 한다. 마스터 세포은행이 교체 되는 경우에는 특성분석을 통하여 동등 수준 이상을 유지함을 확인하여야 한다.

3.2. 세포은행 관리 시 고려사항

세포은행을 관리하는 목적은 오염된 세포은행이 생산에 사용되는 것을 막고, 오염으로 인하여 세포은행을 다시 제조하여야 할 때 소요되는 시간이나 제품 공급에 있어서의 차질 등의 손실을 피하기 위해서이다. 이를 위해서

아래와 같은 사항을 문서로 갖추고 세포은행을 관리하여야 한다.

사용한 세포은행 시스템의 유형, 세포은행의 규모, 용기(바이알, 앰플 등), 밀봉 수단, 동결 보존을 위해 사용한 성분 등을 포함한 세포은행 제조 시 사용한 방법, 냉동보존(cryopreservation)과 저장 조건 등을 기술하여야 한다. 미생물 오염이나 제조소에 존재할 수 있는 다른 유형의 세포에 의한 교차오염(cross contamination)을 피하기 위한 방법과 제조된 세포은행을 추적할 수 있는 방법을 기록하여야 한다. 이를 위하여 저장, 보관, 회수 과정 동안 용기 표시 정보가 손실되지 않도록 견딜 수 있는 표시 및 기록 체계에 대해서도 기술하여야 한다.

세포를 하나로 모아 저장배지에 현탁시킨 후 멸균한 용기에 소분하여 밀봉하고 적절한 조건 하에 저장하는데, 세포은행을 제조할 때 최종 배양된 세포는 동결보호제를 포함한 저장액에 현탁하여 정해진 관리 조건(또는 장비) 하에 소분, 밀봉하여 초저온 냉동고, 액체질소나 기체 상태의 질소 탱크 등 극저온 시설로 옮겨서 보관한다. 세포은행은 세포 종류에 따라 저장과 보관에 다양한 방법을 사용할 수 있으나 제품 생산 시 기준에 적합한 세포 생존율(cell viability) 및 품질을 유지할 수 있도록 관리하여야 한다.

세포치료제의 품질을 유지하기 위해서는 재난 등 각종 위기 상황에서 부터 세포은행을 보호할 수 있는 방안을 마련할 것을 권고한다. 제조소의 화재, 정전 등 다양한 위기 상황에서 세포은행의 소실을 막기 위하여 다음과 같은 예방조치 계획을 제시하여야 한다. 예를 들면, 세포은행 용기(바이알 등)를 여러 개의 동결보관소에 나누어서 보관하거나(일부 마스터 세포은행과 제조용 세포은행의 보관을 격리된 장소에서 나누어 보관하는 것 등), 예비 전력(자가발전 등)의 사용, 보관설비에 자동 액체질소 충전 체계를 사용할 때는 보조 액체질소 충전기 설치 등을 포함한다.

In vitro(생체 외) 계대배양 횟수는 하나 또는 그 이상의 마스터 세포 바이알을 녹이는 시점으로부터 시작할 수 있다. 세포은행에서의 세포 수명은

“세포 수 증식수준(population doubling level)”에 의거하여 측정하여야 하며, 노화가 일어나는 세포수의 증식수준도 측정하여야 한다.

4. 세포은행 특성 분석

세포치료제의 세포은행 특성 분석은 안전성·유효성 관리에 필수적인 요소이다. 일반적으로 다른 조직으로부터 혼입된 세포, 외래성 오염인자, 내인성 인자 등과 같은 마스터 세포은행의 특성분석의 결과로 세포은행을 평가할 수 있다. 이러한 시험의 목적은 세포치료제 제조를 위한 원료인 세포은행의 확인, 순도 및 제조 목적상의 적합성을 입증하기 위한 것이다.

