

AITOX의 컨설팅보고서

FDA Modernization Act 3.0의 핵심 - NAM 개발과 ISTD Qualification -

2026년 02월 11일

Prepared by: AITOX

Yeong-Chul Park (Ph.D. in Toxicology)

detox35@hanmail.net

+82-10-5502-3388

www.darwinconsultings.com

Business registration number: 227-09-52576

Address: (18467) 1219-ho, 102-dong, Hillstate Dongtan Station Multifryer, 676
Dongtan-daero, Hwaseong-si, Gyeonggi-do, South Korea

(18467) 경기도 화성시 동탄대로 676 힐스테이트 동탄역 멀티프라이어 102동
1219호

<차례>

1. FDA 2020-2024년 승인된 합성신약의 대사체-90% 예측 AI-프로그램 - 3
2. 2025/12/16 미국 상원을 통과한 FDA Modernization Act 3.0 - 7
3. 알츠하이머병의 치료제 개발에 대한 실패 원인과 NAMs - 14
4. 파킨슨병 치료제 개발의 실패 원인과 NAMs - 21
5. 류머티즘성 관절염 치료제의 반응률 임계치와 NAMs - 29
6. 침팬지에서 수행된 HIV/AIDS 백신 시험의 인간으로의 외삽에 대한 현실성 평가 - 39
7. 호흡기 질환-천식 치료제의 실패 원인과 NAMs - 47
8. Modernization 3.0과 IND를 위한 FDA의 NAM 활용 사례 - 53
9. 의약품 발암성의 동물실험을 대체한 NAM의 예시 - 60
10. 생물약품의 IND를 위한 NAM-기반 사례에 대한 고찰 - 66
11. 비임상 연구 도구인 NAM의 핵심 5원칙 - 인간 관련성(Human Relevance) - 76
12. 비임상 NAM의 핵심 5원칙 - (2) 기전적 통찰력(Mechanistic Insight) - 87
13. 비임상 NAM의 핵심 5원칙 - (3) 기전적 통찰력(Mechanistic Insight) -
14. 시스템 수준 통합(Systems-Level Integration): 인간 조직-유래 물질을 활용한 NAM과 MABEL로부터 MRSD 산출 예시- 99
15. 현대약품의 임신중절 약물-미프지미소정의 Human relevance-독성학적 고찰 - 112
16. NAM의 출현과 현대독성학의 새로운 정의 - 122
17. FDA의 NAM 적격성 신청과 평가를 위한 IStand 프로그램과 승인된 NAM 현황 - 130
18. NAM(new approach methodologies, 신규 접근 방법)의 FDA 적격성 인증과 실제 제출된 NAM 분석 - 139
19. NAM의 FDA-IStand 적격성 접수 현황과 인증 실패에 대한 예시 분석 - 155

1. 2025/12/16 미국 상원을 통과한 FDA Modernization Act 3.0

1. FDA Modernization Act 3.0의 핵심 내용

- 미국 상원은 12월 16일 만장일치로 FDA 현대화법 3.0(S.355)을 통과시켜, 의회가 2022년에 제정한 Modernization Act의 변경 사항을 반영하도록 FDA가 규정을 개정하도록 요구하는 법안을 하원으로 송부
- 법안은 보건복지부(HHS)가 FDA 국장을 통해 **법 시행 후 1년 이내에 잠정 최종 규칙**을 발표하도록 지시하는 내용
- 해당 규칙은 연방규정집(CFR) 제21편 특정 조항(specified sections of Title 21 of the Code of Federal Regulations)에서 **'동물' 실험, 데이터, 연구, 모델 및 연구에 대한 언급을 '비임상' 실험('nonclinical' tests)으로 대체하며**, 이 용어는 기존 동물 연구와 새로운 접근법(NAMs; New Approach Methodologies) 즉 **인체 세포 기반 모델·오가노이드·장기온칩·AI 독성 예측 등 대체시험법을 공식 평가 수단으로 반영을 의미**
- **이에 따라 FDA는 법안에 따라 1년 내에 다음 내용을 수립하여야 함**
 - ① **승인 경로 수립(Establish a Pathway):** 의약품 개발을 위한 비임상 시험 방법(NAMs) 승인을 신청할 수 있는 공식 절차를 마련해야 함
 - ② **우선 심사(Prioritise Review):** 승인된 비임상 방법을 사용하여 개발된 의약품에 대해 우선 심사 권한을 부여함
 - ③ **투명성 및 보고(Transparency and Reporting):** 접수된 신청 건수, 승인된 방법 유형, 그 결과로 예상되는 동물 구출 수에 대해 매년 보고

2. 상원 조치에 대한 다양한 의견과 기타 주요 사항

- 상원의 이번 조치는 다양한 질병 분야와 연구 방식에서 비동물적 방법이 동물실험을 얼마나 신속하게 대체할 수 있는지에 대한 광범위한 논쟁 속에서 이루어짐
- 미국생물의학연구협회(NABIR)는 규제 기관들이 대체 방법에 대한 경로를 확대하고 있음에도 불구하고 "현재 생물의학 연구 및 신약 개발에서 동물 모델을 완전히 대체할 수 있는 방법은 존재하지 않는다"고 주장
- 미국국립보건원(National Institutes of Health)은 NAMs를 포함한 더 다양한 접근법을 장려하기 위한 정책 전환을 설명했지만, 이것이 동물모델을 사용하는 연구 제안에 대한 전면적 금지 조치를 의미하지는 않는다 점을 강조
- 그러나 미국 질병통제예방센터(CDC, Center for Disease Control and Prevention)는 과학자들에게 2025년 말까지 모든 원숭이 연구를 중단하라고 지시. 이는 NIH가 10년 전 연구용 침팬지 프로그램을 종료한 이후 미국 기관이 **자체 비인간 영장류 프로그램(in-house nonhuman primate program)을 종료하는 첫 사례**가 될 것으로 예상됨

3. 미국 FDA의 기존 Roadmap과 미래 Roadmap의 핵심 요소

1) 기존 Roadmap

- 2025년 4월, FDA는 비임상 평가 현대화 추진의 일환으로 동물 실험 감축 계획을 발표했으며, NAMs를 기반으로 인공지능 기반 계산 모델링, 인간 장기 모델 기반 실험실 시험, 실제 인간 데이터를 활용함으로써 환자에게 더 안전하고 신속하며 신뢰할 수 있는 치료법을 제공함을 목표를 제시.
- 특히 이러한 목표는 “패러다임 전환”이라 규정하며 비동물적 방법을 활용한 강력한 안전성 자료 패키지를 제출할 경우 심사 간소화 등 잠재적 규제 인센티브를 제시함

2) 미래 Roadmap의 핵심 요소

- ① **단계적 이행(Stepwise Implementation):** FDA는 초기에는 단일클론 항체 및 기타 생물학적 제제에 대한 동물 실험 감축에 집중한 후, 대체 방법이 검증되고 수용됨에 따라 다른 약물군으로 확대할 것임
- ② **인간 관련 방법 사용(Use of Human-Relevant Methods):** 동물 모델보다 인간 생물학을 더 가깝게 반영하는 첨단 체외 모델(예: 오가노이드, 칩 위의 장기), 컴퓨터 시뮬레이션 모델링 및 AI 기반 독성 예측의 사용을 장려할 것임
- ③ **국제 데이터 활용(Leveraging International Data):** 의약품 개발자들은 규제 기준이 유사한 다른 국가에서 얻은 기존의 인간 안전성 데이터를 제출할 것을 권장받을 것임. 충분한 국제적 인간 데이터가 존재할 경우, FDA 심사관이 특정 안전성 문제를 확인하지 않는 한 추가 동물 실험이 필요하지 않을 수 있음.
- ④ **새로운 접근법 방법론 데이터 저장소 구축(Building a New Approach Methodologies Data Repository):** 비임상 기관 및 기업은 대체 방법 사용을 뒷받침하는 강력한 증거 체계를 구축하기 위해 기존 동물 데이터와 함께 NAM 데이터를 제공할 필요성. 검증된 NAM 데이터를 제공하는 기업은 요구되는 동물 연구 반복 횟수 감소와 같은 규제 완화를 받을 수 있도록 해야함.
- ⑤ **협력 및 검증(Collaboration and Validation):** 타 기관 및 미국 대체 방법 검증 기관간 조정 위원회(ICCVAM)를 통해 NAM의 검증 및 채택을 가속화할 것임. 공개 워크숍 및 시범 프로그램은 실제 환경에서의 테스트와 피드백을 지원할 것임. 이러한 조항들은 안전성 및 유효성 기준을 유지하면서 NAM에 대한 규제 명확성과 수용성을 높이기 위한 수단이 됨.

4. 전임상 생태계 전반에 미치는 영향

- 규제 당국이 NAM에 대한 수용성을 높여감에 따라, 전임상 생태계 전반의 기업들은 인체-관련 시험(human-relevant testing) 역량을 확대
- 기존 서비스와 병행하여 비동물적 옵션을 확대하기 위해 'Alternative Methods Advancement Project(대체 방법 발전 프로젝트)'를 비임상기업에서 마련의 필요성
- 시장조사에 따르면 NAM 기술의 급속한 성장을 전망:
- '장기-온-어-칩(organ-on-a-chip)' 시장이 2024년 약 1억 5,700만 달러에서 2030년까지 9억 5,200만 달러로 성장할 것으로 예측. 이는 연평균 복합 성장률(CAGR) 35%를 초과하는 수치임.
- 오가노이드 시장은 2025년 14억 달러에서 2035년까지 40억 달러로 성장할 것으로 예상
- 비동물적 방법(NAM) 기업들은 동물 실험을 통과한 약물의 90~95%가 인간 임상 시험에서 실패하였다는 점을 강조하며 공격적 마케팅 예상

5. FDA Modernization Act 3.0과 전반적으로 고려해야 할 사항

- ① **데이터 검증 및 재현성(Data Validation and Reproducibility):** 비임상 기업은 NAM이 품질, 재현성 및 인간 관련성에 대한 규제 기대치를 충족하도록 보장의 필요성
- ② **과학적 엄밀성 확보(Ensuring Scientific Rigour):** 새로운 방법이 대체하는 동물 실험과 최소한 동등한 수준으로 환자 안전을 보호할 수 있도록 보장의 필요성
- ③ **신규 접근법 데이터 제출 장려(Encouraging Submission of New Approach Methodologies Data):** 식약처 등의 규제기관은 동물 실험 데이터와 병행하거나 대체하여 NAMs 데이터를 제출하도록 장려하여 경험 데이터 저장소를 구축할 필요성.
- ④ **규제기관과 조기 및 빈번한 소통(Engagement with FDA Early and Often):** 허용 가능한 방법론 및 연구 설계에 대한 합의를 도출하기 위해 IND 제출 전 회의 및 서면 커뮤니케이션을 전략적으로 활용할 필요성.
- ⑤ **규제 유연성(Regulatory Flexibility):** FDA는 안전성 및 유효성 기준 충족을 위한 단계적 접근을 유지하면서, 견고한 비동물 데이터를 제공하는 비임상 기업 및 개발자에게 사례별 면제 또는 예외를 부여할 수 있어야 함.
- ⑥ **규제 인센티브(Monitor Regulatory Updates):** NAMs를 채택하는 기업에 대한 잠재적 인센티브(예: 신속한 회의 또는 심사)가 있어야 함.
- ⑦ **규제 업데이트 모니터링(Monitor Regulatory Updates):** NAM 및 동물 실험 요건과 관련된 규제기관 및 미국 FDA의 새로운 지침, 워크숍, 정책 변경 사항을 지속적으로 파악 필요성. 규제 기대치는 너무나 빠르게 진화하고 있음.
- ⑧ **비임상 기업의 윤리적 및 투자자 영향(Ethical and Investor Impact):** 동물 복지와 혁신에 대한 헌신을 입증하면 이해관계자의 신뢰를 높이고 ESG 중심 투자를 유치할 필요성.

6. FDA Modernization Act 3.0과 국내 규제기관의 점검 요소

- ① 임상시험에서 초기 용량을 결정에서 있어서 전반적인 **이익-위험 평가**를 기반으로 IND 수행하고 있는지? (예시: NOEL과 NOAEL의 구별)
- ② 합성의약품에 적용한 유전독성시험을 **바이오효의약품에 적용**하고 있지는 않는지? (예시: 독감이나 감기에 의한 바이러스에 감염되면 유전적 변형이 발생하는가? 발생은 극히 예외적임)

- ③ 동물과 사람에서의 발생하는 독성 차이에 대한 기본적인 원리를 바탕으로 심사가 이루어지는가?
- ④ 유전독성시험에 너무나 많이 발생하는 위양성(false positive)에 대한 이론적 근거를 수용할 수 있는지?
- ⑤ 미국에서는 사용이 엄격하게 적용되고 있는 독성시험에서 NHP(non-human primate, 비인간 영장류) 사용을 요청하고 있지는 않는지?
- ⑥ 불필요한 2년 기간의 발암성시험과 1년 기간의 만성독성시험을 weight of evidence 기반으로 대체에 대한 가이드라인은 제정하였는지?
- ⑦ 학문적 및 전문적 지식을 기반으로 융통성이 적용될 수 있는 규제가 가이드라인이 아니고 법률적인 고시로 규정되어 있지는 않는지?
- ⑧ 아래와 같은 NAMs를 수용하기 위해서는 독성학적 기전에 대한 설명이 필요하며 특히 'Adverse Outcome Pathways (AOPs) and mechanistic frameworks' 중요성에 인지 필요성
 - In vitro models (cell- and tissue-based systems)
 - In silico models (computational tools and artificial intelligence)
 - Ex vivo models (tissues/organs outside the body)
 - Microphysiological systems (MPS) (organ-on-chip)
 - Omics-based technologies (genomics, transcriptomics, proteomics, metabolomics)
 - Adverse Outcome Pathways (AOPs) and mechanistic frameworks
- ⑨ 오늘날 논문으로 작성된 서류만으로 IND에서 통과되는 FDA 사례와 같이 미국 FDA는 통과되고 국내 규제기관에서는 통과가 되지 않는 이유에 대해 공개하고 명확하게 설명이 가능한지?
- ⑩ 위와 같은 사항과 신약개발의 전주기 단축에 대한 고찰의 필요성은 있지 않을까?

2. 알츠하이머병의 치료제 개발에 대한 실패 원인과 NAMs

1. 목적

- 동물 실험에서 안전하고 효과적으로 보였던 약물의 90% 이상이 주로 안전성 및/또는 효능 문제로 인해 인간 대상 FDA 승인을 받지 못함(Marshall 등, 2023)
- 이와 같은 현실에서 미국 입법기관은 Modernization 3.0 통해 FDA가 법 시행 후 1년 이내에 아래와 같이 3가지 잠정 규칙을 발표하도록 지시하는 내용
 - ① 승인 경로 수립(Establish a Pathway): 의약품 개발을 위한 비임상 시험 방법(NAMs) 승인을 신청할 수 있는 공식 절차를 마련해야 함
 - ② 우선 심사(Prioritise Review): 승인된 비임상 방법을 사용하여 개발된 의약품에 대해 우선 심사 권한을 부여함
 - ③ 투명성 및 보고(Transparency and Reporting): 접수된 신청 건수, 승인된 방법 유형, 그 결과로 예상되는 동물 구출 수에 대해 매년 보고
- 특히 입법기관은 생명윤리적인 측면에서 동물실험의 감소에 중점을 둠. 반면에 규제기관 입장에서는 동물실험을 줄이면서 **신약개발의 비임상 분야에서 비동물-신규 평가방법(NAMs; New Approach Methodologies)**을 통해 임상시험에서의 안전성을 어떻게 확보할 것인가 하는 문제에 직면하게됨. 또한 안전성뿐만 아니라 유효성에 대한 질환모델이 과연 신약개발에 있어서 적절했는지에 대한 검증도 필요
- 동물 기반 데이터를 통해 안전성 및 효능 측면에서 가장 낮은 예측 성공율을 보인 질병은 암(Mak 등, 2014), 알츠하이머병(Pippin 등, 2019), 염증성 질환(Seok 등, 2013) 등이었음. 예측성공율이 낮은 이유는 인간과 다른 동물 종 사이의 기본적인 생리학적 차이가 강조되고 있음
- 가장 낮은 예측 성공율을 보인 질병에 대한 실패 원인의 분석을 통해 동물모델의 활용이 효과적인 새로운 치료법을 제공하지 못한 이유를 살펴볼 필요성이 있음. 이는 궁극적으로 **문제를 해결하기 위해 인간과 더 관련성이 높은 새로운 접근법과 방법론을 어떻게 적용할 수 있을지에 대한 대안을 제시할 수 있을 것으로 예상됨**

2. 알츠하이머 질환의 동물모델과 치료제 개발의 실패 원인

- 알츠하이머병 치료제 개발의 실패율은 매우 높아, 임상시험의 99%에서 약물과 위약 간 차이가 나타나지 않았음(Cummings 등, 2019). 전 세계적으로 5,500만 명 이상이 치매로 고통받고 있다는 점을 고려할 때, 이는 막대한 글로벌 공중보건 비용이 소요됨. 수천 가지의 약물이 전통적인 동물 및 비동물 접근법을 통해 알츠하이머병 치료제로서의 잠재력을 시험받아 왔음. 그러나 1995년 이후 FDA가 알츠하이머병 치료제로 승인한 약물은 단 6종에 불과함. 이 약물들이 모든 환자에게 효과가 있는 것은 아니지만 경우 인지 및 행동 증상 개선에 도움을 주는 정도임.

1) 항알츠하이머 신약개발의 실패 원인

- 알츠하이머병(Alzheimer's disease, AD) 치료제 개발의 전반적인 실패에는 아밀로이드 침착을 표적으로 하는 약물뿐만 아니라 다른 작용 기전을 통해 작용하는 약물들도 포함됨. Mullane 등(2019)의 논문에서 알츠하이머병 치료제 개발에서 막대한 실패를 설명할 수 있는 주요 원인들을 다음과 같이 제시함.
 - ① **질병의 다인성 병인을 고려하지 못한 점:** AD 치료제 개발은 두 가지 고전적 특징인 뇌 내 아밀로이드 플라크와 신경섬유 엉킴의 침착에 지나치게 집중되어 왔음.
 - ② **AD의 염증성, 면역성 및 대사성 요소를 지닌 다인성 증후군이라는 증거 축적의 증가:** 가족성/유전자 기반 조발성 알츠하이머병(FAD: Familial Alzheimer's disease, 전체 알츠하이머병 사례의 약 1~3% 차지)과 후기발병 산발성 알츠하이머병(LOAD: Late-onset Alzheimer's disease, 나머지 97~99% 차지)이 근본적으로 동일하다는 일반적인 가정. FAD와 LOAD가 동일한 행동 및 병리학적 특징을 보인다는 점은 입증되었지만 FAD 동물 모델은 유전적 특성이나 LOAD의 발병 및 진행 과정을 재현하지 못한다는 것이 확인됨.
 - ③ **신약 후보물질의 효능, 표적 선택성, 약력학적 및 약동학적 특성 등 관련 측면을 전임상 평가 과정에서 소홀히 하는 경향:** 효능에 대한 확실한 증거가 없음에도 불구하고 여러 후보물질이 임상시험 후기 단계로 진행된 사례가 많음
 - ④ **제한적인 질환모델:** 알츠하이머병 동물 모델의 제한된 구축 가능성 또는 예측 타당성

2) 부적절한 알츠하이머 동물모델의 예시

2-1) 근친 교배/자연 발생 동물모델 vs 형질전환 동물모델 예시

- **근친 교배/자연 발생 동물모델**은 해마에서 β -amyloid 수치의 상승과 행동 장애를 동반한 노화 축진을 보일 수 있으며 대표적인 동물모델은 SAMP8 및 SAMP10 마우스 모델 등이 있음(Carter 등, 2005). **형질전환 동물**은 유전적으로 변형되어 FAD에서 확인된 일부 유전적 변이를 발현함. 또한 유전자 변형 마우스는 아밀로이드 플라크와 신경섬유다발(NFT, neurofibrillary tangle)의 형성, 신경교증, 일부 시냅스 변화 및 일부 인지 지연의 징후를 보일 수 있음. 그러나 아밀로이드 침착이 발생함에도 불구하고, 이러한 형질전환 마우스는 종종 신경세포 손실을 보이지 않음(Sanchez-Varo 2022). 이와 같은 결과는 궁극적으로 위음성 결과를 초래할 수 있으며 잠재적으로 효과적인 치료 화합물이 임상 시험에서 배제되는 결과를 초래함(Sukoff 등, 2020).

