

청렴한 식약처 국민 안심의 시작

**인유두종바이러스 백신의  
허가·심사 가이드라인[안][민원인 안내서]**

**Guidance on Authorization and Evaluation of  
Humanpapillomavirus Vaccines**

**2017. 11. (예정)**



**바이오생약심사부 생물제제과**

## 제·개정 이력서

인유두종바이러스 백신의 허가·심사 가이드라인(안)(민원인 안내서)

연번	제·개정번호	승인일자	주요내용
1	안내서-0000-00	2017. 11. 00.	제정

## 지침서·안내서 제·개정 점검표

명칭

인유두종바이러스 백신의 허가·심사 가이드라인(안)(민원인 안내서)

아래에 해당하는 사항에 체크하여 주시기 바랍니다.

<b>등록대상 여부</b>	<input type="checkbox"/> 이미 등록된 지침서·안내서 중 동일·유사한 내용의 지침서·안내서가 있습니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	☞ 상기 질문에 '예'라고 답하신 경우 기존의 지침서·안내서의 개정을 우선적으로 고려하시기 바랍니다. 그럼에도 불구하고 동 지침서·안내서의 제정이 필요한 경우 그 사유를 아래에 기재해 주시기 바랍니다. (사유 : _____)	
	<input type="checkbox"/> 법령(법·시행령·시행규칙) 또는 행정규칙(고시·훈령·예규)의 내용을 단순 편집 또는 나열한 것입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 단순한 사실을 대외적으로 알리는 공고의 내용입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 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.		
<b>지침서·안내서 구분</b>	<input type="checkbox"/> 내부적으로 행정사무의 통일을 기하기 위하여 반복적으로 행정사무의 세부기준이나 절차를 제시하는 것입니까? (공무원용)	<input type="checkbox"/> 예(☞ <b>지침서</b> ) <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(☞ <b>안내서</b> ) <input type="checkbox"/> 아니오
<b>기타 확인 사항</b>	<input type="checkbox"/> 상위 법령을 일탈하여 새로운 규제를 신설·강화하거나 민원인을 구속하는 내용이 있습니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	☞ 상기 질문에 '예'라고 답하신 경우 상위법령 일탈 내용을 삭제하시고 지침서·안내서 제·개정 절차를 진행하시기 바랍니다.	
상기 사항에 대하여 확인하였음.		
2017 년    11 월    00 일		
담당자 확 인(부서장)		오상연 백선영

이 안내서는 인유두종바이러스 백신의 허가심사에 대한 식품의약품안전처의 입장을 기술한 것입니다.

본 안내서는 대외적으로 법적 효력을 가지는 것이 아니므로 본문의 기술 방식(‘~하여야 한다’ 등)에도 불구하고 민원인 여러분께서 반드시 준수하셔야 하는 사항이 아님을 알려드립니다. 또한 본 안내서는 2017년 11월 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 고시·훈령·예규 등을 알기 쉽게 풀어서 설명하거나 특정한 사안에 대하여 식품의약품안전처의 입장을 기술하는 것(식품의약품안전처 지침서등의 관리에 관한 규정 제2조)

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

전화번호 : 043-719-3469

팩스번호 : 043-719-3450

# 목 차

I. 서론 .....	1
1. 목적 .....	1
2. 적용 범위 .....	1
II. 일반적 고려사항 .....	2
III. 제조 및 품질 .....	12
1. 정의 .....	12
2. 제조 관련 공통 권고사항 .....	13
3. 기원 물질 관리 .....	14
IV. 재조합 HPV VLP 백신의 비임상 평가 .....	39
1. 제품 특성 분석 및 공정 개발 .....	39
2. 약리학 시험 .....	39
3. 독성 시험 .....	40
V. 재조합 HPV VLP 백신의 임상 평가 .....	42
1. 서론 .....	42
2. 면역학적 데이터 .....	43
3. 바이러스학적 데이터 .....	51
4. 조직학적 데이터 .....	54
5. 다른 환경에서 백신의 유효성 평가 .....	55
6. 교차 방어 .....	58
7. 안전성 .....	59
8. 허가 후 평가 .....	60
VI. 맺음말 .....	62
VII. 참고문헌 .....	63

# I. 서론

## 1. 목적

본 가이드라인은 인유두종바이러스(Human Papilloma Virus; HPV) 백신의 제조와 품질평가, 비임상(독성 및 약리) 및 임상시험의 수행에 필요한 권고사항을 제공하여 동 백신에 대한 안전성과 유효성을 확보하는 데 그 목적이 있다.

## 2. 적용 범위

본 가이드라인은 하나 이상 HPV 유형의 L1 캡시드 단백질을 함유한 재조합 HPV 바이러스유사입자(Virus Like Particle; VLP) 예방 백신을 대상으로 한다. L2 캡시드 단백질을 항원으로 하는 백신은 적절한 혈청학적 분석 방법이 아직 표준화되지 않았고, 임상 사례도 없기 때문에 이 문서의 적용대상이 아니며, 비-VLP 백신(예; 다른 형태의 아단위 백신, 벡터형 백신, L1 캡소머)과 개발 초기 단계인 치료용 HPV 백신도 이 가이드라인의 적용 대상이 아니다. 하지만 일부 관련성이 있는 부분은 백신 개발 시에 참고할 수 있다.

본 가이드라인과 함께 「생물의약품 비임상시험 가이드라인」(식품의약품안전처 민원인안내서)(1)과 「백신 임상평가 가이드라인」(식품의약품안전처 민원인안내서)(2) 등 다른 관련 가이드라인도 참고하여야 하며, 또한 생물학적 제제의 제조에 사용되는 동물 세포 및 세포 은행의 특성 분석을 위한 가이드라인과 백신 면역증강제와 면역증강제 함유 백신의 비임상 평가 가이드라인 등도 같이 참고하여야 한다.

## II. 일반적 고려사항

HPV는 하나의 바이러스가 아니며, Papillomaviridae 과의 밀접한 연관성이 있는 작고 외피가 없는 DNA 바이러스 그룹이다. 원형의 이중 나선 바이러스 유전체는 길이가 약 8 kb이며, 이 유전체는 바이러스 복제를 담당하는 6개의 초기 단백질(L1) 코딩 서열과 바이러스 캡시드 구조 단백질인 2개 후기 단백질(L2)을 인코딩한다.

L1은 중요한 구조 단백질로 서로 결합하여 캡소머(capsomer)라 부르는 오량체 구조(pentameric structure)를 형성한다(3). 성숙한 바이러스 입자는 72개 캡소머로 구성된 20면체의 대칭 구조이며, 성숙 바이러스 입자 당 최대 72개 분자의 캡시드 단백질 L2가 존재한다(4). L2는 입자 형성에 필요하지 않지만, 유전체를 단백질막으로 감싸는데 중요한 역할을 한다. HPV 감염, 복제, 입자 성숙은 점막과 피부 중층 편평 상피에서 일어난다(5).

190개가 넘는 다양한 종류의 HPV가 확인되었고 분자수준의 특성 분석이 수행되었다(6). 이들 HPV는 양성 사마귀부터 암까지(자궁경부, 질, 외음부, 음경, 항문, 구강 인두) 인체에서 다양한 상피 질환을 유발한다. 자궁경부암 발생과 관련이 있는 HPV 유형은 발암원성이 높은 HPV 유형(고위험군)으로 간주되며, 생식기 사마귀 발생과 관련이 있는 6형과 11형 등 다른 HPV 유형은 발암원성이 낮은 HPV 유형(저위험군)으로 간주된다.

대부분의 HPV 감염은 증상이 없고, 증식이 제한적이며, 숙주의 면역 반응에 따라 자연스럽게 해결된다. 하지만, 드물게 HPV 감염이 지속되기도 한다. 고위험군 HPV의 경우, 감염이 지속되고 이를 적절하게 치료하지 않으면, 감염 부위에서 침윤성 암종으로 진행될 가능성이 있다. HPV 감염부터 악성(침윤성) 종양으로의 진행 기간은 일반적으로 최소 10년이다. 고위험군의 HPV 유형은 거의 모든 자궁경부암에서 검출되므로, 바이러스 감염 지속이 암 발생의 충분조건은 아니지만 필수조건이라는 점이 과학적으로 인정되고 있다(7, 8).

침윤성 암종 진행에 대해서는 아직 충분히 이해되지 못한 상태이나, 환경학적, 생리학적 보조 인자들(예: 출산 경력, 호르몬 피임제 사용, 흡연 등)이 지속적 감염 상태인 사람의 암 발생 위험을 증가시킬 수도 있으며(9-11), 뚜렷한 위험 요인이 없는 지속 감염 상태의 사람에서도 자궁경부암이 발생하기도 한다.

국제암연구소(International Agency for Research on Cancer; IARC)는 인체 암 발생과 관련된 고위험 HPV 12가지 유형으로 정의하고(HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59(그룹 1)), 또 다른 유형의 HPV를 발암 가능성이 있는 것으로 규정했다(HPV 68(그룹 2A))(8). HPV 66은 과거에 발암원성으로 분류했었지만, 최근의 연구에서 종양발생과의 연관성이 매우 낮은 것으로 나타났다.

현재 인체 종양 발생 가능성이 있다고 생각되는 일부 HPV 유형(그룹 2B)에 대한 추가 확보 자료에 의하면, 전부는 아니더라도 일부는 보다 높은 종양 발생 가능성이 있는 HPV 유형으로 분류될 수도 있다(12). 암 환자에서 이와 같은 HPV 유형의 분포와 유병률은 세계적으로 대부분 유사하며, 고위험 HPV 가운데 2개(HPV 16, 18)가 전 세계 자궁경부암의 약 70%를 유발한다(8).

대다수 항문암도 HPV 지속 감염과 관련이 있으며, HPV 16은 자궁경부암보다(약 50%) HPV 양성 항문암의 유발 비율이 더 큰 것으로 나타났다(90%). 또한 고위험군의 HPV는 질, 외음부, 음경, 구강 인두 부위 암의 상당 부분 관련이 있다.

HPV와 관련된 암 중에서 자궁경부암의 발생 비율이 다른 암보다 상당히 높으며, 자궁경부암은 15세부터 44세 여성에서 발생하는 암 가운데 2번째로 빈도가 높다.

저위험군의 HPV는 생식기 사마귀, 재발성 호흡기 유두종증(recurrent respiratory papillomatosis; RRP), 그리고 낮은 등급의 자궁경부이형성을 유발하며, 생식기 사마귀는 남성과 여성 모두에서 발생할 수 있다. 생식기 사마귀의 발생 관련 자료가 충분하지는 않지만, 선진국의 경우에 다른 성적 전파 감염증과 유사한 패턴을 보이며, 특히 젊은층(15-24세)에서 가장 많이 발생하며(13). 악성은 아니지만 신체적/심리적으로 문제가 되고, 치료가 어려울 수도 있다. RRP는 드물기는 하지만 굉장히 증상이 심한 재발성 질병으로, 양성 후두 종양으로 인한 기도 폐쇄를 막기 위해서는, 이를 자주 제거해야만 한다. HPV 6형과 11형은 생식기 사마귀와 RRP의 90% 이상을 유발하며, 낮은 등급의 자궁경부이형성의 9-12%를 차지한다.

HPV 같은 바이러스 인자를 중요 질병 원인으로 규정한다는 것은, 그 바이러스 인자에 대한 예방 백신이나 감염차단 기술로 관련 질병을 예방할 수 있다는 것을 의미한다. 동물을 대상으로 한 초기 연구에서, 종 특이적으로 인유두종바이러스 백신 접종 시에 면역 반응이 유도되고 동일한 바이러스 공격 시에 예방 효과가 나타나는 것으로 밝혀졌다. 하지



만 야생형 인유두종바이러스는 일반적인 세포 배양 조건에서 증식되지 않으므로 백신 개발에 적합하지 않다.

이후 연구에서는 효모나 곤충 세포 등 이중 발현 시스템에서 L1 단백질이 생산되며, 스스로 결합하여 VLP를 형성하는 것으로 확인되었다. 이 VLP는 형태학적으로 HPV 바이러스와 매우 유사하나 바이러스 DNA를 포함하지는 않는 것으로, 동물에서의 동일 바이러스 고함량 공격시험으로 예방 효과를 확인하였다(14, 15).

HPV VLP는 마우스와 토끼에서 면역원성이 우수하며, 그에 따라 형성된 항체는 슈도비리온(pseudovirion) 중화 시험 시에 각 유형별로 제한적인 중화효과를 보였다. 변성 VLP를 이용한 동물 시험에서는 중화 항체가 생산되지 않았고, 바이러스 공격 시에 예방 효과를 보이지 않아, 중화 항원결정부위(에피토프)는 구조 의존성이 있음을 알 수 있었다.

동물에서 혈청 항체의 수동 면역으로 예방 효과가 증명되어(14-16), 중화 항체가 예방 효과의 일차적인 역할을 하는 것으로 생각된다. 세포 매개성 면역(cell-mediated immunity; CMI)을 필요로 하는 HPV 병소의 퇴화가 VLP 접종 이후에 관찰되지 않아, 세포 매개성 면역이 직접적으로 예방 기전에 관여하는 것으로 생각되지는 않는다(17). HPV에 대한 체액성 면역 반응을 평가하기 위해 개발된 특이적 분석 방법으로는 VLP 기반 EIA(enzyme immunoassay), 표지된 중화 단클론 항체를 이용한 경쟁적 면역 분석 방법, 슈도비리온 기반 중화 분석 방법이 있다(18).

여러 국가에서 허가를 받은 첫 2개 HPV L1 백신의 사용 경험이 늘어났고, 2개 가운데 1개 제품은 HPV 유형을 추가한 제품으로 발전하였다. 이들 백신 제품은 재조합 단백질 L1 VLP로 구성되며, L1 VLP의 면역원성 강화를 위해 면역보조제를 함유한다. 근육 주사 방식으로 투여하며, 항원으로 포함된 HPV L1 단백질의 종류, 생산에 사용되는 기질, 면역보조제의 특징, 최종 조성 등에서 제품 사이에 차이가 있으며, 다음과 같은 3가지의 백신이 있다.

- 재조합 바큇로바이러스(baculovirus)에 감염된 곤충 세포에서 발현되고 정제된 L1 단백질이 스스로 결합된 HPV 16, 18 VLP를 함유하는 2가 백신: 수산화알루미늄과 MPL(monophosphoryl lipid A)을 함유하는 새로운 면역보조제인 AS04를 포함하여 제조하고, 1회 투여 용량에 각 유형별 20 µg의 VLP가 들어 있다.

- L1 발현 플라스미드를 함유한 *Saccharomyces cerevisiae*에서 발현하고 정제한 L1 단백질이 스스로 결합된 HPV 6, 11, 16, 18 VLP를 함유하는 4가 백신: 수산화알루미늄 비결정인산황산염 면역보조제를 포함하여 제조하고, 1회 투여 용량에 20 µg의 HPV 6, 18 VLP와 40 µg의 HPV 11, 16 VLP가 들어 있다.
- 4가 백신(HPV 6, 11, 16, 18)에 5개의 종양원성 HPV 유형(HPV 31, 33, 45, 52, 58)을 추가로 함유하는 백신: 4가 백신과 동일한 방식으로 제조하며 동일한 면역보조제를 함유한다.

제조합 바콜로바이러스를 곤충 세포에 감염시키고 발현해 만든 2가 백신은, 이와 같은 숙주 발현 시스템을 이용해 개발된 최초의 백신이었으며, 다른 새로운 발현 시스템(예; *Escherichia coli*, *Pichia yeast*)을 이용하여 백신을 개발 할 수도 있다. 새로운 세포 기질을 이용하여 백신을 생산하게 될 경우, 동 세포기질에 대한 시험 시에는 일부 새로운 요구사항이 있을 수 있다. 다가 백신은, 동 백신을 구성하는 VLP 유형별로 각각 생산하고 정제한 다음, 각 단가원액을 혼합하여 최종 제품으로 제조되어야 한다. 자연 상태의 L1 단백질은 당화되지 않고(19), 현재 시판되고 있는 백신에서도 VLP를 당화시키는 발현 시스템을 사용하지 않고 있어, 당화가 중요한 고려사항은 아닌 것으로 생각된다. 번역(translation) 이후 당화가 없는 다른 발현 시스템(예; *Escherichia coli* 발현 시스템)을 사용할 수도 있다.

항원보다는 안정제 역할을 하는 다른 제조합 단백질(예; L2)이 L1 VLP에 포함될 수 있다(26)(20). 숙주에서 중화 항체 반응을 유도하기 위해서는, L1 VLP의 입체적 항원 결정 부위(conformational epitope)가 필요한데, L1 VLP들이 캡소머로 해체되고 VLP로 결합되는 것은 VLP의 정제 과정에서 발생하고, 그에 따라 보다 안정적인 VLP가 만들어질 수 있다.

정제 L1 VLP의 생화학적, 면역학적 특성 분석을 실시하여, L1 농도, 순도, 번역(translation) 이후 변형 및 조립 상태를 파악할 필요가 있다. L1 VLP는 생산 세포의 핵산을 다양한 정도로 포함하고 있으므로, VLP에 포함된 잔류 숙주 세포 DNA의 양을 분석할 필요가 있으며, 그 양은 설정한 기준에 적합하여야 한다.

16-26세 여성을 대상으로 수행한 이중 맹검 유효성 임상 시험(백신 미접종군을 대조군으로 적용; 즉, HPV에 대한 예방 효과가 전혀 없는 다른 백신이나 위약을 투여한 군) 결

과를 토대로, 2가 백신과 4가 백신이 허가되었다. 3상 임상 시험 시의 일차 평가변수는, 악성 병변으로의 진행 위험에 대한 대리변수로서 특정 HPV 유형에 의한 전암 상피 변화의 조직학적 검출 결과를 기반으로 정하였다(CIN2-3(cervical intraepithelial neoplasia grades 2 or 3), AIS(adenocarcinoma in situ)).

2차 평가변수로 6개월 또는 12개월 시점까지 HPV 유형별로 지속 감염을 평가하였다. 백신에 노출된 적이 없는 16-26세 여성에서 일차 유효성이 증명되었으며, 남성과 여성(9-15세)에서는 면역원성과 안전성 자료가 16-26세 여성에서의 유효성 결과를 이 집단에 적용시키는 가교적 근거가 되었다. 자궁경부암 전암 병변에 대한 안전성과 유효성이 입증되었고, 이 결과를 바탕으로 WHO에서는 9세(또는 10세)에서 13세까지의 여성(즉, 성적 활동이 시작되어 HPV에 노출되기 이전 단계)을 우선 접종 대상으로 권고하였다(5).

처음에는 3회 투여 방법(0, 1-2개월, 6개월)으로 허가되었으며, 이후 15-25세 여성의 3회 투여 일정과 비교하여 면역 반응의 비열등성 평가 결과에 근거해 9-14세 여성에 대한 2가 백신의 2회 투여 방법(0, 6-12개월)과 16-26세 여성의 표준적인 3회 투여 일정과의 비교평가를 통해 9-14세 여성에 대한 4가 백신 및 9가 백신의 2회 투여 방법(0, 6-12개월)으로 용법·용량을 변경 허가하였으며, WHO에서는 9-14세 여성에 대하여 두 백신의 2회 투여 방법을 권고했다(5).

9가 백신은 4가 백신(6, 11, 16, 18)에 5개 HPV(31, 33, 45, 52, 58)를 추가로 함유한 것이다. L1 발현 플라스미드를 함유한 *Saccharomyces cerevisiae*에서 L1 단백질을 발현하고 정제하여 총 9개 HPV VLP를 제조한다. 추가 HPV 유형에 대한 유효성 증명(복합 조직학적 변수 사용)과 4가 백신의 4개 HPV 유형에 대한 임상 유효성 데이터와의 면역반응을 비교하여, 이 9가 백신이 허가되었다.

현재 판매되는 HPV 백신은 바이알이나 프리필드 시린지(보존제 미첨가)로 제조된다. 앞으로 다회 투여 용량 백신 바이알 제품이 나온다면, 개발 도상 국가의 소아와 청소년에 대해 혁신적인 예방 접종 전략으로 채택될 수 있을 것이다. 백신 제품에 보존제가 함유되지 않으면, 용해하여 투여하는 백신들인 BCG(*Bacillus Calmette-Guerin*) 백신과 홍역백신들처럼 사용시간에 제약이 있다(21). 보존제를 첨가한다면, 항원성과 면역원성에 미칠 영향을 평가하여, 보존제가 면역 반응에 영향이 없음을 확인해야 하며, 백신 제조 시에 많이 사용되는 보존제인 유기수은계 화합물인 치메로살은, HPV 16 L1 VLP의 중요 중화

항원 결정 부위(에피토프)를 파괴하는 것으로 밝혀졌다(22).