세포은행의 특성을 확인하기 위한 시험 항목들은 원료세포의 생물학적 특성(예, 성장 요구조건), 배양 이력(예, 사람 및 동물 유래 시약의 사용 포함) 및 허용 가능한 시험 방법에 따라 다양한 시험법을 설정할 수 있다. 세포은행의 특성분석 방법 및 시험 기준의 설정은 제조과정 후반 단계에서 일상적으로 수행하는 시험의 종류나 수준에 영향을 줄 수 있다. 세포치료제를 제조하려는 자는 각각의 마스터 세포은행에 대하여 확인, 외래성 오염인자 부정시험을 실시하여야 하며 세포배양 동안의 안정성시험을 실시하여야 한다. 또한 각각의 제조용 세포은행에 대하여 외래성 오염인자 부정시험과 필요한 확인시험을 실시하여야 한다. 시험항목(예, *in vivo* 외래성 바이러스 부정시험)에 따라서는 세포은행을 추가 배양하여 필요한 검체량을 확보하여 시험할 수 있다. 이 경우, 추가 배양 단계의 타당성에 대해 충분히 고찰해야 한다.

다만 동종세포 기반 유전자치료제의 경우는 세포은행 설정 시 그 특성에 따라 복제 가능한 바이러스 등 필요한 항목을 추가하여 관리하여야 한다. 추가적으로 관리하여야 하는 시험 항목들은 규제기관과 논의하여 결정한다.

4.1. 세포의 확인

세포은행으로 제조된 세포의 확인(identity)을 위하여 적절한 시험을 수행하여야 하며, 다른 시험과 연계한 형태학적 분석(morphological analysis)을 유용하게 사용할 수 있다. 세포치료제의 경우 개개의 세포에 대한 기증자 출처를 구분하기 위해 염색체 핵형분석(Karyotyping), 단편 일렬반복(Short Tandem Repeats, STR), Genomic Dinucleotide Repeats 등 유전체 다형화 형태(Genomic Polymorphism Pattern)를 확인하는 시험법을 적용할 수 있다. 이 외에도 고유의 지표 염색체를 검출하는 염색체 핵형분석 제한효소 단편 다형화(Restriction Fragment Length Polymorphism) 등도 가능하다. 이들 시험법은 최종 완제의약품의 보완적인 확인시험으로서 사용할 수 있다. 세포은행으로 제조된 세포의 특이적인 프로파일을 얻기 위해 DNA 프로파일링과 같은 유전적 시험(단편일렬반복 분석 등), 조직 적합성 항원(HLA typing) 시험 등을 사용할 수 있다.

또한 세포은행 제조에 사용된 세포가 사용 목적에 맞는 특성임을 확인할 수 있는 지표와 시험방법을 설정하여야 한다. 이러한 시험방법에는 형태학적 특징, 세포 표면 표현형 마커, 특정 유전자 발현 수준, 특정 단백질 분비량 등을 확인하는 항목 등으로 설정할 수 있다.

세포은행 제조 시 다른 세포에 의한 오염으로 목적세포의 순도(purity)가 저하될 수 있다. 세포은행 제조과정 중 다른 세포 또는 배치에 의한 교차 오염(cross contamination)의 가능성이 있었는지에 따라 수행할 시험을 선택하여야 한다. 어떤 경우에는 동일 공간에서 다른 세포를 취급 또는 배양할 수도 있고, 세포은행 제조과정에 있어서 개방된 환경에서의 조작을 포함하는 경우가 있을 수 있다. 이러한 경우 교차 오염을 막기 위해 하나 이상의 세포 또는 배치들을 동시에 개봉하여 조작하는 것을

피하도록 주의하여야 한다. 특정 세포를 증식배양하거나, 하나로 모으거나, 또는 소분하는 것과 같은 제조과정(처리과정 또는 제조 공정)이 폐쇄적인 체계로 이루어지지 않는 경우, 만약 동일 공간에 동시에 다른 세포가 존재하였다면 그때마다 세포의 교차오염 여부를 확인할 수 있는 시험을 수행하여야 한다.

4.2. 세포의 안정성

냉동보관 시 세포은행의 안정성 확보는 성공적인 세포은행 시스템 확립의 필수요건이다. 세포은행의 안정성 평가를 위해서는 형태적인 특성, 성장특성, 생화학적 지표, 면역학적 지표, 완제의약품의 생산성 또는 기타 적절한 유전형이나 표현형 지표 등을 사용하여 평가하여야 한다. 예를 들어 세포은행과 완제의약품 세포의 특성이 동일할 때에는 완제의약품의 기준 및 시험방법에서 설정된 확인, 순도, 역가 항목 등을 이용하여 설정할 수 있다.