2-2) 동반 질환의 위험요인이 반영되지 않은 질환모델의 예시

- LOAD은 일반적으로 질환과 연관된 심혈관 질환, 염증성 질환, 면역 체계 장애, 수면 장애 및 대사 증후군과 장내 미생물군집 등의 관련 위험 요인들 동반하여 발생하는데 알츠하이머 동물모델 중 어느 것도 인간에서 발생하는 질병의 병리 기전을 반영하지 않음 (Veening-Griffioen 등, 2019; Cavanaugh 등, 2014). 이와 같은 위험요인들은 AD의 병인 발생에서 생활 방식이 차지하는 핵심적 역할을 의미함. 따라서 생활습관 요인과 관련 동반 질환의 기여도를 고려하지 않은 동물모델은 종간 차이를 유도하여 약물 개발에 있어서 동물모델의 타당성에 심각한 영향을 미칠 것으로 예상됨(Pound 등, 2018).

3. 알츠하이머병의 치료제 개발을 위한 NAMs

- 항알츠하이머 치료제 개발을 위해서는 궁극적으로 동물-기반 시험이 아니라 인체-기반 시험에 더하여 환경적·생활습관적 위험 요인이 반영한 NAM이 요구됨. 또한 조기 진단을 위한 새로운 생체표지자를 발견, AD 증상 및 진행을 감소시키는 데 효과가 입증된 예방적 중재 전략을 식별이 가능하여야함(Pistollato 등, 2018; van den Brink 등, 2019).
- 현재 안전성 시험 측면에서도 고려될 수 있는 이용 가능한 NAMs는 다음과 같다: i) 환자 유래 세포(예: iPSCs)로부터 생성된 인간 세포 모델 및 신경세포 및 아교세포 배양 ii) 복합 조직 및 장기-온-칩 기술; iii) 다중 '오믹스' 고처리량 기술 iv) 계산적 분석 접근법; 그리고 v) 새로운 신경영상 판독법 등이 있음. 아래의 <표>는 알츠하이머병(AD) 연구에 적합하고 약물 개발에 적용 가능한 인간 기반 연구, 모델 및 분석 지표 등의 예시이다.

<표> 알츠하이머병 연구와 치료제 개발에 적용 가능한 인체-기반 NAMs

Human-based models/tools	응용성	참고문헌
역학 연구, 무작위 임상 시험, 진단 연구	<ul style="list-style-type: none"> • 환경적 유발 요인, 유전적 취약성, 성별, 성 정체성, 식이, 신체 활동, 동반 질환(예: 당뇨병), 인지 훈련 등 위험 요인 간의 복잡한 상호 관계를 평가하기 위함. • 조기 진단을 위한 새로운 바이오마커를 식별하고 새로운 약물 표적 설계. 	(Makin, 2018; Robbins 등, 2017; Langley 등, 2014; Pistollato 등, 2015 & 2016; Calitz 등, 2015; Hernandez 등, 2015; Pistollato 등, 2018; van den Brink 등, 2019; Ngandu 등, 2015; Langley 등, 2014; Marshall 등, 2023; Mak 등, 2014; Pippin 등, 2019; Veening-Griffioen 등, 2019)
신경영상 기법(예: MRI, PET, MRI 섬유추적법), 연결체학(connectomics), PET(positron emission tomography) 미세 투여	<ul style="list-style-type: none"> • 생체 내 및 생체 외 연구를 통해 2차원 및 3차원 이미지를 이용한 인간 뇌 해부학 연구, 알츠하이머병(AD) 진단, 치료 효과 평가. • 다른 동반 질환과 공유되는 신경해부학적 특징 식별, 새로운 진단 마커 확인 및 AD 임상시험 대상자 모집 촉진을 위해 뇌 연결체(brain connectome)를 구축. • 알츠하이머병 치료제 후보 화합물들의 약동학 및 약력학 평가를 수행 	
환자 유래 샘플(예: 뇌척수액, 혈액/혈장, 섬유아세포, 림프구), 사후 뇌조직	<ul style="list-style-type: none"> • 알츠하이머병의 초기 바이오마커를 규명하고, 이종 세포가 포함되지 않은 인간 유도만능줄기세포(human induced pluripotent stem cells, iPSCs)를 생성하기 위함. • 환자 이질성을 고려하고 세포 및 구조적 병리를 연구하기 위함. • 새로운 바이오마커를 확인하고 질병 진행에 관여하는 요인에 대한 분석을 정교화하기 위함. 	

<p>조기 발병, 가족성 및 후기 발병 알츠하이머병 환자 iPSCs 및 그 분화된 기능적 파생세포(2차원 및 3차원)</p>	<ul style="list-style-type: none"> 알츠하이머병 표현형 특성(예: Aβ 생성, 인산화 타우 단백질) 및 β 및 γ 세크레타제 억제제(secretase inhibitors)에 대한 반응성을 연구하기 위함 유전체 편집 기술(예: zinc-fingernucleases, transcription activator-like effector nucleases 및 CRISPR/Cas9)을 활용하여 알츠하이머병 관련 특정 유전자의 서열을 추가하거나 수정하고, iPSC 유래 뉴런에 미치는 영향을 측정하며, 환자 맞춤형 치료법을 설계할 수 있음. 	
<p>뇌 오가노이드, 마이크로유체학, 장기-온-어-칩</p>	<ul style="list-style-type: none"> 조직의 복잡성을 조사하고 치료 화합물의 효과를 평가하기 위함. 	
<p>다중 오믹스(Multi-omics)</p>	<ul style="list-style-type: none"> 알츠하이머병 신호 전달 경로를 평가하고, 후성유전적 및 유전적 변이, 유전자 발현, 평생 노출을 확인 	
<p>계산모델링(Computational modelling)</p>	<ul style="list-style-type: none"> 분자, 신호 전달 경로, 세포 수준에서의 상호작용, 인과 관계, 약물 설계, 환자 분류, 진단 및 질병 진행 개선, 단일 및 다중 규모에서의 중재 결과 예측을 조사 신약 후보물질(예: 아세틸콜린에스테라제 억제제)의 설계 및 선별 또는 효율적인 환자 분류 및 진단을 지원하여, 더 나은 환자 계층화 및 임상시험 설계를 가능하게 함 	

4. 결론

- 동물모델을 이용하여 안전성 및 효능 측면에서 가장 낮은 예측 성공율을 보인 질병 중 하나가 알츠하이머병이며 이는 치료제 개발에 어려움을 주는 가장 중요한 요인임.
- 동물과 인체의 생리적 차이가 낮은 예측 성공률을 낳게 한다고 추측을 할 수 있지만 무엇보다도 중요한 것은 알츠하이머 발병의 환경적·생활습관적 위험 요인에 의한 다중병인론을 동물에게 반영할 수 없다는 점.
- 따라서 위험 요인 간의 복잡한 상호 관계를 평가하기 위한 다양한 NAMs가 요구됨. 특히 이러한 NAMs는 동물과 인체의 생리학 및 병리학적 차이를 줄이기 위해서는 인체-기반이어야 함. 예를 들어 뇌 오가노이드, 마이크로유체학, 장기-온-어-칩 등을 이용한 분석에 있어서 인체 조직의 응용이 필요하다고 할 수 있음
- 여전히 의문은 국소적 NAMs 이용하여 안전성 및 유효성에 있어서 임상시험에 적용되는 전신적 영향을 어떻게 평가하고 투여에 결장할 것인가의 문제가 있음

<참고문헌>

Calitz C, Pollack KM, Millard C, et al. National Institutes of Health funding for behavioral interventions to prevent chronic diseases. *Am J Prev Med* 2015; 48: 462–471.

Hernandez SS, Sandreschi PF, da Silva FC, et al. What are the benefits of exercise for Alzheimer’s disease? A systematic review of the past 10 years. *J Aging Phys Act* 2015; 23: 659–668.

Pistollato F, Iglesias RC, Ruiz R, et al. Nutritional patterns associated with the maintenance of neurocognitive functions and the risk of dementia and Alzheimer’s disease: A focus on human studies. *Pharmacol Res* 2018; 131: 32–43.

van den Brink AC, Brouwer-Brolsma EM, Berendsen AAM, et al. The mediterranean, Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH), and Mediterranean-DASH Intervention for Neurodegenerative Delay (MIND) diets are associated with less cognitive decline and a lower risk of Alzheimer’s disease - A review. *Adv Nutr* 2019; 10: 1040–1065.

Ngandu T, Lehtisalo J, Solomon A, et al. A 2 year multidomain intervention of diet, exercise, cognitive training, and vascular risk monitoring versus control to prevent cognitive decline in at-risk elderly people (FINGER): A randomised controlled trial. *Lancet* 2015; 385: 2255–2263.

Langley GR. Considering a new paradigm for Alzheimer’s disease research. *Drug Discov Today* 2014; 19: 1114–1124.

Pistollato F, Cavanaugh SE and Chandrasekera PC. A human-based integrated framework for Alzheimer’s disease research. *J Alzheimers Dis* 2015; 47: 857–868.

Pistollato F, Ohayon EL, Lam A, et al. Alzheimer disease research in the 21st century: Past and current failures, new perspectives and funding priorities. *Oncotarget* 2016; 7: 38999–39016.

Robbins JP and Price J. Human induced pluripotent stem cells as a research tool in Alzheimer’s disease. *Psychol Med* 2017; 47: 2587–2592.

Pistollato F, Iglesias RC, Ruiz R, et al. Nutritional patterns associated with the maintenance of neurocognitive functions and the risk of dementia and Alzheimer’s disease: A focus on human studies. *Pharmacol Res* 2018; 131: 32–43.

van den Brink AC, Brouwer-Brolsma EM, Berendsen AAM, et al. The mediterranean, Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH), and Mediterranean-DASH Intervention for Neurodegenerative Delay (MIND) diets are associated with less cognitive decline and a lower risk of Alzheimer’s disease - A review. *Adv Nutr* 2019; 10: 1040–1065.

Sukoff Rizzo SJ, Masters A, Onos KD, et al. Improving preclinical to clinical translation in Alzheimer’s disease research. *Alzheimers Dement (NY)* 2020; 6: e12038.

Cummings J, Feldman HH and Scheltens P. The “rights” of precision drug development for Alzheimer’s disease. *Alzheimers Res Ther* 2019; 11: 76.

Mullane K and Williams M. Preclinical models of Alzheimer's disease: Relevance and translational validity. *Curr Protoc Pharmacol* 2019; 84: e57.

Veening-Griffioen DH, Ferreira GS, van Meer PJK, et al. Are some animal models more equal than others? A case study on the translational value of animal models of efficacy for Alzheimer's disease. *Eur J Pharmacol* 2019; 859:172524.

Cavanaugh SE, Pippin JJ and Barnard ND. Animal models of Alzheimer disease: Historical pitfalls and a path forward. *ALTEX* 2014; 31: 279–302.

Pound P and Ritskes-Hoitinga M. Is it possible to overcome issues of external validity in preclinical animal research? Why most animal models are bound to fail. *J Transl Med* 2018; 16: 304.

Makin S. The amyloid hypothesis on trial. *Nature* 2018; 7715: S4–S7

Mak IW, Evaniew N, Ghert M. Lost in translation: animal models and clinical trials in cancer treatment. *Am J Transl Res.* 2014 Jan 15;6(2):114-8.

Pippin, John J., et al. "Animal Research for Alzheimer Disease: Failures of Science and Ethics." *Animal Experimentation: Working Towards a Paradigm Change*, edited by Kathrin Herrmann and Kimberley Jayne, vol. 22, Brill, 2019, pp. 480–516. JSTOR,

Seok J, Warren HS, Cuenca AG, et al; Inflammation and Host Response to Injury, Large Scale Collaborative Research Program. Genomic responses in mouse models poorly mimic human inflammatory diseases. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013 Feb 26;110(9):3507-12.

Carter TA, Greenhall JA, Yoshida S, et al. Mechanisms of aging in senescence-accelerated mice. *Genome Biol* 2005; 6: R48.

Sanchez-Varo R, Mejias-Ortega M, Fernandez-Valenzuela JJ, et al. Transgenic mouse models of Alzheimer's disease: An integrative analysis. *Int J Mol Sci* 2022; 23: 5404

3. 파킨슨병 치료제 개발의 실패 원인과 NAMs

1. 목적

- 파킨슨병 치료는 여전히 증상 완화에 그치며, 현재 신경보호제나 질병 진행 억제 치료법은 존재하지 않음(Hauser 등, 2023).
- 이는 동물 모델에서 신경재생 접근법의 전임상적 성공에도 불구하고(Blesa 등, 2023), 설치류에 급성 독소 투여로 질병을 유발하는 방식이 인간 질환의 특징인 만성적이고 진행성 신경세포 사멸을 재현하지 못해 동물모델의 임상적 적용 가능성을 과대평가하게 만든다는 점을 시사하는 것임
- 파킨슨병 연구를 위한 NAMs가 다양하게 존재함. 그러나 각 방법에 있어서 잠재력과 한계 또한 존재함. 그러나 이들 NAMs는 화학적으로 손상된 설치류 및 비인간 영장류의 동물모델보다 질병 발병 및 진행 과정을 좀 더 세밀하게 관찰이 가능하다고 사료됨. 따라서 기존 파킨슨병의 동물모델에 대한 문제점과 NAMs에 대한 고찰은 Modernization 3.0 법안을 넘어 향후 파킨슨병 치료제 개발에 큰 도움이 될 것으로 사료됨.

2. 파킨슨병의 특징과 치료제의 문제점

1) 특징

- 파킨슨병(PD)의 핵심 증상은 휴식 시 떨림과 운동 둔화(resting tremor with slowness of movement and muscle rigidity) 그리고 자세 불안정(disease-related postural instability)로 흑질의 **도파민 신경세포 손실**과 **잔존 신경세포 내 α -시누클레인(alpha-synuclein) 축적**과 연관(Samii 등, 2004). 연구에 따르면 최근 “신경계 질환이 현재 세계의 인류 장애의 주요 원인이며, 파킨슨병은 신경계 질환군 중 가장 빠르게 증가하는 질환” 규정(GBD, 2018; Stocchi 등, 2024)

2) 치료제의 문제점

- 최초 사용 이후 40년이 넘는 현재까지도 도파민계 치료제인 레보도파(Levodopa: 뇌 조직 내에서 흥분 전달 물질의 하나인 도파민으로 변화되어 파킨슨병 억제 작용을 하는 치료제)는 모든 파킨슨병 환자에게 가장 효과적인 치료제로 소개되고 있음(Doherty, 2025).
- 그러나 Levodopa를 복용한 142명 환자를 대상으로 수행된 10년 추적조사의 코호트 연구를 통해 약물에 대한 파킨슨병 환자 집단의 이질성(heterogeneity)이 확인됨(Williams-Gray 등, 2013). 즉, 10년 후, 55%가 사망, 68%는 자세 불안정성, 46%에서는 치매가 확인되었음. 그리고 23%는 10년 후 치매/자세 불안정이 없이 생존의 양호한 결과가 확인. 대다수의 사망은 영국인 평균 사망률과 유사한 비율로 파킨슨병과 직접적인 관련이 없음. 결과적으로 파킨슨병의 예후는 복용한 환자의 4분의 1만 양호한 상태이며 나머지는 호전이 없는 이질적이었음
- 이와 같이 파킨슨병의 대표적인 치료제인 Levodopa의 이질성을 통해 도파민계 치료제가 파킨슨병-관련 자세 불안정(disease-related postural instability)에 효과가 없는 대표적인 예시임.

3. 파킨슨병 치료제 개발의 위한 동물질환모델

- 도파민-부족에 기인한 파킨슨병 치료제 개발을 위해서 사용되는 동물모델은 <표>에서처럼

1) 화학물질 처리에 의한 동물모델 또는 2) 형질전환에 의한 동물모델로 구분되며 대부분 모델에 있어서 도파민계 시스템을 파괴하여 제작됨. 동물은 주로 mouse, rat 또는 marmoset 등이 사용됨(Bloem 등, 1996; Zeiss 등, 2017; Michael 등, 2023; Reeve 등, 2014; Hemmer 등, 2017; Blesa, 2016; Doherty, 2025)

<표-1> 파킨슨병 연구에 현재 이용 가능한 모델 생성, 유도 방법, 질병 특성 및 모델의 한계점.

(1) 화학물질 처리에 의한 동물모델			
처리 물질	유도 방법	질병 특성	단점
6-hydroxydopamine	뇌내 주사	L-dopa(=Levodopa) 반응성 운동 기능 장애	급성 독성. 비도파민성 병리 소견 없음. 루이소체(Lewy bodies: 신경세포 내에서 발달하는 비정상적인 단백질 집합체) 없음.
MPTP/MPP ⁺	일반적으로 정맥 내/복강 내 주사. 다양한 투여 경로/투여 요법을 사용하여 서로 다른 생쥐 모델을 생성	신경염증, 선조체 도파민 감소, 흑질-선조체 도파민 신경세포 퇴화, 운동 기능 장애.	급성 병리를 유발. 도파민계 외 증상은 없음. 단백질성 봉입체(proteinaceous inclusions) 또는 루이소체가 결여됨. 청색핵의 퇴행이 없음.
Paraquat	일반적으로 복강 내 주사	신경염증, 흑질-선조체 퇴행, 청반 퇴행, α-synuclein 축적, 선조체 tyrosine hydroxylase 감소.	혈액-뇌장벽이 없는 뇌 부위의 축적. 운동 및 행동 증상 감소
Rotenone	전신 투여: 피하, 복강 내 주사.	도파민 및 도파민 대사 산물을 감소시킴. 세포질 봉입체를 생성함.	흑질 침범 없이 선조체 손상. 랫드 모델에서 높은 사망률. 매우 다양한 병리 소견. 비정형 희소돌기아교세포(oligo-dendrocyte) 및 간 독성을 유발함.

(2) 형질전환에 의한 동물모델			
처리 물질	유도 방법	질환 특성	단점
α -synuclein overexpression	인간 유전자의 과 발현	α -synuclein 양성 봉입체. 운동 및 비운동 기능 장애.	도파민 기능 장애에도 불구하고 흑질-선조체 도파민 신경세포의 제한적 진행성 퇴행.
PARKIN modification	기능 상실 돌연변이(Knock-out)	도파민 항상성 상실. 흑질-선조체 퇴행. α -synuclein 축적	도파민성 뉴런의 손실 없음. 제한된 병리학적 소견(돌연변이에 따라 다름). 타우 축적과 같은 비정형 병리학적 소견
	기능 획득 돌연변이 (Knock-in)	진행성 운동 기능 저하. 선조체 도파민 감소. α -synuclein 축적. 흑질-선조체 도파민 신경세포의 노화 관련 퇴행.	루이소체 없이 α -synuclein의 축적이 있는 상태.
DJ-1 modification	Knock-out	경미한 운동 기능 장애. 도파민 항상성 변화.	흑질-선조체 퇴행 없음. α -synuclein의 병리적 축적 없음.
PINK1 modification	결손	경미한 파킨슨병 증상. 선조체 도파민 감소. 도파민 대사 증가.	단백질성 봉입체 없음. 흑질-선조체 시스템의 퇴행 없음.
LRRK modification	Knock-out	α -synuclein 축적. 자식소체 기능 장애. 세포 사멸 증가. 산화적 손상.	파킨슨병 병변 부재. 도파민계 기능 정상.
	Knock-in	진행성 운동 기능 저하. 선조체 도파민 감소. α -synuclein 축적. 흑질-선조체 도파민 신경세포의 노화 관련 퇴행.	흑질-선조체 시스템에 변화 없음. 유전자 변형 모델의 문제점: 외래 유전자 삽입 부위 문제, 프로모터 문제, 마우스 배경 계통 문제
	Point mutations	도파민 관련 병리의 영역. 연령 관련 운동 기능 장애. 선조체 도파민 대사량의 연령 관련 감소.	신경퇴행성 변화의 증거가 거의 없음.