현재는 근육 주사로 투여하고 있으나, 주사침을 사용하지 않고 예방 접종을 하는 새로운 투여 경로(예; 비강, 피부, 경구 등)로의 투여방법들이 연구되고 있다. 이러한 경우, 비 임상 시험을 통해 새로운 제품과 새로운 투여 경로에 대한 면역원성과 중화 항체 형성을 증명하는 것이 중요하다.

## 용어의 정의

아래의 용어 정의를 이 문서에 적용한다. 다른 곳에서는 다른 의미로 사용될 수 있다.

**단일 수확 혼합물(Single harvest pool):** 1개 바이러스 유형의 예정 HPV 항원을 여러 차례 수득한 것을 단일 용기에 수집한 균질한 혼합물. 이 혼합물로 정제 작업을 시작한다.

**단일 항원 수확물(Single antigen harvest):** 단일 생산 작업으로 세포 배양액에서 수득한 1개 바이러스 유형의 예정 HPV 항원을 함유하는 농축 세포 현탁액 또는 상청액.

**대조 백신(Comparator vaccine):** 유효성이 확립된 기허가 백신 또는 유효성이 확립된 백신과 추적성을 갖춘 기허가 백신으로, 임상시험에서 후보백신과 함께 평가되고, 비임상 또는 임상시험에서 활성 대조군의 역할을 함

**대조 세포 배양(Control cell culture):** WCB(working cell bank)를 이용해 증폭한 세포로, 바이러스 감염(예; 바쿨로바이러스 발현 벡터) 직전에 생산에 사용할 것과 분리·병행하여 증식시켜 시험하는데 사용된다.

**마스터 세포은행(Master cell bank):** 동물 등에서 유래하며 특성 분석이 충분하게 수행된 세포이며, 특정 PDL 또는 계대 횟수의 세포 시드로 만들어, 여러 용기에 소분하고 동결 보존 처리한 다음에 지정 조건에서 냉동 보관한다(일반적으로 효모나 세균은  $-60^{\circ}\text{C}$  이하, 곤충 또는 포유류 세포주는 액체 질소). 균질하게 혼합한 단일 세포 혼합물로 마스터 세포은행(Master cell bank, MCB)를 제조한다. 때로는 지정 조건에서 확립된 세포 클론으로 MCB를 제조하기도 한다(예; 유전자 조작 세포). 해당 백신 제품의 예상 생산 기간 동안 사용할 모든 WCB를 MCB로 제조한다.

**면역 가교 시험(Immunobridging studies):** 특정 제제, 집단 또는 투여 방법의 유효성 정보를 관련 면역 반응의 비교에 근거하여 다른 경우에 외삽하기 위해 실시하는 시험.

**면역보조제(Adjuvant):** 백신의 임상적 효과와 백신 항원에 대한 특이적 면역 반응을 증진시키기 위해(예; 증가, 가속, 연장, 또는 표적화), 백신 항원과 연계하여 사용되는 성분 또는 성분의 조합.

**모세포(Parental cells):** 조작 처리하여 세포 기질을 만드는데 사용되는 세포. 일차 세포 배양액을 확장시켜 초기 계대 세포를 만드는 단순한 조작 행위도 있고, 형질 감염 클론

제조 등 보다 복잡한 조작 행위도 있다. 조작 행위를 통해 세포 시드를 만든다. 모세포는 세포 시드 제조 이전 단계를 의미할 수 있다.

**발현 구조물(Expression construct):** 재조합 단백질의 코딩 서열을 포함하는 발현 벡터를 의미한다(23).

**발현 시스템(Expression system):** 발현 구조물을 갖춘 숙주 세포와 발현 구조물이 인코딩하는 단백질을 발현할 수 있는 세포 배양 공정. 세균, 바쿨로바이러스-곤충 세포, 포유류 세포, 효모 기반 발현 시스템이 있다.

**복합 평가변수(Composite endpoints):** 2개 이상의 단일 평가변수를 결합하여 전반적인 치료 효과를 증명하는 방법이다. 여러 단일 평가변수를 충족하는 시험대상자는 복합 평가변수를 만족하는 것으로 간주된다(24).

**생산 세포 배양(Production cell culture):** HPV L1 항원 생산에 사용되는 세포 배양으로, 하나 이상의 WCB 용기를 이용하여 제조한다.

**세포 기질(Cell substrate):** 생물학적 제품을 제조하는데 사용되는 세포.

**세포 시드(Cell seed):** 특성 분석을 충분히 실시한 사람 또는 동물 유래 단일 조직 또는 세포를 함유하는 일정한 양의 바이알을 의미하며, 균일한 조성의 소분 상태로 액체 질소를 이용해 냉동 보관한다. 이 가운데 하나 이상의 바이알을 MCB 생산에 사용한다.

**세포 은행(Cell bank):** 균일한 조성의 단일 배양액에서 유래한 세포(세포가 포함된 액)를 소분한 용기 세트, 지정 조건(일반적으로 효모나 세균은  $-60^{\circ}\text{C}$  이하, 곤충 또는 포유류 세포주는 액체 질소)에 냉동 보관한다. 각각의 용기(예; 앰플, 바이알)는 해당 세포를 대표해야 하며, 동일 설비와 시약을 사용하고 동일 절차에 따라 같은 날에 동결시켜야 한다.

**완제 의약품(Final lot):** 충전 시의 오염 리스크 측면에서 균질한 상태인, 조제 백신의 최종 용기 세트. 단일 용기의 최종 원액을 충전하거나 1회 작업으로 충전한다.

**외래성 인자(Adventitious agents):** 세균, 진균, 마이코플라스마, 내인성/외인성 바이러스 등 의도하지 않게 제조 공정에 유입된 오염 미생물.

**재조합 바큘로바이러스 마스터 시드 로트(Recombinant baculovirus master seed lot):** 원래의 바큘로바이러스 발현 구조물에서 유래하며 조성이 균일하고, 한 번에 처리하고 일정 횟수로 계대한 재조합 바큘로바이러스.

**재조합 바큘로바이러스 제조용 시드 로트(Recombinant baculovirus working seed lot):** 재조합 바큘로바이러스 마스터 시드 로트를 일정한 횟수로 계대하여 제조한, 균일한 조성의 재조합 바큘로바이러스. 재조합 바큘로바이러스 상용 시드 로트를 이용해 중간 접종물을 제조하거나 재조합 L1 단백질 생산을 개시할 수 있다.

**정제 단가 원액(Purified monovalent antigen bulk):** 단일 HPV 유형의 정제 항원 배치. 서로 다른 정제 단가 원액 배치를 단일 용기에 혼합시킬 수 있다.

**제조용 세포은행(Working cell bank):** 동물 등에서 유래하며 특성 분석이 충분하게 실시된 세포이며, 특정 PDL 또는 계대 횟수의 MCB로 만들어, 여러 용기에 소분하고 지정 조건에서 냉동 보관한다(일반적으로 효모나 세균은  $-60^{\circ}\text{C}$  이하, 곤충 또는 포유류 세포주는 액체 질소). 균질하게 혼합한 단일 세포 혼합물로 WCB를 제조한다. 하나 이상의 WCB 용기를 생산에 사용한다. 여러 WCB를 만들어 해당 백신 제품의 생산 기간 동안 사용할 수 있다.

**중간 접종물 (Inoculum intermediate):** 제조용시드로트(working seed lot)에서 유래하며 조성이 균일한 일정한 양의 재조합 바큘로바이러스. 곤충 세포로 재조합 L1 단백질을 생산하는데 사용하기 위해, 중간 접종물에 대한 유효기간이 설정되어야 함

**최종 원액(Final bulk):** 최종 제품 용기에 충전하는데 사용되는 조제 백신. 하나 이상의 흡착 단가 원액으로 최종 원액을 조제하며, 하나 이상의 HPV 바이러스 유형에서 유래한 VLP 항원을 함유할 수 있다. 하나 이상의 단가 원액으로 조제한다면, 혼합을 통해 균일한 용액이 확보되어야 최종 제품의 균질성이 보장된다.

**흡착 단가 원액(Adsorbed monovalent antigen bulk):** 면역보조제에 흡착된 단가 항원 정제 원액 배치. 흡착 단가 원액 여러 배치를 혼합한 다음에 하나의 용기에 수집할 수도 있다. 면역보조제와 VLP의 흡착에 관여하지 않는 새로운 면역보조제를 사용한다면, '면역보조제 처리 단가 원액 (adjuvanted monovalent antigen bulk)'이라는 표현을 사용할 수도 있다.

**HPV L1 단백질(HPV L1 protein):** HPV의 주요 구조적 캡시드 단백질이며, 72개 펜타머 캡소머 상태로 연계된 자연 상태의 바이러스에서 360개 분자가 발견된다.

**ICP(Immune correlate of protection):** 특히 혈청 항체와 그 양에 대한 면역 반응 파라미터로, 일정 수준 이상이면 예방 효과가 충분하다고 볼 수 있다. 대다수 백신은 GMT(geometric mean titres) 또는 GMC(geometric mean concentrations) 기준값 이상의 기능성 항체가 ICP 역할을 한다.

**L1 바이러스 유사입자(L1 virus-like particle):** 감염성이 없고 복제성도 없으며 외피도 없는 20면체 캡시드 입자로, 자연 상태의 바이러스를 닮았지만 바이러스 DNA가 없다. L1 펜타머 캡소머가 일정하게 배열되어 항원 결정 부위의 구조를 유지하고 있다.



### Ⅲ. 제조 및 품질

#### 1. 정의

##### 1.1 국제 명칭 및 고유 명칭

국제 명칭은 ‘재조합 HPV VLP 백신(Recombinant human papillomavirus virus-like particle vaccine)’이고, 그 뒤에 재조합 단백질의 구체적인 유형과 명칭을 괄호 안에 기재한다(예; 16형, 18형 L1 단백질). 국내 제제명은 ‘인유두종 바이러스백신(유전자재조합)’(영문명; Human Papillomavirus(rDNA))으로 기재한다.

아래 기준에 부합하는 백신만 국제 명칭을 사용할 수 있다.

##### 1.2 서술적 정의

재조합 HPV VLP 백신은 하나 이상의 HPV 유형의 재조합 주요 캡시드 단백질(L1)로 구성된 정제 VLP를 함유하는 무균 액상 백신 제제이다. VLP를 적합한 면역보조제와 함께 조제할 수 있으며, 예방 목적으로 사용한다.

##### 1.3 국제 표준품

HPV 16형 및 HPV 18형 항체에 대한 국제 표준품이 있다. 본 표준품을 VLP 결합 분석을 이용한 면역분석법과 적절한 민감도의 슈도비리온 중화 시험에 사용할 수 있다(25, 26).

또한 HPV 16형 및 HPV 18형 DNA에 대한 국제 표준품도 있다. 이 표준품은 HPV 16형 및 HPV 18형 DNA에 대한 증폭과 검출을 위한 자체 표준품 또는 상용 표준품의 교정에 사용할 수 있다(27).

상기 표준물질은 영국 NIBSC(National Institute for Biological Standards and Control)에서 분양 받을 수 있다.

최신 WHO 국제 표준품 및 표준물질에 대한 최신 정보는 WHO 국제 표준물질 안내서를 참조한다(28). 또한 HPV DNA 및 항체의 국제 표준품과의 비교를 통해 교정되는 이차 표준품의 제조 및 사용에 대해서는 'HPV 시험 시설 매뉴얼(Human papillomavirus laboratory manual)'(18)을 참조한다.

항원함량시험과 역가시험에 대한 국제표준품 및 표준물질은 확립되어 있지 않으므로, 자사 표준품을 사용할 수 있다.

## 2. 제조 관련 공통 권고사항

「의약품 등의 안전에 관한 규칙」(총리령), [별표 1] 의약품 제조 및 품질관리기준 및 [별표 3] 생물학적제제등 제조 및 품질관리기준에 규정된 제조 기준을 재조합 HPV VLP 백신 제조 시설의 설계, 확립, 운영, 관리, 유지에 적용한다. 또한 다음 기준도 추가적으로 적용한다.

- 재조합 HPV L1 VLP의 조작과 관련된 생산을 재조합 미생물 생산에 적합한 생물안전등급시설(BioSafety Level; BSL)에서 실시한다.
- 원액 제조 단계에서 서로 다른 HPV L1 VLP 유형의 분리를 보장하고, 동일 시설에서 제조되는 다른 제품과 분리할 수 있는 품질 관리 절차를 마련한다. 충분한 세척 밸리데이션 및 제품 교체에 대한 자료가 있어야 한다. 항원 제조 공정을 밸리데이션하여 생산 일관성을 증명한다. 일반적으로 HPV 유형별로 연속된 3개의 로트가 필요하다.

### 2.1 항원 특성 분석

공정 밸리데이션 배치를 포함하여 백신 개발 과정에서 생산된 로트를 대상으로 HPV 항원의 특성 분석을 실시한다.

Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis(SDS-PAGE) 또는 mass spectrometry(MS) 방법으로 단백질의 조성을 분석한다. 적절한 염색 방법 및 사용 가능한 경우에는 특이적 항체를 이용하여 SDS-PAGE 밴드를 확인하거나, MS 방법으로 L1 단백질의 존재를 확인한다. 말단 아미노산 서열 분석이나 펩타이드 매핑 방법으로 단백질의 동일성을 확립한다.

3차원적 항원결정구조(epitope)가 유효성 확보에 필수적인 것으로 알려져 있으므로, VLP의 형태학적 특성 및 응집 정도를 파악할 필요가 있다. 추가적인 적절한 방법으로 VLP의 특성 분석을 실시할 수 있다.

### 3. 기원 물질 관리

#### 3.1 항원 생산을 위한 세포 배양

세포은행 시스템을 확립하고, 확립 세포주에 대한 특성분석을 수행하여 백신생산에 적합성이 인정되는 세포주를 사용한다(29, 30). 국가규제기관의 승인을 받은 세포주만을 사용하여 HPV L1 VLP 백신을 생산한다. 백신의 허가단계에서 국가규제기관은 세포은행 또는 시드 로트를 승인하며, 세포 은행의 이력에 관한 자료가 제출되어야 한다. 마스터 세포은행에서 제조용 세포은행을 거쳐 제품 생산까지 세포 배양 시의 최대 허용 계대수(또는 PDL)를 지정하고 국가규제기관의 승인을 받아야 한다.

##### 3.1.1 재조합 효모 및 세균 세포

모세포와 재조합 생산 균주(재조합 발현 구조물로 형질 전환시킨 모세포)의 특성을 자세히 기술하고, 마스터 세포은행과 제조용 세포은행의 유전적 균질성과 외래성 인자에 대한 시험 정보를 제공한다. 숙주 세포와 발현 벡터의 생물학적 특성을 자세히 기술한다. 이때 숙주 세포의 유전적 마커, 발현 벡터의 구조와 유전적 특성, 클로닝 대상 유전자의 유래와 기본 정보를 포함하여 기술한다. 전체 구조를 분석할 수 있는 방법도 있고(예; deep sequencing), 절편을 평가하는 방법도 있다(예; 제한 효소 분석)(30, 38)(23, 31). 숙주 세포에 클로닝된 유전자의 발현을 촉진하고 관리하기 위한 분자·생리학적 방법도 자세히 기술한다(31).

유전자 삽입물의 뉴클레오티드 서열, 벡터의 인접 부분, 그 유전자 삽입물을 함유하는 벡터의 제한 효소 매핑 결과를 제공할 수 있어야 한다.

유전형의 변화 없이 활성 상태인 세포를 회수할 수 있도록, 동결 상태로 세포를 유지한다. 재조합 (변형) 숙주 및 벡터와 일치하는 유전형과 표현형을 유지하고 명확히 파악할 수 있도록 필요한 경우에는 선택 배지를 사용하여 세포를 동결 상태에서 회수한다. 세포 은행은 적절한 시험법을 통해 확인되고 충분한 특성 분석이 되어야 한다.

재조합 WCB의 계대를 거쳐 생산에 사용되는 계대 수준까지, 또는 그 이상까지 발현 시스템의 유전적 안정성이 유지됨을 증명하는 데이터(예; 플라스미드 제한 효소 매핑, 영양 요구성 평가, 항생제 저항성(해당되는 경우))를 제출한다. 시드 배양에서 발현 시스템의 불안정성이 나타나거나 생산 규모의 작업 이후에 불안정성이 관찰되는 경우에는 관련 정보를 문서화한다. 또한 안정성 시험을 실시하여 회수한 이후의 세포 활성, 발현 시스템의 유지를 확인한다. 생산과 연계하여 이와 같은 시험을 실시하거나, 이 목적으로 검체를 채취해 평가할 수 있다.

#### 3.1.1.1 재조합 효모 및 세균 마스터 세포은행과 제조용 세포은행의 시험

「생물학적제제 기준 및 시험방법」(식약처 고시)의 별표 6에서 명시하고 있는 방법 등으로 MCB와 WCB의 세균 및 진균 오염 시험을 실시하여, 세균 또는 효모 생산 균주만 존재하며 MCB와 WCB가 다른 세균이나 진균에 오염되지 않았음을 증명한다.

#### 3.1.2 곤충 세포

곤충 세포를 사용한다면 세포 기질과 세포 은행은 「생물의약품 생산에 사용되는 세포기질 관리 가이드라인」(식약처 민원인 안내서) 등에 적합하여야 한다.

충분한 양의 MCB가 확보되어야 하며, 안전한 환경에서 보관되어야 한다.

제조용 세포은행 제조를 위한 기원 물질로 사용한다. 일반적으로는 제조업체가 설정하고 국가규제기관이 승인한 계대 횟수(또는 집단 배증 횟수(population doubling))까지 MCB를 여러 차례에 걸쳐 계대 배양하고, 세포를 혼합하여 단일 혼합물을 만들어 앰플에 소분하고 냉동 보존 처리하여 WCB를 만든다. 곤충 세포의 WCB를 재조합 바쿨로바이러스 시드 로트 생산과 항원 발현에 사용할 수 있다.

#### 3.1.2.1 곤충 세포 마스터 세포은행과 제조용 세포은행의 시험

「생물의약품 생산에 사용되는 세포기질 관리 가이드라인」(식약처 민원인 안내서) 등에 따라 MCB와 WCB를 시험한다. 세포은행에 세균, 진균, 마이코플라스마, 마이코박테리아, 그리고 원료 물질에 존재할 가능성이 있는 종과 관련된 외래성 인자가 없음을 보여 주는 것이 중요하다. 곤충 세포주인 경우에 곤충 유래 사람 병원체(예; 아르보바이러스)에 특히 주의를 기울인다.

곤충 바이러스는 다른 외래성 인자에 비해 특성 분석이 충분히 실시되지 않았기 때문에 곤충 바이러스에 대한 정보, 특히 곤충 바이러스의 감염성, 복제 라이프사이클, 병원성 등에 대한 정보가 부족하다. 특별한 세포 병변 효과(cytopathic effect) 없이도 곤충 세포가 곤충 바이러스에 감염되기도 한다. 특이적인 polymerase chain reaction(PCR)과 같은 특이적인 핵산 증폭기술(Nucleic acid Amplification Test; NAT)과 기타 비특이적 시험(예; 전자현미경, 동시 배양)을 실시할 수 있다. 시험 방법의 특이성과 민감성을 제조업체가 평가하고 국가규제기관이 승인한다.

시험 전략에 따라 MCB나 WCB 중 하나를 대상으로 특성 분석을 충분히 실시하고, 다른 하나는 시험 규모를 축소할 수도 있다(자세한 사항은 참고문헌 7 참조). 시험 전략에 대한 과학적 조언을 국가규제기관으로부터 구할 수 있다.

#### 3.3.1.3 재조합 포유류 세포

포유류 세포를 사용한다면, 「생물의약품 생산에 사용되는 세포기질 관리 가이드라인」(식약처 민원인 안내서)과 「재조합 DNA 기술로 만든 생물 치료 단백질 제품의 품질, 안전성, 유효성에 관한 가이드라인」(Guidelines on the quality, safety, and efficacy of biotherapeutic protein products prepared by recombinant DNA technology)(38)에 부합해야 하며 국가규제기관의 승인을 받아야 한다.

#### 3.3.2 항원 생산용 재조합 바쿨로바이러스 마스터/제조용 시드

재조합 바쿨로바이러스 발현 벡터는 HPV 항원 단백질의 코딩 서열을 포함한다. HPV 백신 생산에 사용되는 재조합 바쿨로바이러스에 대한 과거 기록이 있어야 하며, 여기에는 바쿨로바이러스 발현 벡터의 제작, 유전적 특성, 구조에 대한 정보와 클로닝 대상 유전자의 유래와 기본 정보가 포함되어 있어야 한다.

재조합 바쿨로바이러스 마스터 시드 로트와 상용 시드 로트 시스템을 이용해 백신을 생산한다. 재조합 바쿨로바이러스 시드 로트를 전용 냉장고에 보관하며, 온도 모니터링 장치를 갖추어야 한다. 안정성과 보안성을 확보할 수 있는 온도에서 보관한다.