일반적으로 유효기한이 설정되지 않은 세포은행의 안정성은 세포은행 으로부터 제품을 생산하는 동안에 입증한다. 해동한 후 세포생존율을 측정하여 세포은행이 완제의약품 생산에 사용 가능한지를 확인하여야 한다. 세포은행의 안정성을 평가하기 위한 계획도 제출하여야 한다. 장기간 임상시험용 의약품 생산을 하지 않을 경우에도 생산에 사용되는 세포은행에 대한 세포 생존율 시험을 안정성 시험 계획에 따라 수행하여야 한다.

성장특성의 변화는 세포 배양 시 발생하는 다양한 문제 발생의 징후로 볼 수 있기 때문에 제조 공정의 일관성을 보장하기 위하여 제조 공정 개발 시 생산 세포의 성장특성(Growth Characteristics)을 충분히 이해하여야 한다. 세포의 성장특성에 관련된 활성, 형태, 세포 증식에 소요되는 시간 등에 관한 자료를 축적하여야 하고, 이를 보장하기 위한 시험이 필요할 수 있다.

4.3. 유전적 안정성

세포치료제의 경우 체외 배양에 따른 유전자의 변이가 나타날 우려가 있을 수 있고, 특히 줄기세포의 경우 유전자의 변이에 따른 종양원성이 발생할 수 있는 가능성이 존재하고, 현재까지 유전적 변이가 나타나는 원인이 밝혀지지 않았기 때문에 세포의 염색체 특성 분석을 통한 유전적 안정성은 반드시 확인하여야 한다.

사람 이배체세포(Diploid Cell)는 정상 사람 이배체 핵형을 포함하므로, 정상 세포의 특성을 유지한다는 점에서 핵형분석, CGH(Comparative Genomic Hybridization) 등과 같은 시험을 통한 유전적 안정성에 대한 확인이 필요하다. 새로 만든 이배체세포나 이전에 특성 분석을 충분히 하지 않은 이배체세포인 경우 마스터 세포은행에서 검체를 취하여 예정 생산 계대 배양 수준 또는 그 이상까지 연속 배양하면서 적절한 간격으로 전반적인 세포유전학적 특성을 평가하여야 한다.

4.4. 외래성 오염인자 부정시험

많은 세포치료제 생산 시스템에서 다양한 세포들을 사용하기 때문에, 마이코플라스마 또는 바이러스와 같은 미생물 오염인자 및 해면상뇌증인자(Transmissible Spongiform Encephalopathy, TSE)에 의해 오염될 수 있으므로 철저한 관리가 필요하다. 일부 동물 세포는 레트로바이러스 같은 내인성 인자를 함유하고 발현하기도 한다. 세포치료제 생산에 적합한 세포은행을 확보하기 위해서는 마스터 세포은행, 제조용 세포은행, 생산종결 세포를 포함하여 세포치료제 제조 단계에서 각종 외래성 오염인자 부정시험을 수행하여야 한다. 시험방법의 선정 및 실시 주기와 관련해서는 규제기관과 논의가 필요할 수도 있다.

4.4.1. 바이러스

세포은행 제조를 위한 세포에 존재할 가능성이 있는 특정 바이러스를 고려하여 세포은행의 바이러스 부정시험 전략을 수립하여야 한다. 생산세포의 유래가 되는 조직, 그리고 기증자의 병력 등을 고려하여야 한다. 또한 원료세포 채취부터 세포은행, 완제의약품 제조에 이르기까지 사용된 모든 동물 및 사람유래 원료(원료 제조에 사용되는 물질 포함)와 작업자 등 작업 환경에 의한 바이러스 오염 가능성을 종합적으로 고려하여야 한다. 세포에 존재할 가능성이 있는 내인성(endogenous) 또는 외인성(exogenous) 바이러스를 검출하고 가능한 경우 동정시험을 실시하여야 한다. 해당 세포에서 불현성 감염(inapparent infection)을 유발시켜 검출이 어려운 것으로 알려진 바이러스(예, 아데노바이러스, EBV)의 시험에 특히 주의를 기울여야 한다. 바이러스 안전성에 관하여는 ICH 가이드라인(Viral Safety Evaluation of Biotechnology Products Derived From Cell Lines of Human or Animal Origin Q5A(R1))과 ‘생물의약품 외래성바이러스 부정시험 가이드라인’을 참고할 수 있다.