4. 파킨슨병(PD) 연구에 활용이 가능한 인체-기반 MAMs

1) 비임상 연구 및 NAMs 방향성

- Williams-Gray 등(2013)의 10년 추적조사의 코호트 연구를 통해 약물에 대한 파킨슨병 환자 집단의 이질성(heterogeneity)에 기인하여 치료제는 겨우 환자집단의 23%에서 효능이 확인 됨.
- 이와 같이 **치료제의 낮은 치료율은 파킨슨 환자의 다양한 하위군에 대한 연구가 지나치게 단순화되고 대표성이 부족한 동물질환모델을 사용에 기인함.** 환자 집단의 이질성을 줄이기 위한 하위집단을 위한 효과적인 질병 수정 치료법이 요구되며 좀 더 <표-2>에서처럼 **세부적인 비임상연구 및 인체- 및 비동물-신규 평가방법(NAMs; New Approach Methodologies)**가 필요한 실정임(Cassotta 등, 2022).

<표-2> 인체- 및 비동물-신규 평가방법(NAMs; New Approach Methodologies)

(1) In vitro 모델			
In vitro	세포주 종류	질환 특성	고려할 점
인간 세포주	불멸화된 세포주 (예: SH-SY5Y, NTera-2, LUHMES)	도파민성 뉴런의 특성(예: tyrosine hydroxylase 발현). 파킨슨병 관련 유전자 발현. 스트레스 또는 독소에 의존적인 α -synuclein 증가가 응집체 유발 신경퇴행을 초래	불멸화됨; 단일 배양은 복잡한 뇌를 대표하지 못함. 즉 분리되어 있으며, 지지 조직이 결여됨.
	줄기세포	도파민성 신경세포 유형. 비파킨슨병 대조군 세포 대비 증가된 α -synuclein 단백질. 감소된 신경돌기 성장 및 증가된 자가포식 소포. 자가이식을 위한 조직 생성	단일 배양은 복잡한 뇌를 대표하지 않음. 즉, 고립된 배양, 다른 지지 조직 없음 등. 파킨슨 환자의 줄기세포 추출이 필요함.
(2) In silico model			
In silico	방법	주요 표적 또는 기전 확인	고려할 점
경로 - 기반 접근법	Adverse outcome pathway(AOP)	미토콘드리아 기능 장애 메커니즘.	AOP 위키 (https://aopwiki.org/aops/3)는 지속적으로 생산되고 있지만 기전적 지식은 아직 완전하지 않고 또한 동물 실험 데이터를 기반으로 하는 것이 문제점
Imaging	Positron emission tomography (PET)	특이적 추적자(특정 표지자)를 통해 파킨슨병을 다른 질환과 구별이 가능. 증상 발현 이전 도파민 신경퇴행의 생체표지자 응용.	모든 환자에게 적용이 가능하지 않음. 방사성 추적자 사용 가능. 고비용. 파킨슨병 초기 단계에서는 이용의 제한점
	Functional MRI	신경 활동 매핑을 통해 치료에 따른 시간 경과에 따른 악화/변화 측정 가능	표준화된 방법론의 부재와 영상 아티팩트
	Single photon-emission computed tomography (단일 광자방출컴퓨터단	초기 임상 진단을 개선 효과. 질병 진행 및 치료 효과를 모니터링 가능. 비정형 파킨슨병과 파킨슨병을 구분 가능	PET보다 낮은 해상도와 정량화에 어려움.

	측촬영)		
	Magnetoencephalography(자기뇌파 검사)	약물이 뇌파 활동에 미치는 영향 정량화. 파킨슨병의 새로운 신경생물학적 지표 확인. 파킨슨병 진단.	결함에 예민한 기록과 고비용. 표준화 부족.
<참고문헌>	Cassotta 등, 2022		

5. 결론

- 파킨슨병 치료제 개발 과정에서 동물-기반 전임상 시험 결과가 임상 적용에 실패하는 데는 여러 이유가 있음. 파킨슨병 치료를 위한 동물모델 266건의 연구(Zeiss 등, 2017)에 대해 전 임상의 후향적 데이터 분석이 이루어졌음(Zeiss 등, 2017). 마우스를 대상으로 한 연구의 90%, 랫드를 대상으로 한 연구의 95%, 비인간 영장류를 대상으로 한 시험의 67~80%에서 파킨슨병의 진행에서 개선이 되었음이 확인됨. 그러나 인간 대상 시험에서는 단 32%만이 임상적 개선이 확인되었음(Zeiss 등, 2017). 이와 같은 결론을 통해 전임상 연구의 실험적 세부 사항을 검토뿐만 아니라 다음과 같은 여러 편향적 디자인에 대한 면밀한 이해가 요구됨.
 - ① 비인간 영장류를 대상으로 한 연구에서는 성별 편향이 나타나지 않았으나, 주로 젊은 성체를 사용하였음.
 - ② 마우스 모델을 사용한 연구에서는 수컷 동물을 주로 사용했으며, 특정 유전자 계통이 우세하였음.
 - ③ 랫드를 대상으로 한 연구에서도 수컷 편향이 관찰되었으나, 더 다양한 유전자 계통을 사용하였음.
- 동물모델의 내적·외적 타당성 문제와 더불어 동물과 인간의 치료 반응 간 일치도가 낮다는 점은 **더 깊고 넓은 인체-관련성 방법 개발에 집중할 필요성**을 제시하는 것임. 파킨슨병 분야는 더 좋은 바이오마커, 조기 진단, 질병 기전 이해도 향상, 환자의 하위집단 이질성을 극복하기 위한 질병의 특이적 유형의 명확한 분류를 기반한 임상시험 설계 등이 요구됨
- <표-2>와 같이 파킨슨병 연구를 위한 NAMs가 다양성하게 존재함, 그러나 각 방법에 있어서 잠재력과 한계 또한 존재함. 그러나 이들 NAMs는 화학적으로 손상된 설치류 및 비인간 영장류의 동물모델보다 질병 발병 및 진행 과정을 좀 더 세밀하게 관찰이 가능하다고 사료됨.

<참고문헌>

- Samii A, Nutt JG and Ransom BR. Parkinson's disease. *Lancet* 2004; 363: 1783–1793.
- GBD 2016 Parkinson's disease collaborators. Global, regional, and national burden of Parkinson's disease, 1990-2016: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Neurology* 2018; 17: 939–953.
- Stocchi, F., Bravi, D., Emmi, A. et al. Parkinson disease therapy: current strategies and future research priorities. *Nat Rev Neurol* 20, 695–707 (2024).
- Colleen Doherty, Parkinson's Disease Treatment; Drugs, Surgery, and Everything in Between. <https://www.verywellhealth.com>. 2025
- Williams-Gray CH, Mason SL, Evans JR, et al. The CamPaIGNstudy of Parkinson's disease: 10-year outlook in an incident population-based cohort. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2013; 84: 1258–1264.
- Zeiss CJ, Allore HG and Beck AP. Established patterns of animal study design undermine translation of disease modifying therapies for Parkinson's disease. *PLoS One* 2017; 12: e0171790.
- GBD 2016 Parkinson's disease collaborators. Global, regional, and national burden of Parkinson's disease, 1990-2016: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Neurology* 2018; 17: 939–953.
- Bloem BR, Beckley DJ, van Dijk JG, et al. Influence of dopaminergic medication on automatic postural responses and balance impairment in Parkinson's disease. *Mov Disord* 1996; 11: 509–521.
- Michael J, Fox Foundation. The Michael J. Fox Foundation for Parkinson's Research 2015 Annual Report, <https://www.michaeljfox.org/2019-2020-annual-report-milestones-and-momentum> (2016, accessed 12 January 2023).
- Parkinson's Foundation. Statistics, <https://www.parkinson.org/UnderstandingParkinsons/Statistics> (2022, accessed 12 January 2023).
- Reeve A, Simcox E and Turnbull D. Ageing and Parkinson's disease: Why is advancing age the biggest risk factor? *Ageing Res Rev* 2014; 14: 19–30.
- Aarsland D and Kurz MW. The epidemiology of dementia associated with Parkinson disease. *J Neurol Sci* 2010; 289:18–22
- Hemmer K, Smits LM, Bolognin S, et al. In vivo phenotyping of Parkinson-specific stem cells reveals increased α -synuclein levels but no spreading. *bioRxiv* 2017, DOI: <https://doi.org/10.1101/140178>
- Hauser RA. Parkinson disease treatment & management, <https://emedicine.medscape.com/article/1831191-treatment>(2019, accessed 13 January 2023).
- Blesa J, Trigo-Damas I, Quiroga-Varela A, et al. Animal models of Parkinson's disease. Challenges in Parkinson's disease, <http://dx.doi.org/10.5772/63328> (2016, accessed 31 January 2023).
- Cassotta M, Geerts H, Harbom L, et al. The future of Parkinson's disease research: A new paradigm of human specific investigation is necessary, and possible. *ALTEX* 2022; 39: 694–709.

4. 류머티즘성 관절염 치료제의 반응률 임계치와 NAMs

1. 류머티즘성 관절염의 특성

- 류머티즘성 관절염(Rheumatoid arthritis, RA)은 지속적인 활막염과 다양한 정도의 뼈 및 연골 침식으로 특징지어지는 만성 자가면역 질환이며, 결국 관절 파괴를 초래하여 통증과 장애를 유발(Gibofsky, 2012).
- 류마티스 관절염과 관련된 전신성 염증은 관절 외 심혈관계 질환 등을 포함한 동반 질환과 연관되어 있기 때문에 류마티스 관절염 환자의 사망률을 증가시킴(Gibofsky 등, 2014).
- 류머티즘성 관절염은 유전적 및 환경적 요인에 의해 좌우되지만, 질병 발병 위험의 약 50%는 흡연과 같은 환경적 요인에 기인함(Tobon 등, 2010). 선진국에서는 인구의 약 1%가 류마티스 관절염을 앓고 있어 가장 흔한 염증성 관절염 형태. 중년기에서 발병하며, 현재 이용 가능한 약물 치료법이 있음에도 불구하고 상당한 사회적·경제적 영향을 미치는 질환임(Roodenrijs 등, 2022; Bogas 등, 2017).

2. 류머티즘성 관절염의 치료제 개발 현황과 환자 반응률의 임계치

1) 류머티즘성 관절염의 치료제 개발 현황

- 류마티스 관절염의 현재 치료 옵션에는 비스테로이드성 항염증제, glucocorticoids과 질병조절항류마티스제(DMARDs, Disease-Modifying Antirheumatic Drugs)은 conventional synthetic(cs) DMARDs, biological(b) DMARDs 그리고 targeted synthetic(ts) DMARDs 등으로 분류됨.
- **csDMARDs**는 methotrexate, leflunomide과 sulfasalazine, **bDMARDs**로는 TNF 저해제인 infliximab, etanercept, adalimumab, certolizumab pegol과 golimumab 등, T 세포 공동자극 억제제인 abatacept, differentiation 20(CD20) inhibitor 클러스터인 rituximab, IL-6R inhibitor인 tocilizumab와 sarilumab 등, **tsDMARDs**로는 JAK inhibitor인 tofacitinib, baricitinib과 upadacitinib 등이 있음(Smolen 등, 2020).
- 고무적으로 csDMARDs, bDMARDs 및 tsDMARDs가 개발되면서 RA의 치료 결과가 점차 개선되었음에도 불구하고, DMARDs 단독요법 또는 병용요법을 시행한 RA 환자를 대상으로 한 다양한 임상시험에서 **최고 반응률에 임계치는 약 40-60%에 머무는 것으로 확인됨**(Wang 등, 2021; Taylor 등, 2016).
- 생물학적 치료제의 가용성 증가로 류마티스 관절염 환자의 예후는 크게 개선되었으나, **여전히 효과적인 치료법이 없는 쇠약성 만성 질환으로 남아 있음**

2) 임상시험에서 최고 반응률에 임계치 약 40-60%에 대한 예시와 부작용

- 반응 임계치의 대표적인 문제점은 다양한 유형의 DMARDs의 작용 기전이나 CD20, TNF, IL-6, CD80-CD86, JAK-STAT 경로와 같은 다양한 특정 세포, 분자 및 신호 전달 표적과 무관하게 관찰된다는 점임(Favalli 등, 2017; Feldmann 등, 2015).
- 예를 들어 약물에 만족스러운 반응을 보이지 않는 환자에게 bDMARD인 종양괴사인자- α 억제제(TNF- α inhibitor)가 추가 투여하여 류마티스 관절염을 치료가 이루어지고 있음. 그러나

TNF- α 차단제로 치료받은 환자의 약 40%는 여전히 치료에 반응하지 않음(Wijbrandts 등, 2017). 또한 초기 반응자이라도 최대 50%는 치료 시작 후 12개월 이내에 반응을 상실함 ((Buch 등, 2007; Juarez 등, 2012).

- 약물은 평생 치료가 필요하지만, 독성 발현 및 감염이나 암 발생 위험 증가 등과 같은 심각한 전신적 부작용(systemic adverse effects)의 발생이 보고됨(Wang 2018; Liao 등, 2017; Atzeni 등, 2012; Haynes 등, 2013).

3. 치료제 개발을 위한 In vitro 모델 및 동물질환모델의 한계점

1) In vitro 모델의 대표적인 예시와 단점

- 지금까지 RA는 주로 다양한 체외 분석법과 동물 모델을 통해 연구되어 왔음. 세포 기반 체외 분석법은 비교적 단순한 배양 시스템을 기반으로 세포 부착, 세포 이동, 항원 제시 및 림프구 활성화를 조사하는 데 사용되었음(Pretzel 등, 2007; Giese 등, 2014)
- **예시:** 전통적인 인간 활막 세포 배양은 TNF- α 차단제 개발에 결정적인 역할을 해왔으며, 이는 현재까지 질병 진행을 늦추고 증상을 완화하는 데 가장 성공적인 치료법임(Brennan 등, 1989).
- **단점:** 정적이며 비생리적 조건(예: 플라스틱 배양 용기 내)에서 세포 및 조직을 배양하거나 암 세포주를 사용하는 것은 결과의 현실성에 심각한 영향을 줌(Pamies 등, 2017; Di Nardo 등, 2011).

2) In vivo 모델의 대표적인 예시와 단점

- 모델 예시: 마우스, 랫드, 토끼, 원숭이 등의 다양한 종에서 유래한 많은 전임상 관절염 모델이 개발되었음. 항원-유도성 관절염 모델로는 프로테오글리칸-유도 관절염 (proteoglycan-induced arthritis), 연쇄상구균 세포벽-유도 관절염(streptococcal cell wall arthritis), 콜라겐-유도 관절염, 항원-유도 관절염(antigen-induced arthritis)등으로 면역반응이 요구되는 모델 등이 있음(Brand 등, 2005). 또한 보조제(예: oil-induced arthritis)에 의해 유도된 모델, TNF- α transgenic mouse과 K/BxN T-cell receptor transgenic mouse 등과 같은 자연발생 모델(spontaneous models), 인간화 모델(humanised model) 등이 있음(Hopkins 등, 1984; Donaldson 등, 2007; Butler 등, 1997; Kouskoff 등, 1996; Schinnerling 등, 2019).
- **단점:** 위와 같은 류마티스 관절염-유사 설치류 모델(RA-like rodent models)은 관절 부종, 활막염, 판누스 형성 및 골 침식 등 류마티스 관절염에서 발견되는 전형적인 특징 일부를 나타냄. 그러나 각 모델은 질병 발병 속도, 만성화 정도, 중증도, 회복 및 조직병리학 측면에서 차이가 있음(McNamee 등, 2015). 특히 이들 설치류 모델들은 각각 조직병리학적으로 차이가 있을 뿐만 아니라, 인간 류마티스 관절염의 조직병리학적 측면에서도 차이가 있음.
- **동물모델의 문제점 예시-1:** 위와 같은 모델 중 어느 것도 진정한 류마티스 관절염(RA)을 재현하지 않으며, 환자에서 치료제의 효과를 일관되게 예측하지 못하고 있음. 예를 들어, 현재까지 RA 치료의 1차 DMARD인 메토트렉세이트는 콜라겐-유도 관절염 모델에서 극히 제한적인 효과만을 보이고 있음. 인터루킨-6 결핍은 관절염의 수동적 전이 모델이나 TNF 트랜스제닉의 인간화 마우스에서도 거의 효과가 없었음(Shultz 등, 2012)
- **동물모델의 문제점 예시-2:** 류마티스 관절염에 널리 사용되는 차세대 치료제인 항-CD20 항체는 질병 유발 초기 단계에 투여할 때만 콜라겐-유도 관절염 모델에서 효과가 있으며, 후기 단계에서는 효과가 없었음(Hegen 등, 2008).

- **동물모델의 문제점 예시-3:** 비스테로이드성 항염증제는 쥐의 보조제 관절염에서는 현저히 효과적이지만, 류마티스 관절염 환자에게는 미미한 완화 효과만이 확인되었음(Firestein 등, 2009)

4. 류머티즘성 관절염 치료제 개발을 위한 NAMs

- 다양한 동물모델이 류마티스 관절염의 근본적으로 면역학적 기전 이해에 기여한 것은 분명 하지만 임상 개발 단계에서 신약 후보물질의 낮은 성공률에 대한 우려와 통증을 유발하는 동물 모델 사용에 대한 윤리적 문제 인식이 높아지고 있음. 이에 따라 **복잡한 인간 질환 연구에서의 유용성과 약물 표적 식별 효과성에 대한 의문이 제기되고 있음**(Leist 등, 2013; van de Stolpe 등, 2015; Wagar 등, 2018; Davis 등, 2008; Khanna 등, 2011).
- 이와 같은 의문이 제기되고 있고 이를 극복하기 위해서는 **인체-기반 첨단 접근법 및 인체-및 비동물-신규 평가방법인 NAMs(NAMs; New Approach Methodologies)**을 <표-1>에 서술됨. 특히 줄기세포 기술, 미세공학, 미세유체학, 컴퓨팅 파워, 인공지능 및 관련 다학제적 협력 분야의 최근 발전은 복잡한 인간 질환을 연구하는 대담한 새로운 방식을 제시하고 광범위하며 의미 있는 인간 관련 데이터를 산출하는 놀라운 연구 접근법임.

<표-1> 류마티스 관절염(RA) 연구에 적합한 인간 기반 도구, 모델 및 접근법		
인간 기반 도구/모델/접근법	응용 및 표적	참고문헌
역학 연구, 무작위 대조 임상 시험	<ul style="list-style-type: none"> ● 임상적 특징, 류마티스 관절염 관련 위험 인자(예: 유전적 취약성, 흡연, 식이 등 환경적 유발 요인), 동반 질환(예: 비만, 심혈관 질환 등)을 확인하기 위함 	Zhang 등, 2025
다중 오믹스, 고처리량 단일 세포 기술, 고함량 분석법	<ul style="list-style-type: none"> ● 류마티스 관절염 위험 관련 유전자 평가: 다양한 질병 하위 표현형과 연관된 유전적 요인 분석, 약물의 분자적 효과 규명 ● 진단 지원: 다양한 관절염 유형 간 감별, 질병 기전 이해 증진, 조기 바이오마커 탐지 ● RA 신호전달 경로 평가. 	Marshall 등, 2025; Gong 등, 2024
환자 유래 샘플(예: 활액), 세포 및 조직, 그리고 첨단 세포 및 조직 모델(예: 3차원 공학적 세포 배양, 환자 유래 오가노이드, 난자 외 세포(OOCs), 다중 세포 시스템(MPS))	<ul style="list-style-type: none"> ● 류마티스 관절염(RA)의 조기 바이오마커를 규명하고 환자 특이적 유도만능줄기세포(iPSCs)를 생성 ● 환자 이질성을 고려하며, 생리학적 관련성을 고려한 방식으로 인간 세포 및 조직을 배양. ● 질병 발병 및 진행에 관여하는 세포 및 분자적 요인을 독립적으로 조절 및 변형하여 다기관 수준에서 RA 발병 과정과 영향을 연구 ● OOCs = organs-on-chips; MPS = microphysiological systems 	He 등, 2025; Siwei 등, 2023; Calvo 등, 2017
hiPSCs(human induced pluripotent stem cells, 인체유도만능줄기세포)	<ul style="list-style-type: none"> ● 류마티스 관절염(RA)의 유전적 기여도를 연구하고, 환자로부터 유래한 인간 유도만능줄기세포(hiPSCs) 특유의 이질성을 포착하기 위함. ● 유전체 편집 기술(예: CRISPR/Cas9)을 활용하여 RA 관련 특정 유전자의 서열을 추가하거나 변형시키고, 이를 iPSC 유래 분화 세포(예: 심근세포)에 미치는 영향을 측정 ● 맞춤형 또는 정밀 치료법을 설계할 수 있음 	Wolnik 등, 2022; Cerneckis 등, 2024
Computational modelling	<ul style="list-style-type: none"> ● 환자의 생물학적 샘플, 실험실 결과, 병력, 치료 및 결과에 대한 대규모 다차원적 컬렉션을 분석 ● 분자 및 신호 전달 경로 연구 및 약물의 효과를 모방하기 위함 	Shi 등, 2024; Nabi 등, 2024

5. 결론

- 류마티스 관절염(RA)은 염증과 골파괴를 특징으로 하는 자가면역 질환임. RA의 정확한 기전은 아직 알려지지 않았으나, 다양한 면역 사이토카인, 신호전달 경로 및 주요 세포(effector cells)가 관여하는 질환임.
- 고무적으로 csDMARDs, bDMARDs 및 tsDMARDs가 개발되면서 RA의 치료 결과가 점차 개선

되었음에도 불구하고, DMARDs 단독요법 또는 병용요법을 시행한 RA 환자를 대상으로 한 다양한 임상시험에서 최고 반응률에 임계치는 약 40-60%에 머무는 것으로 확인됨

- 개별 환자에게 특정 DMARD를 권장하기에는 이러한 노력들이 아직도 턱없이 부족하다는 점을 인식하고 있고 질병 관리에 대한 고도로 개인화되고 맞춤형 접근법을 제안하는 신형 의료 모델을 위한 NAMs가 <표>에서처럼 다양한 측면에서 개발되고 있음.
- 특히 다양한 첨단 기술과 빅데이터의 도입과 함께 류마티스 관절염 치료 실패 극복을 위한 정밀의학 잠재력을 위한 이들 NAMs는 동물과 인체 차이를 줄이면서 보다 정밀한 병인의 확인을 통해 임상시험에서 최고 반응률에 임계치인 약 40-60%를 훨씬 넘는 거대한 진전을 가져올 것으로 사료됨.