국가규제기관의 승인을 받은 재조합 바쿨로바이러스 시드 로트만 사용한다. 해당 백신 제품을 지속적으로 생산할 수 있는 충분한 양의 재조합 바쿨로바이러스 마스터 시드 로트를 제조하고, 안전한 환경에 보관한다. 지리적으로 분리된 2개 장소에 보관하는 방식이 바람직하다. 마스터 시드 로트를 제조업체의 재조합 바쿨로바이러스 상용 시드 로트를 제조하는데 사용한다. 바이러스 마스터 시드 로트나 바이러스 상용 시드 로트 가운데 하나에 대하여 특성 분석을 충분하게 실시하고 외래성 인자 시험도 광범위하게 실시하며, 나머지에 대해서는 평가 규모를 줄일 수 있다. 시험 전략과 시드 로트를 국가규제기관이 승인한다.

제조업체의 재조합 바쿨로바이러스 상용 시드 로트를 사용해 중간 접종물과 단일 항원 수확물을 생산한다. 마스터 재조합 바쿨로바이러스 시드 로트로 상용 시드 로트를 만든다. 재조합 바쿨로바이러스 상용 시드 로트를 다량으로 제조하여, 백신 배치 생산에 사용한다. 국가규제기관이 승인한 방법과 바이러스 시드 대비 계대 횟수로, 재조합 바쿨로바이러스 마스터 시드 로트를 일정 횟수 계대 배양하여 재조합 바쿨로바이러스 상용 시드 로트를 제조한다. 허용 계대 수준을 확립한 다음에는, 국가규제기관의 승인 없이 상용 시드 로트 제조 시에 계대 기준을 변경하지 않는다.

#### 3.3.2.1 재조합 바쿨로바이러스 마스터/상용 시드 로트 시험

정제 재조합 단백질의 다른 시험과 함께, NAT 방법으로 발현 구조물을 분석하여, 발현된 HPV L1 항원의 품질과 일관성을 확인한다. 바쿨로바이러스 마스터 시드부터 적어도 생산에 사용되는 최고 계대 수준까지(바람직하게는 이 수준 이상으로) 발현 구조물의 유전적 안정성과 발현 안정성을 증명한다(23, 31).

##### 3.3.2.1.1 확인시험

각 바쿨로바이러스 마스터/상용 시드 로트를 PCR 등 적절한 방법으로 시험하여, 삽입 유전자의 HPV 유형을 확인한다. 시험은 국가규제기관의 승인을 받아야 한다.

##### 3.3.2.1.2 무균 시험 및 마이코플라스마 부정시험

재조합 바쿨로바이러스 시드 로트 각각에 대하여 「생물학적제제 기준 및 시험방법」(식약처 고시)의 별표 6에서 명시하고 있는 방법 등으로 세균, 진균, 마이코플라스마 시험을 실시한다. 또한 재조합 바쿨로바이러스 시드 로트에 대하여 스피로플라스마, 엔토모플라스마, 메소플라스마 등 곤충 마이코플라스마에 대한 시험을 실시한다.

NAT 방법을 단독으로 또는 세포 배양 방법과 함께(적절한 검출 방법 포함) 사용하여 공정서 수재 마이코플라스마 검출 방법 가운데 하나 또는 두 가지 방법 모두를 대체할 수도 있다. 다만 적합하게 밸리데이션을 실시하고 국가규제기관의 승인을 받아야 한다(29).

#### 3.3.2.1.3 외래성 바이러스 시험

재조합 바쿨로바이러스 시드 로트 각각에 대하여 세포 배양 방법으로 외래성 바이러스 시험을 실시한다. 시드 바쿨로바이러스의 계대 이력과 기원을 고려하여 적절하게 외래성 바이러스 시험을 실시한다. 재조합 바쿨로바이러스-수용성 지표 세포에 대한 시험인 경우에 바쿨로바이러스의 중화가 필수적이다. 이때 사용하는 항혈청에는 외래성 바이러스를 중화시킬 가능성이 있는 항체가 없어야 하며, 바람직하게는 생산 세포주(생산 세포주 자체도 외래성 인자 부정 시험을 실시한다) 이외의 다른 곳에서 만든 항원으로 specific-pathogen-free(SPF) 동물을 면역 처리하여 항혈청을 생산한다. 접종한 지표 세포를 현미경으로 조사하여 세포 병변 효과를 파악한다. 조사 기간 말기에 세포를 상대로 혈구 흡착성 바이러스 시험을 실시한다. (3.4.2.1.1 참조) 지표 세포가 곤충 바이러스에 감염되어도 세포 병변 효과가 전혀 나타나지 않을 수도 있다. 그러므로 PCR, 전자 현미경 검사, 동시 배양 등 추가 시험을 실시할 수 있다. 재조합 바쿨로바이러스 시드의 확립에 사용한 종과 관련된 외래성 인자가 재조합 바쿨로바이러스 시드에 없음을 보여 주는 것이 중요하며, 이때 곤충 매개 사람 병원체(예; 아르보바이러스)에 특히 중점을 둔다. 분석 방법의 특이성과 민감성을 제조업체가 평가하고 국가규제기관의 승인을 받는다.

일반적으로 재조합 바쿨로바이러스 시드의 생산 시에 도입되었을 가능성이 있는 외래성 인자가 재조합 바쿨로바이러스 시드에 없음을 확인한다. 마스터/상용 바이러스 시드 로트의 생산 단계 각각에 사용된 원료 물질에 존재할 가능성이 있는 외래성 인자를

포함하여 평가한다. 또한 동물을 이용해(기니피그와 마우스를 포함할 수 있다), 각 바이러스 마스터 또는 상용 시드 로트를 시험한다. 시험에 대한 자세한 사항은, 「생물의약품 생산에 사용되는 세포기질 관리 가이드라인」(식약처 민원인 안내서) 등을 참조한다.

외래성 인자 검출을 위해 검출 능력이 우수한 새로운 분자적 방법이 개발 중에 있다. 예를 들어 다음과 같은 방법이 있다.

- (a) 전체 바이러스 과(family)를 분석하는 degenerate NAT 기법(혼성화, 서열 분석, MS 등으로 증폭 산물을 분석)
- (b) 무작위 프라이머로 NAT를 하고, 발현된 서열의 디지털 감산(digital subtraction)이나 보존된 바이러스 서열의 대규모 올리고뉴클레오타이드 마이크로어레이(microarray)에서 증폭 산물을 분석하는 방법
- (c) high-throughput 또는 deep sequencing

이러한 방법은 밸리데이션하고 국가규제기관의 승인을 받은 후에 체내 또는 체외 시험 시 현재의 시험법을 보충하거나 대체하여 향후 사용될 수 있다.(29)

#### 3.3.2.1.4 마이코박테리아 시험

제조합 바쿨로바이러스 시드 로트 각각에 대하여 마이코박테리아 시험을 실시한다. 시험 방법과 기준은 국가규제기관의 승인을 받는다.

#### 3.3.2.1.5 시드 생산에 사용되는 대조 세포 시험

3.4.2.1에 기술된 바와 같이, 대조 세포 배양액에 대해 시험을 실시한다.

#### 3.3.2.1.6 제조합 바쿨로바이러스 농도

곤충 세포 배양 시스템을 이용해 민감성을 갖춘 분석 방법으로, 제조합 바쿨로바이러스 시드 로트의 감염성을 분석한다. 자세한 시험 절차와 결과 해석 방법은 국제규제기관의 승인을 받아야 한다.

### 3.3.3 세포 배양 배지



세포 증식에 혈청을 사용한다면, 「생물학적제제 기준 및 시험방법」(식약처 고시)의 별표 6에서 명시하고 있는 방법 등으로 세균, 진균, 마이코플라스마가 없음을 증명하고 외래성 바이러스도 없음을 증명하는 시험을 실시한다.

MCB와 WCB의 확립에 사용되는 혈청 중의 소 바이러스(bovine viruses) 검출에 관한 가이드라인은, 「생물의약품 생산에 사용되는 세포기질 관리 가이드라인」(식약처 민원인 안내서) 등을 참조하여 적절하게 수행한다. 세포은행 확립에 사용되는 혈청 중의 소 바이러스 검출에 관한 가이드라인을 생산 세포 배양에도 적용할 수 있다. 추가적인 품질 모니터링을 위해, 혈청의 엔도톡신 시험을 실시할 수도 있다. 감마 방사선 조사 방법으로 오염 바이러스를 불활화시킬 수 있다. 하지만 일부 바이러스는 감마 방사선 조사에 상대적으로 저항성을 갖기도 한다.

어떤 공정을 채택하건, 혈청의 성능을 유지하면서 공정 일관성 및 유효성을 증명해야 한다. 불활화되지 않은 혈청을 사용할 때는 그 타당성을 증명하며, 확실한 근거가 없을 때는 그와 같은 방법을 권장하지 않는다. 불활화되지 않은 혈청도 무균 시험과 마이코플라스마 및 바이러스 부정 시험 시에 불활화 혈청과 동일한 기준을 충족해야 한다.

배양 배지에 사용되는 동물 성분의 유래를 국가규제기관이 승인해야 한다. 이들 성분은 생물학적제제 및 의약품과 관련된 전염성해면상뇌증(Transmissible Spongiform Encephalopathy; TSE)에 관한 현행 WHO 가이드라인에 부합해야 한다(32).

세포 배양에 소 또는 돼지 유래 트립신을 사용하기도 하며, 이와 같은 트립신을 시험하여 세균, 진균, 마이코플라스마, 외래성 인자가 없음을 확인한다. 시험 방법은 국가규제기관의 승인을 받는다. 소 유래 트립신을 사용한다면, 기원동물 및 사용부위를 제조방법에 기재하여야 하며, 반추동물유래성분의 경우에는 전염성해면상뇌증(TSE) 감염을 방지하기 위한 원료선택(반추동물의 원산국, 연령 등) 또는 처리방법 등을 「생물학적제제 등의 품목허가·심사 규정」(식약처 고시)에 따라 추가로 기재하여야 하며 생물학적제제와 의약품과 관련된 TSE에 관한 현행 WHO 가이드라인(32)에 부합해야 한다.

오염된 바이러스를 불활화할 목적으로 방사선 조사 방법을 사용한다면, 재현성 있는 선량이 모든 배치와 각 배치의 구성 단위에 전달되도록 해야 한다. 방사선 조사 선량은

시약의 생물학적 특징이 유지되도록 하기에 충분히 낮으면서, 바이러스 오염 위험을 줄이기에 충분히 커야 한다. 그러므로 방사선 조사를 멸균 공정으로 간주할 수 없다(29). 방사선 조사 방법을 밸리데이션하고 국가규제기관의 승인을 받아야 한다.

제조합 트립신이 개발되었으므로 제조합 트립신의 사용을 검토한다. 하지만 오염 위험이 전혀 없다고 생각해서는 안 되며, 생물학적 유래 시약에 적용되는 일반적인 사항을 동일하게 고려해야 한다(29).

사람 혈청을 사용하지 않는다.

사람 혈청 알부민을 제품 제조 시에 사용한다면, 기준이 나라마다 다를 수 있으므로 국가규제기관에 문의한다. 적어도 「생물학적제제 기준 및 시험방법」(식약처 고시)의 사람 혈청 알부민 각조 및 WHO의 “혈액, 혈액 성분, 혈장 유래 제품의 수집, 가공, 품질 관리에 관한 기준”에 부합해야 한다(33). 또한 사람 알부민과 동물 유래 물질은 생물학적제제 및 의약품과 관련된 TSE에 관한 현행 WHO 가이드라인(32)에 부합해야 한다.

페니실린과 기타 베타락탐 성분은 감작성 위험이 높으므로, 제조 시에 사용해서는 안 된다.

다른 항생제를 제조에 사용할 수 있지만, 완제 의약품에 존재하는 수준을 국가규제기관이 인정해야 한다.

무독성 pH 지표 성분을 첨가할 수 있다(예; 0.002% 수준의 페놀레드). 안전성이 확보된 성분만을 첨가 할 수 있다.

### 3.4 HPV VLP 생산 관리

#### 3.4.1 HPV VLP 생산 관리: 효모와 세균 발현 시스템에서 단일 항원 수확물 단계까지

##### 3.4.1.1 미생물 순도

각 발효 용기의 미생물 순도를 국가규제기관이 승인한 방법으로 생산 작업 후반부에 모니터링한다.

세포에 영양 성분을 공급하거나 세포 밀도를 늘리거나 유도하기 위해 발효기나 바이오리액터에 첨가되는 성분을 국가규제기관이 승인해야 한다. 국가규제기관의 승인이 없는 제조 시에 항생제를 첨가해서는 안 된다.

### 3.4.2 HPV VLP 생산 관리: 곤충 세포의 재조합 바쿨로바이러스 시스템에서 단일 항원 수확물 단계까지

세포 배양을 적절한 규모로 확장하고, 그 다음에 지정된 multiplicity of infection(MOI)의 재조합 바쿨로바이러스를 접종한다. 흡착 이후에 유지 배지를 세포 배양액에 공급하고, 지정 온도 범위에서 지정 기간 동안 배양한다.

MOI, 온도, pH, 배양 기간은 곤충 세포 기질과 재조합 바쿨로바이러스 주의 특성에 따라 다르다. MOI 범위를 제조업체가 설정하고 국가규제기관이 승인한다.

접종 이후 지정 기간 안에 단일 항원 수득액을 확보한다. 단일 항원 수득액 여러 개를 혼합할 수 있다. 여러 단일 항원 수득액을 혼합한다면, 각 단일 항원 수득액에서 검체를 채취해 시험하고 안정화를 시킨 다음, 혼합할 때까지 적합한 조건에서 보관한다. 수득 시점이나 이후의 제조 단계에서 항생제를 추가하지 않는다. 단일 수득액 혼합물에서 검체를 채취해 시험하고, -60°C 이하에서 보관한다.

#### 3.4.2.1 대조 세포 배양액 시험

곤충 세포 현탁액을 생산에 필요한 규모까지 증식시키고(재조합 바쿨로바이러스로 감염시키기 이전), 세포 현탁액 500 mL 또는 5%에 해당되는 세포 현탁액의 양 중 더 큰 양을 이용해 미감염 대조 세포 배양액을 만든다. 바이오리액터를 사용한다면, 검사 대상 세포 검체의 양 및 처리 방법을 국가규제기관이 승인한다.

생산 배양액의 접종 이후 최소 14일 동안 또는 최종 바이러스 수득 시점이 더 늦은 경우에는 수득 시점에 대조 세포 배양액을 현미경으로 검사하여 외래성 인자의 존재에 의한 세포의 형태학적 변화가 있었는지 확인한다. 대조 세포 배양은 국가규제기관이 승인한 생산 배양 조건과 기본적으로 유사한 조건에서 수행되어야 한다. 곤충 세포인 경우에는 현탁 상태로 배양하는 세포의 특성 때문에 상기의 배양 시간이 적용되지 않으나, 단일 항원 수득 시간보다 짧지 않아야 한다. 검사 기간 종료 시에 각 단일 항원 수확물에서 대조 세포 배양액으로부터 수집한 액체를 대상으로, 아래에서 설명하는 바와

같이 외래성 인자 시험을 실시한다. 바로 시험하지 않는 경우에는 검체를 -60℃ 이하에서 보관한다.

대조 세포 배양액에 외래성 인자가 존재한다는 증거가 시험에서 나타난다면, 이 배양액으로 제조한 단일 항원 수확물을 HPV VLP 생산에 사용해서는 안 된다.

대조 세포의 80% 이상이 시험 기간 종료 시점까지 생존해야 하며, 모든 손실은 비특이적이거나 우발적인 요인에 의한 것이어야 시험이 유효하다.

#### 3.4.2.1.1 혈구 흡착 바이러스 시험

관찰 기간 말기에 대조 세포의 25% 이상에 해당되는 세포를 대상으로, 기니피그 적혈구를 이용해 혈구 흡착 바이러스 시험을 실시한다. 적혈구를 보관하고 있었다면, 보관 기간은 7일을 넘지 않아야 하고 보관 온도는 2-8℃여야 한다.

일부 국가의 국가규제기관은 사람(혈액형 O형), 원숭이, 닭(또는 기타 조류)의 적혈구를 포함해, 다른 종의 적혈구를 이용하여 혈구 흡착 바이러스 시험을 추가로 실시할 것을 요구한다.

0-4℃에서 30분 동안 배양한 다음에 혈구 흡착 정도를 평가하고, 20-25℃에서 30분 동안 배양하고 다시 평가한다.

원숭이 적혈구로 시험을 한다면, 34-37℃에서 30분간 최종 배양한 다음에도 평가한다.

현탁 배양하는 세포인 경우에 혈구 흡착 바이러스 시험이 기술적으로 가능하지 않다. 그러므로 사용한 대조 세포 배양액 검체로 기니피그 적혈구를 이용한 혈구 응집 인자 시험이 요구된다.

시험 기간 말기에 사멸 또는 병변이 관찰되는 세포의 양이 배양 용기의 20% 이하여야 시험이 유효하며, 사멸 또는 병변이 관찰되는 세포의 경우, 이는 비특이적이거나 우발적인 사유이어야 한다.

#### 3.4.2.1.2 다른 외래성 인자 시험

관찰 기간 종료 시에 대조 세포 배양액 각 그룹의 세포 용해물이나 유체 혼합물의 검체를 채취해 외래성 인자 시험을 실시한다. 이때 바이러스 생산에 사용한 것과 같은

세포이지만, 백신 생산에 사용한 것과 같은 세포 배치일 필요는 없는 세포에서 각 혼합물 10 mL을 시험한다. 각 혼합물의 검체 10 mL을 사람 세포와 영장류 신장 세포주에서도 시험한다.

각 검체를 이 세포 배양액의 배양 용기에 접종하며, 이때 영양 배지 중 유체 혼합물의 희석 비율이 1:4를 넘지 않도록 한다. 세포의 면적은 유체 혼합물 mL 당 3 cm<sup>2</sup> 이상이어야 한다. 세포 배양액 유형별로 최소 1개 배양 용기를 미접종 상태로 유지한다(대조).

접종한 배양액을 적절한 증식 온도에서 배양하고, 최소 14일 동안 세포 병변 여부를 관찰한다.

시험 기간 말기에 사멸 또는 병변이 관찰되는 세포의 양이 배양 용기의 20% 이하여야 시험이 유효하다.

관찰 기간 말기에 혈구 흡착 바이러스 시험을 실시하도록 요구하는 국가규제기관도 있다.

#### 3.4.2.1.3 곤충 세포 확인 시험

국가규제기관이 승인한 시험 방법으로 생산 수준의 세포에 대해 확인 시험을 실시한다. 생화학적 시험 방법(예; 동위효소 분석), 세포유전학적 시험 방법(예; 염색체 마커 시험), 유전적 마커 시험 방법(예; DNA 지문법, PCR) 등을 포함해 다양한 방법으로 확인 시험을 실시한다.

### 3.4.3 HPV VLP 생산 관리: 포유류 세포의 단일 항원 수확물 단계까지

해당되는 경우에는 「생물의약품 생산에 사용되는 세포기질 관리 가이드라인」(식약처 민원인 안내서) 등에 따라 대조 세포의 확인 시험과 외래성 인자 시험을 실시한다.

#### 3.4.4 단일 항원 수확물의 관리

##### 3.4.4.1 보관 및 반제품 유지 시간

정제 공정 이전과 정제 공정 도중에, 바람직한 생물학적 활성을 유지할 수 있는 것으로 제조업체가 증명한 조건에서 세포 현탁액이나 상등액을 관리한다. 적절한 근거에 따라

유지기간이 설정되어야 한다.

#### 3.4.4.2 단일 항원 수확물 또는 단일 수확물 혼합물 시험

적절한 경우에는 단일 항원 수확물 또는 단일 항원 수확물의 혼합물을 시험한다. 시험 방법을 국가규제기관이 승인한다

##### 3.4.4.2.1 검체 채취

단일 항원 수확물 또는 단일 수확물 혼합물의 시험에 필요한 검체를 수득 시점과 다음 공정을 진행하기 전에 채취한다. 파트 3.4.4.2.2와 파트 3.4.4.2.4에 기술된 바와 같은 무균 시험과 외래성 인자 시험을 즉시 실시하지 않으면, 이 시험을 위한 검체를 -60℃ 이하에서 보관하고, 1회 이하의 동결-해동 사이클을 적용한다.

##### 3.4.4.2.2 무균 시험 및 마이코플라스마 부정시험

「생물학적제제 기준 및 시험방법」(식약처 고시)의 별표 6에서 명시하고 있는 방법 등으로 각 단일 항원 수확물 또는 단일 수확물 혼합물을 시험하여, 세균과 진균 오염이 없음을 확인한다.