4.4.2. 세균, 진균, 마이코플라스마 외

세포 배양 과정에서 가장 일반적으로 발생하는 오염은 바이러스성 오염이 아닌 미생물에 의한 오염이다. 미생물은 환경, 물건, 사람을 통해 쉽게 도입되며, 빠르게 증식하고 질병을 유발할 수 있다. 세포치료제 생산에 사용되는 원료인 세포는 세균, 진균, 마이코플라스마(mycoplasma), 스피로플라스마(spiroplasma, 식물유래 물질 등에 노출된 세포인 경우), 결핵균 등 감염성 미생물에 오염되지 않았음을 확인하여야 한다. 결과의 위양성을 피하기 위하여 적절한 청정실 조건의 무균 환경에서 시험을 실시하며 시험에 사용할 시약의 사전 적격성 평가 계획과 위양성 결과 발생 시의 반복 시험 필요성 등에 관한 방침을 시험 계획에 포함시켜야 한다.

무균시험은 대한민국 약전 등 각종 공정서나 ‘생물학적제제 기준 및 시험방법(식품의약품안전처 고시)’ 등을 따른다.

마스터 세포은행과 제조용 세포은행에 대해서는 마이코플라스마 부정시험을 실시하여야 한다. 현행 마이코플라스마 부정시험 역시 대한민국 약전 등 공정서나 ‘생물학적제제 기준 및 시험방법(식품의약품안전처 고시)’ 등에 기술되어 있는 배양기반 방법으로 시험하는 것을 권고한다. 마이코플라스마 검출시험법으로는 배양법(한천 및 액체 배지 시험방법)과 주로 Vero 세포주를 지표세포로 사용하는 DNA 염색법(indicator cell culture procedure)이 있다. 양성대조로 사용하는 균주에는 배양법에서는 일반적으로 *Mycoplasma pneumoniae* 및 *M. orale*를 사용하고, DNA 염색법에서는 *M. orale* 및 *M. hyorhinis*를 사용한다.

결핵균(*Mycobacterium tuberculosis*) 부정시험을 실시할 경우에도 공정서나 ‘생물학적제제 기준 및 시험방법(식품의약품안전처 고시)’ 등에 기술되어 있는 배양기반 방법으로 시험하는 것을 권고한다. 검체와 함께 적절한 양성 대조 시험을 동시에 실시하여 결핵균 증식을 확인한다. BCG 같은 적합한 결핵균 균주를 스파이크 접종하여 검사 대상 검액이 있는 상태에서 배지의 성장 촉진성을 확인하여야 한다. 배양 기간 말기에 검체 접종 배지에서 결핵균 증식이 관찰되지 않고, 양성 대조와 스파이크 대조에서 증식이 나타나면 시험에 적합하다고 볼 수 있다.

4.4.3. 해면상뇌증(Transmissible Spongiform Encephalopathies; TSE) 인자

세포치료제 제조에 사용되는 반추동물 유래 물질에 해면상뇌증(TSE) 유발 인자가 존재하지 않음을 확인하여야 한다. 현재는 감수성 종을 감염시키는 방법 이외에 해면상뇌증 인자를 시험할 수 있는 검증된 방법이 없으며, 이 방법도 배양 기간이 매우 길어 적용하기 어렵다. 이외 분자생물학적

검출시험법 등이 고안되었으나 해면상뇌증 인자 검출성능 특성은 확립되지 않았다. 그러므로 지금까지 해면상뇌증 인자 위해 경감을 위한 전략은 감염 위험이 매우 낮을 것으로 확신하는 국가에서 원료를 구입하거나 동물유래 원료 물질 등을 동물 유래가 아닌 것으로 대체하는 것이다. 반추동물 유래 물질의 효과적인 대체물이 있다면, 이를 세포치료제 제조 공정에 사용하도록 권장한다.