<참고문헌>

Smolen JS, Landewe RBM, Bijlsma JWJ, Burmester GR, Dougados M, Kerschbaumer A, et al. EULAR Recommendations for the Management of Rheumatoid Arthritis With Synthetic and Biological Disease-Modifying Antirheumatic Drugs: 2019 Update. *Ann Rheum Dis* (2020) 79(6):685–99.

Zhang, Z., Gao, X., Liu, S. et al. Global, regional, and national epidemiology of rheumatoid arthritis among people aged 20–54 years from 1990 to 2021. *Sci Rep* 15, 10736 (2025).

Marshall, L., Raychaudhuri, S. & Viatte, S. Understanding rheumatic disease through continuous cell state analysis. *Nat Rev Rheumatol* 21, 323–335 (2025).

Gong X, Su L, Huang J, Liu J, Wang Q, Luo X, Yang G and Chi H (2024) An overview of multi-omics technologies in rheumatoid arthritis: applications in biomarker and pathway discovery. *Front. Immunol.* 15:1381272

He, C., Ren, Z., Xia, X. et al. A single-cell RNA-seq dataset of synovial fluid from rheumatoid arthritis treated with TNF- α /JAK inhibitor. *Sci Data* 12, 977 (2025).

Siwei Wang et al., Advances in experimental models of rheumatoid arthritis. *Eur. J. Immunol.* 2023;53:2249962.

Calvo IO, Byrne RA, Karonitsch T, et al. 3D synovial organoid culture reveals cellular mechanisms of tissue formation and inflammatory remodelling. *Annals of the Rheumatic Diseases* 2017;76:A49-A50.

Wolnik J, Kubiak G, Skoczyńska M, Wiland P, Fearon U, Veale D, Dulak J, Binińska M. Generation of two hiPSC lines, (DMBi003-A and DMBi004-A), by reprogramming peripheral blood mononuclear cells and fibroblast-like synoviocytes from rheumatoid arthritis patients. *Stem Cell Res.* 2022 Oct;64:102886.

Cerneckis, J., Cai, H. & Shi, Y. Induced pluripotent stem cells (iPSCs): molecular mechanisms of induction and applications. *Sig Transduct Target Ther* 9, 112 (2024).

Shi Y, Zhou M, Chang C, Jiang P, Wei K, Zhao J, Shan Y, Zheng Y, Zhao F, Lv X, Guo S, Wang F and He D (2024) Advancing precision rheumatology: applications of machine learning for rheumatoid arthritis management. *Front. Immunol.* 15:1409555.

Nabi T, Riyed TH, Ornob A. Deep learning based predictive modeling to screen natural compounds against TNF-alpha for the potential management of rheumatoid arthritis: Virtual screening to comprehensive in silico investigation. *PLoS One.* 2024 Dec 5;19(12):e0303954.

Favalli EG, Raimondo MG, Becciolini A, Crotti C, Biggioggero M, Caporali R. The Management of First-Line Biologic Therapy Failures in Rheumatoid Arthritis: Current Practice and Future Perspectives. *Autoimmun Rev* (2017) 16(12):1185–95.

Feldmann M, Maini R. Can We Get Closer to a Cure for Rheumatoid Arthritis? *Arthritis Rheumatol* (Hoboken NJ) (2015) 67(9):2283–91.

Wang Z, Huang J, Xie D, He D, Lu A and Liang C (2021) Toward Overcoming Treatment Failure in Rheumatoid Arthritis. *Front. Immunol.* 12:755844.

Hay M, Thomas DW, Craighead JL, et al. Clinical development success rates for investigational drugs. *Nat Biotechnol* 2014; 32: 40–51.

Hartung T. Food for thought. Look back in anger - What clinical studies tell us about preclinical work. *ALTEX* 2013;30: 275–291.

von Herrath MG and Nepom GT. Lost in translation: Barriers to implementing clinical immunotherapeutics for autoimmunity. *J Exp Med* 2005; 202: 1159–1162.

Blumberg RS, Dittel B, Hafler D, et al. Unraveling the autoimmune translational research process layer by layer. *Nat Med* 2012; 18: 35–41.

Wang Z, Huang J, Xie D, et al. Toward overcoming treatment failure in rheumatoid arthritis. *Front Immunol* 2021;12: 755844.

Leist M and Hartung T. Inflammatory findings on species extrapolations: Humans are definitely no 70-kg mice. *Arch Toxicol* 2013; 87: 563–567.

van de Stolpe A and Kauffmann RH. Innovative human specific investigational approaches to autoimmune disease. *RSC Advances* 2015; 5: 18451–18463.

Wagar LE, DiFazio RM and Davis MM. Advanced model systems and tools for basic and translational human immunology. *Genome Med* 2018; 10:73.

Davis MM. A prescription for human immunology. *Immunity* 2008; 29: 835–838.

Khanna R and Burrows SR. Humanimmunology: A case for the ascent of non-furry immunology. *Immunol Cell Biol.* 2011; 89: 330–331.

Gibofsky A. Overview of epidemiology, pathophysiology, and diagnosis of rheumatoid arthritis. *Am J Manag Care* 2012; 18: S295–S302.

Gibofsky A. Epidemiology, pathophysiology, and diagnosis of rheumatoid arthritis: A synopsis. *Am J Manag Care* 2014; 20: S128–S135.

Tobon GJ, Youinou P and Saraux A. The environment, geoepidemiology, and autoimmune disease: Rheumatoid arthritis. *J Autoimmun* 2010; 35: 10–14.

Roodenrijs NMT, Welsing PMJ, van Roon J, et al. Mechanisms underlying DMARD inefficacy in difficult-to-treat rheumatoid arthritis: A narrative review with systematic literature search. *Rheumatology (Oxford)* 2022; 61: 3552–3566.

Bogas P, Plasencia C, Pascual-Salcedo D, et al. SAT0168 discontinuation of first biologic therapy in rheumatoid arthritis: Main causes and correlation between secondary inefficacy and development of immunogenicity. *Ann Rheum Dis* 2017; 76(Suppl. 2): 833–834.

Wijbrandts CA and Tak PP. Prediction of response to targeted treatment in rheumatoid arthritis. *Mayo Clin Proc* 2017; 92: 1129–1143.

Buch MH, Bingham SJ, Bryer D, et al. Long-term infliximab treatment in rheumatoid arthritis: Subsequent outcome of initial responders. *Rheumatology (Oxford)* 2007; 46:1153–1156.

Juarez M, Filer A and Buckley CD. Fibroblasts as therapeutic targets in rheumatoid arthritis and cancer. *Swiss Med Wkly* 2012; 142: w13529.

Wang W, Zhou H and Liu L. Side effects of methotrexate therapy for rheumatoid arthritis: A systematic review. *Eur J Med Chem* 2018; 158: 502–516.

Liao H, Zhong Z, Liu Z, et al. Comparison of the risk of infections in different anti-TNF agents: A meta-analysis. *Int J Rheum Dis* 2017; 20: 161–168.

Atzeni F, Sarzi-Puttini P, Botsios C, et al. Long-term anti TNF therapy and the risk of serious infections in a cohort of patients with rheumatoid arthritis: Comparison of adalimumab, etanercept and infliximab in the GISEA registry. *Autoimmun Rev* 2012; 12: 225–229.

Haynes K, Beukelman T, Curtis JR, et al. Tumor necrosis factor alpha inhibitor therapy and

cancer risk in chronic immune-mediated diseases. *Arthritis Rheum* 2013; 65:48–58.

Taylor PC, Moore A, Vasilescu R, et al. A structured literature review of the burden of illness and unmet needs in patients with rheumatoid arthritis: A current perspective. *Rheumatol Int* 2016; 36: 685–695.

Pretzel D, Pohlers D, Weinert S, et al. In vitro model for the analysis of synovial fibroblast-mediated degradation of intact cartilage. *Arthritis Res Ther* 2009; 11: R25.

Giese C and Marx U. Human immunity in vitro - solving immunogenicity and more. *Adv Drug Deliv Rev* 2014; 6970: 103–122.

Brennan FM, Jackson A, Chantry D, et al. Inhibitory effect of TNF α antibodies on synovial cell interleukin-1 production in rheumatoid arthritis. *Lancet* 1989; 334:244–247.

Pamies D and Hartung T. 21st century cell culture for 21st century toxicology. *Chem Res Toxicol* 2017; 30: 43–52.

Di Nardo P, Minieri M and Ahluwalia A. Engineering the stem cell niche and the differentiative micro- and macro environment: Technologies and tools for applying biochemical, physical and structural stimuli and their effects on stem cells. In: Artmann G, Minger S and Hescheler J (ed) *Stem cell engineering*. Berlin, Heidelberg: Springer, 2011, pp. 41–59.

Brand DD. Rodent models of rheumatoid arthritis. *Comp Med* 2005; 55: 114–122.

Hopkins SJ, Freemont AJ and Jayson MIV. Pristane-induced arthritis in Balb/c mice I. Clinical and histological features of the arthropathy. *Rheumatol Int* 1984; 5: 21–28.

Donaldson L and Chillingworth N. Arthritis model, adjuvant-induced arthritis. In: Schmidt R and Willis W (eds) *Encyclopedia of pain*. Berlin, Heidelberg: Springer, 2007, pp. 111–115.

Butler DM, Malfait AM, Mason LJ, et al. DBA/1 mice expressing the human TNF- α transgene develop a severe, erosive arthritis: Characterization of the cytokine cascade and cellular composition. *J Immunol* 1997; 159: 2867–2876.

Kouskoff V, Korganow A-S, Duchatelle V, et al. Organ specific disease provoked by systemic autoimmunity. *Cell* 1996; 87: 811–822.

Schinnerling K, Rosas C, Soto L, et al. Humanized mouse models of rheumatoid arthritis for studies on immunopathogenesis and preclinical testing of cell-based therapies. *Front Immunol* 2019; 10: 203.

McNamee K, Williams R and Seed M. Animal models of rheumatoid arthritis: How informative are they? *Eur J Pharmacol* 2015; 759: 278–286.

Shultz LD, Brehm MA, Garcia-Martinez JV, et al. Humanized mice for immune system investigation: Progress, promise and challenges. *Nat Rev Immunol* 2012; 12:786–798.

Hegen M, Keith JC Jr, Collins M, et al. Utility of animal models for identification of potential therapeutics for rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2008; 67: 1505–1515.

Firestein GS. Rheumatoid arthritis in a mouse? *Nat Clin Pract Rheumatol* 2009; 5:1.

5. 침팬지를 이용한 HIV/AIDS 백신 시험에서 인간으로의 외삽에 대한 현실성 평가

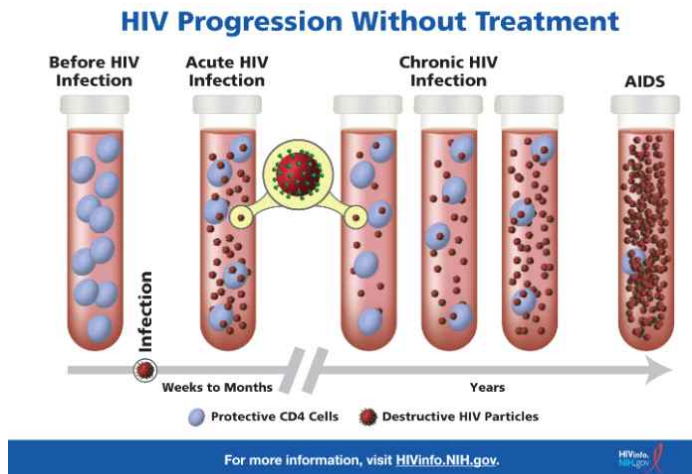
(본 리포트는 아래의 내용이 제외되어 작성되었음을 미리 알려드립니다)

- Lenacapavir (branded as Yeztugo)의 6개월간 보호 효과를 제공하는 최초이자 유일한 FDA 승인 HIV 예방 백신(Gilead, 2025)
- 2025년의 백신 개발의 주요 이정표는 연간 단 두 번의 주사로 HIV 예방이 가능한 **Lenacapavir (branded as Yeztugo)**의 FDA 승인이었음.
- 임상시험에서 남성 간 성관계를 가진 남성 및 트랜스젠더 여성 대상 효능은 거의 100%에 달하였음. 글로벌 라이선싱 계약을 통해 Gilead는 120개국 이상에서 로열티 없는 생산을 마련했으나, 초기 비용과 유통 장벽은 여전히 상당함.
- 르완드의 수도, 키갈리에서 열린 IAS(국제에이즈학회) 2025에서 WHO는 레나카파비르(lenacapavir) 주사제 사용을 권고하는 새로운 지침을 발표했으며, MERCK의 카보테그라비르(Cabotegravir, CAB)/릴피비린(Rilpivirine, RPV)는 월 1회 또는 2개월에 1회 투여 방식으로 계속해서 출시되고 있음

1. HIV/AIDS의 개념과 백신 개발 현황

1) 개념과 발생률

- HIV 바이러스(human immunodeficiency virus, 인간 면역결핍 바이러스)는 사람의 면역 체계를 공격해 면역력을 떨어뜨리는 바이러스. <그림>에서처럼 HIV 감염으로 인체의 면역력이 상당히 저하되면 감염증이나 종양이 나타나기 시작하는데, 이를 후천성면역결핍증후군(AIDS, acquired immunodeficiency syndrome)이라고 함(An official website of the United States government, 2025).



- HIV는 여전히 세계에서 가장 도전적인 감염병 중 하나로, 2020년 한 해에만 150만 명의 신규 감염자와 68만 명의 사망자가 발생(Fortner 등, 2022)
- 이와 같은 심각한 글로벌 문제임에도 불구하고 1984년 미국 보건복지부 장관은 2년 내 백신 개발 선언과 클린턴 대통령의 2007년을 목표 제시도 약속에 그쳤음.

2) 백신 개발 현황

- HIV 백신 연구는 1980년대 후반에 시작되었으며, 지난 30년 동안 수많은 백신 전략이 시험 되었음. <Table 2>는 1990년부터 현재까지 진행된 주요 HIV 백신 또는 면역 전략 임상시험을 요약한 것으로, 백신 구성 요소, 플랫폼, 보조제, 임상시험 단계/대상 집단, 유효성 또는 결과를 나타낸 것임(Shim 등, 2025). 이와 같이 약 20년간의 노력에도 불구하고 성공적인 인간용 백신으로 이어지지는 못하였음.
- 1990년대의 초기 접근법은 **재조합 HIV 외피 당단백 서브유닛 백신**(예: AIDSVAX gp120 백신)을 이용한 항체 반응 유도에도 초점을 맞췄으나(Adis International, Ltd, 003), 최초의 3상 임상시험(북미/유럽의 VAX004 및 태국의 VAX003)에서는 예방 효능이 입증되지 않았음(Corey 등, 2013)
- 2000년대에 이어진 **T-세포 백신 전략**은 아데노바이러스 5형과 같은 바이러스 벡터를 이용해 강력한 CD8+ T세포 면역을 유도하였음(Buchbinder 등, 2008). 2004년부터 2007년까지 진행된 STEP 임상시험은 감염 예방이나 바이러스 부하 감소에 실패했을 뿐만 아니라 특정 백신 접종자 하위집단에서 오히려 감염률이 더 높게 나타났음(Corey 등, 2013).
- 2009년 태국에서 진행된 RV144 시험은 전환점이 되었음(Rerks-Ngarm 등, 2009). 카나리아포스 벡터(ALVAC)와 gp120 단백질을 이용한 **이종 프라임-부스트 요법(A heterologous prime-boost regimen)**으로, HIV 감염 위험을 31.2% 다소 감소시키는 것으로 확인되었음(Esparza, 2013). RV144는 HIV 백신이 인간을 보호할 수 있다는 첫 개념 증명 (proof-of-concept)을 제공했으며, 이 결과를 개선하기 위한 새로운 임상시험 물질을 촉발하였음.
- 이후 **다양한 플랫폼(DNA, viral vectors, protein subunits, mRNA vaccines)**과 **새로운 면역원(mosaic antigens, stabilized envelope trimers, etc.)**을 평가하는 주요 유효성 시험 및 다수의 1/2상 연구가 수행되었으며, **광범위 중화 항체(broadly neutralizing antibodies, bnAbs)**를 이용한 수동 면역 접근법(passive immunization approaches)도 병행되었음(Haynes 등, 2023).
- 그러나 **비인간-영장류(침팬지와 마카크 원숭이 등의 non-human primate, NHP)에서 고무적인 결과를 보인 85종의 서로 다른 백신 제품이 197건의 임상시험으로 이어졌으나, 약 20년간의 노력에도 불구하고 성공적인 인간용 백신으로 이어지지는 못했음**(Shim 등, 2025; Marshall 등, 2023)

Table 2. The table below summarizes key trials of HIV vaccine or immunization strategies from 1990 to the present, including the vaccine components, platforms, adjuvants, trial phase/population, and efficacy or outcome.

Trial	Years	Vaccine Components and Platforms	Adjuvants	Population and Phase	Outcome/Efficacy
VAX004	1998–2003	Bivalent gp120 (subtype B/B) protein subunit	Alum	MSM, High-risk Women; Phase 3	Vaccine efficacy (VE) 6% (95% CI –17 to 24)—not significant.
VAX003	1998–2003	Bivalent gp120 (subtype B/E) protein subunit	Alum	Injection drug users; Phase 3	VE 0% (95% CI –7 to 6). Highlighted limited protection from single protein immunogens.
STEP (HVTN 502)	2004–2007	Recombinant Ad5 vector encoding gag, pol, nef	None	MSM; Phase 2b	VE –18% overall; HR 1.4 (Ad5-seropositive uncircumcised subgroup). Indicates possible increased risk in some Ad5-seropositive individuals.
Phambili (HVTN 503)	2007	Recombinant Ad5 vector encoding gag, pol, nef	None	General; Phase 2b	Halted due to STEP results; Interim VE –69% (wide CI)
RV144	2003–2009	Canarypox vector (ALVAC) prime; gp120 protein boost (AIDSVAX B/E)	Alum	General community; Phase 3	VE 31.2% (95% CI 1.1–52.1) at 42 months, Demonstrated importance of prime-boost approach.
HVTN 505	2009–2013	DNA plasmid prime (Env, Gag, Pol, Nef) and Ad5 vector boost (Env, Gag-Pol)	None	MSM, Trans women; Phase 2b	VE –25%; $p = 0.44$. Underscored limits of DNA/Ad5 platform for HIV prevention.
HVTN 100	2015	ALVAC-HIV (subtype C Env, clade B Gag/Pol) prime; gp120 protein boost	MF59	General; Phase 1b	Immunogenic. 80% V1V2-IgG responders; GMT 1:~6300, but neutralization limited to Tier-1 strains
HVTN 702 (Uhambo)	2016–2020	ALVAC-HIV subtype C prime; gp120 subtype C protein boost	MF59	Adults at risk; Phase 2b/3	HR 1.02 (95% CI 0.81–1.30) → 0% VE. Illustrated challenges in translating RV144 efficacy to different populations and HIV strains.
Imbokodo (HVTN 705)	2017–2021	Ad26 vector mosaic Env, Gag-Pol prime; subtype C gp140 protein boost	Alum	High-risk women; Phase 2b	VE 14% (95% CI –22 to 40) months 7–24. Highlighted difficulties in inducing protective immune responses against diverse HIV variants.
Mosaico (HVTN 706)	2019–2023	Ad26 vector mosaic Env, Gag-Pol prime; mosaic gp140 protein boost	Aluminum Phosphate	MSM, Transgender; Phase 3	Futility stop; VE ≈ 0%. Further indicated limitations of mosaic immunogen approaches.
AMP Studies (HVTN 703/704)	2016–2021	Passive immunization with VRC01 bnAb	None	General; Phase 2b	Overall VE 0%; 75% VE vs. VRC01-sensitive viruses ($IC_{50} < 1 \mu\text{g/mL}$), demonstrating strain specificity and need for bnAb combinations.
IAVI G001	2021	Germline-targeting eOD-GT8 60mer nanoparticle immunogen	None	General; Phase 1	97% (35/36) generated VRC01-class precursors Represents a promising new strategy for inducing bnAbs.
HVTN 302	2022–Present	mRNA vaccines encoding different stabilized HIV Env antigens	Lipid nanoparticles	General; Phase 1	Phase 1 safety; early data show >90% binding-IgG seroconversion by day 28

MSM: Men who have sex with men; bnAb: broadly neutralizing antibody; Prime boost: initial vaccination (prime) followed by later booster shots (boost) to enhance immune response; ALVAC: canarypox virus vector; Ad26/Ad5: adenovirus serotype 26/5 vectors.