세균 발현 시스템의 수확물을 시험할 때, 세균 오염 양성 결과가 나올 수 있다. 그러므로 배양 순도를 평가한다는 측면에서 미생물 한도 시험 등 다른 방법이 적절할 수 있다. 국가규제기관의 승인을 받는다.

국가규제기관이 승인한 방법이나 곤충, 포유류 세포를 생산에 사용한 경우에는 「생물학적제제 기준 및 시험방법」(식약처 고시)의 별표 6에서 명시하고 있는 방법 등으로 각 단일 항원 수확물 또는 단일 수확물 혼합물을 시험하여, 세균과 진균 오염 이외에도 마이코플라스마 오염이 없음을 확인한다.

NAT 방법을 단독으로 또는 세포 배양 방법과 함께(적절한 검출 방법 포함) 사용하여 공정서 수재 마이코플라스마 검출 방법 가운데 하나 또는 두 가지 방법 모두를 대체할 수도 있다. 다만 적합하게 밸리데이션을 실시하고 국가규제기관의 승인을 받아야 한다(29).

##### 3.4.4.2.3 HPV 유형 확인 시험

각 단일 항원 수확물 또는 단일 수확물 혼합물을 면역학적 방법이나 분자 생물학적 분석 방법(예; 혼성화 또는 PCR)으로 시험하여 HPV 유형을 확인한다. 국가규제기관의 승인을 받아야 한다. 정제 항원 시험 시에 확인할 수도 있다.

#### 3.4.4.2.4 곤충 세포 또는 포유류 세포를 생산에 사용하는 경우의 외래성 인자 시험

각 단일 항원 수확물 또는 단일 수확물 혼합물을 세포 배양 방법으로 외래성 바이러스 시험을 실시한다. 곤충 세포 기질과 재조합 바쿨로바이러스 또는 포유류 세포 기질의 계대 이력과 기원을 고려하여 적절하게 외래성 바이러스 시험을 실시한다. 이때 적어도 원숭이 신장 세포주와 사람 세포주를 포함하여 시험한다. 재조합 바쿨로바이러스의 중화에 사용하는 항혈청에는 외래성 바이러스를 중화시킬 가능성이 있는 항체가 없어야 하며, 바람직하게는 생산 세포주(생산 세포주 자체도 외래성 인자 부정 시험을 실시한다) 이외의 다른 곳에서 만든 항원으로 SPF(specific-pathogen-free) 동물을 면역 처리하여 항혈청을 생산한다. 접종한 지표 세포를 현미경으로 조사하여 세포 병변 변화를 파악한다. 조사 기간 말기에 세포를 상대로 혈구 흡착성 바이러스 시험을 실시한다. (3.4.2.1.1 참조)

추가적으로 특정 외래성 바이러스 시험을 실시할 수 있다(예; PCR 증폭 기법 이용).

### 3.5 정제 단가 원액의 관리

단일 항원 수확물, 단일 항원 수확물의 일부 또는 단일 항원 수확물의 혼합물을 정제 공정에 사용하며, 정제 공정을 국가규제기관이 승인한다. 혼합 대상 최대 수득 수도 국가규제기관이 승인한다. 서로 다른 생물 물리학적 원칙과 생화학적 원칙에 근거하여 여러 정제 단계를 거쳐 정제하며, 이때 VLP의 해체와 재조립이 일어날 수 있다. 전체 VLP 정제 공정(공정 단계 순서)을 3.2에 기술한 바와 같이 적절하게 밸리데이션하고, 국가규제기관의 승인을 받는다. 정제 공정에서 투입하는 시약(예; DNase)도 문서화한다.

바람직한 생물학적 활성을 유지하는 것으로 제조업체가 증명한 조건에서 정제 단가 원액을 보관한다. 반제품 유지 시간을 국가규제기관이 승인한다.

#### 3.5.1 정제 단가 원액의 시험

정제 단가 원액을 아래와 같이 시험한다. 흡착 단가 원액에서 시험하는 일부 시험 항목은 생략할 수 있다. 별도의 언급이 없으면, 정제 단가 원액의 모든 품질 관리 시험 방법과 규격을 밸리데이션하고 국가규제기관의 승인을 받는다.

#### 3.5.1.1 확인

여러 HPV 유형을 구분할 수 있는 적합한 방법(예; 면역학적 방법)으로 각 정제 단가 원액을 시험하여 HPV 항원 유형이 맞는지 확인한다. 항원 함량 시험이 확인 시험 역할을 할 수도 있다.

#### 3.5.1.2 순도

각 정제 단가 원액의 순도와 잔류 숙주 세포 단백질의 수준을 적합한 방법으로 평가한다. 총 단백질 중 오염 단백질의 비율을 분석하는데 적합한 한 가지 방법은, 환원 변성 조건에서 SDS PAGE를 실시해 단백질을 분리하는 것이다. 겔의 단백질 밴드를 적합한 염색 기법으로 확인한다. 각 밴드의 단백질을 적절한 민감도를 갖춘 밀도 측정 방법으로 정량하고 순도를 평가한다.

발현 특이적이고 민감한 EIA 방법으로 숙주 세포 단백질을 검출할 수 있다.

#### 3.5.1.3 단백질 함량

각 정제 단가 원액의 총 단백 함량을 적합한 방법으로 시험한다.

앞서의 공정 반제품 측정 결과로 총 단백 함량을 계산하는 방법도 있다.

#### 3.5.1.4 항원 함량

정제 단가 원액 또는 흡착 단가 원액의 항원 함량을 유형 특이적인 적합한 방법으로 측정한다. (3.6.3.7 참조)

정제 단가 원액 각각에 대하여 단백 함량 대비 항원 함량의 비율을 계산하고 모니터 할 수 있다.

항원함량시험과 역가시험에 대한 국제표준품 및 표준물질은 확립되어 있지 않으므로, 자사 표준품을 사용할 수 있다.



#### 3.5.1.5 무균 시험

「생물학적제제 기준 및 시험방법」(식약처 고시)의 별표 6에서 명시하고 있는 방법 등으로, 각 정제 단가 원액의 무균 시험(세균과 진균)을 실시한다. 정제 원액을 흡착하기 전에 보관하지 않으면, 해당 흡착 단가 원액을 대상으로 이 시험을 할 수 있다.

#### 3.5.1.6 비손상 L1 단량체 비율

L1 단백질의 완전한 상태는 중요한 물질 평가변수이며 주의깊게 모니터해야 한다. 정제 단가 원액의 비손상 L1 단백질 비율을 적합한 방법으로 평가한다.

항원성 순도 시험( 3.5.1.2)으로 L1 단량체의 완전한 상태를 평가할 수 있다. 완전한 상태의 L1 단량체 비율은 총 단백 가운데 완전한 L1 단량체 비율(백분율)을 의미한다(완전한 L1 단량체/(총 L1 + 총 비-L1) × 100).

#### 3.5.1.7 VLP 크기와 구조

VLP의 크기와 구조를 확립하고 모니터링한다. 생산 일관성이 확립되고 국가규제기관이 승인한 경우에는 이 시험을 생략할 수도 있다.

VLP 크기와 구조 평가에 적합한 방법은 dynamic light scattering(DLS), size-exclusion chromatography-high performance liquid chromatography(SEC - HPLC), transmission electron microscopy(TEM)이 있다.

#### 3.5.1.8 정제 또는 다른 제조 단계에 사용되는 시약 시험

제조 시에 사용한 유해 시약의 존재를 확인하는 시험은 국가규제기관의 승인을 받은 방법으로 실시한다. 정제 단가 원액에서 이 시약을 일관되게 제거할 수 있는 공정임이 증명되는 경우에는 이 항목을 생략할 수 있다.

#### 3.5.1.9 발현 시스템 유래 잔류 DNA 시험

적합한 민감성을 갖춘 방법으로 정제 단가 원액 각각을 시험하여 발현 시스템에서 유래한 숙주 세포 DNA 잔류량을 분석한다. 숙주 세포 DNA 잔류량은 국가규제기관이 승인한 최대 수준을 넘지 않아야 한다. 「생물의약품 생산에 사용되는 세포기질 관리

가이드라인」(식약처 민원인 안내서) 등을 참조한다.

공정이 일관되게 잔류 DNA의 생물학적 활성을 불활화시키거나 정제 단계 원액에 존재하는 오염된 잔류 DNA의 양과 사이즈를 감소시킴이 증명되고, 국가규제기관이 승인한 경우에는 이 항목을 생략할 수 있다.

#### 3.5.1.10 소혈청 알부민(Bovine serum albumin) 함량

소 혈청을 포유류나 곤충 세포 배양에 사용한다면, 소혈청알부민 잔류량을 분석하고 이에 대한 최대 허용 농도를 설정하며, 국가규제기관의 승인을 받는다.

#### 3.5.1.11 바이러스 클리어런스 시험

곤충 또는 포유류 세포 기질을 HPV 항원 생산에 사용한다면, ICH Q5A 가이드라인(34)에 기술된 바에 따라 생산 공정의 외래성 바이러스 처리(제거 또는 불활화) 능력을 밸리데이션한다. 백신 제조 공정 개발 시에 또는 공정 밸리데이션의 일환으로 이 시험을 실시한다. 이 시험은 로트 승인 시험 항목은 아니다.

바쿨로바이러스 같이 복제성 바이러스 벡터를 사용한다면, 생산 공정의 잔류 재조합 바이러스 처리(제거 또는 불활화) 능력을 밸리데이션한다.

### 3.6 흡착 단계 원액의 관리

#### 3.6.1 면역보조제 투입

알루미늄 염 같은 면역보조제에 정제 단계 항원을 흡착시킬 수 있으며, 이때 면역보조제의 종류와 사용 농도를 국가규제기관이 승인한다. MPL 같은 다른 면역보조제나 추가 면역보조제를 사용한다면, 이 역시 국가규제기관의 승인을 받아야 한다.

VLP에 흡착시키지 않는 새로운 면역보조제를 사용한다면, '면역보조제 처리 단계 원액'이라는 표현을 사용할 수 있다.

#### 3.6.2 보관

흡착 단가 원액을 최종 원액 조제에 투입할 때까지, 바람직한 생물학적 활성을 유지할 수 있음을 제조업체가 증명한 조건에서 현탁액을 보관하며, 보관기간을 국가규제기관이 승인한다.

### 3.6.3 흡착 단가 원액의 시험

별도로 규정하지 않으면, 흡착 단가 원액의 모든 시험과 기준을 국가규제기관이 승인한다.

#### 3.6.3.1 무균 시험

「생물학적제제 기준 및 시험방법」(식약처 고시)의 별표 6에서 명시하고 있는 방법 등으로 흡착 단가 원액 각각의 무균 시험을 실시한다.

#### 3.6.3.2 엔도톡신 시험

국가규제기관이 승인한 방법으로 흡착 단가 원액의 엔도톡신 시험을 실시한다.

흡착 단가 원액의 시험이 적절하지 않으면, 국가규제기관의 승인을 받아 흡착 이전 단계의 정제 원액을 상대로 이 시험을 실시한다.

#### 3.6.3.3 확인

여러 HPV 유형을 구분할 수 있는 적합한 방법(예; 면역학적 방법)으로 각 흡착단가 원액을 시험하여 HPV 항원 유형이 맞는지 확인한다. 항원 함량 시험이 확인 시험 역할을 할 수도 있다.

#### 3.6.3.4 면역보조제 농도

생산 일관성이 증명될 때까지, 흡착 단가 원액의 면역보조제 함량 시험을 실시한다.

#### 3.6.3.5 흡착 정도

해당되는 경우에는 각 흡착 단가 원액의 흡착 정도(흡착의 완벽성)를 평가한다. 공정의 일관성을 증명하고 국가규제기관이 승인한 경우에는 이 항목을 생략할 수 있다.

#### 3.6.3.6 pH

공정의 일관성을 증명하고 국가규제기관이 승인할 때까지, 흡착 단가 원액의 pH 값을 모니터할 수 있다.

#### 3.6.3.7 항원 함량

적절한 방법으로 흡착 단가 원액의 항원 함량을 분석한다. 정제 단가 원액에서 시험을 실시할 경우 흡착 단가 원액에서는 이 항목을 생략할 수 있다.

항원함량시험과 역가시험에 대한 국제표준품 및 표준물질은 확립되어 있지 않으므로, 자사 표준품을 사용할 수 있다.

### 3.7 최종 원액의 관리

3.6.3의 시험에서 적합 판정을 받은 흡착 단가 원액을 무균적으로 조제하여 최종 원액을 만든다. 최종 원액의 항원 농도는 인체 임상 시험에서 안전성과 유효성이 증명된 수준과 일치하는 투여 용량을 보장하기에 충분해야 한다. 면역보조제가 추가된다면, 면역보조제의 종류와 농도를 국가규제기관이 승인한다.

제품 오염을 방지할 수 있는 방식으로 최종 원액 조제 작업을 실시한다. 최종 원액 조제 시에, 희석액, 안정화제, 면역보조제 등 제품에 투입되는 성분은 해당 농도에서 백신의 안전성과 유효성을 훼손하지 않음이 증명되고 이를 국가규제기관이 승인해야 한다. 바람직한 생물학적 활성을 유지할 수 있음을 제조업체가 증명한 조건에서 최종 원액을 보관한다.

#### 3.7.1 최종 원액의 시험

별도로 규정하지 않으면, 최종 원액의 모든 시험과 기준을 국가규제기관이 승인한다.

##### 3.7.1.1 무균 시험

「생물학적제제 기준 및 시험방법」(식약처 고시)의 별표 6에서 명시하고 있는 방법 등으로 각 최종 원액의 무균 시험을 실시한다.

##### 3.7.1.2 면역보조제 함량

최종 원액의 면역보조제 함량 시험을 실시한다.

알루미늄 화합물을 사용한 경우에는, 알루미늄 함량이 1회 인체 투여 용량 당 1.25 mg 이하여야 한다.

MPL 같은 면역보조제 함량 시험에 적합한 방법의 예로는 가스 크로마토그래피(GC)가 있다.

최종 원액으로 만든 완제 의약품에 대하여 면역보조제 함량 시험을 한다면, 최종 원액의 면역보조제 함량 시험은 생략할 수 있다.

#### 3.7.1.3 흡착 정도

해당되는 경우에는(예; 면역보조제가 알루미늄 염인 경우) 각 최종 원액에 존재하는 각 항원의 면역보조제 흡착 정도(흡착의 완벽성)를 평가한다.

공정 일관성을 증명하거나 완제 의약품에서 이 시험을 하는 경우에는 이 항목을 생략할 수 있다.

#### 3.7.1.4 보존제 함량

보존제를 첨가한 경우에는 보존제 시험을 실시하며, 시험 방법과 허용 농도를 국가규제기관이 승인한다.

#### 3.7.1.5 역가

적절한 in-vivo 또는 in-vitro 방법으로 각 최종 원액의 역가를 평가한다. 완제 의약품에서 in-vivo 역가 시험을 실시한다면, 최종 원액의 역가 시험을 생략할 수 있다. HPV VLP 항체 검출 방법과 데이터 분석 방법을 국가규제기관이 승인한다. 백신의 역가를 표준물질의 역가와 비교한다. 국가규제기관은 역가의 기준과 사용될 표준물질을 승인한다.

윤리적인 이유에서 과학적 타당성이 있을 때는 3R 원칙(감소(Reduction), 대체(Replacement), 절차 정교화(Refinement))을 적용해 동물을 사용한다.

#### 3.7.1.6 삼투압

최종 원액의 삼투압을 시험할 수 있다. 삼투압 시험을 완제 의약품에서 실시한다면, 최종 원액의 삼투압 시험을 생략할 수 있다.

이온 강도/삼투압의 대체 지표로 다른 시험(예; 어는점)을 실시할 수 있다.

### 3.8 충전 및 용기

「의약품 등의 안전에 관한 규칙」(총리령), [별표 1] 의약품 제조 및 품질관리기준 및 [별표 3] 생물학적제제등 제조 및 품질관리기준에 규정된 충전 및 용기 관련 기준을 최종 제형 상태로 충전된 백신 제품에 적용한다.

용기 재질뿐만 아니라 해당되는 경우 전달 장치와 마개의 재질이 백신 품질에 부정적인 영향을 주지 않도록 주의해야 한다.

적절한 보관 및 운송 조건에서 제품의 안정성을 증명하는 데이터를 국가규제기관에 제공한다.

### 3.9 완제 의약품의 관리

완제 의약품(즉, 최종 용기 상태)에 대하여 다음과 같은 시험을 실시한다. 달리 타당성을 증명하여 허가 받은 경우가 아니라면, 국가규제기관이 승인한 밸리데이션된 시험 방법으로 각 완제 의약품(라벨 작업이 완료된 용기에 담긴)에 대해 다음과 같은 시험을 실시한다. 별도로 규정하지 않으면, 방법과 허용 농도를 포함하여 모든 시험 방법과 규격을 국가규제기관이 승인한다.

#### 3.9.1 용기 검사

완제 의약품의 모든 용기를 육안이나 기기로 검사하고, 이상을 보이는 제품은 폐기하고 이상 유형별로 기록한다. 불량품 비율에 대한 기준을 설정한다.

#### 3.9.2 성상

백신의 형태와 색상 등 성상을 기술한다.

### 3.9.3 확인

완제 의약품에 존재하는 모든 항원을 적절한 방법으로 확인한다. 역가 시험이 확인 시험 역할을 할 수 있다.

### 3.9.4 무균 시험

「생물학적제제 기준 및 시험방법」(식약처 고시)의 별표 6에서 명시하고 있는 방법 등으로 각 완제 의약품의 무균 시험을 실시한다.

### 3.9.5 pH와 삼투압

완제 의약품의 pH와 삼투압 시험을 실시한다. 최종 원액에서 삼투압 시험을 실시했다면, 이 시험을 생략할 수 있다. 공정 일관성을 증명하고 국가규제기관의 승인을 받은 경우에는 정규 로트 출하 승인 시험 항목에서 삼투압 시험을 제외할 수 있다.

이온 강도/삼투압의 대체 지표로 다른 시험(예; 어는점)을 실시할 수 있다.

### 3.9.6 보존제

보존제를 첨가한 경우에는 보존제 시험을 실시한다.

### 3.9.7 발열성물질 시험

각 완제 의약품을 상대로 발열성물질 시험을 실시한다. 적절한 경우에는 엔도톡신 시험(예; LAL)을 실시한다. 하지만 예를 들어 MPL 같은 면역 자극 물질의 투입에 따라 시험 간섭이 존재하는 경우, 토끼를 이용한 발열성물질 시험을 실시한다.

적합하게 밸리데이션한 단액 백혈구 활성화 시험을 토끼를 이용한 발열성물질 시험을 대신하여 실시할 수 있으며, 적절하게 밸리데이션 방법으로 생산 일관성을 증명하면 국가규제기관은 이 시험의 면제를 고려할 수 있다.

### 3.9.8 면역보조제 함량

해당되는 경우에는 각 완제 의약품을 상대로 면역보조제 함량 시험을 실시한다.

알루미늄 화합물을 사용하는 경우에는, 알루미늄 함량이 투여 용량 당 1.25 mg 이하여야 한다.

### 3.9.9 단백질 함량

단백질 함량을 분석한다. 아니면 공정 반제품 시험 결과를 토대로 계산하여 구할 수 있다.

### 3.9.10 흡착도

해당되는 경우에는 각 최종 백신 로트에 존재하는 각 항원의 면역보조제 흡착 정도(흡착의 완벽성)를 평가한다. 그 기준을 국가규제기관이 승인한다.

제품 일관성을 증명하고 국가규제기관의 승인을 받은 경우에는 정규 로트 출하 시험 항목에서 제외할 수 있다.

### 3.9.11 역가

각 완제의약품에서 대표적인 검체를 채취하여 적절한 in-vivo 또는 in-vitro 시험 방법으로 역가 시험을 실시한다. 시험 방법과 역가 시험 데이터의 분석 방법을 국가규제기관이 승인한다. 백신 역가를 표준물질 역가와 비교하며, 역가 기준을 국가규제기관이 승인한다. 사용하는 표준물질도 국가규제기관의 승인을 받아야 한다. in-vivo 역가 시험 방법을 사용한다면, 최종 원액에서 이 시험을 하지 않을 수 있다. in-vitro 시험 방법에 의한 항원 역가 시험 방법은, 항원 함량이나 표준물질과 대비하여 정량적인 것일 수 있다.