세포치료제를 제조하려는 자는 기록서를 구비하여 제조에 사용된 반추동물 성분의 출처를 확인하고 각 반추동물 성분도 최종 제품의 어떤 배치 생산에 사용되었는지 확인할 수 있어야 한다. 마스터 세포은행과 제조용 세포은행의 개발 및 생산에 사용된 성분과 세포 자체의 수립에 사용된 성분도 동일한 방식으로 관리하여야 한다. 이러한 추적성(traceability)의 확보는 사용한 물질 및 생산세포에 해면상뇌증인자 감염성 위험이 있다는 새로운 과학적 연구 결과가 나오거나 제품의 사용과 변형 크로이츠펔트-야콥병(vCJD) 사이에 연관이 있는 경우에 적절한 규제 조치를 내리는데 매우 중요하다.

4.5. 세포은행 특성분석을 위한 시험 요약

세포치료제 생산에 사용할 생산세포의 평가 및 특성 분석에 권장되는 시험 방법을 표에서 정리하였다. 생산세포가 특정 첨단바이오의약품의 제조에 사용된다는 점을 감안하여, 각각의 시험을 검토하고 특정 생산세포에 적용할지 결정한다. 또한, 시험 시점도 타당하게 설정할 필요가 있다. 시험전략을 규제기관과 미리 협의하여야 할 경우도 있다. 덧붙여 줄기세포치료제의 경우 반복적인 체외 계대배양에 따른 유전적 안정성, 종양원성 등 다양한 위험을 내포하고 있기 때문에 이러한 시험 항목들은 반드시 수행하는 것이 필요하다. 세포치료제의 원료세포의 특성(제한적 증식능 등)상 시험항목을 제한적으로 설정하여야 하는 경우에는 규제기관과의 협의를 통해 시험 범위를 조절하는 것이 필요할 수 있다.

표. 세포은행의 특성분석(예시)

시험항목	시험대상		
	MCB	WCB	EOPC
세포확인 (확인(Identity), 순도(purity), 역가(potency))	+	+	+
안정성(Stability)	+	—	—
세포형태(Morphology)	+	+	+
성장특성(Growth characteristic)	+	+	+
유전적 안정성(Genetic Stability)	+	+	+
무균(Sterility)			
세균, 진균	+	+	—
마이코플라즈마/스피로플라즈마	+	+	—
마이코박테리아	(+)	(+)	(+)
외래성 오염인자(Adventitious agent)			
생체 외 시험(<i>In vitro</i> assay)	+	+	+
생체 내 시험(<i>In vivo</i> assay)	+	—	+ ¹⁾
소 유래 바이러스(Bovine Viruses)	(+)	—	(+) ¹⁾
돼지 유래 바이러스(Porcine Viruses)	(+)	—	(+) ¹⁾
레트로바이러스(Retroviruses)	+		+ ¹⁾
사람 유래 바이러스 시험(Tests for human viruses) (ex. HBV, HCV, HIV-1/2, HAV, HHV-6/7/8, EBV, HTLV-1/2, HCMV, Human parvovirus B19, HPV, human adenovirus 등)	+	—	+ ¹⁾
종양형성능(Tumorigenicity) *	—	—	(+)
<p>MCB: 마스터세포은행, WCB: 제조용세포은행, EOPC: 제품생산을 위해 배양되는 수준 이상으로 배양된 세포 (+) : 필요한 경우 시험 1) : 품목허가 신청 시 제출하여야 하는 자료 * 종양형성능: 새로운 세포주일 경우 실시</p> <p>소 유래 바이러스: 세포은행 제조 시 소 유래 물질을 사용하는 경우 실시 돼지 유래 바이러스: 세포은행 제조 시 돼지 유래 물질을 사용하는 경우 실시</p> <p>※ 제조방법, 특성 등에 따라 제품별 검토</p>			

5. 예외사항

「첨단바이오의약품의 품목허가·심사규정」 제14조제3항나목에 따라 자가유래 세포치료제를 제외한 모든 세포치료제는 타당한 사유가 없는 한 세포은행을 설정하여야 한다. 그러나, 동종세포치료제 중 1인의 기증자로부터 제조되어 1인의 환자에게 투여되는 경우에는 세포은행을 설정할 필요가 없다.

한편, 일부 원료세포(예, 초대세포(primary cells))의 경우 제외 세포 연령한도(*in vitro* cell age) 또는 한정된 증식능으로 인해 구축할 수 있는 세포은행 및 완제의약품의 제조규모에 제한이 생겨 잦은 주기로 세포은행을 변경해야 하는 경우가 발생할 수 있다. 이 같은 경우 제품 특성을 고려한 세포은행 미설정 사유 및 세포은행을 설정하지 않고도 제품의 안전성 및 일관성이 확보될 수 있다는 합리적 사유와 과학적 근거 등이 제출되어 타당성이 인정된다면 세포은행을 설정하지 않을 수 있다.