2. 백신 개발을 위한 비인간-영장류(non-human primate, NHP) 동물모델의 현실

1) HIV 백신 개발에서 NHP 모델 응용에 대한 평가의 필요성

- 비인간-영장류(침팬지와 마카크 원숭이 등의 non-human primate, NHP)에서 고무적인 결과를 보인 85종의 서로 다른 백신 제품이 197건의 임상시험으로 이어졌으나, 약 20년간의 노력에도 불구하고 성공적인 인간용 백신으로 이어지지는 못했음.
- 이와 같은 사실은 **NHP-동물모델**에서 인간에게 유익한 결과를 도출하는데 성공이나 희망이 있었는가, 아니면 여전히 실패하고 있는가에 대한 평가가 필요함.
- 특히 **NHP와 인간 사이의 종 차이와 연구에 사용되는 인간 면역결핍 바이러스인 HIV(Human immunodeficiency virus)와 원숭이 면역결핍 바이러스인 SIV(Simian Immunodeficiency Virus) 사이의 종 차이로 인한 병리학적 차이에서 비롯된 결과임을 분명히 인식이 필요하다고 사료 됨.**

2) 종간 및 SIV/HIV 병리학적 측면에서 백신 개발에서 실패 원인

2-1) 실패 원인: 비인간 영장류(NHP)와 인간 사이의 생물학적 차이, 그리고 HIV와 SIV 사이의 차이에 기인한 실패 원인은 다음과 같음

- 긴팔원숭이(cynomolgus macaques)와 인간 사이의 CD4 T-세포 및 CD8 T-세포에서 현저히 다른 전사체 프로파일(Tan 등, 2019).
- 종간 SIV 및 HIV 질병 진행과 이환율에서 성별 차이(George 등, 2019), 그리고 반응 유전자 변화 및 SIV 감염 레서스원숭이(rhesus macaques)에서 백신 유도 항체의 종별 차이 및 기능 차이가 발생함(Miller-Novak 등, 2018).
- HIV/AIDS 연구에 사용되는 다양한 NHP의 CD4 T세포에서 $\alpha 4\beta 7$ integrin(대부분의 백혈구에서 발현되는 이종 이량체 세포 표면 수용체) 발현 차이. 이 수용체는 감염의 주요 표적 중 하나이며 질병의 경과와 진행 속도에 영향을 미침(Byrareddy 등, 2015).
- HIV/AIDS 연구에 사용되는 다양한 NHP와 인간 간에 관찰되는 여러 인터페론 유도형 막단백질(IFITM, interferon-induced trans membrane protein) 유전자의 차이점. IFITM는 SIV/HIV 감염 및 복제를 억제할 수 있음(Sharma 등, 2019).
- SIV/HIV 억제를 극복하는 Nef 및 Vpu 유전자/단백질의 종 특이성. Nef 및 Vpu 유전자는 극소수의 아미노산에 국한되어 매핑됨(Jia 등, 2009).

2-2) 중간 외삽의 영향 요인: 영장류에서 인간으로의 데이터 전환에 영향을 미칠 수 있는 주목할 만한 문제점은 다음과 같음(Del Prete 등, 2016).

- HIV의 인간 감염 경로는 상대적으로 잘 이해되지 않으며, 이는 영장류 모델링에 영향을 미침.
- NHP를 대상으로 한 많은 전파 및 바이러스 노출 연구에서 무세포 바이러스 저장액(cell-free virus stocks)을 사용되었음. 이는 감염 세포 사용과 같은 잠재적으로 더 관련성 높은 방법들이 대부분의 NHP 연구에서 생략된다는 것을 의미함
- NHP에서는 정맥 내 전파 경로가 자주 사용되지만, 이는 HIV 전파와 관련하여 임상적 측면에서 관련성이 가장 낮다는 것을 의미함
- NHP 프로토콜은 대량의 체액과 다수의 바이러스 입자를 포함하는 경우가 많으며, 이는 인간 전파를 모사하는 데 적합하지 않음.
- NHP에서 사용되는 점막 감염 실험이 인간 관련성 측면에서 우려가 제기되어 왔음.
- **유전자 조작을 통해 HIV 복제에 필수적인 것으로 알려진 단백질이 <참고자료-1>에서처럼 존재함.** 이들 단백질은 유전자 변형되지 않은 원숭이와 연구에 사용되는 소동물 모델에서는 결핍됨. 특히 이들 단백질을 발현하도록 설계된 유전자 변형 동물조차도 강력한 바이러스 복제나 질병 발병을 지원하지 못한다고 알려졌음. 이는 HIV 복제에 필수적인 다른 보조인자 및 HIV를 억제하는 다른 단백질들 때문으로 추정되고 있음.

<참고자료-1> Hatzioannou T and Evans DT. Animal models for HIV/AIDS research. Nat Rev Microbiol 2012; 10: 852–867.

- 에이즈를 유발하는 바이러스인 HIV-1과 HIV-2는 아프리카 유인원과 구세계 원숭이에게 풍토병으로 존재하는 레트로바이러스 군에 속하며, 총칭하여 영장류 렌티바이러스로 알려져 있다. 전 세계적 에이즈 유행을 일으키는 HIV-1과 서아프리카 지역에서 에이즈를 유발하는 HIV-2는 주로 이성 간 성접촉을 통해 전파되며, CD4+ T 세포와 대식세포 내에서 복제된다.
- HIV-1 치료제 및 백신 개발의 주요 한계 중 하나는 인간에서 발생하는 HIV-1 감염의 모든 주요 특징을 재현하는 동물모델이 부족하다는 점이다. HIV-1은 중앙아프리카 침팬지 (Pan troglodytes troglodytes)를 감염시키는 바이러스인 SIVcpz1,2의 직접적인 후손으로, 야생 침팬지 집단에 상당한 영향을 미칠 수 있다³. 그럼에도 사육 환경의 침팬지에서 HIV-1 감염이 질병으로 발전하는 경우는 드물다^{4,5}. 또한 멸종 위기 상태와 높은 사육 비용으로 인해 침팬지는 AIDS 연구에 실용적인 모델이 아니다. **인간 이외의 종을 HIV-1 감염 모델로 고려할 때, 해당 종의 세포 단백질이 바이러스 복제를 지원해야 함은 명백하다. 필요한 단백질에는 바이러스 침입에 관여하는 수용체 및 공동수용체(CD4와 CC-케모카인 수용체 5(CCR5) 또는 CXCR4-케모카인 수용체 4(CXCR4)), 전사 인자(사이클린 T1), 핵 수출 인자(CRM1; EXP1으로도 알려짐), 그리고 신생 바이러스 입자의 분출을 매개하기 위해 동원되는 단백질(ESCRT(수송에 필요한 소포체 분류 복합체) 경로에 속함) 등이 포함된다.** 최근 몇 년간 HIV-1 복제의 특정 단계를 억제하는 세포 인자들도 확인되었다(BOX 1). HIV-1은 이러한 '제한 인자'를 극복하고 인간에서 필요한 세포 보조인자를 활용하도록 적응했지만, 다른 종에서는 그러지 못했다⁶. 이는 적어도 부분적으로 HIV-1이 인간 외 대부분의 종에서 복제하거나 질병을 일으키지 못하는 이유를 설명한다.

- 주요 사용 종(rhesus, pig-tailed, cynomolgus macaques; 붉은털원숭이, 돼지꼬리원숭이, 긴꼬리원숭이) 각각은 “SIV 감염 결과에 중대한 영향을 미칠 수 있는” 고유한 특성을 지니고 있으며, “혼란스럽거나 해석 불가능한 결과로 이어질 수 있는 함정을 피하기 위해” 이에 대한 깊은 이해가 필요함(Bailey 등, 2014; Del Prete 등, 2016; Hatzioannou 등, 2012).
 - ▶ <예시-1> 인도계 레서스원숭이는 감염 후 1~2년 내에 AIDS를 발병하는 반면, 인간은 8~10년이 소요됨. 이는 인간과 원숭이의 MHC 유전자는 여러 측면에서 차이에 기인함
 - ▶ <예시2> 중국계 및 버마계 레서스원숭이는 인도계 레서스 원숭이와 매우 다른 병리학적 경과를 보임. 이는 중요한 면역유전학적 차이로 인한 것으로 추정됨
 - ▶ <예시-3> 돼지꼬리원숭이는 레서스원숭이보다 절반 조금 넘는 시간 내에 에이즈를 발병함
 - ▶ <예시-4> 사이노몰구스원숭이는 인도계 또는 중국계 원숭이에게 병원성을 보이는 SIV/SHIV에 감염될 경우 병원성이 낮아지고, 바이러스 부하가 수 로그(log) 단위로 낮아지며 변동성이 커짐. 이에 대한 근본 원인은 바이러스 전파에 상당한 영향을 미칠 수 있음. 단순히 중국산 원숭이에 더 '특이적으로 적응된' 다른 유형의 SIV를 사용하자는 제안은 피상적으로 보임.
 - ▶ 기타 사항 사항은 HIV 백신 면역원들이 SIV에 의한 감염 실험으로 검증될 수 없다는 점과 SIV가 많은 HIV 억제제에 민감하지 않다는 점, 그리고 바이러스들이 일부 유사한 공동 수용체를 가질 수 있지만 서로 다른 수용체도 가지고 있다는 점 등이 있음.

3. HIV/AIDS 백신 개발에 있어 인간 특이적 발견과 데이터의 중요성

- 앞서 논하였던 NHP 모델의 고려사항 및 주의점 외에도 **백신 개발을 위한 인간 특이적 연구의 수행과 능력**에 대한 이해의 필요성이 대두되며 예시는 다음과 같음
 - <예시-1> 장내 미생물군 항원(개인마다 차이가 있음)이 HIV에 대한 면역반응을 변화시켜 HIV 감염을 막을 수 있는 항체 유도를 차단할 수 있다는 점이 입증됨(Williams 등, 2018).
 - <예시-2> 바이러스 제거에서 CD8+ 세포의 핵심적 역할은 NHP 연구에 기인하지만 (Schmitz 등, 1999), 잘 디자인된 인간 엘리트 컨트롤러(human elite controllers) 연구에서도 입증되었으며 이는 여전히 극히 중요함(Leong 등, 2016; He 등, 2016).
 - <예시-3> 급성 감염된 인간을 연구하는 것의 중요성, 특히 CD8+ 세포 반응과 이러한 반응이 시간에 따라 어떻게 변화하고 바이러스 저장소 크기와 바이러스 다양성, 그리고 중요한 숙주-바이러스 상호작용에 영향 등에 대한 중요성(Robb 등, 2016)
 - <예시-4> HIV 감염자로부터 광범위 중화항체(bNAbs, broadly neutralising antibodies)를 분리하여 낸 것은 이 항체들이 표적하는 HIV 자체의 취약 부위에 대한 이해를 높였음. 이러한 bNAbs는 HIV 환자 상당수에서 5년 이상 경과 후 생성되며, 다양한 HIV 균주를 효과적으로 중화시킬 수 있음. 이와 같은 항체에 대한 이해와 함께, HIV envelope protein(HIV 외피 단백질)의 미세 구조 및 항체-바이러스 공동 진화에 관한 연구는 현재 및 미래 백신 설계 방향을 제시하는 데 중요함(Pancera 등, 2017; Safrit 등, 2016).
 - <예시-5> 소수의 HIV 감염자에서 관찰되는 우수한 혈청 중화능을 가진 bNAbs 연구를 통해 bNAbs 활성을 유도할 수 있는 다양한 방법이 제시되었으며, 주요 bNAbs 결합 부위의 여러 곳이 확인되었음(McCoy 등, 2017). 유전자 변형 마우스를 사용하는 일부 연구자들은 HIV 백신에서 bNAbs의 역할 연구를 진전시키기 위해 이들의 사용을 주장하고 있지만, bNAbs 생산의 제한 요인을 식별하고 이를 촉진할 수 있는 백신 전략을 제시할 수 있는 동물모델의 기존 부재를 해결할 수 있을지는 의문임(Verkoczy 등, 2017).

4. 인간 특이적 발견과 결론

- 30년 이상의 연구와 수십억 달러의 투자에도 불구하고, 인간에게 효과적인 예방 또는 치료용 HIV/AIDS 백신은 아직 개발되지 못했음. 다양한 유형의 후보 백신들이 비인간 영장류(NHP)에서 고무적인 면역 반응을 유도했지만, 대부분은 인간 대상 임상시험에서 동일한 효과를 재현하지 못하였음. 인간에게서 관찰된 효과는 기껏해야 미미한 수준으로 평가되었으며, 일부 유망한 백신은 오히려 HIV 감염률을 증가시키기도 하였음. 인간과 비인간 영장류 간의 유전적·생물학적 차이가 점차 밝혀지고 있는 점을 고려할 때, 이러한 결과와 비인간 영장류 데이터의 인간 HIV/AIDS 적용 가능성에 대한 우려는 전혀 놀랍지 않음.
- 특히 점점 더 많은 과학자들이 이 분야에서 비인간 영장류 사용은 기껏해야 신뢰할 수 없을 뿐만 아니라, 오해를 불러일으키고 인간, 동물, 재정 자원을 낭비할 정도로 불충분하다고 주장하고 있음. 연구자들은 질량 세포계측법, 구조 분석, 면역원 설계, 오믹스 기술, 임상 연구, 엘리트 컨트롤러 연구 등 **인간 특이적 신기술(human-specific technologies)의 가능성과 필요성을 강조하여 바로 여기에 미래의 노력과 초점이 맞춰져야 한다고 주장되고 있음**(Xu 등, 2025; Graciaa 등, 2024; Koff 등, 2014).

<참고문헌>

An official website of the United States government; 2025.
<https://hivinfo.nih.gov/understanding-hiv/fact-sheets/hiv-and-aids-basics>.

GILead. 2025. <https://www.gilead.com/news/news-details/2025/yeztugo-lenacapavir>

Shim I, Rogowski L, Venketaraman V. Progress and Recent Developments in HIV Vaccine Research. *Vaccines (Basel)*. 2025 Jun 26;13(7):690.

Fortner, A.; Bucur, O. mRNA-based vaccine technology for HIV. *Discoveries* 2022, 10, e150.

Adis International, Ltd (2003). "HIV gp120 vaccine - VaxGen: AIDSVAX, AIDSVAX B/B, AIDSVAX B/E, HIV gp120 vaccine - Genentech, HIV gp120 vaccine AIDSVAX - VaxGen, HIV vaccine AIDSVAX - VaxGen". *Drugs in R&D*. **4** (4): 249–53.

Buchbinder SP, et al. Efficacy assessment of a cell-mediated immunity HIV-1 vaccine (the Step Study): a double-blind, randomised, placebo-controlled, test-of-concept trial. *Lancet*. 2008; 372:1881–1893.

Corey, L.; Nabel, G.J.; Dieffenbach, C.; Gilbert, P.; Haynes, B.F.; Johnston, M.; Kublin, J.; Lane, H.C.; Pantaleo, G.; Picker, L.J.; et al. HIV-1 Vaccines and Adaptive Trial Designs. *Sci. Transl. Med.* 2011, 3, 79ps13.

Esparza, J. What Has 30 Years of HIV Vaccine Research Taught Us? *Vaccines* 2013, 1, 513–526.

Rerks-Ngarm, S.; Pitisuttithum, P.; Nitayaphan, S.; Kaewkungwal, J.; Chiu, J.; Paris, R.; Premsri, N.; Namwat, C.; De Souza, M.; Adams, E.; Benenson, M.; Gurunathan, S.; Tartaglia, J.; McNeil, J. G.; Francis, D. P.; Stablein, D.; Birx, D. L.; Chunsuttiwat, S.; Khamboonruang, C.; Thongcharoen, P.; Robb, M. L.; Michael, N. L.; Kunasol, P.; Kim, J. H.; Moph-Taveg, I. (2009). "Vaccination with ALVAC and AIDSVAX to Prevent HIV-1 Infection in Thailand". *New England Journal of Medicine*. **361** (23): 2209–2220.

Haynes, B.F.; Wiehe, K.; Borrow, P.; Saunders, K.O.; Korber, B.; Wagh, K.; McMichael, A.J.; Kelsoe, G.; Hahn, B.H.; Alt, F.; et al. Strategies for HIV-1 vaccines that induce broadly neutralizing antibodies. *Nat. Rev. Immunol.* 2023, 23, 142–158.

Marshall LJ, Bailey J, Cassotta, Marshall LJ, Bailey J, Cassotta M, Herrmann K, Pistollato F. Poor Translatability of Biomedical Research Using Animals - A Narrative Review. *Altern Lab Anim*. 2023 Mar;51(2):102-135.

Tan T, Xia L, Tu K, et al. Improved Macaca fascicularis gene annotation reveals evolution of gene expression profiles in multiple tissues. *BMC Genomics* 2018; 19: 787.

George J, Johnson RC, Mattapallil MJ, et al. Gender differences in innate responses and gene expression profiles in memory CD4 T cells are apparent very early during acute simian immunodeficiency virus infection. *PLoS One* 2019;14: e0221159.

Miller-Novak LK, Das J, Musich TA, et al. Analysis of complement-mediated lysis of Simian Immunodeficiency Virus (SIV) and SIV-infected cells reveals sex differences in vaccine-induced immune responses in Rhesus macaques. *J Virol* 2018; 92: e00721-18.

Byrareddy SN, Sidell N, Arthos J, et al. Species-specific differences in the expression and regulation of alpha4beta7 integrin in various nonhuman primates. *J Immunol* 2015; 194: 5968–5979.

Sharma A, McLaughlin RN Jr, Basom RS, et al. Macaque interferon-induced transmembrane proteins limit replication of SHIV strains in an envelope-dependent manner. *PLoS Pathog* 2019;

15: e1007925.

Jia B, Serra-Moreno R, Neidermyer W, et al. Species-specific activity of SIV Nef and HIV-1 Vpu in overcoming restriction by tetherin/BST2. *PLoS Pathog* 2009; 5:e1000429.

Del Prete GQ, Lifson JD and Keele BF. Nonhuman primate models for the evaluation of HIV-1 preventive vaccine strategies: Model parameter considerations and consequences. *Curr Opin HIV AIDS* 2016; 11: 546–554.

Hatzioannou T and Evans DT. Animal models for HIV/AIDS research. *Nat Rev Microbiol* 2012; 10: 852–867.

Bailey J. Monkey-based research on human disease: The implications of genetic differences. *Altern Lab Anim* 2014;42: 287–317.

Williams WB, Han Q and Haynes BF. Cross-reactivity of HIV vaccine responses and the microbiome. *Curr Opin HIV AIDS* 2018; 13: 9–14.