제조 공정이나 면역보조제의 차이에 따라 HPV VLP를 함유하는 백신의 반응성이 다양하므로, 모든 제조업체의 백신 제품 정량 시험 방법을 표준화할 수 있는 적합한 국제 표준품을 정하기는 어렵다. 그러므로 HPV 유형별 역가에 대한 국제 표준품이 향후에도 확립되지 못할 것이다. 제조업체는 임상 시험에서 유효성이 증명된 백신 로트 또는 그와 같은 로트의 생산에 사용한 원액에 대해 추적성(traceability)을 갖는 제품 특이적인 표준물질을 확립해야 한다. 이 표준 백신의 성능을 적절한 시험 변수를 통해 경향 분석을 실시하여 모니터링하고, 필요한 경우에는 표준 백신을 교체한다. 표준 백신의 교체를 위한 절차가 확립되어 있어야 한다(35, 36).



### 3.9.12 이상독성부정시험

HPV 백신 완제의약품을 대상으로 이상독성부정시험을 실시할 필요가 있는지 국가규제기관과 협의하여 정한다. 해당 로트가 「의약품 등의 안전에 관한 규칙」(총리령), [별표 1] 의약품 제조 및 품질관리기준 및 [별표 3] 생물학적제제등 제조 및 품질관리기준을 준수하여 제조되었고 제조공정의 일관성 유지 및 관리 등으로 외부로부터의 오염이 없을 것으로 인정되는 경우에 한하여, 제조원 품질부서 책임자의 확인 자료가 있는 경우 시험을 대체할 수 있다.

### 3.10 기록

「의약품 등의 안전에 관한 규칙」(총리령), [별표 1] 의약품 제조 및 품질관리기준 및 [별표 3] 생물학적제제등 제조 및 품질관리기준을 적용한다.

### 3.11 보관품

「의약품 등의 안전에 관한 규칙」(총리령), [별표 1] 의약품 제조 및 품질관리기준 및 [별표 3] 생물학적제제등 제조 및 품질관리기준을 적용한다.

### 3.12 표시 기준

「의약품 등의 안전에 관한 규칙」(총리령), [별표 1] 의약품 제조 및 품질관리기준 및 [별표 3] 생물학적제제등 제조 및 품질관리기준을 적용하고, 다음 사항을 추가로 적용한다.

카톤의 라벨, 용기 또는 설명서에 다음 정보를 표시한다.

- 재조합 효모, 세균, 포유류 세포, 재조합 바쿨로바이러스/곤충 세포로 제조되었다는 문구

- L1 VLP의 유래가 되고 제품에 존재하는 HPV의 유형
- 투여 용량 당 역가
- 다회 투여 용량 제품인 경우에 투여 용량(도즈)의 수
- 백신에 존재하는 항생제의 명칭과 최대 함량
- 보존제의 명칭과 농도
- 보관 및 운송 시의 권장 온도 조건
- 유효기간
- 기타 특별한 투여 일정
- 면역보조제의 명칭과 농도

### 3.13 유통 및 운송

「의약품 등의 안전에 관한 규칙」(총리령), [별표 1] 의약품 제조 및 품질관리기준 및 [별표 3] 생물학적제제등 제조 및 품질관리기준을 적용한다. 자세한 사항은 WHO ‘시간/온도 민감성 의약품의 보관 및 운송에 관한 모델 가이드라인(Model guidance for the storage and transport of time- and temperature-sensitive pharmaceutical products)’ (37)을 참조한다.

### 3.14 안정성 시험, 보관, 유효일자

#### 3.14.1 안정성 시험

백신 개발에서 중요한 부분이 적절한 안정성 시험이다. 백신 안정성 평가 시에 「생물의약품 안정성시험 가이드라인」(식약처 민원인 안내서)과 「확장 보관온도 조건(ECTC)에서 사용하는 백신의 안정성 평가 가이드라인」(식약처 민원인 안내서) 및

「의약품등의 안정성시험 기준」(식약처 고시)을 참조한다. 단일 항원 수확물 또는 단일 수확물 혼합물, 정제 단가 원액, 흡착 단가 원액, 최종 원액, 다음 공정을 진행하기 전에 반제품을 보관하는 모든 경우, 그리고 완제의약품 등 생산 단계별로 안정성 시험을 실시한다. 생산 단계별로 적절한 안정성 변수를 정하거나 선택한다. 백신 생산 도중의 모든 반제품(특히 단일 항원 수확물, 정제 단가 원액, 최종 원액)에 유효기간을 설정한다.

서로 다른 흡착 단가 원액으로 만든 최소 3개의 완제 의약품을 권장 보관 조건에서 유효기간 동안 보관하며 안정성 시험을 실시하여 안정성과 유효기간의 타당성을 증명하고 이를 국가규제기관이 인정해야 한다.

다가 백신의 복잡성을 고려했을 때 국가규제기관의 승인을 받아 다른 방법으로 안정성을 증명할 수도 있다.

백신의 전반적인 특성에 대한 정보를 추가로 얻기 위해 가속 안정성 시험을 실시할 수 있으며, 가속 안정성 시험은 제조 변경을 추진하는 경우에 동등성 평가에 도움이 될 수 있다.

백신 항원과 면역보조제(사용하는 경우) 조성은 백신 유효기간 동안 안정적이어야 한다. 안정성에 대한 기준은 국가규제기관과 합의되어야 한다. 허가 이후에도 백신 안정성을 지속적으로 모니터링 하여 유효기간의 설정근거를 뒷받침하고 안정성 프로파일 정보를 축적한다(48).

최종 안정성 시험 계획을 국가규제기관이 승인하고, 이때 안정성을 보여 주는 변수, 안정성 데이터의 지속적인 수집과 공유 절차, 백신 부적합 처리 기준 등을 포함하여 계획을 수립한다.

### 3.14.2 보관 조건

완제 의약품을 2-8℃에서 보관한다. 다른 보관 조건을 채택하고자 한다면, 충분히 검증된 유효기간을 실시하고 국가규제기관의 승인을 받는다. 국가출하승인 일자와 유효기간 사이의 기간에 해당되는 기간 동안 역가가 유지됨을 보여 주어야 한다. 보관중에는 액체 상태의 백신이 동결되지 않아야 한다.

### 3.14.3 유효기간

안정성 시험 결과를 바탕으로 유효기간을 정하며, 국가규제기관의 승인을 받아야 한다. 최종 원액 조제 일자, 충전 일자 또는 완제 의약품의 최초 역가 시험 일자를 기준으로 유효기간을 정할 수 있다.

in-vivo 역가 시험을 하는 경우 역가 시험 일자는 동물에 접종한 날로 한다.

## IV. 재조합 HPV VLP 백신의 비임상 평가

비임상 시험의 설계, 실행, 분석, 평가에 관한 세부 사항은 「생물의약품 비임상시험 가이드라인」(식약처 민원인안내서)(1)을 참조한다. 백신 면역보조제와 면역보조제 처리 백신의 비임상 평가에 관한 일반 원칙과 가이드라인은 별도의 WHO 문서(38)를 참조한다. 특히 참고문헌 38번의 가이드라인을 참조하여 안전성 및 약리, 생체 분포 시험의 필요성을 정할 수 있으며, 새로운 면역보조제를 HPV 백신 제조에 투입하는 경우에는 면역보조제의 특성 분석 정도 등을 정할 수 있다.

이 가이드라인은 기허가 백신에 함유된 16/18형( $\pm 6/11$ ) 이외의 다른 HPV 유형을 함유한 새로운 L1 VLP 백신과 16/18형( $\pm 6/11$ )을 함유한(다른 유형이 있거나 없는 모든 경우) 새로운 L1 VLP 백신에 적용된다.

새로운 HPV 백신의 임상 시험을 시작하기 전에, 동물 안전성 시험, 개념 증명(proof-of-concept) 면역원성 시험, 제품 특성 분석 시험을 광범위하게 실시해야 한다. 비임상 평가 정도는 각 사례에 기초하여 백신 조성의 복잡성에 따라 다르다. HPV L1 VLP 기반 백신의 개발 시에 고려해야 할 사항은 다음과 같다.

### 1. 제품 특성 분석 및 공정 개발

백신 생산 공정을 적절하게 표준화하고 관리하여, 제조 일관성을 보장하는 것과 인체에 대한 역가와 안전성을 보여주는 비임상시험 데이터의 수집이 중요하다. 개발 단계에 따라 제품 특성 분석의 정도가 다양하다. 비임상 시험에 사용하는 백신 로트는 임상 시험에 사용하는 제제를 적절하게 대표해야 하고, 임상 시험에 사용하는 것과 같은 로트로 하는 편이 가장 바람직하다. 그렇게 할 수 없는 경우에는, 비임상 시험에 사용한 로트가 이화학적 특성과 데이터, 안정성, 조성 등 여러 가지 측면에서 임상 로트와 동등해야 한다.

### 2. 약력학 시험

인유두종바이러스는 종 특이적이므로, HPV 감염에 대한 적절한 동물 모델이 없다.

CRPV(cottontail rabbit papilloma virus) 같은 ‘상동’ 바이러스를 이용한 동물 예방 모델에서, L1 VLP 기반 백신의 사용에 대한 개념증명이 확인되었다. 여러 가지 동물 모델을 이용한 전임상 챌린지 시험을 통해, L1 VLP가 강력한 면역원으로서 고역가의 중화 항체를 유도하고 관련 병소에 대한 예방 효과를 발휘하는 것이 증명되었다(14, 15). 또한 L1 VLP 접종 동물의 혈청을 예방 접종을 하지 않은 동물에 주입한 경우에, 바이러스에 대한 예방 효과가 있는 것으로 밝혀졌다(14-16). 슈도비리온이나 대체바이러스(surrogate virus)를 이용한 설치류 자궁 경부 감염증 동물 모델을 대상으로 실시한 예방 효과 시험 결과, 전신 중화 항체가 상처 부위로 삼출되고 기저막의 바이러스와 결합하여 예방 효과를 나타내는 것으로 생각된다(16).

이와 같은 데이터를 고려하면, 다음과 같이 결론을 내릴 수 있다.

- 단가 또는 다가 HPV L1 VLP 백신에 대하여 챌린지 시험을 더 할 필요가 없다.
- 예방 효과의 주된 중개 요소는 중화 항체라 할 수 있다. 세포 매개성 면역(cell mediated immunity)이 예방 효과에 직접적으로 작용한다고 생각되지 않는다. 그러므로 규제 기관의 승인을 얻기 위해, 이 부분이 더 설명될 필요가 없다.

다음 사항을 고려하여 면역원성 시험(예; 설치류, 토끼, 그리고 가능한 경우에는 사람 이외의 다른 영장류)을 실시해 L1 VLP 기반 백신의 약력학적 특성을 평가할 필요가 있다.

- 허가받고자 하는 백신에 함유된 HPV L1 VLP 유형 각각에 대하여 유도되는 혈청 중화 항체의 평가 및 특성 분석-HPV 백신이 기허가 백신에 있는 것 이외의 새로운 유형을 함유하거나 투여 경로가 다른(예; 에어로졸) 새로운 제형의 백신인 경우에는, 추가 시험군을 포함시켜 시험을 설계함으로써 관련 근거 데이터를 확보할 수도 있다.
- 특정 면역보조제를 함유하는 백신이라면, 바람직한 면역 반응(체액성 또는 세포성; 예; T-보조 세포의 개입 또는 특정 기억 세포 유도)의 개선 등 추가적인 혜택을 하나 이상의 관련 종을 대상으로 조사한다(38).
- 백신에 함유되는 면역보조제와 항원의 상대 비율과 관련하여 근거 데이터를 확보한다.

- 허가받고자 하는 백신에 포함되지 않았지만 관련이 있는 다양한 HPV 유형에 대한 혈청 교차 중화 항체도 선택적으로 평가한다. (5.6 참조).

### 3. 독성 시험

「생물의약품 비임상시험 가이드라인」(식약처 민원인안내서)(5)(1)에 따라 최종 백신 제제로 독성 시험을 실시한다. 관련 동물 모델을 상대로 독성 시험을 실시하며, 백신의 예정 임상 용도를 반영하여 시험 방법을 설계한다. 임신 전과 임신 도중에 투여하는 절차도 포함시킬 수 있다(1). HPV 백신의 목표 집단에 가임 여성도 포함되므로, 생식 독성과 발생 독성 시험을 해야 한다. 반복 투여 독성 시험과 발생 독성 시험 수행 시, 기존의 식약처 민원인안내서(1) 및 WHO 가이드라인(38)을 참조하여 적절한 독성학적 변수 이외에도 예방 접종 동물 집단의 면역 반응도 평가한다. 에어로졸 경로로 투여하는 백신을 개발하고자 한다면, 흡입 독성 시험 등 다른 독성 시험이 필요할 수도 있다.

HPV VLP 백신 생산에 새로운 세포 기질(기허가 사람 백신이나 생물학적제제 생산에 사용된 적이 없는 기질)을 사용한다면, 잔류 숙주 세포 단백질에 의한 면역 반응 가능성 등 안전성 측면을 적합한 동물 모델을 이용해 조사한다. 특히, 미량의 잔류 단백질에 대해서도 면역 반응을 유발할 가능성이 있는 면역보조제가 함유되는 경우에는 이와 같은 시험이 필요하다.

## V. 재조합 HPV VLP 백신의 임상 평가

### 1. 서론

임상 시험은 「의약품 등의 안전에 관한 규칙」(총리령), [별표 4] 임상시험관리기준과 「백신 임상평가 가이드라인」(식약처 민원인안내서)(2)을 준수해야 한다.

이 섹션은 HPV 16형과 18형을 포함하는 L1 VLP 백신에 관한 것으로, 최초 허가 전 및 다른 환경에서 허가 후에 생성될 수 있는 임상데이터를 고려한다.

아래의 세 가지 유형의 임상 데이터는 항문생식기암 (anogenital carcinomas)을 예방하는 HPV 후보 백신의 능력을 제공할 수 있다.

- 섹션 2에서 논의되는 면역학적 데이터
- 섹션 3에서 논의되는 바이러스학적 데이터
- 섹션 4에서 논의되는 조직학적 데이터

섹션 5는 다양한 환경에서 백신의 잠재적 유효성을 입증하기 위해 사용될 수 있는 데이터의 유형을 요약 설명한다.

섹션 2~5까지 이 4개의 섹션에서는 고등급 상피내 종양과 암에 있어서 HPV 백신이 16형과 18형의 감염 발생에 미치는 영향 그리고 다른 발암성 HPV 유형의 더 낮은 유병율로 인해 조직학적 일차 유효성 변수가 현실성이 떨어졌다는 사실을 고려하고 있다. 처음 2가지 HPV 백신을 통해 얻은 경험은 HPV 정기 예방접종이 없었던 경우 또는 접종률이 낮은 경우에 대체적인 1차 유효성 평가변수로서 유형 특이적 바이러스 지속성을 이용하는 것을 뒷받침 해주었다. HPV 백신을 정기 예방접종 프로그램에 포함시켜 높은 접종률을 보이는 국가에서는 16형과 18형에 대한 조직학적 변수 및 바이러스 지속성에 대한 변수는 평가가 어려울 수 있다. 일반적이지 않으며 때로는 희귀 전암 병변과 관련된 다른 HPV 유형에 대한 유효성을 이러한 변수들로 입증할 수 있는 가능성은 예상되지 않는다. 따라서 일부 상황에서 백신의 유효성 평가는 면역학적 데이터만을 근거로 할 수 있다.



이외에 :

- 섹션 6은 후보 백신에 포함되지 않은 HPV 유형에 대한 방어(즉, 교차방어) 주장을 뒷받침할 수 있는 데이터를 다룬다.
- 섹션 7은 임상시험 내의 안전성 평가를 다룬다.
- 일상적인 사용에서 항체 지속성, 백신의 유용성 및 안전성에 대한 평가는 8에서 다루진다.

## 2. 면역학적 데이터

자연적으로 획득한 HPV에 대한 중화 (즉, 기능적) 항체는 유형 특이적 예방(type-specific protection)을 가능하게 하는 것으로 입증되었다(39). HPV L1 VLP 백신은 혈청에서 측정될 수 있는 중화 항체를 생성함으로써 바이러스 지속감염을 예방하는 것으로 알려졌다. 근육주사용 HPV L1 VLP 백신을 이용한 시험 결과, 혈청과 자궁경부 점막액의 항체 수준 간에 전반적인 상관관계를 발견하였다(40-44). 그러나 혈청이나 감염 부위에서의 예방에 필요한 항체 농도는 알려져 있지 않다. 즉, 면역학적 지표(immunological correlate of protection; ICP)가 HPV 백신에 대해 확립되지 않았다.

HPV L1 VLP 백신에 대한 면역반응의 최초 평가는 슈도비리온 기반 중화 시험(pseudovirion-based neutralization assay)을 이용하여 혈청에서 중화항체를 측정하는 것을 토대로 해야 한다. 항문생식기 부위(예; 자궁 점막액)에서 항체 농도의 측정은 필요하지 않다.

### 2.1 분석방법

전체적인 임상 개발 프로그램에 있어서 HPV에 대한 항체의 측정을 위해 동일한 분석법을 사용하고, 그 시험을 지정된 중앙실험실에서 실시하는 것이 바람직하다. 이상적으로는, 허가 후 항체의 지속성 조사에 대해 동일한 접근이 적용되어야 한다. 이러한 일관성은 어느 한 시험 내 및 시험들 간의 면역반응을 비교 할 때 필수적이다.

신청서류에 포함되는 면역반응 데이터를 생성하기 위해 사용된 분석법(또는 분석법들, 만약 임상 개발 중에 분석법 변경이 불가피하다면)은 충분히 밸리데이션되어야 한다. 또한 밸리데이션에 대한 세부사항과 결과를 제출해야 한다.

In vitro 중화 항체 분석은 배양 세포의 HPV 슈도바이러스 감염 억제에 대한 측정을 포함하며, 일반적으로 감염된 세포들이 쉽게 구분될 수 있도록, 표지된 플라스미드를 사용하는 유형 특이적 슈도바이러스를 사용한다. 이러한 중화 분석법은 각 바이러스 유형별 L1과 L2에 대해 발현 플라스미드를 필요로 하며, 이러한 동일 출처의 발현 플라스미드를 사용하여 분석법을 표준화한다. WHO의 인유두종바이러스 실험실 매뉴얼(The WHO Human papillomavirus laboratory manual) (18)에는 우수한 실험실간 성능을 보이는 HPV 중화 분석 방법이 포함되어 있다.

그러나 중화 분석은 노동 집약적이고, 기술적으로 복잡하며, 현재까지는 높은 처리량을 가지고 있지 않다. 이에 따라 HPV 후보 백신에 대한 중화항체 분석법의 특성 분석 이후, 기술적으로 부담이 덜한(예; 유형 특이적 cLIA [competitive Luminex-based immunoassay] 또는 ELA) 대체 분석법들을 사용하는 것이 허용될 수 있는데, 이는 이들 분석법과 중화분석의 결과 사이에 상호관계가 있음이 입증되는 경우에 한해서이다(45).

L1의 구조적 에피토프에 결합하는 중화 단일클론 항체를 이용하는 경쟁적 면역분석법(competitive immunoassays)은 유형 특이적이고 민감하며 모든 면역글로블린 종류를 탐지하고 변성된 L1 단백질은 측정하지 못한다(45). 그러나 하나의 중화 에피토프에 대한 결합이 모니터링 되면 총 항-VLP 항체에 대한 단지 하나의 서브세트가 측정된다. 따라서 이러한 분석이 사용되면, 혈청 중 방어 항체의 총 수준이 실제보다 적게 측정되는 결과가 나올 수 있다는 점을 염두에 두어야 한다.

VLP-기반 EIA은 유형 특이성(type-specificity)을 보장하기 위해 구조적으로 온전한 VLPs의 항원 사용을 필요로 한다. 이 분석법은 VLPs에 결합하는 특이 면역글로블린 종류(일반적으로 IgG)의 모든 항체를 검출한다. 비록 중화 및 비중화 항체 모두를 검출하기는 하지만, 지금까지 개발된 백신에 대한 가장 강력한 숙주반응은 에피토프를 중화하는 것이어서 중화 분석법과의 상관관계는 일반적으로 우수하다. HPV 혈청학적 검사를 실시하는 실험실은 상업용 분석법을 이용할 수 없으므로 VLPs에 대한 자체 품질관리를 준비하여 수행해야 한다. 상업적으로 이용할 수 있는 주요 시약이 없는 점은

HPV의 혈청학적 분석 결과를 표준화하는데 장애가 되는 부분이다.

HPV 16형과 HPV 18형에 대한 혈청 항체에 관한 국제표준품을 이용하면 결과에 대한 비교동등성을 개선하는데 도움이 된다. WHO의 인유두종바이러스 실험실 매뉴얼(The WHO Human papillomavirus laboratory manual) (18)에는 국제표준품을 기준으로 하여 교정된 표준품과 평행선 분석법(parallel-line method)의 사용이 설명되어 있으며, 실험실간 비교를 개선하는 것으로 입증되었다. 항체 수준은 국제표준품을 이용하여 HPV 유형에 대해 국제단위(IU)로 보고되어야 한다. HPV 유형들 간의 역가 비교는 적절하지 않다는 점을 염두에 두어야 한다. 각 분석법의 경우, 검출하한(LLOD)과 정량하한(LLOQ)이 분명히 규정되어야 하며, 혈청 양성 및 혈청 음성으로 보고된 검체를 구분하기 위해 적용된 기준치(cut-off)의 타당성도 함께 규정되어야 한다.