세포은행 대신 세포원액(cell stock)²⁾으로 설정할 시에는 변경에 대해서 밸리데이션 계획서에 포함하여 관리³⁾해야 한다. 또한, 세포원액도 안전성 확보 측면에서 세포은행에 준하여 관리해야 할 필요성이 있으며 ‘표. 세포은행 특성분석(예시)’을 참고하여 시험항목을 설정할 수 있다. 세포원액으로 관리하는 것의 타당성이 인정되기 위해서는 기증자간 동등성 평가 기준 및 세포원액 품질관리 기준의 적절성, 세포원액 변경에 따른 제품의 품질 및 안전성·유효성이 유지됨을 확인할 수 있는 결과 등이 필요하다. 한편, 임상시험 단계에서 새로운 기증자에 따른 세포원액 변경 시에는 동등성 및 제조

2) 세포원액(cell stock)이란 세포기반 의약품 생산을 위한 출발물질로서, 일정 수의 세포로 증식시키고 분액하여 만든 제한된 로트 수의 세포이다. (Guidelines on Good Manufacturing Practice specific to Advanced Therapy Medicinal Products, EMA, 2017)

3) 세포치료제는 한정된 계대수에서 생성된 세포 원액(cell stock)으로부터 만들어진다. 마스터 및 제조용 세포은행의 두 단계 시스템의 경우와는 달리, 세포원액으로부터의 생산 횟수는 세포원액을 배양확장한 다음 얻어진 분할한 세포 액의 개수에 따라 결정되고, 이는 제품 전주기에 사용할 수는 없다. 세포치료제에 있어서의 세포 원액(cell stock)의 변경은 밸리데이션 계획서에 포함되어야 한다. (의약품 제조 및 품질관리에 관한 규정 [별표2])

일관성 등의 확인을 위해 사전에 변경 승인을 받는 것이 필요하다. 세포은행을 설정하지 않고 관리하고자 하는 경우 타당성 및 관리계획 등에 대해서는 사전에 규제기관과 협의를 하도록 한다.

6. 참고문헌

1. 첨단바이오의약품의 품목허가·심사규정
2. Characterization and Qualification of Cell Substrates and Other Biological Materials Used in the Production of Viral Vaccines for Infectious Disease Indications, GFI, OCOD, 2010.
3. Viral Safety Evaluation of Biotechnology Products Derived From Cell Lines of Human or Animal Origin, ICH Q5A, 1999.
4. Derivation and Characterization of Cell Substrates Used for Production of Biotechnological/Biological Products, ICH, Q5D, 1997
5. Cell Substrates For The Production Of Vaccines For Human use, EP 9.0
6. 생물 의약품 생산에 사용되는 세포기질 관리 가이드라인, 식품의약품안전처, 2010
7. EMA EudraLex Volume 4, Guidelines on Good Manufacturing Practice specific to Advanced Therapy Medicinal Products, EMA, 2017
8. 첨단바이오의약품 제조 및 품질관리기준 가이드라인, 식품의약품안전처, 2020
9. 임상시험용의약품의 품질 가이드라인, 식품의약품안전처, 2023
10. Recommendations for the Evaluation of Animal Cell Cultures as Substrates for the Manufacture of Biological Medicinal Products and for the Characterization of Cell Banks, WHO, 2013
11. Chemistry, Manufacturing, and Control (CMC) Information for Human Gene Therapy Investigational New Drug Applications (INDs), GFI, OCOD, 2020



세포치료제 세포은행 평가 가이드라인

발 행 일 2023년 10월

발 행 인 박윤주

편집위원장 최영주

편 집 위 원 (세포유전자치료제과)

최미라 백대현 강진욱 최경숙 박정연 백정희
정은용 이가영 박동현 유혜선 이재린 안난영
홍영기 류정임 이주영

발 행 처 식품의약품안전평가원 바이오생약심사부
세포유전자치료제과



식품의약품안전처

식품의약품안전평가원