Schmitz JE, Kuroda MJ, Santra S, et al. Control of viremia in simian immunodeficiency virus infection by CD8⁺ lymphocytes. *Science* 1999; 283: 857–860.

Leong YA, Chen Y, Ong HS, et al. CXCR5⁺ follicular cytotoxic T cells control viral infection in B cell follicles. *Nat Immunol* 2016; 17: 1187–1196.

He R, Hou S, Liu C, et al. Follicular CXCR5⁻ expressing CD8⁺ T cells curtail chronic viral infection. *Nature* 2016;537: 412–428.

Robb ML and Ananworanich J. Lessons from acute HIV infection. *Curr Opin HIV AIDS* 2016; 11: 555–560.

Pancera M, Changela A and Kwong PD. How HIV-1 entry mechanism and broadly neutralizing antibodies guide structure-based vaccine design. *Curr Opin HIV AIDS* 2017; 12: 229–240.

Safrit JT and Koff WC. Novel approaches in preclinical HIV vaccine research. *Curr Opin HIV AIDS* 2016; 11: 601–606.

McCoy LE and McKnight A. Lessons learned from humoral responses of HIV patients. *Curr Opin HIV AIDS* 2017; 12:195–202.

Verkoczy L, Alt FW and Tian M. Human Ig knockin mice to study the development and regulation of HIV-1 broadly neutralizing antibodies. *Immunol Rev* 2017; 275: 89–107.

Koff WC, Gust ID and Plotkin SA. Toward a human vaccines project. *Nat Immunol* 2014; 15: 589–592.

Xu N, Shen Y, Huang W, Nie J. The Current Status in Terms of Vaccination for Individuals Infected with Human Immunodeficiency Virus. *Viruses*. 2025 Jan 25;17(2):171.

Gracia DS, Walsh SR, Rouphael N. Human Immunodeficiency Virus Vaccine: Promise and Challenges. *Infect Dis Clin North Am*. 2024 Sep;38(3):475-485.

6. 호흡기 질환인 천식 치료제의 실패 원인과 NAMs

1. 천식의 일반적 특성과 치료제 현황

- 천식은 가변적이고 재발하는 증상, 가역적인 기도 폐쇄, 그리고 쉽게 유발되는 기관지 경련을 특징으로 하며, 이는 재발하는 호흡 곤란, 천명, 기침, 흉부 압박감 등의 증상으로 나타남. 증상의 중증도와 빈도는 개인마다 다름(World Health Organisation. Asthma, 2023). 천식의 원인은 아직 완전히 밝혀지지 않았으나, 유전적 소인과 흡입된 입자에 대한 환경적 노출이 복합적으로 작용하는 것으로 추정됨. 이러한 입자들은 기도를 자극하거나 알레르기 반응을 유발할 수 있음. 국가별 유병률 차이로 인해 전 세계 인구의 1~18%가 영향을 받는 것으로 추정되며, WHO는 현재 2억 3,500만 명이 천식으로 고통받고 있다고 추정됨(World Health Organisation. Asthma, 2023).
- 질병 메커니즘에 대한 효과적인 통찰력을 제공하지 못하거나 인간의 성공적인 치료에 있어서 적절한 표적을 제공하지 못하면서 치료제 개발에 과도하게 의존하는 질병 중의 하나가 호흡기 질환(Respiratory diseases)임(Ghorani 등, 2017; Wright 등, 2008; Zosky 등, 2007; Bates 등, 2009).
- 따라서 천식(asthma)은 전 세계적으로 유행 수준에 달한 주요 비전염성 호흡기 질환(non-communicable respiratory diseases)으로 모든 연령층에 영향을 미치며 유병률이 증가하고 있지만, **현재까지 치료법이 개발되지 않고 있음**(Morishima 등, 2025; World Health Organisation. Asthma, 2023; World Health Organisation. Chronic obstructive pulmonarydisease, 2023)

2. 천식(asthma)의 동물모델에서 표적 공략 성공, 그러나 임상시험에서 실패 사례

- <표-1>은 동물 모델에서는 성공적인 전임상 결과를 보였으나 환자 치료에서 실패한 천식 표적의 약물을 나타낸 것임. 대부분 동물 실험에서 약리 효능이 있었지만, 천식 환자 대상의 임상시험은 실패로 귀결되었음.
- 천식 동물모델은 인간 질환의 병리생리학을 모방하는 것을 목표로 함. 초파리, 기니피그, 양, 고양이, 개, 말, 비인간 영장류 등 다양한 동물종이 천식 실험 모델에 사용되었음(Aun 등, 2017; Roeder 등, 2009; Canning 등, 2008; Kirschvink 등, 2009; Nials 등, 2008). . 가장 흔히 연구되는 종/계통은 BALB/c 마우스로, 이 동물들은 인간 질환을 대표하는 Th2 편향 면역 반응을 나타내기 때문임. 그러나 BALB/c 마우스는 천식 연구에 사용되는 대부분의 다른 종과 마찬가지로 자연적으로 이 질환을 발병하지 않음. 따라서 질병 증상을 보이는 동물 모델을 만들기 위해, 오발부민과 같은 단백질을 기도 내로 주입하거나 보조제와 함께 동물에 주사하여 강력한 면역 반응을 자극함으로써 인위적으로 질환을 유발함. 이는 인간의 질병 자연 경과와는 크게 동떨어져 있으며, 질병 발병이나 진행을 효과적으로 모사하지 못함. 실제로 동물 모델에서는 단백질 자극이 제거되면 급성 폐 염증이 소실되는 경향이 있는 반면, 천식 환자에게는 염증이 지속되며 질병 중증도에 따라 악화될 수 있음.

<표-1> 동물 모델에서는 성공적인 전임상 결과를 보였으나 환자 치료에서 실패한 천식 표적				
표적	치료제 (참고문헌)	동물모델 및 제작방법	동물시험에서 결과	임상시험에서 결과
IL-13	인간 단일클론 항체 (tralokinumab) 등, (Piper 2013)	<ul style="list-style-type: none"> • 기관내 IL13 투여를 받은 mice. • ovalbumin으로 감작된 인간 IL-13 knock-in mice. • Cynomolgus macaque. 	<ul style="list-style-type: none"> • 억제된 기도 호산구 증가증, 트랄로키누맙 사전 투여는 IL-13 유발 기도 과민반응을 감소 시킴. • 기도 과민반응 감소, 제 한된 항염증 효과. • 트랄로키누맙 사전 투여는 기도 과민반응 및 	<ul style="list-style-type: none"> • 제3상 임상시험에서 주요 평가변수 달성 실패. • 중증 조절 불능 천식에 대한 효과가 일관되지 않음. • 중증 천식에서 스테로이드 절감 효과 없음. • 천식 치료제 개발 중단.

			호산구 증가증을 억제하고 혈청 IgE를 감소시켰음.	
	인간화 단일클론 항체 (lebrikizumab) (Sher 2022) 등,	<ul style="list-style-type: none"> 집먼지진드기 추출물로부터 처리된 항체 투여하는 이형대조물질을 투여함. 	<ul style="list-style-type: none"> 기도의 호산구 감소 	<ul style="list-style-type: none"> 2건의 3상 임상시험 실패로 인해 천식 치료제 개발 중단. FEV1(1초간 강제 초기량) 개선 효과 확인되었으나 악화 및 효과 없음. 호산구 수치 증가.
IL-4 receptor α subunit	인간 단일클론 항체 (IL-4Rα 표적), IL-13 IL-4 활성 차단 (Kerwin 등, 2025)	<ul style="list-style-type: none"> Cockroach-allergen으로 비강 내 감염된 마우스를 대 4주간 재야기 	<ul style="list-style-type: none"> 혈청 IgE 수치 감소 기도 염증 감소 및 기도 과민성 감소 	<ul style="list-style-type: none"> 2상 임상시험 무작위 배정, 위약 대조, 2009년 완료. 293명의 환자가 12주 치료 후 4주간 추적 관찰을 시행함. 1차 및 2차 주요 평가 변수를 충족하지 못했으며, 예측 FEV1 %에 변화가 없었음. 개발 중단됨.
	재조합 돌연변이 IL-4 단량체 백질, 경쟁제 (pitrakinra) (Antoniu 등, 2010)	<ul style="list-style-type: none"> Ascaris suum으로 Cynomolgus macaques 감염. 약물이 피하 투여와 흡입 투여 비교 	<ul style="list-style-type: none"> Pitrakinra는 알레르기 유발 기도 과민반응을 억제했으나 호산구 감소 효과는 매우 미미. DNA 분석 결과 원숭이의 알레르기 과와 연관된 단일염기다형성(SNP)이 기도의 SNP와 상이한 것으로 나타남. 이는 반응이 개체별로 차이가 있다는 점을 미함 	<ul style="list-style-type: none"> 무작위 배정, 이중 맹검 위약 대조, 병렬군 제2상 a 임상시험. 피하 투여 시 FEV1에 일부 긍정적인 영향이 있었으나, 주사 부위 관련 여러 이상반응 발생(대부분 pitrakinra 투여 환자에서 관찰됨). 자극성 AHR(airway hyperresponsiveness)에 있어 pitrakinra와 위약 간 유의미한 차이는 없었으며, 가래 호산구 또는 혈액 호산구에서도 유의미한 차이는 관찰되지 않았음. 주어진 질량에는 효과가 없는 것으로 나타나 개발 중단됨.
IL-4	인간화 단일클론 항체 (pascolizumab) (Facet Biotech. 2012)	<ul style="list-style-type: none"> Cynomolgus macaques HDM 감염된 인간 면역세포로 사처 처리된 SCID 마우스에 IL-4를 투여하여 IgE 증가를 유도함 HDM: house dust mite antigen 	<ul style="list-style-type: none"> 9개월 치료기간 동안 부작용 없이 잘 견뎌냄. Pascolizumab은 용량 의존적으로 IgE 억제를 유도함. 	<ul style="list-style-type: none"> 경증에서 중등도 천식 환자 24명을 대상으로 한 1상 무작위 이중맹검 위약 대조 시험에서 임상적 효능이 입증되지 않았음. 개발이 중단됨.
Inducible nitric oxide synthase (iNOS)	저해제 (GW274150) (GSK, 2005)	<ul style="list-style-type: none"> Ovalbumin 감염된 랫드를 3일간 야기 모델 오발부민 감염에 의해 유발된 랫드 폐 염증 모델 알레르기성 천식의 기니피그 모델 	<ul style="list-style-type: none"> LAR(late asthmatic response) 및 기도 염증을 억제함. 그러나 반복 투여로 인한 과도한 NO 활성화 감소는 유해하였음. 염증 세포 침윤 감소, 폐 케모카인 현 감소. 기니피그에서 알레르기 반응 억제. 유발성 기도 과민성 (AHR) 및 폐로의 염증 세포 침윤을 억제함. 	<ul style="list-style-type: none"> 스테로이드 미경험 천식 환자 28명이 이중맹검 무작위 배정 위약 대조, 위약 대조군을 포함한 3 기간 교차 연구에 참여하였음. 선택적 iNOS 억제제는 알레르기 유발 후 기도 과민성이나 기도 염증을 미치지 않았음. 명확한 치료 효과를 제시하지 못했음.
Platelet activating factor (PAF)	수용체 길항제 (Kasperska-Zajac 등, 2008)	<ul style="list-style-type: none"> 오발부민으로 감염된 자극된 마우스를 대상으로 PAF 수용체 길항제로 처리. 에어로졸화의 오발부민에 감염된 기니피그를 대상으로 특정 PAF 길항제로 처리 	<ul style="list-style-type: none"> 모든 림프구 군집의 급성 의존적 감소. C57Bl/6 마우스에서는 기도 내 호산구 침윤 감소가 관찰되었으나 BALB/c 마우스에서는 그렇지 않음. 기도 과민성 감소 및 LAR(late asthmatic response) 감소, 기관 내 호산구 및 호중구 축적 감소. 	<ul style="list-style-type: none"> 무작위 이중맹검 위약 교차 연구에서 알레르기 유발 기관지 수축의 초기 또는 후기 단계에 대한 효과가 관찰되지 않았음. 무작위 이중맹검 위약 대조 교차 연구에서 흡입 알레르겐에 대한 초기 또는 후기 천식 반응 또는 히스타민에 대한 기관지 과민성 반응(BHR)에 대한 효과가 없었음. 급성 천식 환자에서 기준선 FEV1 또는 기

				<ul style="list-style-type: none"> 타 호흡기 매개변수에 유의한 변화가 없었음. 단독 요법으로 사용된 길항제는 중단되었음.
IL-5	<p>인간화 단클론 항체 (reslizumab) 등, (Richard 등, 2020)</p>	<ul style="list-style-type: none"> 오발부민으로 감작된 쥐(복강 내 주사)에 에어로졸화된 오발부민을 투여하여 자극. 오발부민으로 감작 및 자극된 기니피그. 흡입된 돼지회충(Ascaris suum)으로 반복 야기된 긴 꼬리원숭이. 	<ul style="list-style-type: none"> 기도 호산구 감소. 호산구 감소, 기도 과민성 변화 없음. 기도 호산구 감소. 	<ul style="list-style-type: none"> 혈액 및 가래 호산구 수치는 감소했으나, 폐기능이나 천식 증후군 전도지 않음. 호산구 천식 증후군 증: 고용량 티코스테로이드(corticosteroid)와 다용표준 치료를 병용해도 충분히 조절되지 않을 때 사용 가능한 보조 요법.
	<p>단클론 항체 (mepolizumab) 등, (Alam 등, 2023)</p>	<ul style="list-style-type: none"> Cynomolgus-macaques에 흡입된 돼지회충(Ascaris suum)을 반복적으로 노출시킨 실험. 	<ul style="list-style-type: none"> 혈액 및 기도 호산구 수치는 감소했으나, 항원 반응에는 변화가 없었음. 	<ul style="list-style-type: none"> 경증 알레르기성 천식 남성 24명을 대상으로 약 대조 연구. 혈액 및 가래 호산구 수치는 감소했으나, 기도 과민성 또는 LAR에는 영향 없음. 반복 투여 연구에서 반복 호산구 감소 효과 없음. 중증 천식: 난치성 호산구 추가 치료제로 권장.
Very late antigen-4 (VLA-4)	<p>단클론 항체 길항제 (IVL745) 등, (Ravensberg 등, 2006)</p>	<ul style="list-style-type: none"> 마우스 난백 알레르기 감작 모델(후각 감작 및 야기된 랫드 모델). 에어로졸화된 난백으로 감작 및 야기된 기니피그 모델. 시생 토끼에 집먼서 치진드기 추출물 면역화하여 IgE 매개 알레르기 반응 유도한 토끼 모델. 돼지회충 흡입을 통해 유발된 알레르기성 천식 양 모델. 	<ul style="list-style-type: none"> 정맥 투여는 호산구 수를 감소시켰으나, 기도 과민반응(AHR)에는 영향 미치지 않았지만 비강 내 투여는 차단하였음. 항체 사정 방출을 억제하여 히스타민 활성화 초기 반응을 약화시킴. 항체 사정 방출을 억제하여 기관지 과민반응 및 기관지 조짐을 감소, 기관지 과민반응 수에 유의적 변화는 없었음. 항체 사정 방출을 억제하여 기관지 조짐을 감소, 기관지 과민반응 수에 유의적 변화는 없었음. 항체 사정 방출을 억제하여 기관지 조짐을 감소, 기관지 과민반응 수에 유의적 변화는 없었음. 	<ul style="list-style-type: none"> 위약 대조, 이중 맹검, 무작위 배정, 2방 교차 설계. 단독 요법으로 베타2-작용성 제제로 조절된 증후군에서 16명과 대환환자 16명과 대환환자가 참여하는 이중 맹검, 무작위 배정, 2방 교차 설계. 1차 평가 변수를 충족하지 못함. 천식 치료제로 중단될/사용 불가.
CD4	<p>Chimaeric 원숭이/인간 단일클론 항체(keliximab) 등, (Kon 등, 2001)</p>	<ul style="list-style-type: none"> 인간 CD4 단백질을 발현하는 트랜스제닉 마우스. 	<ul style="list-style-type: none"> 내약성이 우수하며, CD4 T-세포에만 영향을 미침. 	<ul style="list-style-type: none"> 위약 대조, 용량 증량 연구. FEV1 개선 없음. CD4 T-세포 수치 감소로 연구 중단.

AHR = airways hyperresponsiveness; BHR = bronchial hyperresponsiveness; EAR = early asthmatic response; IgE = Immunoglobulin E; LAR = late asthmatic response; PAF = platelet activating factor

3. 천식(asthma)의 MAMs(New Approach Methodologies, 비동물-신규 평가방법)

- 근래에 과학계가 동물모델 사용에서 벗어나고 있다는 일부 증거가 존재. 유럽 공공-민간 협력체인 혁신의약품이니셔티브(IMI 3TR, European public-private partnership Innovative Medicines Initiative)의 최근 프로젝트는 다양한 염증성 및 자가면역 질환 환자(치료 전후)의 임상 데이터 분석을 요구하며, 궁극적으로 환자가 특정 치료에 반응할 가능성을 결정하는 요

인을 규명하는 것을 목표로함(Innovative Medicines Initiative, 2023).

- 또한 유럽연합 집행위원회 공동연구센터(JRC, European Commission Joint Research Centre)는 호흡기 질환을 위한 비동물 모델 집합(a collection of non-animal models for respiratory tract disease) 개발을 후원하고 있음(Hynes 등, 2020).
- 현재 이용 가능한 천식 비동물 모델 현황 조사 결과, 염증, 기관지 수축, 기도 재형성 등 질병의 다양한 주요 측면을 다루는 41개의 서로 다른 모델 시스템 NAMs이 개발 중인 것으로 확인됨(Hynes 등, 2020). 이와 같이 더 효과적인 치료법과 궁극적인 치료 목표를 위해 필요한 천식 및 만성 폐쇄성 폐질환 메커니즘에 대한 이해를 위해 인간 관련 비동물 방법론의 개발은 필수적이며 시대의 흐름이라고 할 수 있음(Pereira 등, 2025; Gribaldo 등, 2022; Buckland, 2011).