## 2.2 면역반응 특성 분석

임상개발 프로그램의 초기 단계 동안에 후보백신에서 각 HPV 유형에 대하여 다음 사항들을 문서화할 것을 권장한다.

- 접종 전에 혈청음성이었던 시험대상자들의 혈청전환율(SeroConversion Rate; SCR)에 초점을 맞춘 백신에 대한 면역반응.
- 접종 이후 GMT(geometric mean titres)의 변화와 역누적분포(Reverse Cumulative Distribution; RCD) (접종 전의 혈청양성 시험대상자와 혈청음성 시험대상자에 대해 별도로 제시해야 함)

임상시험에서는 시험의뢰자가 후보 백신이 허가 받은 백신과 매우 유사하다는 것을 입증하지 않는 한, 동일한 혈청 수집 횟수와 투여요법이 적용될 수 있도록 다음과 같은 평가가 이루어져야 한다.

- 접종 후 혈청학적 1차 변수의 시점을 뒷받침하는 면역반응의 동력학(즉, 연속 투여에 대한 반응에서 항체 수준의 변화)이 확인되어야 한다.
- 다양한 연령군에 맞춰 선택된 투여 횟수와 투여 간격을 뒷받침하는 면역반응에 대한 적절한 탐구가 있어야 한다.

새로운 것이든 기존에 허가된 백신에 이미 포함된 것이든 간에, 면역보조제의 포함에 대해 하나 이상의 HPV 유형에 대한 면역반응의 향상을 입증하는 데이터와 표적 연령범위에서 얻어진 항체 수준의 잠재적 임상적 유의성에 대한 평가가 뒷받침해야 한다(8). HPV 백신에 대한 ICP가 확립되지 않았기 때문에, 면역보조제의 효과에 대한 잠재적 임상적 의의는 유효성이 입증된 기허가 백신에서 확인된 항체 수준과 후보 백신에 의해 달성된 항체 수준을 보조제가 있을 때와 없을 때에 대해 비교함으로써 평가할 수 있다(아래 섹션 2.3 참조).

후보백신에 사용된 면역보조제가 면역향상 기전에 대해 실질적인 정보가 있는 허가된 백신의 면역보조제와 다르다면, 체액성 및 세포성 면역 반응에 대한 그 효과 (예; 보조 T-세포의 개입이나 특이 기억세포의 유도)에 대해 광범위한 특성분석이 이루어져야 한다.

현재는 HPV L1 VLP 백신을 이용한 기초 접종 주기에 대한 접종 완료 후에 추가접종의 필요성을 나타내는 증거가 없다. 그럼에도 불구하고 첫 성경험을 하기 몇 년 전에 백신을 접종한 시험대상자들에 대한 데이터를 비롯하여 백신의 유용성에 대한 장기적 데이터를 이용할 수 있을 때까지 (예를 들어, 10년 이상) 이것은 여전히 미결문제로 남아 있을 것이다. 결과적으로 기초 접종 주기에 의한 접종이 완료된 이후에 상대적으로 작은 소규모 그룹을 대상으로 계획된 간격으로 투여하는 추가접종에 대한 면역반응의 선제평가에 대하여 고려할 수 있다(58)(46). 이러한 데이터는 최초 허가 이후에 제공될 수 있으며, 기초 접종 주기에 의한 접종 항원자극(priming)과 관련하여 간접적인 정보를 제공할 수 있다(아래 섹션 8.1 참조).

Plateau의 달성을 입증하는데 충분한 항체 감소 곡선(antibody decay curve)을 그리기 위해서는 최종 백신 투여 후에 미리 계획한 시점별로 항체 수준을 측정하는 것이 중요하다. 이들 데이터는 허가 후, 선정된 접종 코호트에서 항체의 지속성에 대한 장기 추적 기간에 수집될 수 있다(아래 섹션 8.1 참조).

HPV VLP 백신들 간 및 병용 투여 백신들 간의 면역 간섭(immune interference) 가능성이 허가 전후에 조사되어야 한다. 이들 시험의 설계 및 분석에 관해서는 「백신 임상평가 가이드라인」 (식약처 민원인안내서)(2)을 참고한다.

## 2.3 비교 시험에서의 면역 반응 분석

아래와 같이, 다른 시험이나 동일 시험 내에서 일부 옵션의 실행 가능성을 제한하는 환경에 따라 후보 백신에 대한 면역 반응은 하나 이상의 다음 백신들과 비교될 수 있다.

- 또 다른 HPV 백신. 이 경우에는 두 백신(공유 유형)에 모두 존재하는 HPV 유형들이 있을 수 있고, 하나의 백신에만 존재하는(비공유 유형) HPV 유형들도 있을 수 있다.
- 다른 투여량으로, 다른 스케줄 또는 다른 모집단에 투여된 동일한 후보 백신
- 후보백신의 또 다른 제형(예를 들어, 면역보조제가 있는 혹은 없는, 다양한 수의 HPV 유형을 포함한 백신)
- 비접종군(즉, 위약이나 비 HPV 백신을 맞은 집단)

각 상황에서 다음을 권장한다. :

- 임상적 중요성 때문에, HPV 16형 및 18형에 대한 후보백신의 유효성이 최초 개발된 2개의 HPV 백신의 유효성과 비교할만하다는 결론이 면역반응의 비교를 통해 명확하게 뒷받침되어야 한다.
- 각 HPV 유형에 대한 면역반응 확인을 위한 1차 분석 모집단은 베이스라인에서 특정 HPV 유형에 대해 혈청학적으로 음성인 사람들로 제한된다. 따라서 모집단의 규모를 결정하기 위해서는 시험 중인 모집단에서 예상되는 HPV 유형 특이적인 베이스라인 혈청양성도(baseline seropositivity)를 고려해야 한다.
- 1차 비교는 항체 동력학적 데이터를 별도로 제시하지 않는 한, 의도한 투여요법(regimen)에 따라 최종 투여 후 1개월이 지난 시점에 얻은 혈청의 항체 역가를 토대로 한다. 시험요법이 대조요법과 다른 투여 횟수(예; 2회 또는 3회 투여횟수)로 구성되거나 최종 투여가 다른 시점에 투여된다면(예; 최초 투여 후 4개월 후와 6개월 후에), 1차 비교는 비교를 할 때마다 여전히 최종 투여 1개월 후(또는 동력학에 기초한 다른 시기)에 얻은 혈청을 토대로 해야 한다. 2차 분석은 최초 투여에서 미리 정한 시기에 측정한 항체 역가를 비교해야 하며, 항체 수준이 안정기(plateau)에 도달한 때에 대한 비교를 포함한다.

### 2.3.1 HPV 백신 비접종군과의 비교

많은 나라에서 HPV 백신이 광범위하게 허가되고, 정기 예방접종 프로그램에 포함되어 있다는 점을 고려해볼 때, HPV 백신을 접종받지 않은 군을 포함한 성적 활동을 하는 남성이나 여성에 대한 연구는 여러 가지 환경에서 쉽지 않을 것이다. 비접종군과의 비교는 단기간 면역원성 시험에서는 여전히 가능할 수 있다. 이 시험에서 시험대상자는 HPV 감염 위험이 낮은 또는 전혀 없는 것으로 간주되고(예를 들어, 첫 성경험 전), 모든 시험대상자들은 최종적으로 시험계획서에 명시된 기한 내에 백신 접종을 받는다. 그럼에도 불구하고 이 설계를 선택하기 전에는 비접종군과 후보백신의 비교에 대한 잠재적 필요성과 가치가 고려되어야 하고, 안전하고 유용한 백신을 보류하는 것에 대한 윤리적 고려사항과 균형을 맞춰야 한다.

초창기 허가된 HPV 백신들의 접종 후 이전에 혈청학적으로 음성이었던 시험대상자의 혈청양성반응율과 혈청전환율은 매우 높았다. 이것은 접종군과 비접종군을 비교하는 시험을 위한 민감한 변수들이다. 결과적으로 이들 시험은 HPV 백신을 접종받지 않은 대조군 대비 후보백신군에서 각 HPV 유형에 대한 혈청전환율의 우위성을 입증하는 것이 목표가 되어야 한다. 우위성을 결정하기 위해 미리 정한 기준에서는 조직학 및 바이러스학적 데이터(47, 48)를 토대로 유효성이 입증된 초창기 허가된 HPV 백신들에 대해 관찰된 유형 특이적인 혈청전환율이 고려되어야 한다.

후보 HPV 백신에 포함되지만 대조 HPV 백신에는 포함되지 않은 HPV 유형에 대한 면역 반응을 비교할 때에도 동일한 방식을 사용할 수 있으며, 이는 대조군이 해당 HPV 유형에 대해서는 비접종 상태이기 때문이다.

### 2.3.2 접종군 간의 비교

백신 접종 후 혈청학적으로 음성이었던 시험대상자의 혈청양성반응율과 혈청전환율이 매우 높을 것이라는 예측 때문에, 이것은 접종군들 간에 차이를 볼 수 있는 민감한 변수들은 아니다. 따라서 HPV 후보백신과 대조백신(들)에 포함된(즉, 공유 형태) 각 HPV 유형에 대한 면역반응의 GMT 비율은 일반적으로 접종군간 1차 비교를 위해 사용된다. HPV 유형 특이적 혈청전환율은 2차 변수의 하나로 포함되어야 한다.

일반적으로, 개별 HPV 유형에 대한 항체의 GMT 비율을 토대로 한 백신 접종군 간에

비열등성을 확립하기 위해서는 GMT 비율(후보백신 대 대조백신)에 대하여 95% 신뢰구간의 하한이 0.67 이상이 되도록 권장된다. 특정 상황에서 국가규제기관들은 0.5의 하한을 허용하는 것을 고려할 수 있다. 향후 특히 ICP가 확인될 수 있거나 시험의뢰자가 확실한 근거를 제공할 수 있으면 이러한 허용 기준을 재고해보는 것이 적절할 수 있다. 또한 곡선의 하단이나 상단에서만 발생하기는 하지만 잠재적 임상적 의미 측면에서 역누적분포들 간의 뚜렷한 구분이 논의되어야 한다.

## 2.4 백신 유효성에 대한 면역학적 가교

HPV 백신에 대한 ICP가 확립되어 있지 않지만, 때로는 항문생식기 암, 전암성 병변 및 생식기 혹에 대하여 유효성을 평가하기 위해 면역학적 가교를 사용하는 것이 적절하거나 필요하다.

면역학적 가교는 후보백신과 2.4.1의 권고에 따라 선정된 기허가 백신 사이의 유사한 면역반응의 입증과 관련이 있다.

이런 방법으로 :

- 하나의 HPV 백신에서 관찰된 HPV 유형 특이적 유효성은 대체적인 투여일정(예를 들어, 투여횟수 감소, 최종투여 지연), 모집단(예를 들어, 유효성을 평가할 수 없는 성 경험이 없는 어린이) 또는 동일 백신의 확장 버전(즉, HPV 유형 추가)에 가교역할을 할 수 있다.
- 허가된 특정 HPV 백신으로 관찰된 유효성은 두 백신 간에 공유되는 모든 HPV형에 대하여 후보백신의 가교 역할을 할 수 있다.

면역반응의 비교는 2.3.2의 권고사항에 따라야 한다. 각 연령과 성별에 따른 군에서 대조백신에 대해 허가된 적응증과 관련하여 성공적으로 비열등성을 입증하면 후보백신에 대해서(즉, 자궁경부, 항문 및 외음부질 병변을 포함하여) 동일한 적응증을 주장할 수 있다. 그럼에도 불구하고, 백신 유효성의 추정이 면역학적 가교 데이터만을 기초로 할 때, 각 국가규제기관들은 허가된 대조 백신의 적응증과 비교하여 후보백신의 적응증을 제한할 수 있다.

하나 또는 그 이상의 HPV 유형이 미리 정해진 비열등성 마진을 충족하지 못하는 상황이 있을 수 있다. 임상 유효성에 대한 그러한 결과의 의미는 파악될 수 없으므로, 백신 유효성과 유용성에 대해 있을 수 있는 영향이 각 사례별로 고려되어야 할 것이다. 이때 후보백신 및/또는 시험요법의 가능한 모든 장점들(예를 들어, 줄어든 또는 늘어난 편리한 일정, 기존의 일상적인 일정으로의 통합을 용이하게 하는 특이 연령군에서의 사용) 뿐 아니라 논의되고 있는 HPV 유형 및/또는 각 국가기관의 관할구역 내에서 유행하는 관련된 교차 반응형의 상대적 중요성도 고려되어야 한다.

최종 투여 직후에 면역반응을 토대로 하나 또는 그 이상의 HPV 유형에 대해 비열등성이 입증되지 않으면, 차후 시점에서 비열등성을 입증하는 미리 정해진 분석이 대안으로 고려될 수 있다. 예를 들어, 현재 항체 감소 곡선에서 plateau 효과가 시작되는 것으로 알려져 있는 시기인 최종 백신 투여 후 18~30개월 시점에서의 비교를 고려할 수 있다. 그러나 최종 백신 투여 후 시간이 지남에 따라, GMT 간의 차이가 사라질 수 있고, 분석 민감도를 감소시킬 수 있다. 또한 최종 백신 투여 후 18-30개월 후 항체 수준에 대한 비교에 기초할 경우에는 백신의 최초 허가를 상당히 지연시키게 될 것이다.

#### 2.4.1 대조 백신의 선택

잠재적 백신 유효성을 평가하기 위한 면역학적 가교 방식은 적절한 대조 백신을 바탕으로 하는 것이 매우 중요하다. 원칙적으로 대조 백신은 조직학적 혹은 적어도 바이러스학적 일차 변수를 토대로 허가를 받은 백신이어야 한다. 그러나 일부 국가에서는, 대조백신이 최초 허가된 이후 몇 년간 또 다른 HPV 백신에 의해 입증된 유효성에 대한 면역학적 가교를 바탕으로 후보백신의 허가를 받을 수 없을 수도 있다. 따라서 대조백신의 선택은 후보백신이 사용될 예정인 국가의 관련 규제기관과 논의해야 한다. 대부분의 경우, 동일한 HPV 유형의 후보백신이나 동일 HPV 유형을 최대한 많이 공유하는 것이 적절할 것이다.

앞으로는 후보백신에 대한 면역반응이 이전에 질병관련 변수에 대해 유효성을 가진 것으로 입증되었던 대조백신의 면역반응과 직접 비교될 수 없을 수 있다. 그 이유는 해당 대조백신이 더 이상 판매되지 않기 때문이다. 예를 들어, 조직학적 및/또는 바이러스학적 데이터를 기초로 허가되었던 백신의 최초 버전은 수정 버전(예; 추가적인 HPV 유형)으로 대체되었을 수도 있다. 최초 버전에서 HPV 유형에 대해 일으켰던 것과 동일한



면역반응을 일으키지 못할 경우에는 면역학적 가교 시험에서 수정 버전을 사용하는 것은 문제가 된다. 결과적으로 수정 버전이 개발된 최초 백신에 비해 면역원성이 덜하거나 잠재적으로 예방능력이 떨어질 위험이 있다. 이 피할 수 없는 사실 때문에 허가 후 백신의 유용성에 대한 기록이 더욱 중요하다(8.2 참조).

#### 2.4.2 특정 환경에서 면역학적 가교

최초 개발된 두 개의 HPV 백신의 경우, 면역학적 가교는 9-15세의 소아청소년에서의 사용을 뒷받침하기 위해 이용되었고, 이후에는 특정 연령 집단에서 투여를 3회에서 2회로 줄여 사용하는 것을 뒷받침하기 위해 이용되었다(43, 49-57). 이러한 각각의 경우, 허가는 3회 투여 계획을 따른 후에 유효성이 입증되었던 연령 범위 내에서 여성 접종자들의 것과 비교한 면역반응의 비열등성의 입증을 바탕으로 하였다.

이 가교시험에서, HPV 16형과 18형에 대한 면역반응은 9-15세의 여학생들보다 남학생들에서 더 높았다(52, 58). 반대로 일부 HPV 유형들에 대한 면역반응은 비슷한 연령의 여성들에 비해 남성이 더 낮았고, 26-45 세의 여성들이 15-26세 여성들보다 더 낮았다(59, 60). 따라서 면역학적 가교가 사용될 때는 연령 범위와 성별을 토대로 한 해석상의 가능한 문제들을 고려하는 것이 적절하다(5 참조).

면역억제 집단에서 사용을 지원하기 위한 면역학적 가교 방식은 건강한 시험대상자에 비해 더 낮은 면역반응이 관찰될 가능성으로 인해 복잡해진다(61-63). 아직 ICP가 확립되지 않았기 때문에 백신 유효성에 대한 더 낮은 면역반응의 영향은 불확실하다. 국가규제기관은 면역능력이 있는 시험대상자들에서보다 더 낮을 수는 있겠지만, 면역억제 집단에서도 긍정적인 이익-위험 결과를 뒷받침하기에 충분한 정도의 이익을 예상할 수 있는지를 고려해야 할 것이다.

### 3. 바이러스학적 데이터

생식기 부위에서 HPV 감염과 바이러스 지속성에 대한 신뢰할만한 측정을 하려면 주의하여 관리된 표준화된 검체 채취, 처리 및 바이러스 탐지 방법을 사용해야 한다.

### 3.1 검체 채취

HPV가 세포매개성 면역반응과 관련이 있기 때문에, 검체는 세포성 물질을 포함해야 하며, 별도의 검체를 해부학상의 각 특수 관심 부위에서 채취해야 한다.

대규모 역학 시험에서 검증된 검체 채취의 방법을 권장한다. 사용되는 특이한 방법(예; 검체 채취 기구의 우회 횟수 및 삽입 깊이와 관련하여)은 표준화되어야 하고, 각 시험은 이를 충실히 따라야 한다. 이상적인 것은 각 시험 중에 또는 전체 임상 개발 프로그램 중에 방법을 변경하지 않는 것이다. 변경이 불가피하다면, 다른 방법으로 얻은 결과의 통합을 뒷받침할 수 있는 적절한 교차 밸리데이션이 있어야 한다. 채취 배지는 추출될 검체의 양과 추출방법에도 영향을 미칠 것이다. 물이나 채취 배지 공시료(blank)는 공정 처리 중에 발생하는 교차 오염이 없는지 확인하여 검체와 함께 처리하고 검사해야 한다(18).

자궁 경부에서 HPV를 모니터링하기 위한 표준 방법은 검경 검사를 이용하여 자궁경부에 대한 육안검사 후 임상의가 검체를 자궁경부 외막과 자궁경부에서 채취하는 것이다(18). 다양한 채취 기구들이 사용될 수 있더라도, 자궁경부 변형대(cervical transformation zone)를 표적으로 삼아야 하고, 각 기구는 선택된 채취 배지에 잘 적용되어야 한다. 적절한 밸리데이션이 제시된다면, 자궁 경부 외부 또는 자궁경부 내부에서만 검체를 채취하는 대체 방법과 시험 참가자들에 의한 자가 채취를 고려할 수 있다.

### 3.2 바이러스 검출

허가를 뒷받침하기 위한 시험에서 바이러스 변수를 파악하기 위해 사용되는 분석은 높은 민감도와 특이도를 가진 유형 특이적 결과를 제공해야 하고, 검체의 적절성을 모니터링 하기 위한 내부관리를 포함해야 한다(64, 65). 세포 DNA 서열에 대한 내부 기준은 허용 가능한 세포 수에 대한 하한값을 설정하지만 세포 검체의 품질을 평가하지는 못할 것이다. 예를 들어, 염증세포(의도하지 않은 검체)와 상피 세포(의도한 검체) 간의 차이를 구분하지 못할 것이다.

가능하면 숙련도 시험에 참여하여 만족할 만한 결과를 얻는 것이 분석의 품질을

보장하기 위한 하나의 과정이다(65). 정제 DNA를 사용하는 숙련도 시험으로는 추출 효율, 검체 속에 있을 수 있는 PCR 억제제의 영향 또는 복제 수에서 큰 차이가 있는 유형 간 경쟁을 모니터하지 못할 것이라는 점에 주의해야 한다. WHO의 인유두종 바이러스 실험실 매뉴얼(Human papillomavirus laboratory manual)(18)에서는 시간이 지남에 따라 결과의 안정성과 표준화를 보장하기 위해서, 바이러스 변수에 대해 시험을 수행하는 실험실에 HPV DNA 시험의 품질보증과 품질관리 측면에 관한 지침을 제공한다.