NAMs	방법 및 특성	참고문헌
인간 조직 및 조직 공학적 접근법 (Human tissue and tissue engineering approaches)	<ul style="list-style-type: none"> • 3차원 공기-액체 계면(ALI, (Air-Liquid Interface, ALI) 배양 기술의 발전으로 생체 내에서 관찰되는 가성충상 점액섬모 상피 표현형을 재현하는 생리학적으로 더 정확한 모델을 구축 가능. • 정상 및 병변 인간 조직 확보의 한계로 제약을 받고 있음. • ALI에서 세포를 배양하면 다중 세포 유형으로 구성된 분극화된 가성충상 상피층으로 분화되며, 이로 인해 정점 섬모 활동 및 점액 분비를 포함한 결과적 기능을 갖는 것으로 나타났음. 	Edwards 등, 2015; Bals 등, 2004
In silico or mathematical model	<ul style="list-style-type: none"> • in silico 또는 수학적 모델은 천식에 대한 이해를 향상시키는 새로운 통찰력을 제공할 수 있으며 여러 모델이 개발 중임. • 주로 기도 평활근 수축성 등을 연구하는 데 사용되어 왔으며, 이는 다른 더 단순화된 세포 기반 모델에서는 불가능한 것임. • 그러나 많은 인간 조직 기반 모델과 마찬가지로, 정상 및 병변 기도에 대한 고품질 조직의 확보는 문제가 될 수 있음. 특히 기증자 간 변이도 문제가 될 수 있음 • 폐 질환 연구에서, 약물 침착 및 흡수에 대한 조사에 있어 계산적(in silico) 방법이 더욱 두드러지게 되었음. 여기에는 유망한 약물 후보 물질의 선별을 돕기 위한 생리학적 기반 약동학(PBPK) 모델링 및 정량적 구조-활성 관계(QSAR)의 개발이 포함됨. • 예를 들어, IPRLu(isolated perfused respiring rat lung)는 분리된 관류 쥐 폐 데이터를 사용하여 구축된 새로운 QSAR 모델로, 폐 흡수를 정확하게 예측함. 특히 제시된 새로운 QSAR 모델은 합성 전 화합물 순위 지정 및 분류를 위한 IPRLu 모델 데이터의 일상적 생성을 대체할 수 있다고 동물 모델 대체 가능성을 제시함. • 계산 모델은 또한 직접 측정 기법으로 도출 가능한 정보를 넘어서는 정보를 제공하는 종합적 	Bals 등, 2004; Adamson 등, 2011; Benam 등, 2015; Martonen 등, 2003; Rebello 등, 2022. Jarvis 등, 2015; Edwards 등, 2016; Tawhai 등, 2015; Winkler 등, 2015

	<p>예측 프레임워크 개발을 지원할 수 있음. 예를 들어, 기관지 수축은 소기도 사이의 복잡한 상호작용을 수반하여 환기 불량 영역을 초래함.</p> <ul style="list-style-type: none"> • 기관지 수축에 관여하는 메커니즘의 수학적 모델링은 이러한 복잡한 기도 행동에 대한 통찰력을 얻을 수 있게 함. 더 나은 기전적 이해는 새로운 약물 표적의 식별로 이어질 수 있음. 	
--	--	--

4. 결론

- 질병 메커니즘에 대한 효과적인 통찰력을 제공하지 못하거나 인간의 성공적인 치료에 있어서 적절한 표적을 제공하지 못하면서 치료제 개발에 과도하게 의존하는 질병 중의 하나가 천식을 포함한 호흡기 질환(Respiratory diseases)임. 모든 연령층에 영향을 미치며 유병률이 증가하고 있지만, **현재까지 치료법이 개발되지 않고 있음.**
- 질병 증상을 보이는 동물 모델을 만들기 위해, 오발부민과 같은 단백질을 기도 내로 주입하거나 보조제와 함께 동물에 주사하여 강력한 면역 반응을 자극함으로써 인위적으로 질환을 유발함. 이는 인간의 질병 자연 경과와는 크게 동떨어져 있으며, 질병 발병이나 진행을 효과적으로 모사하지 못함. 실제로 동물 모델에서는 단백질 자극이 제거되면 급성 폐 염증이 소실되는 경향이 있는 반면에, 천식 환자에게는 염증이 지속되며 질병 중증도에 따라 악화될 수 있음.
- 천식에 대한 치료제 개발 및 임상시험에서의 실패는 궁극적으로 동물모델-의존성이 높고 이에 따라 인체에 대한 천식 발병 기전에 완벽한 이해의 부족에 기여하는 것으로 추정됨. 이러한 실패의 총 비용을 정량화하는 것은 불가능하지만, 모든 실패한 임상시험이 재정적으로 막대한 손실을 초래한다는 점은 명백함.
- 따라서 임상시험에서 거의 실패를 초래한 동물실험에서 도출된 안전성 및 효능 결정을 인간에게 그대로 적용하는 방식의 신약 개발 파이프라인은 비용과 시간 측면에서 가장 효율적인 방법이 아님. 결론적 연구 패러다임을 전환하여 인간 관련 방법을 신약 발굴 과정 초기에 집중적으로 도입한다면, 추가적인 비용이 드는 실패를 방지하는 데 도움이 될 수 있음.
- 특히 간단하게 소개된 인간 조직 및 조직 공학적 접근법 (Human tissue and tissue engineering approaches) 및 In silico or mathematical model 포함하여 현재 이용 가능한 천식 비동물 모델 현황 조사 결과, 염증, 기관지 수축, 기도 재형성 등 질병의 다양한 주요 측면을 다루는 41개의 서로 다른 모델 시스템 인간-관련 및 비동물 NAMs이 개발을 촉진하여 이용이 필요하다고 사료됨.

<참고문헌>

Ghorani V, Boskabady MH, Khazdair MR, et al. Experimental animal models for COPD: A methodological review. *Tob Induc Dis* 2017; 15: 25.

Wright JL, Cosio M and Churg A. Animal models of chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2008; 295: L1–L15.

Zosky GR and Sly PD. Animal models of asthma. *Clin Exp Allergy* 2007; 37: 973–988.

Bates JH, Rincon M and Irvin CG. Animal models of asthma. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2009; 297:L401–L410.

World Health Organisation. Asthma, key facts, <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/asthma> (2022, accessed 16 January 2023).

World Health Organisation. Chronic obstructive pulmonary disease (COPD), key facts, [https://www.who.int/newsroom/fact-sheets/detail/chronic-obstructive-pulmonary-disease-\(copd\)](https://www.who.int/newsroom/fact-sheets/detail/chronic-obstructive-pulmonary-disease-(copd)) (2022, accessed 16 January 2023).

Morishima Y, Hizawa N. Clinical Benefits of Targeting Treatable Traits in Asthma and Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Intern Med.* 2025 Jan 1;64(1):17-23.

Innovative Medicines Initiative. 3TR, [https://www.imi.europa.eu/projects-results/project-factsheets/3tr\(undated\)](https://www.imi.europa.eu/projects-results/project-factsheets/3tr(undated)), accessed 16 January 2023).

Hynes J, Marshall LJ, Adcock IM, et al. Review of non animal methods in use for biomedical research: Respiratory tract diseases, EUR 30334 EN. Luxembourg: Publications Office of the EU, 2020.

Cazzola M, Matera MG, Hanania NA, Rogliani P. Established and Emerging Biological Therapies for the Treatment of Comorbid Asthma and Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *J Inflamm Res.* 2025 Dec 11;18:17319-17341.

Pereira De Oliveira R, Droillard C, Devouassoux G and Rosa-Calatrava M (2025) In vitro models to study viral-induced asthma exacerbation: a short review for a key issue. *Front. Allergy* 6:1530122.

Gribaldo L, Dura A. EURL ECVAM Literature Review Series on Advanced Non-Animal Models for Respiratory Diseases, Breast Cancer and Neurodegenerative Disorders. *Animals (Basel).* 2022 Aug 25;12(17):2180.

Buckland G. Harnessing opportunities in non-animal asthma research for a 21st-century science. *Drug Discov Today* 2011; 16: 914–927.

Edwards J, Belvisi M, Dahlen SE, et al. Human tissue models for a human disease: What are the barriers? *Thorax* 2015; 70: 695–697.

Bals R, Beisswenger C, Blouquit S, et al. Isolation and air liquid interface culture of human large airway and bronchiolar epithelial cells. *J Cyst Fibros* 2004; 3: 49–51.

Adamson J, Haswell LE, Phillips G, et al. In vitro model of Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD). In: Martin-Loeches I (ed) *Bronchitis*. London: InTech, 2011, pp. 41–66.

Benam KH, Dauth S, Hassell B, et al. Engineered in vitro disease models. *Ann Rev Pathol* 2015; 10: 195–262.

Rebello J, Brashier B, Shukla S. Assessment of the predictive capability of modelling and simulation to determine bioequivalence of inhaled drugs: A systematic review. *Daru.* 2022 Jun;30(1):229-243.

Ted Martonen, John Fleming, Jeffry Schroeter, Joy Conway, Dongming Hwang, In silico modeling of asthma, *Advanced Drug Delivery Reviews*, Volume 55, Issue 7, 2003, Pages 829-849, ISSN 0169-409X,

Jarvis J, M J Seed, Susan Jill Stocks. A refined QSAR model for prediction of chemical asthma hazard. 2015. *Occupational Medicine* 65(8).

Edwards CD, Luscombe C, Eddershaw P, et al. Development of a novel Quantitative Structure–Activity Relationship model to accurately predict pulmonary absorption and replace routine use of the isolated perfused respiring rat lung model. *Pharm Res* 2016; 33: 2604–2616.

Tawhai MH and Bates JHT. Computational models of lung diseases. *Drug Discov Today Dis Models* 2015; 15: 1–2.

Winkler T, Venegas JG and Harris RS. Mathematical modeling of ventilation defects in

asthma. Drug Discov Today Dis Models 2015; 15: 3–8.

Aun M, Bonamichi-Santos R, Arantes-Costa FM, et al. Animal models of asthma: Utility and limitations. J Asthma Allergy 2017; 10: 293–301.

Roeder T, Isermann K and Kabesch M. Drosophila in asthma research. Am J Respir Crit Care Med 2009; 179: 979–983.

Canning BJ and Chou Y. Using guinea pigs in studies relevant to asthma and COPD. Pulm Pharmacol Ther 2008;21: 702–720.

Kirschvink N and Reinhold P. Use of alternative animals as asthma models. Curr Drug Targets 2008; 9: 470–484.

Nials AT and Uddin S. Mouse models of allergic asthma: Acute and chronic allergen challenge. Dis Model Mech. 2008; 1: 213–220.

임상

Edward Piper. et al., A phase II placebo-controlled study of tralokinumab in moderate-to-severe asthma. European Respiratory Journal 2013 41(2): 330-338;

Sher, Ellen et al. 2022. Post-hoc Analyses of Lebrikizumab Phase 3 Trials (LAVOLTA I and II): Enhanced Efficacy in Patients With Prior Exacerbations and Elevated Baseline FENO or Blood Eosinophilia. Journal of Allergy and Clinical Immunology, Volume 149, Issue 2, AB64

Edward Kerwin et al., Rademikibart Treatment for Moderate-to-Severe Uncontrolled Asthma: A Phase 2B Randomized Clinical Trial. Am J Respir Crit Care Med Vol 211, Iss 5, pp 749–758, May 2025

Antoniou SA. Pitrakinra, a dual IL-4/IL-13 antagonist for the potential treatment of asthma and eczema. Curr Opin Investig Drugs. 2010 Nov;11(11):1286-94.

Facet Biotech. 2012. A Phase I/II, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Parallel-Group Pilot Study of SB 240683 in Patients With Symptomatic Steroid-Naive Asthma. ICH GCP US Clinical Trials Registry Clinical Trial NCT00024544

GSK 2005, udy With GW274150 In Patients With Mild Asthma. NCT00273013

Kasperska-Zajac A, Brzoza Z, Rogala B. Platelet-activating factor (PAF): a review of its role in asthma and clinical efficacy of PAF antagonists in the disease therapy. Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov. 2008 Jan;2(1):72-6.

Richard Beasley, et al. Anti-interleukin-5 therapy in patients with severe asthma: from clinical trials to clinical practice, The Lancet Respiratory Medicine, Volume 8, Issue 5, 425 – 427.

Noor Alam, S. Latha, Anoop Kumar, Safety and efficacy of monoclonal antibodies targeting IL-5 in severe eosinophilic asthma: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials, Health Sciences Review, Volume 8, 2023, 100103, ISSN 2772-6320.

Ravensberg AJ, Luijk B, Westers P, Hiemstra PS, Sterk PJ, Lammers JW, Rabe KF. The effect of a single inhaled dose of a VLA-4 antagonist on allergen-induced airway responses and airway inflammation in patients with asthma. Allergy. 2006 Sep;61(9):1097-103.

O.M. Kon B.S. Sihra L.C. Loh J. Barkans C.H. Compton N.C. Barnes M. Larché A.B. Kay. The effects of an anti-CD4 monoclonal antibody, keliximab, on peripheral blood CD4+ T-cells in asthma, European Respiratory Journal 2001 18(1): 45-52.

Hynes J, Marshall LJ, Adcock IM, et al. Review of nonanimal methods in use for biomedical research: Respiratorytract diseases, EUR 30334 EN. Luxembourg: Publications. Office of the EU, 2020, DOI: 10.2760/725821.

7. Modernization 3.0과 IND를 위한 FDA의 NAM 활용 사례

1. 서론 - 동물실험과 임상시험의 불일치 원인

- 동물 기반 데이터를 통해 안전성 및 효능 측면에서 가장 낮은 예측 성공율을 보인 질병은 암(Mak 등, 2014), 알츠하이머병(Pippin 등, 2019), 염증성 질환(Seok 등, 2013) 등이었음.
- 이에 따라 AITOX 컨설팅보고서 번호 83-87까지의 내용은 **암(cancer)을 제외한** Alzheimer's disease, Parkinson's disease, respiratory tract diseases, rheumatoid arthritis (RA), and human immunodeficiency virus (HIV) infection/acquired immune deficiency syndrome (AIDS) 등의 치료제 개발에 대한 실패 원인을 분석한 것이었음. 종양학이 동물에서 사람으로의 외삽 가능성에서 문제가 더 크고 전통적 동물모델의 한계가 인정되는 분야 중 하나임. 그러나 '암'을 탐구 대상 질환에 포함시키지 못한 이유는, '암'으로 분류되는 200여 가지 이상의 질환을 다루려면 방대한 작업이 될 것이기 때문임.
- 이와 같이, 동물실험을 통한 다양한 질환에 대한 치료제 개발의 원인으로 다음같이 2가지로 요약됨

① 인간에서의 질병 메커니즘에 대한 효과적인 통찰력 부족

- 컨설팅보고서(83-87)을 통해 질환에 치료제 개발의 실패 원인은 **동물실험과 임상시험의 불일치라고 할 수 있음**. 즉, 인간에서의 질병 메커니즘에 대한 효과적인 통찰력을 제공하지 못하거나 성공적인 인간 치료로 이어지는 표적을 제공하지 못하는 **동물모델에 대한 과도한 의존**이 실패의 원인이라고 추정됨.
- 동물이 어느 수준에서든 예측할 수 있다고 하여도 인간의 유전적 변이를 고려할 때, 동물실험으로부터의 데이터가 어느 환자에게 어떻게 적용될 수 있을지 더 중요한 의문을 가지게 됨. 또한 식습관과 생활 방식 같은 환경 차이 등 외삽을 더욱 복잡하게 만들 수 있음.

② 환자 집단의 이질성(heterogeneity)

- 무엇보다도 중요한 원인으로 사료되는 것은 환자 집단의 이질성(heterogeneity)임. 이로 인하여 임상시험시험에서 치료제에 대한 환자의 반응률은 평균 25-30%임. 예를 들어 치매환자 집단 10년 추적조사에서 파킨슨병의 예후는 복용한 환자의 4분의 1만 양호한 상태이며 Levodopa의 이질성에 기인하는 것으로 확인되었음(Williams-Gray 등, 2013).

2. 미국 FDA 의약품평가연구센터의 규제 의사 결정을 위한 NAMs 활용 사례

- 동물실험으로부터 얻은 자료 기반으로 임상시험에서 실패가 신약 개발의 실패로 이어진다는 것을 확인할 수 있음. 이에 따라 미국 FDA는 IND(investigational new drug, 임상시험 승인절차)은 어떻게 NAMs 활용되고 있는지 살펴볼 필요성이 있음.
- 다음은 임상 개발 과정에서 독성을 위한 NAM 가이드라인과 유효성을 위해 제출된 NAM에 대한 CDER(Center for Drug Evaluation and Research, 의약품평가연구센터) 약리학/독성학 심사관의 평가 사례임.

2-1) 현재 NAM의 활용 현황 및 약물 개발을 위한 비임상의 독성 프로그램

- <표-1> 안전성(독성)을 위한 CDER의 규제 의사 결정에 모델 기반 접근법 활용 사례임. 현재 FDA에서 CDER의 약리학/독성학 심사관이 IND를 위하여 사용하는 NAMs의 예시이며 이들은 가이드라인이 마련되어 있음. 단순히 약물뿐만 아니라 의료기기에도 적용되고 있음. 현재 우리나라규제기관에서는 잠재적 변이원성 불순물에 대한 계산 독성학적 위험 평가만 in silico 가이드라인 있지만 적용 사례는 없는 것으로 추정됨.

<표-1> 안전성(독성)을 위한 CDER의 규제 의사 결정에 모델 기반 접근법 활용 사례

NAM의 활용 현황 및 약물 개발 비임상 프로그램에서의 적용 범위	
<ul style="list-style-type: none"> ● 규제 의사결정을 위해 허용 가능한 것으로 인정된 독성시험-NAMs 	<ul style="list-style-type: none"> ● 생체 내 비인간 시험에 대한 검증된 대체법(Validated alternatives to in vivo nonhuman tests) ● 발암성에 대한 증거의 무게(WoE, Weight of evidence (WoE)) 평가 ● 기형 및 배아-태아 치사성(MEFL, malformations and embryo-fetal lethality) 확인을 위한 대체 방법 ● 심혈관 위험 예측을 위한 포괄적 체외 부정맥 유발 시험 (CiPA, Comprehensive in vitro proarrhythmia assay) ● 잠재적 변이원성 불순물에 대한 계산 독성학적 위험 평가 (Computational toxicology risk assessment)

3-2) 현재 NAM의 활용 현황 및 약물 개발을 위한 비임상의 유효성 프로그램의 사례

- <표-2> FDA에서 약물 개발을 위해 IND에서 사용된 유효성 NAM의 사례임. 각 약물에 대한 자세히 살펴보면 환자의 하위 집단이라는 환자 집단의 특성이 존재한다는 것을 알 수 있음. 이는 환자 집단의 이질성(heterogeneity)을 최대한 줄여서 정확한 타킷 설정으로 **인간에서의 질병 메커니즘에 대한 효과적인 통찰력 부족을 극복하기 위한 사례로 사료됨.**

<p><표-2> 규제 의사 결정에 활용되는 유효성 NAM의 사례</p> <ul style="list-style-type: none"> • Kalydeco(칼리데코; 낭포성 섬유증의 유전적 하위 집단) • Galafold(갈라폴드; 파브리병의 유전적 하위 집단) • Veopoz(베오포즈; CHAPLE병) - 전세계에서 약 100 명의 환자 • Kimmtrak(김트랙; 절제 불가능 또는 전이성 포도막 흑색종의 유전적 하위 집단)

- <표-3>은 동물모델이 없거나 비임상 자료가 실질적으로 효능 및 안전성을 지원하지 못할 경우 NAMs이 어떻게 개되고 사용되는가와 더불어 FDA의 승인과 결정을 보여주는 사례라고 할 수 있음.