### 3.3 바이러스 지속성

공통에서 논의했듯이, 성 생활이 가능한 젊은 여성을 대상으로한 HPV 백신을 이용한 최초의 유효성 시험 결과, 고위험 자궁질환의 일차적인 조직학적 변수와 6개월간 자궁경부의 HPV 지속 감염 사이에 밀접한 관련이 있음이 밝혀졌다(66, 67-71). 이를 토대로, 자궁과 항문 부위에서 질병 발병기전과 진행의 유사성을 고려하여, 최소 6개월 이상의 기간에 얻은 최소 2개의 연속 검체를 바탕으로 한 바이러스 지속성은 이러한 해부학적 부위에서 조직학적 변수에 대한 허용 가능한 대체변수가 된다(66). 그럼에도 불구하고, HPV 유형 특이적 바이러스 지속성은 등록 전에 알려진 또는 문제의 유형에 대해 등록 후 HPV DNA 음성이었던 백신 접종자의 지속 감염(persistent infection)의 비율이 합리적인 규모의 시험을 수행할 만큼 클 경우에만 타당한 1차 변수이다. 이것은 HPV 백신의 정기예방 접종 프로그램이 도입되고, 접종률이 매우 높았던 모집단을 대상으로 한 시험에서는 타당한 변수로는 예상되지 않는다. 또한 백신 사용과 관계없이 거의 발생하지 않은 HPV 유형에 대해서도 타당한 변수가 아닐 것이다.

바이러스 지속성의 입증은 최초 양성 결과의 시점으로부터 최소 6개월 이상 해부학적으로 동일 부위에서 얻은 연속적인 유형 특이적 HPV DNA 양성 검체를 토대로 해야 한다. 접종 시리즈 완료 후 우발적 감염(incident infection)의 시점은 예측할 수 없기 때문에 사건 중심의 분석(event-driven analysis)이 종종 이용된다. 따라서 일차 분석은 바이러스 지속성(HPV 16형과 18형을 바탕으로 할 수도 있고 아니면 유형에 의해 정할 수도 있음)의 총 증례에 대해 시험계획서에서 정한 수가 누적될 때 수행한다. 이 총 수는 치료군 간의 의미 있는 차이를 탐지할 정도로 충분한 검정을 제공할 정도가 되어야

한다. 일차 분석에서, 바이러스 지속성 증례가 사전에 정한 기간부터 접종시리즈의 최종 투여 후(예; 최소 2주)까지 계산되어야 한다. 이차 분석은 최초 투여 시점으로부터 모든 증례를 계산한 것을 토대로 할 수 있다. 시험계획서에서는 최소 일련의 검체 가운데 하나가 HPV DNA에 대해 음성이지만, 이후에는 하나 이상의 양성 검체일 때 순차적 결과를 어떻게 다룰 것인지를 다뤄야 한다.

### 3.3.1 비접종군 비교

2.3.1에서 논의한 것과 같은 이유로, 비접종군을 포함하는 바이러스 지속성에 대한 시험은 많은 상황에서 허용되지 않을 것이다. 그러한 설계가 여전히 허용될 만한 것으로 간주되고, 발병률이 시험이 가능할 정도로 충분히 높다고 하면(즉, 시험이 실시될 예정인 지역에서 HPV 접종이 널리 이루어지지 않았기 때문에), 우위성평가(superiority) 설계가 사용될 수 있다.

발병률에 대해 알려진 것에 따라, 각 유형에 대한 바이러스 지속성의 공동 일차 변수 또는 HPV 16 그리고 18형에 대한 바이러스 지속성을 바탕으로 한, 단일 복합 일차 변수가 될 수 있다. 추가적인 HPV 유형을 포함하고 있는 후보 백신의 경우, 일차 분석은 HPV 16 그리고 18형들에 대한 종합 데이터에 기초할 수 있으며, 모든 다른 HPV 유형들에 대해 수집된 바이러스 지속성 데이터에 기초한 공동 일차 또는 이차 분석과 각 HPV 유형에 대한 바이러스 지속성의 보조 분석(supportive analyses)을 이용할 수 있다. 자궁경부와 항문 부위를 다루거나 성별에 의한 별도 시험이나 복합 시험이 고려될 수 있다.

### 3.3.2 HPV 백신 간의 비교

위에서 논의된 바와 같이, 추가 HPV 유형의 포함 여부와 상관없이 16형과 18형을 포함한 별도의 HPV 백신이 대조군에 투여되어야 할 가능성이 훨씬 크다. 후보 백신이 우수한 유효성을 가지고 있다고 가정하고, 최초 2개의 HPV 백신으로 얻은 경험에서 보면, 어떠한 유형의 HPV 바이러스 지속성도 적당한 기간 내에 발생하지 않을 것이며, 백신의 유효성 평가를 위해 면역학적 가교 방식에 의존할 수 있다. 그럼에도 불구하고 시험 변수들 사이에서 바이러스 지속성을 평가할 때마다, 다음과 같은 방법이 제안된다.

- 16형과 18형으로 인한 지속 감염이 가능한 일차 변수가 아니더라도, 후보 백신이

예상치 못하게 낮은 유효성을 가진 경우에 모든 증례가 모니터 되어야 한다(예를 들어, 매우 높은 다가 후보백신에 의해 제공되는 16형과 18형에 대한 방어에 대한 추가 HPV 유형들의 부정적 영향이 있을 수 있다.)

- 후보 백신과 대조 백신 사이에 공유되는 추가적인 HPV 유형들의 경우, 보조 분석에서는 전반적인 공유된 유형들뿐만 아니라 각각의 개별 유형에 대해 수집된 바이러스 지속성 데이터를 비교해야 한다.
- 후보 백신에만 있는 어떤 HPV 유형의 경우, 바이러스 지속성은 추가적인 유형들을 통합하여 분석할 수 있으나 각각의 유형에 대해 보조 분석이 실시되어야 한다.

#### 4. 조직학적 데이터

2 와 3에서 논의된 바와 같이 :

- 후보백신의 유효성을 뒷받침하기 위해 조직학적 변수를 대신하여 바이러스 지속성 변수가 사용될 수 있다.
- HPV 백신을 접종받지 않은 대조군의 수용 가능성이 빠르게 감소하고 있는 중이다.
- 조직학적 변수를 이용하는 타당성이 바이러스 지속성 변수에 대한 영향과 동일한 문제에 의해 영향을 받는다. 즉, 광범위한 백신의 사용 및 백신 사용과 상관없이 일부 HPV 유형들과 관련이 있는 매우 낮은 병변율로 발생율이 감소하고 있다.

조직학적 데이터를 시험 중에 수집한다면, 여성을 대상으로 한 2개의 최초 HPV 백신 및 남성을 대상으로한 1개의 백신을 이용하여 수행되었던 핵심(pivotal) 유효성 시험에 사용되었던 변수들, 즉 종양발생성 HPV 유형의 양성과 관련이 있는 우발적인 고위험 항문생식기 병변(47, 48, 72)을 사용할 것을 권장한다.

#### 5. 다른 환경에서 백신의 유효성 평가

이 섹션은 다양한 환경에서 항문생식기암에 대한 잠재적 백신 유효성을 평가하기 위한

방법을 요약한다.

다음 문제들에 주목해야 한다. :

- 지역적 상황에 따라(즉, HPV 백신이 허가를 받았든 HPV L1 VLP의 유형을 포함하고 있든 간에, 그리고 일상적인 백신 프로그램에 포함되어 있는지 여부에 따라), 각 국가규제기관들은 이 섹션에 나와 있는 권고사항에 대한 대체기준을 구비할 수 있다.
- 섹션 4에서 논의된 이유로, 조직학적 변수는 고려하지 않는다.
- 모든 상황에서 성경험을 하기 전 시험대상자로부터는 오직 혈청학적 데이터만을 얻을 수 있다.
- 이 섹션은 생식기 사마귀에 대한 유효성 평가는 다루지 않는다. 6형과 11형을 포함한 후보 HPV 백신의 경우, 생식기 사마귀가 타당한 변수인지에 대한 고려사항은 3.3.1에서 변수로서의 바이러스 지속성에 대해 간략히 다룬 것과 같다. 다른 모든 상황에서 생식기 사마귀에 대한 유효성은 2.4에서 설명한 것처럼, 후보 백신과 적절한 대조 백신 사이에서 이들 두가지 HPV 유형들에 대한 비슷한 면역반응의 입증을 토대로 해야 한다.

## 5.1 HPV 16형과 18형에 대한 유효성

유효성은 다음과 같은 방법 중 하나로 평가될 수 있다. :

- 섹션 3.3.1에 설명된 상황에서의 바이러스 지속성
- 섹션 2.4에 설명된 바와 같이, 허가 백신에 대한 면역학적 가교

## 5.2 기타 HPV 유형에 대한 유효성

항문생식기 암과 관련이 있는 다른 HPV 유형들에 대한 유효성 평가는 다음과 같은 상황에서 필요하다. :

- 최소 HPV 16형과 18형 L1 VLP을 포함하고 있는 허가 백신에 항문생식기 암과 관련이 있는 하나 이상의 HPV 유형의 추가. 이 경우, 최초 허가 백신 및/또는 가능한 공유 유형을 많이 포함하고 있는 또 다른 허가 백신과의 비교가 이루어져야 한다.
- HPV 16형과 18형에 추가 유형을 포함한 새로운 백신 개발의 경우, 추가 유형이 모두 이미 허가 백신에 포함될 수 있거나, 하나 이상의 추가 유형이 어떠한 허가된 백신에도 존재하지 않을 수 있다. 이런 경우에는 다음 중 하나 이상과 비교가 이루어질 수 있다.

(a) 옵션이 여전히 적절한 경우, HPV 백신 비접종군; (b) 16형과 18형을 포함하지만 후보백신에 포함된 추가 유형들은 포함하지 않은 허가 백신; (c) 가능한 한 공유 유형을 많이 포함하는 허가 백신

### 5.2.1 공유 HPV 유형

유효성은 다음과 같은 방법 중 하나로 평가될 수 있다.

- 3.3.2에 설명된 것처럼, 바이러스 지속성
- 2.3.2에 설명된 것처럼, 후보 백신과 대조백신 간의 공유하는 HPV 유형에 대한 면역반응의 비열등성 입증

### 5.2.2 비공유 HPV 유형

- 후보 백신에는 있지만 대조 백신에는 없는 HPV 유형의 경우, 3.3.1에서 설명한 것처럼, 복합 바이러스 지속성 변수(모든 추가 유형이나 모든 유형)를 기본으로 해서 후보 백신에 대한 우위성을 입증할 가능성이 존재한다. 실제로, 비공유 유형으로 인해 바이러스 지속성의 발명은 매우 낮을 수 있고, 이것은 필요한 시험대상자 규모 때문에 접근이 제한된다.
- 위에서 설명한 접근방법이 타당하지 않다면, 비공유 유형의 유효성 평가는 면역학적 데이터만을 토대로 할 수 있다. 백신의 유효성을 추론하기 위해 권장할 수 있는 확실한 해석 기준이 없다. 그럼에도 불구하고 한 가지 접근방법은 각 비공유 유형에 대한 혈청전환율이 허가된 백신그룹에서 16형과 18형에 대한 혈청전환율 중 더 낮은 유형에 대해 비열등함을 입증할 수 있어야 한다. GMT 비율은 유형간 매우 변동이

심한 것으로 알려져 있어서 GMT 비율에 대한 비교를 기초로 하는 것은 적절하지 않다.

### 5.3 용법 · 용량 변경

2.3과 2.4에서 설명한 것처럼, 면역학적 데이터의 비교는 다음과 같은 상황에서 허가를 뒷받침하는데 사용될 수 있다.

- 허가된 HPV 백신에 대한 투여일정 또는 연령 범위 변경
- 허가 백신의 최초 버전과 동일하게 제조된 L1 VLP를 포함하는 백신의 제형 및/또는 투여 경로 변경
- 허가된 HPV 백신과 다른 연령 범위나 투여 일정을 가지는 또는 특히 허가된 HPV 백신과 다른 투여경로로 다르게 제조된 후보 백신의 새로운 개발

구체적 상황에 대한 추가 의견은 아래에 제시되어 있다.

#### 5.3.1 연령 범위 하향 조정

2.4.2에서 설명했듯이, 9세부터 HPV 백신의 사용이 면역학적 가교시험으로 뒷받침되었다. 장기 항체 지속성 데이터에 적용할 수 있는 ICP가 없으므로, 최초 접종 후 항체 역가가 plateau에 접어들어 몇 년간 유지되는 것을 관찰한 것을 토대로, 9세부터 백신을 접종하는 것이 이후 성경험을 시작할 시기에 예방효과를 제공해줄 수 있는 것으로 추정하였다.

백신을 9세 미만에게도 사용하도록 하려면, 임상 개발 초기 단계에서 더 어린 나이에 접종받는 것에 대한 잠재적 가치에 대해 국가규제기관과 논의해야 한다. 이러한 전략을 추진하려면, 새로운 연령군(예; 6-9세 미만)에 속하는 남녀 시험대상자의 면역반응을 15-26세 즉, 조직학적 변수와 바이러스학적 변수를 토대로 유효성이 밝혀진 연령대 그룹의 남녀 시험대상자의 결과와 직접 비교하는 것이 좋다. 즉, 조직학적 변수와 바이러스학적 변수를 토대로 어느 연령군에서 유효성이 입증되었는지를 밝혀야 한다. 9세 미만의 어린이들과 9세부터 15세 미만의 청소년들의 비교를 허가의 기준으로



삼아서는 안 된다. 왜냐하면 후자의 연령 범위에서 유효성이 확립되지 않았기 때문이다.

### 5.3.2 연령 범위 상향 조정

지금까지 조직학적 또는 바이러스 지속성 변수를 이용한 시험이 26-45세의 여성을 대상으로 실시되었으나 26세 초과와 남성에 대해서는 수행되지 않았다. 각 국가규제기관에 의한 가용 데이터의 해석은 다양했다. 그 결과, 연령 상한 기준을 정하거나 한 성별 또는 두 성별에 대해 연령 상한기준을 생략하는 측면으로 처방정보에 대해 다양한 접근방법이 취해졌다.

HPV 관련 진행성 이형성 병변이나 자궁경부암의 예방을 기초로 하면, 유효성이 26세 초과에서 입증될 수 있다고는 예상하지 못한다. HPV 백신의 일상적인 사용이 증가함에 따라, 바이러스 지속성을 토대로 한 유효성의 입증 타당성은 감소할 것이다. 면역학적 가교 접근방식은 면역반응이 연령이 증가함에 따라 자연스럽게 낮아질 수 있기 때문에 성공하지 못할 수 있다. 따라서 시험대상자가 26세 이상인 경우에 대해서는 HPV 백신의 허가를 뒷받침하기 위한 접근방식을 추천하기는 불가능하다. 국가규제기관은 지역에 적용되는 타당한 공중보건이 무엇인지를 고려하여 각 사례별로 사용설명서에 나이가 더 많은 시험대상자를 포함시키는데 추가 데이터가 필요한지를 결정할 수 있다.

## 6. 교차 방어

시험의뢰자는 백신에 포함된 유형들과 밀접한 관련이 있는 비백신 HPV 유형에 대해 교차 반응 중화 항체를 이끌어내기 위해 백신의 능력을 평가하는 것을 선택할 수 있다. 그러나 지금까지 경험으로 볼 때, 이러한 데이터는 교차 방어를 제공하는 백신의 능력을 확인하는데 사용될 수 없다(73).

이제까지, 백신과 관련된 HPV 유형에 대한 교차방어에 대한 주장은 상대적으로 단기간의 조직학적, 그리고 바이러스 지속성 데이터를 토대로 한 것이었으나, 포함되지는 않았다. 교차 방어를 이끌어낸다는 특이 에피토프의 평가는 HPV L1 VLP 백신의 규격의 일부가 아니기 때문에, 교차 방어의 정도는 매우 백신 특이적일 수 있다. 현재, 또 미래에도, 바이러스 지속성에 기초하여 교차방어를 입증하기란 불가능할 수 있으나 허가백신과의 면역 가교에 의존하는 것은 다음과 같은 이유로 간단하지가 않다.

- 가용 데이터에서는 교차 중화항체가 교차방어를 예측하지 못할 수도 있음을 제시한다.
- 에피토프들 간에 작은 차이가 교차방어에 영향을 줄 수 있다는 가능성을 토대로 제품들 간의 교차방어를 주장하는 추론의 타당성에 대한 각 사례별 평가가 있어야 할 수도 있다.

따라서 바이러스 지속성이 변수로 사용될 수 없다면, 미래의 교차방어 주장은 지지를 받을 수 있을 것으로는 생각되지 않는다.

## 7. 안전성

임상 시험 중 허가 전 안전성 평가에 대한 일반적인 고려사항은 「백신 임상평가 가이드라인」(식약처 민원인안내서)에 제시되어 있다(2).

HPV 백신의 특이 사례에서, 안전성 데이터베이스는 전체 대상 연령 범위와 두 성별을 적절히 포함하는 것이 중요하지만, 드문 이상반응의 발생을 평가하기에 충분할 수 있는 안전성 데이터를 각 하위집단에서 생성할 필요는 없다. 각 성별과 연령의 하위집단 내에서 백신 접종자 수는 백신의 특성분석에 따라 비슷한 안전성 프로파일에 대한 추정을 불가능하게 할 수 있을 것으로(예를 들어, 반응성 프로파일이 남성과 여성간, 또는 성인과 소아청소년 사이에 매우 다르게 보인다면) 예상되는 차이에 대한 논의를 통해 뒷받침되어야 한다.

성 생활이 가능한 여성을 대상으로 실시한 시험에 대한 시험계획서 권고사항과 관계없이, 지금까지 백신 접종자들 중에서 많은 사람이 임신한 것으로 확인되었다. 따라서 백신 투여와 관련하여 임신 단계를 평가할 수 있는 노력을 기울이고, 임신의 결과를 기록해야 한다. 이때 임신한 여성을 상대로 한 특이 시험의 수행은 권장하지 않는다.

허가 후 기간에 안전성 평가는 8.3에서 다룬다.

## 8. 허가 후 평가

### 8.1 면역학적 추적

최초 허가 시 항체 지속성을 입증하기 위한 면역학적 추적은 매우 제한될 수 있다. 허가 시점에 백신에 포함된 각 HPV 유형에 대해 장기적으로 항체 지속성을 입증할 계획을 세워야 한다. 이들 데이터는 사용되는 전체 연령대와 두 성별에서 최초 접종된 시험대상자들에게서 얻어져야 한다. 최종 추적 기간은 항체 감소 곡선과 접종에 대한 초기 면역반응의 크기에 대한 지식을 바탕으로 국가규제기관과 합의해야 한다.(2.2 참조)

2.2에 설명된 것처럼, 기초 접종한 후에 장기 예방을 위해 추가 투여가 필요한 지 모르기 때문에, 기초 접종 후 주기를 두고 추가 접종한 것에 대한 면역 반응 평가가 실시되어야 한다.

### 8.2 백신 유용성 및 관련 문제

허가 후 기간에 백신의 유용성과 HPV 유형 대체 현상(type-replacement phenomenon)의 위험성에 대한 데이터를 얻는 것이 중요하다. 일부 국가규제기관은 이러한 데이터의 수집이 허가권 보유자의 책임이라고 생각한다. 그럼에도 불구하고 신뢰할 만한 데이터를 생성하려면 일반적으로 국가나 지역을 토대로 대규모의 공중보건 이니셔티브와 질병 모니터링의 활성화(예를 들어, HPV 관련 항문생식기 암의 발생율에 대한 HPV 백신의 효과를 알아내기 위해 암 등록기관의 활용)가 필요하다. 따라서 허가 후 이행과 관련하여, 국가규제기관은 허가 보유권자에게 적절한 기관들(예; 수용될 수 있을 것으로 여겨지는 경우의 공공-민간 파트너십)과의 협력을 요구할 수 있다.

HPV 백신을 일상적으로 접종하지 않는 일부 지역에서 암 발병 전 항문생식기 병변과 항문생식기 암과 연관이 있는 상대적으로 빈번히 발견되는 특정 HPV 유형(16/18형 또는 다른 유형을 포함하거나 포함하지 않은)이 있을 수 있다. 그럼에도 불구하고, 특정 유형을 포함한 HPV 백신에 대해서, 허가 전에 조직학적 또는 바이러스 지속성 변수에 근거한 백신 유효성을 추정하는 것은 가용하지 않을 수 있다. 이러한 지역에선, 특히 이러한 유형에 대한 유효성의 주장이 면역학적 데이터만을 근거로 한다면, 국가규제기관은 백신의 유용성 데이터를 얻는 것이 특히 중요하다고 생각할 수도 있다.

허가된 백신이 상대적으로 짧은 기간의 조직학적 데이터와 바이러스 지속성 데이터를 토대로 교차방어에 대한 주장에 대해 승인을 받았다면(6 참조), 허가 후 기간에 이러한 주장을 확인할 수 있는 후속 연구가 있어야 한다.

### 8.3 안전성 모니터링

안전성 감시와 약물감시 계획의 개발에 대한 일반적 고려사항은 다른 종류의 백신에 대한 것과 동일하다(2).

HPV 백신이 일상적인 접종 프로그램에 도입되었다면, 대부분 성경험을 하기 전의 어린이에게 투여될 것이다. 하지만, 나이가 더 많은 대상을 포함하는 초기 추적 프로그램(catch-up programmes)은 때때로 임신 초에 의도하지 않은 접종을 하게 되는 결과를 낳았다. 안전성 감시 프로그램은 이러한 임신의 결과를 파악해야 한다(85)(74).

일부의 경우, 국가규제기관은 특별한 우려사항이 있는 경우, 허가권 보유자에게 특별한 허가 후 안전성 시험을 실시하도록 요청할 수 있다. 이러한 시험의 설계 및 보고 시한은 최초 허가 시에 합의해야 한다.

## VI. 맺음말

이 가이드라인이 인유두종바이러스 백신 연구·개발에 초석이 되고, 합리적이고 일관적인 백신의 허가·심사를 가능하게 하며, 더 나아가 안전하고 유효한 백신을 국민에 공급하여 국가 공중보건에 기여하는 역할을 하기를 기대해 본다.

## VII. 참고문헌

1. 식품의약품안전처. 생물의약품 비임상시험 가이드라인(민원인 안내서). 2017
2. 식품의약품안전처. 백신 임상평가 가이드라인(민원인안내서). 2017
3. Buck CB, Day PM, Trus BL. The papillomavirus major capsid protein L1. *Virology*. 2013;445(1-2):169-74
4. Wang JW, Roden RBS. L2, the minor capsid protein of papillomavirus. *Virology*. 2013;445(1-2):175-86
5. Human papillomavirus vaccines. WHO position paper, October 2014. *Wkly Epidemiol Rec*. 2014;89:465-92
6. de Villiers E-M. Cross-roads in the classification of papillomaviruses. *Virology*. 2013;445(1 - 2):2 - 10
7. Walboomers JMM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol*. 1999;189(1):12-9
8. Human papillomaviruses. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Biological agents, Volume 100B. Lyons: International Agency for Research on Cancer; 2012:255-314
9. Cervical carcinoma and reproductive factors: collaborative reanalysis of individual data on 16,563 women with cervical carcinoma and 33,542 women without cervical carcinoma from 25 epidemiological studies. International Collaboration of Epidemiological Studies of Cervical Cancer. *Int J Cancer*. 2006;119(5):1108-24
10. Carcinoma of the cervix and tobacco smoking: collaborative reanalysis of individual data on 13,541 women with carcinoma of the cervix and 23,017 women without carcinoma of the cervix from 23 epidemiological studies. International Collaboration of Epidemiological Studies of Cervical Cancer. *Int J Cancer*. 2006;118(6):1481-95
11. Cervical cancer and hormonal contraceptives: collaborative reanalysis of individual data for 16,573 women with cervical cancer and 35,509 women without cervical cancer from 24 epidemiological studies. International Collaboration of Epidemiological Studies of Cervical Cancer. *Lancet*. 2007;370(9599):1609-21
12. Combes J-D, Guan P, Franceschi S, Clifford GM. Judging the carcinogenicity of rare human papillomavirus types. *Int J Cancer*. 2015;136(3):740 - 2
13. Forman D, de Martel C, Lacey CJ, Soerjomataram I, Lortet-Tieulent J, Bruni L et al.

Global burden of human papillomavirus and related diseases. *Vaccine*. 2012;30(Suppl 5):F12-23

14. Suzich JA, Ghim SJ, Palmer-Hill FJ, White WI, Tamura JK, Bell JA et al. Systemic immunization with papillomavirus L1 protein completely prevents the development of viral mucosal papillomas. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995;92(25):11553-7
15. Breitburd F, Kirnbauer R, Hubbert NL, Nonnenmacher B, Trin-Dinh-Desmarquet C, Orth G et al. Immunization with viruslike particles from cottontail rabbit papillomavirus (CRPV) can protect against experimental CRPV infection. *J Virol*. 1995;69(6):3959-63
16. Day PM, Kines RC, Thompson CD, Jagu S, Roden RB, Lowy DR et al. In vivo mechanisms of vaccine-induced protection against HPV infection. *Cell Host Microbe*. 2010;8(3):260-70
17. Stanley M, Pinto LA, Trimble C. Human papillomavirus vaccines - immune responses. *Vaccine*. 2012;30(Suppl. 5):F83-7
18. Human papillomavirus laboratory manual. First edition, 2009. Geneva: World Health Organization; 2010
19. Zhou J, Sun XY, Frazer IH. Glycosylation of human papillomavirus type 16 L1 protein. *Virology*. 1993;194(1):210-8
20. Kirnbauer R, Taub J, Greenstone H, Roden R, Durst M, Gissmann L et al. Efficient self-assembly of human papillomavirus type 16 L1 and L1-L2 into virus-like particles. *J Virol*. 1993;67(12):6929-36
21. WHO policy statement: Multi-dose vial policy (MDVP). Handling of multi-dose vaccine vials after opening (Revision 2014). Geneva: World Health Organization; 2014
22. Inglis S, Shaw A, Koenig S. Chapter 11: HPV vaccines: commercial research & development. *Vaccine*. 2006;24(Suppl 3):S99-105
23. Quality of biotechnological products: analysis of the expression construct in cell lines used for production of r-DNA derived protein products. ICH Topic Q5B (Step 5). ICH Harmonised Tripartite Guideline. Geneva: International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use; 1995
24. Endpoints used for relative effectiveness assessment of pharmaceuticals. Composite endpoints. February 2013. European Network for Health Technology Assessment

25. Ferguson M, Wilkinson DE, Heath A, Matejtschuk P. The first international standard for antibodies to HPV 16. *Vaccine*. 2011;29(38):6520-6
26. Wilkinson DE, Heath AB, Faust H, Panicker G, Unger ER, Dillner J et al. Collaborative Study to evaluate the proposed 1st WHO International Standard for antibodies to human papillomavirus type 18. Geneva: World Health Organization; 2012
27. Wilkinson DE, Baylis SA, Padley D, Heath AB, Ferguson M, Pagliusi SR et al. Establishment of the 1st World Health Organization international standards for human papillomavirus type 16 DNA and type 18 DNA. *Int J Cancer*. 2010;126(12):2969-83
28. WHO Catalogue of International Reference Preparations. Blood products and related biologicals [website]. Geneva: World Health Organization
29. Recommendations for the evaluation of animal cell cultures as substrates for the manufacture of biological medicinal products and for the characterization of cell banks. In: WHO Expert Committee on Biological Standardization: sixty-first report. Geneva: World Health Organization; 2013: Annex 3 (WHO Technical Report Series, No. 978)
30. Derivation and characterisation of cell substrates used for production of biotechnological/biological products Q5D (Current Step 4 version). ICH Harmonised Tripartite Guideline. Geneva: International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use; 1997
31. Guidelines on the quality, safety and efficacy of biotherapeutic protein products prepared by recombinant DNA technology. In: WHO Expert Committee on Biological Standardization: sixty fourth report. Geneva: World Health Organization; 2014: Annex 4 (WHO Technical Report Series, No. 987)
32. WHO guidelines on transmissible spongiform encephalopathies in relation to biological and pharmaceutical products. Geneva: World Health Organization; 2003
33. Requirements for the collection, processing and quality control of blood, blood components and plasma derivatives (Requirements for Biological Substances, No. 27, revised 1992). In: WHO Expert Committee on Biological Standardization: forty-third report. Geneva: World Health Organization; 1994: Annex 2 (WHO Technical Report Series, No. 840)
34. Quality of biotechnological products: Viral safety evaluation of biotechnology products derived from cell lines of human or animal origin. ICH Topic Q5A (R1).



(Step 5). ICH Harmonised Tripartite Guideline. Geneva: International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use; 1995

35. Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of recombinant hepatitis B vaccines. In: WHO Expert Committee on Biological Standardization: sixty-first report. Geneva: World Health Organization; 2013: Annex 4 (WHO Technical Report Series, No. 978)
36. WHO manual for the establishment of national and other secondary standards for vaccines. Geneva: World Health Organization; 2011
37. Revocation of general safety test regulations that are duplicative of requirements in biologics license applications. Federal Register. 2015;80(No. 127): Final Rule; Parts 601, 610, and 680
38. Guidelines on the nonclinical evaluation of vaccine adjuvants and adjuvanted vaccines. In: WHO Expert Committee on Biological Standardization: sixty-fourth report. Geneva: World Health Organization; 2014: Annex 2 (WHO Technical Report Series, 987)
39. Castellsagué X, Naud P, Chow S-N, Wheeler CM, Germar MJV, Lehtinen M et al. Risk of newly detected infections and cervical abnormalities in women seropositive for naturally acquired human papillomavirus type 16/18 antibodies: analysis of the control arm of PATRICIA. *J Infect Dis.* 2014;210(4):517-34
40. Nardelli-Haeffliger D, Wirthner D, Schiller JT, Lowy DR, Hildesheim A, Ponci F et al. Specific antibody levels at the cervix during the menstrual cycle of women vaccinated with human papillomavirus 16 virus-like particles. *J Natl Cancer Inst.* 2003;95(15):1128-37
41. Kemp TJ, García-Piñeres A, Falk RT, Poncelet S, Dessy F, Giannini SL et al. Evaluation of systemic and mucosal anti-HPV16 and anti-HPV18 antibody responses from vaccinated women. *Vaccine.* 2008;26(29-30):3608-16
42. Schwarz TF, Kocken M, Petäjä T, Einstein MH, Spaczynski M, Louwers JA et al. Correlation between levels of human papillomavirus (HPV)-16 and 18 antibodies in serum and cervicovaginal secretions in girls and women vaccinated with the HPV-16/18 AS04-adjuvanted vaccine. *Hum Vaccin.* 2010;6(12):1054-61
43. Petäjä T, Pedersen C, Poder A, Strauss G, Catteau G, Thomas F et al. Long-term persistence of systemic and mucosal immune response to HPV-16/18 AS04-adjuvanted vaccine in preteen/adolescent girls and young women. *Int J Cancer.* 2011;129(9):2147-57

44. Scherpenisse M, Mollers M, Schepp RM, Meijer CJLM, de Melker HE, Berbers GAM et al. Detection of systemic and mucosal HPV-specific IgG and IgA antibodies in adolescent girls one and two years after HPV vaccination. *Hum Vaccin Immunother.* 2013;9(2):314-21
45. Schiller JT, Lowy DR. Immunogenicity testing in human papillomavirus virus-like-particle vaccine trials. *J Infect Dis.* 2009;200(2):166-71
46. Moscicki AB, Wheeler CM, Romanowski B, Hedrick J, Gall S, Ferris D et al. Immune responses elicited by a fourth dose of the HPV-16/18 AS04-adjuvanted vaccine in previously vaccinated adult women. *Vaccine.* 2012;31(1):234-41
47. Villa LL, Costa RLR, Petta CA, Andrade RP, Ault KA, Giuliano AR et al. Prophylactic quadrivalent human papillomavirus (types 6, 11, 16, and 18) L1 virus-like particle vaccine in young women: a randomized double-blind placebo-controlled multicentre phase II efficacy trial. *Lancet Oncol.* 2005;6(5):271-78
48. Harper DM, Franco EL, Wheeler C, Ferris DG, Jenkins D, Schuind A et al. Efficacy of a bivalent L1 virus-like particle vaccine in prevention of infection with human papillomavirus types 16 and 18 in young women: a randomised controlled trial. *Lancet.* 2004;364(9447):1757-65
49. Pedersen C, Petaja T, Strauss G, Rumke HC, Poder A, Richardus JH et al. Immunization of early adolescent females with human papillomavirus type 16 and 18 L1 virus-like particle vaccine containing AS04 adjuvant. *J Adolesc Health.* 2007;40(6):564-71
50. Perez G, Lazcano-Ponce E, Hernandez-Avila M, Garcia PJ, Munoz N, Villa LL et al. Safety, immunogenicity, and efficacy of quadrivalent human papillomavirus (types 6, 11, 16, 18) L1 virus-like-particle vaccine in Latin American women. *Int J Cancer.* 2008;122(6):1311-8
51. Wheeler CM, Bautista OM, Tomassini JE, Nelson M, Sattler CA, Barr E et al. Safety and immunogenicity of co-administered quadrivalent human papillomavirus (HPV)-6/11/16/18 L1 virus-like particle (VLP) and hepatitis B (HBV) vaccines. *Vaccine.* 2008;26(5):686-96
52. Petaja T, Keranen H, Karppa T, Kawa A, Lantela S, Siitari-Mattila M et al. Immunogenicity and safety of human papillomavirus (HPV)-16/18 AS04-adjuvanted vaccine in healthy boys aged 10 - 18 years. *J Adolesc Health.* 2009;44(1):33-41
53. Krajden M, Cook D, Yu A, Chow R, Mei W, McNeil S et al. Human papillomavirus 16 (HPV 16) and HPV 18 antibody responses measured by

pseudovirus neutralization and competitive Luminex assays in a two- versus three-dose HPV vaccine trial. *Clin Vaccine Immunol.* 2011;18(3):418-23

54. Romanowski B, Schwarz TF, Ferguson LM, Peters K, Dionne M, Schulze K et al. Immunogenicity and safety of the HPV-16/18 AS04-adjuvanted vaccine administered as a 2-dose schedule compared with the licensed 3-dose schedule: results from a randomized study. *Hum Vaccin.* 2011;7(12):1374-86
55. Zimmerman RK, Nowalk MP, Lin CJ, Fox DE, Ko FS, Wettick E et al. Randomized trial of an alternate human papillomavirus vaccine administration schedule in college-aged women. *J Womens Health.* 2010;19(8):1441-7
56. Esposito S, Birlutiu V, Jarcuska P, Perino A, Man SC, Vladareanu R et al. Immunogenicity and safety of human papillomavirus-16/18 AS04-adjuvanted vaccine administered according to an alternative dosing schedule compared with the standard dosing schedule in healthy women aged 15 to 25 years: results from a randomized study. *Pediatr Infect Dis J.* 2011;30(3):e49-55
57. Romanowski B, Schwarz TF, Ferguson LM, Ferguson M, Peters K, Dionne M et al. Immune response to the HPV-16/18 AS04-adjuvanted vaccine administered as a 2-dose or 3-dose schedule up to 4 years after vaccination: results from a randomized study. *Hum Vaccin Immunother.* 2014;10(5):1155-65
58. Reisinger KS, Block SL, Lazcano-Ponce E, Samakoses R, Esser MT, Erick J et al. Safety and persistent immunogenicity of a quadrivalent human papillomavirus types 6, 11, 16, 18 L1 virus-like particle vaccine in preadolescents and adolescents: a randomized controlled trial. *Pediatr Infect Dis J.* 2007;26(3):201-9
59. Hillman RJ, Giuliano AR, Palefsky JM, Goldstone S, Moreira Jr ED, Vardas E et al. Immunogenicity of the quadrivalent human papillomavirus (type 6/11/16/18) vaccine in males 16 to 26 years old. *Clin Vaccine Immunol.* 2012;19(2):261-7
60. Einstein MH, Baron M, Levin MJ, Chatterjee A, Fox B, Scholar S et al. Comparative immunogenicity and safety of human papillomavirus (HPV)-16/18 vaccine and HPV-6/11/16/18 vaccine: follow up from months 12 - 24 in a Phase III randomized study of healthy women aged 18 - 45 years. *Hum Vaccin.* 2011;7(12):1343-58
61. Levin MJ, Moscicki A-B, Song L-Y, Fenton T, Meyer III WA, Read JS et al. Safety and immunogenicity of quadrivalent human papillomavirus (types 6, 11, 16, and 18) vaccine in HIV-infected children 7 to 12 years old. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2010;55(2):197-204
62. Wilkin T, Lee JY, Lensing SY, Stier EA, Goldstone SE, Berry JM et al. Safety and

immunogenicity of the quadrivalent human papillomavirus vaccine in HIV-1-infected men. *J Infect Dis.* 2010;202(8):1246-53

63. Denny L, Hendricks B, Gordon C, Thomas F, Hezareh M, Dobbelaere K et al. Safety and immunogenicity of the HPV-16/18 AS04-adjuvanted vaccine in HIV-positive women in South Africa: a partially-blind randomised placebo-controlled study. *Vaccine.* 2013;31(48):5745-53
64. Ferguson M, Wilkinson DE, Zhou T. WHO meeting on the standardization of HPV assays and the role of the WHO HPV Laboratory Network in supporting vaccine introduction held on 24-25 January 2008, Geneva, Switzerland. *Vaccine.* 2009;27(3):337-47
65. Eklund C, Forslund O, Wallin K-L, Dillner J. Global improvement in genotyping of human papillomavirus DNA: the 2011 HPV LabNet International Proficiency Study. *J Clin Microbiol.* 2014;52(2):449-59
66. Lowy DR, Herrero R, Hildesheim A. Primary endpoints for future prophylactic human papillomavirus vaccine trials: towards infection and immunobridging. *Lancet Oncol.* 2015;16(5):e226 - 33
67. Paavonen J, Naud P, Salmeron J, Wheeler CM, Chow SN, Apter D et al. Efficacy of human papillomavirus (HPV)-16/18 AS04-adjuvanted vaccine against cervical infection and precancer caused by oncogenic HPV types (PATRICIA): final analysis of a double-blind, randomised study in young women. *Lancet.* 2009;374(9686):301-14
68. Villa LL, Costa RLR, Petta CA, Andrade RP, Paavonen J, Iversen O-E et al. High sustained efficacy of a prophylactic quadrivalent human papillomavirus types 6/11/16/18 L1 virus-like particle vaccine through 5 years of follow-up. *Br J Cancer.* 2006;95(11):1459-66
69. Lehtinen M, Paavonen J, Wheeler CM, Jaisamrarn U, Garland SM, Castellsagué X et al. on behalf of the HPV PATRICIA Study Group. Overall efficacy of HPV-16/18 AS04-adjuvanted vaccine against grade 3 or greater cervical intraepithelial neoplasia: 4-year end-of-study analysis of the randomised, double-blind PATRICIA trial. *Lancet Oncol.* 2012;13(1):89-99
70. Wheeler CM, Castellsagué X, Garland SM, Szarewski A, Paavonen J, Naud P et al. on behalf of the HPV PATRICIA Study Group. Cross-protective efficacy of HPV-16/18 AS04-adjuvanted vaccine against cervical infection and precancer caused by non-vaccine oncogenic HPV types: 4-year end-of-study analysis of the randomised, double-blind PATRICIA trial. *Lancet Oncol.* 2012;13(1):100 - 10

71. Radley D, Saah A, Stanley M. Persistent infection with human papillomavirus 16 or 18 is strongly linked with high-grade cervical disease. *Hum Vaccin Immunother.* 2015; in press
72. Palefsky JM, Giuliano AR, Goldstone S, Moreira Jr ED, Aranda C, Jessen H et al. HPV vaccine against anal HPV infection and anal intraepithelial neoplasia. *N Engl J Med.* 2011;365:1576-85
73. Einstein MH, Baron M, Levin MJ, Chatterjee A, Fox B, Scholar S et al. Comparison of the immunogenicity of the human papillomavirus (HPV)-16/18 vaccine and the HPV-6/11/16/18 vaccine for oncogenic non-vaccine types HPV-31 and HPV-45 in healthy women aged 18-45 years. *Hum Vaccin.* 2011;7(12):1359-73
74. Vichnin M, Bonanni P, Klein NP, Garland SM, Block SL, Kjaer SK et al. An overview of quadrivalent human papillomavirus vaccine safety: 2006 to 2015. *Pediatr Infect Dis J.* 2015;34(9):983-91
75. Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of recombinant human papillomavirus virus-like particle vaccines. Geneva: World Health Organization; 2016: Annex 4 (WHO Technical Report Series, No. 962)

## 「인유두종바이러스 백신의 허가·심사 가이드라인」 (민원인 안내서)

---

발행일	2017년 11월
발행인	이선희
편집위원장	김대철
편집위원	백선영, 김도근, 오상연, 권오석, 김병철, 최재연, 장석기, 김병국, 최찬웅, 이유경, 전형옥, 지승완, 임재현, 남주선, 임종미, 진미령, 배창준, 김현국, 박애란, 송민지, 김정숙, 곽병옥, 신우영, 윤희성
도움주신분	(주)녹십자(최기섭), (주)엘지화학(김형신), 한국엠에스디(유)(고문정), 에스케이케미칼(주)(함동수)
발행처	식품의약품안전평가원 바이오생약심사부 생물제제과

---