<표-3> 유효성을 위한 CDER의 규제 의사 결정에 모델 기반 접근법 활용 사례

약물 (광범위한 적응증)	NAM 종류 및 설명	규제적 영향(Regulatory Impact)
<p>Kalydeco (cystic fibrosis) (NDA 203188)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Fischer rat 갑상선 세포를 이용하여 체외 CFTR 염화물 수송 분석법(돌연변이 CFTR 단백질 발현) 및 낭포성 섬유증 환자로부터 유래한 인간 폐 조직에서의 염화물 수송 	<ul style="list-style-type: none"> • 내용: 추가 임상시험 없이 특정 CFTR 유전자 변이 환자를 포함하도록 칼리데코의 적응증을 확대하였음. • 방법: FDA는 치료 반응성 CFTR 돌연변이를 입증하기 위한 CFTR 염소 이온 수송 분석법을 승인했으며, 특정 반응 기준치(염소 이온 수송 >10%)로 지정하였음. • 영향: 이 반응 기준치는 적어도 하나의 CFTR 돌연변이를 가진 환자를 대상으로 한 적절하고 잘 통제된 임상시험의 효능 데이터와 시험관 내 반응 데이터를 상호 검증하여 결정되었음.
<p>Galafold20 (Fabry disease) (NDA 208623)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • 특이적 돌연변이를 가진 GLA 유전자를 발현하는 HEK-293 세포를 이용한 체외 GAL(galactosidase) 활성 분석법으로, 비정상적으로 접힌 알파-갈락토시다제(α-galactosidase A; α-GAL A) 단백질을 생성함. 	<ul style="list-style-type: none"> • 내용: 추가 임상 시험 없이 특정 GLA 유전자 변이 환자를 대상으로 갈라폴드(Galafold)의 적응증을 확대하였음. 신청자는 파브리병을 앓고 있으며 치료 가능한 GLA 변이를 가진 성인 환자에서 갈라폴드의 임상적 이점을 확인하고 기술하기 위해 승인 후 임상시험을 수행해야 했음. • 방법: FDA는 α-GAL A 활성 검사를 활용하여 치료 반응성 GLA를 입증하기 위한 일련의 기준값을 수용했음. 구체적인 반응 기준값은 다음과 같음: 1) 치료 전 수준 대비 α-GAL A 활성의 상대적 증가율 $\geq 20\%$, 2) 야생형(정상) 알파-갈락토시다제 A 활성의 절대적 증가율 $\geq 3\%$. • 영향: 이러한 반응 기준치는 후속 임상시험에서 신장 간질 모세혈관 내 globotriaosylceramide (GL-3 또는 Gb3) 수치 감소라는 대리 평가 지표를 통해 얻은 데이터를 바탕으로 임상적 이점을 예측하거나 합리적으로 예측할 수 있는 것으로 판단되었음.
<p>Veopoz21 (CHAPLE disease) (BLA 761339)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • 고전적 및 대안적 보체 시스템 억제에 대한 기전적 통찰을 위한 체외 분석법 및 검증된 생체외 용혈 분석법(CH50; the validated ex vivo hemolysis assay) 	<ul style="list-style-type: none"> • 내용: 미충족 의료 수요에 대한 1차 치료제인 베오포즈(Veopoz)의 승인을 지원하였음. 관련 임상 데이터와 함께, 기전적 비임상 데이터는 베오포즈의 효능에 대한 실질적 증거를 뒷받침하고 승인을 지원하기 위한 확인 증거로 활용되었음. • 방법: 약리학적으로 관련성 있는 종이 부재한 상황에서, 세포 기반 분석법을 통해 세포독성, 용혈 및/또는 C5a 생성을 평가함으로써 베오포즈의 보체 활성 차단 능력을 검증하였음. 검증된 생체외 용혈 분석법(CH50)에서 80% 이상의 억제율은 보체 활성화 감소 및 임상적 이점과 연관된 반응의 기준치로 설정되었음. • 영향: FDA는 동물, 건강한 지원자 및 Veopoz로 치료받은 CHAPLE 질환 환자에서 일관된 약력학적 반응(즉, 보체 매개 용혈 억제)을 입증한 종합적 증거 평가를 수용하였음
<p>• 채플병(CHAPLE disease)은 장을 통해 단백질이 손실되는 특징을 보이는 극히 드물고 심각한 유전</p>		

<p>질환으로, 전 세계적으로 이 질환을 앓고 있는 환자는 100명 미만으로 알려져 있음.</p>		
<p>Kimmtrak22 (uveal melanoma) (BLA 761228)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • 종 특이성 및 표적 결합 특이성을 입증하고, 35개 인자 조직에서 재적 교차 반응을 규명. • 각 조직에 대해 과학적으로 타당한 기능적 평가를 지표로 사용하여 13개 조직에서 특이적 독성 가능성을 위한 인간 조직 및 세포 기반 체외 분석법 	<ul style="list-style-type: none"> • 내용: 약리학적으로 관련성 있는 동물모델이 부재한 상황에서 Kimmtrak을 활용한 임상시험의 안전성을 입증하여 이 혁신적 생물학적 제제의 승인을 이끌어냄. • 방법: 체외 분석법 세트는 Kimmtrak의 표적에 대한 높은 결합 특이성과 친화력을 입증했으며, HLA-A*02:01 양성 피부 및 포도막 흑색종 성장 억제 가설을 뒷받침하는 전염증성 사이토카인 및 세포용해성 단백질 수준을 평가하고, Kimmtrak의 표적/중양 외 교차반응 효과를 분석하여 HLA-A*02:01 양성 피부 및 포도막 흑색종 환자에 대한 임상적 효능 가능성을 입증함. 양성 피부 및 포도막 흑색종 성장 억제, Kimmtrak의 비표적/비종양 교차반응성 효과 평가, HLA-A*02:01 양성 절제 불가능 또는 전이성 포도막 흑색종 환자에 대한 임상적 효능 가능성 입증. • 영향: 임상시험은 이후 조직학적 또는 세포학적 검사로 전이성 포도막 흑색종이 확인된 HLA-A*02:01 양성 환자 중 전이성 환경에서 치료 경험이 없거나 이전에 국소 간 표적 치료를 받은 환자를 대상으로 진행되었으며, Kimmtrak이 환자의 전체 생존율을 증가시킨다는 점을 입증하였음.
<ul style="list-style-type: none"> • KIMMTRAK: 수술로 제거할 수 없거나 전이된 포도막 흑색종이 있는 HLA-A*02:01 양성 성인 환자의 치료에 사용되는 처방약. 그러나 KIMMTRAK은 중증 또는 생명을 위협할 수 있는 심각한 부작용을 유발할 수 있으며, 일반적으로 첫 세 번의 주입 기간 내에 발생함 		

3. 결론

- CDER(Center for Drug Evaluation and Research, 의약품평가연구센터) 약리학/독성학 심사관의 평가 사례를 통해 특정 과학적 질문 해결, 약물 개발 정교화, 안전성 관련 규제 의사 결정에 NAM 활용의 잠재력과 과제를 제시함.
- 그러나 독성시험의 비임상 연구에서 동물 사용을 줄이고 개선하는데 상당한 진전이 있었지만, 우리나라에서는 규제기관에서는 동물을 대체하기 위한 **MAMs(New Approach Methodologies, 비동물-신규 평가방법)**의 활용은 실망스러운 수준임. 매우 정교한 NAMs가 다수 존재함에도 불구하고, 이를 도입하는 데 사회적·규제적·정치적 장벽, 특히 인허가 측면에서 여전히 장벽이 존재함.
- 변화에는 비전이 필요하며, 성공적인 미래를 상상하면서 생각의 변화부터 시작해야 함. 이는 구체적으로 동물실험이 없이 안전하고 효과적인 의약품의 IND를 의미하며 현실적으로 다양한 측면이 고려되어야 장벽을 극복할 수 있을 것으로 사료됨.
- 즉, **NAMs 이용한 신약 개발의 성공적인 미래를 상상하면서 생각의 변화는 어느 스님께서 말씀하신 '산은 산이요, 물은 물이요'를 문구를 적용해 보면 신약개발에서 비임상에 대하여 '동물은 동물이요, 사람은 사람이다'**이라는 인식부터 시작될 것으로 사료됨.

<참고문헌>

Williams-Gray CH, Mason SL, Evans JR, et al. The CamPaIGNstudy of Parkinson's disease: 10-year outlook in an incident population-based cohort. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2013; 84: 1258–1264.

Food and Drug Administration. FDA Drug Approval Package NDA 203188: Kalydeco (ivacaftor). 2012. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2012/203188s000TOC.cfm

Food and Drug Administration. FDA Approval Package NDA 208623: Galafold (migalastat). 2018. <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/daf/index.cfm?event=BasicSearch.process>

Food and Drug Administration. FDA Approval Package BLA 761339: VEOPOZ (pozelmab BBFG). 2023.

Food and Drug Administration. FDA Approval Package BLA 761228: KIMMTRAK (TEBENTAFUSP-TEBN). 2022. <https://www.accessdata.fda.gov/>

8. 의약품 발암성의 동물실험을 대체한 NAM의 예시

1. 신약개발에서의 NAMs 활용에 대한 근거

1-1) 규제 의사결정에 허용되는 것으로 인정된 MAMs(New Approach Methodologies, 비동물-신규 평가방법) 근거

- 비임상시험(NAMs). 2010년 국제조화협의회(ICH)의 산업 지침 개정판인 M3(R2) 의약품의 인체 임상 시험 수행 및 시판 허가를 위한 비임상 안전성 연구(Guidance for industry: M3(R2) nonclinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorization for pharmaceuticals.)에서, FDA는 비임상 안전성 평가에 NAM을 통합하는 것에 대한 입장을 다음과 같이 설명(ICH, 2010.) "이 지침에서는 다루지 않았지만, 안전성 평가를 위해 새로운 체외 대체 방법의 사용을 고려해야 함. 이러한 방법은 검증되고 모든 ICH 규제 당국에 의해 수용될 경우, 현재의 표준 방법을 대체하는 데 사용될 수 있음." 그 이후로 NAM은 규제 의사결정을 위한 지침(예: ICH S5(R3), ICH S10, ICH E14 및 S7B 질문과 답변 (2022), FDA 산업 지침: 의약품의 면역독성 잠재력 비임상 평가(nonclinical evaluation of the immunotoxic potential of pharmaceuticals) 등 여러 ICH 및 FDA 지침 문서에는 임상시험 및 승인을 위한 약물 안전성 평가에 NAM 사용을 장려하는 구체적인 내용이 <표-1>에서처럼 명시되어 있음.

<p><표-1> 임상시험 및 승인을 위한 약물 안전성 평가에 NAM 사용을 장려하는 구체적인 내용을 담은 ICH 및 FDA 지침 문서</p> <ul style="list-style-type: none"> • ICH M3(R2), 2010. International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use. Guidance for industry: M3(R2) nonclinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorization for pharmaceuticals. 2010. https://www.fda.gov/media/71542/download. Accessed August 25, 2025. • ICH S10. International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use. Guidance for industry: S10 photosafety evaluation of pharmaceuticals. 2015. https://www.fda.gov/media/85076/download. Accessed August 25, 2025. • ICH E14/S7B. International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use. ICH E14/S7B: implementation working group clinical and nonclinical evaluation of QT/QTc interval prolongation and proarrhythmic potential: questions and answers. 2022. https://database.ich.org/sites/default/files/E14-S7B_QAs_Step4_2022_0221.pdf. Accessed August. 25, 2025. • FDA guidance. Food and Drug Administration. FDA guidance for industry: nonclinical evaluation of the immunotoxic potential of pharmaceuticals. 2023. https://www.fda.gov/media/169117/download • ICH S7B. International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use. Guidance for industry: S7B nonclinical evaluation of the potential for delayed ventricular repolarization (QT interval prolongation) by human pharmaceuticals. 2005. https://www.fda.gov/media/72043/download. Accessed August 25, 2025.

1-2) FDA/CDER의 활용 중인 NAMs

- 미국 식품의약국(FDA) 산하 의약품평가연구센터(CDER; Center for Drug Evaluation and Research) 및 신약심사국(OND)은 신약의 안전성(OND; Office of New Drugs)은 신약의 안전성과 효능을 입증하는 데 있어 비임상시험의 활용도를 극대화하기 위해, 새로운 접근법(NAMs)을 활용한 비임상시험 자료 제출과 규제 당국과의 협력을 지속적으로 권장하고 있음.

- 예를 들어, 체외(in vitro) 분석법은 현재 안구 자극성 및 피부 감작성 평가의 표준이며, 광독성 잠재력 평가의 주요 수단으로 활용되고, 심혈관 안전성 평가의 일환으로 동물 연구(생체 내 비인간 시험)와 병행 사용됨(ICH S10, 2015; ICH E14/S7B, 2022; OECD test no. 432, 2019; OECD test guideline no. 439, 2021). 또한, 과학적으로 타당할 경우 불순물의 유전독성 위험 평가를 위해 컴퓨터 시뮬레이션(in silico) 평가가 활용되고 있음(ICH M7(R2)). 또한 FDA는 과학적으로 타당할 경우 랫드를 대상으로 한 2년간의 발암성 연구(ICH S1B(R1)), 일부 발달 및 생식 독성학 연구(ICH S5(R3), 2021) 및/또는 유년기 동물 연구(ICH S11, 2021)를 수행하는 대신 **증거비중도(WoE, weight of evidence) 평가를 대체하고 있음. 요약하면 <표-1>에서 ①은 자료 검토, ⑤은 in silico 그리고 ②에서 ④은 in vitro의 NAM임.**

<표-1> 안전성(독성)을 위한 CDER의 규제 의사 결정에 모델 기반 접근법 활용 가이드라인

NAM의 활용 현황 및 약물 개발 비임상 프로그램에서의 적용 범위	
<ul style="list-style-type: none"> ● 규제 의사결정을 위해 허용 가능한 것으로 인정된 독성시험-NAMs 	<ul style="list-style-type: none"> ① 발암성에 대한 증거비중도(WoE, Weight of evidence (WoE)) 평가(ICH S1B(R1)). ② 체외(in vitro) 분석법은 현재 안구 자극성 및 피부 감작성 평가(ICH S10, 2015; OECD test no. 432; OECD test guideline no. 439). ③ 기형 및 배아-태아 치사성(MEFL, malformations and embryo-fetal lethality) 확인을 위한 대체 방법((ICH S5(R3), 2021; ICH S11, 2021) ④ 심혈관 위험 예측을 위한 포괄적 체외 부정맥 유발 시험 (CiPA, Comprehensive in vitro proarrhythmia assay)(ICH E14/S7B, 2022) ⑤ 잠재적 변이원성 불순물에 대한 계산 독성학적 위험 평가 (Computational toxicology risk assessment)(ICH M7(R2), 2023).

2. 발암성에 대한 증거비중도(WoE, Weight of evidence) 평가의 의미

2-1) ICH S1B(R1) 가이드라인에 대한 이해

① 발암성시험과 관련된 가이드라인

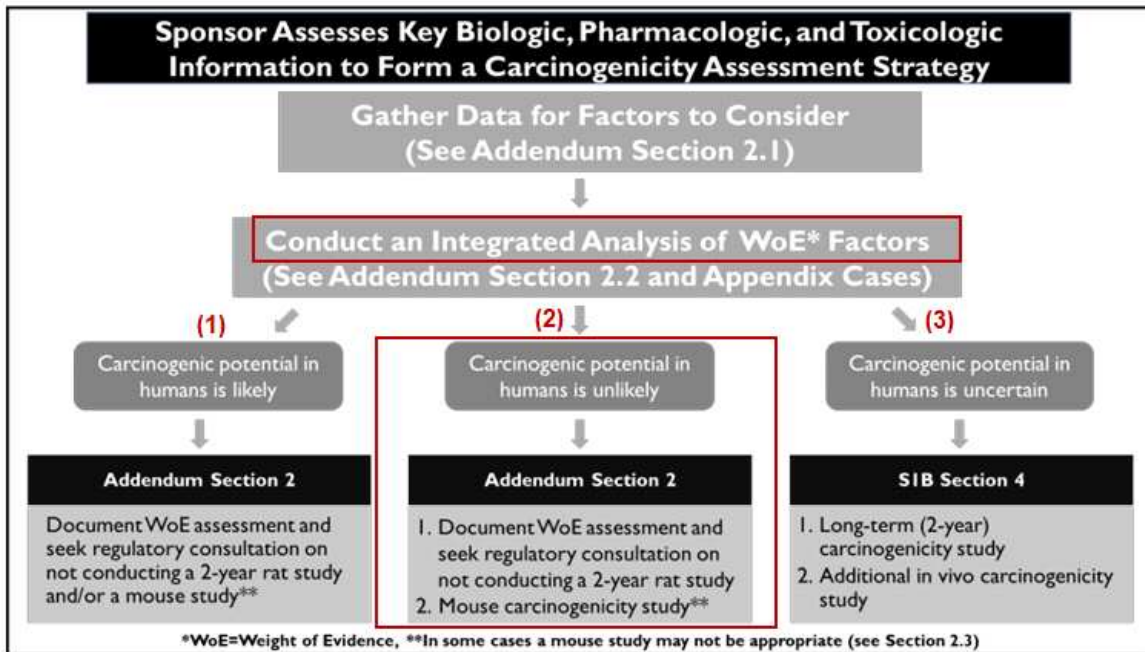
- 합성의약품의 발암성시험은 ICH S1A의 의약품의 장기 설치류 발암성 연구 필요성(1996년 3월), S1B의 의약품 발암성 시험(1997년 7월), S1C(R2) 발암성 연구를 위한 용량 선정(2008년 9월) 등과 더불어 2022년 ICH S1B(R1)이 가이드라인으로 제정되었음. 따라서 합성의약품의 발암성시험은 4가지 가이드라인을 참고하여 수행되어야 함.

② ICH S1B(R1)

- 가이드라인의 이름이 나타내듯 ICH S1B(R1)은 의약품 발암성에 대한 S1B 시험에 대한 부록(Addendum to S1B testing for carcinogenicity of pharmaceuticals)임. 본 부록은 ICH S1A에 명시된 발암성 시험이 필요한 모든 의약품에 적용되지만 생물공학 유래 의약품의 경우, ICH S6(R1) Preclinical safety evaluation of biotechnology-derived pharmaceuticals(생물공학 유래 의약품의 전임상 안전성 평가, 2012년)를 참조함.
- 중요한 것은 ICH S1B(R1)은 기존 ICH S1B에 기술되지 않은 추가 접근법을 도입하여 의약품의 인체 발암성 위험 평가 절차를 확장하는 것임. 즉, 이는 2년 랫드 연구를 통해 인체 발암성 위험 평가할 필요성이 있는지에 대한 여부를 판단하는 구체적인 **증거비중도(Weight of Evidence) 기준**을 제공하는 통합적 접근법임. 통합적 접근법의 적용은 3R 원칙(감소/개선/대체)에 따라 동물 사용을 줄이고, 자원을 더 과학적인 기전 기반 발암성 평가 생성으로 전환하는 동시에 신약 개발의 안전성과 윤리성을 지속적으로 촉진하기 위함임.

2-2) ICH S1B(R1)의 핵심적인 내용

- 독성시험 등을 포함한 다양한 자료를 통해 의약품의 인체 발암 가능성 평가 유무를 증거비중도를 결정하는 것을 의미함. 따라서 다양한 자료는 생물학적, 약리학적, 독성학적 정보를 고려한 과학적으로 견고한 발암성 평가 전략을 수립하는 것이 중요함.
- 증거비중도(WoE)는 <그림-1>과 같이 해당 의약품의 인체 발암 가능성에 대한 결론을 뒷받침할 수 있음: (1) 인체 발암 가능성이 높음(Likely): 2년 랫드 발암성 시험을 수행할 필요성이 없는 발암물질. (2) **인체 발암 가능성이 낮음(Unlikely): 2년 랫드 발암성 시험을 수행할 필요성이 없음** (3) 불확실함(uncertain): 2년 랫드 발암성 시험을 수행함. 즉, WoE 평가가 인간 발암 가능성에 대한 불확실성 결론으로 이어지는 경우, ICH S1B에 설명된 장기 발암성 시험과 추가적인 생체 내 발암성 연구를 병행하는 접근법이 가장 적절한 전략임.



<그림-1> 발암성 평가 전략 수립 및 2년 랫드 연구의 부가가치 결정 시 주요 단계와 선택지 개요에 대한 흐름도.

3. 발암성에 대한 증거비중도(WoE, Weight of evidence) 평가 방법

- S1B(R1) Addendum to S1B Testing for Carcinogenicity of Pharmaceuticals 가이드라인에 따르면 증거비중고를 위해 다음의 <BOX-1>과 같이 5가지 factor를 justification 해야함. 5가지 factor의 핵심 단어로 요약하면 Target biology, Secondary pharmacology, Histopathology chronic study, genotoxicity, immune modulation 등임.

<BOX-1> S1B(R1) Addendum to S1B Testing for Carcinogenicity of Pharmaceuticals

A. Factors to Consider for a WoE Assessment (2.1): A WoE approach is based on a comprehensive assessment of the totality of data relevant to carcinogenic potential available from public sources and from relevant drug development studies. These factors include, but are not limited to:

Factor-1: Data that inform carcinogenic potential based on drug target biology and the primary pharmacologic mechanism of the parent compound and major human metabolites; this includes drug target distribution in rats and humans along with the pharmacologic activity and potency of the parent compound and major metabolites in these species; available information from genetically engineered models; human genetic association studies; cancer gene databases; and carcinogenicity information on class effects, if available.

Factor-2: Results from secondary pharmacology screens for the parent compound and major metabolites that inform selectivity and off-target potential, especially those that inform carcinogenic risk (e.g., binding to nuclear receptors) histopathology data from repeated-dose toxicity studies completed with the compound, with particular emphasis on the 6-month rat study, including plasma exposure margin assessments of parent drug and major metabolites.

Factor-3: Evidence for hormonal perturbation, including knowledge of drug target and compensatory endocrine response mechanisms; weight, gross and microscopic changes in endocrine and reproductive organs from repeated-dose toxicity studies; and relevant results from reproductive toxicology studies, if available.

Factor-4: Genetic toxicology study data using criteria from ICH guidance for industry S2(R1) Genotoxicity Testing and Data Interpretation for Pharmaceuticals Intended for Human Use (June 2012); equivocal genotoxicity data that cannot be resolved in accordance with ICH S2(R1) recommendations increases uncertainty with respect to the carcinogenic potential

Factor-5: Evidence of immune modulation in accordance with ICH S8. Evidence of broad immunosuppression may provide sufficient concern for human risk that would not be further informed by standard rat and mouse carcinogenicity studies.

4. 발암성에 대한 증거비중도(WoE, Weight of evidence) 수행 예시

- AITOX는 2025년 FDA의 시험물질에 대한 발암성에 대한 요청에 대해 증거비중도 접근법으로 보고서를 작성하여 FDA 제출하였음


Official FDA Response
 Additionally, you **have not explicitly** stated that the chemical characterization will address systemic endpoints such as **chronic toxicity and carcinogenicity**.
 [REDACTED], PhD, at 301-785-[REDACTED] or [REDACTED]@fda.hhs.gov.

- AITOX의 보고서 진술서

AITOX's Consulting Report

STATEMENT REGARDING THE REPORT

This report assessed the noncarcinogenicity and chronic toxicity of [REDACTED] using a non-experimental weight-of-evidence approach. The data used for the evaluation included biocompatibility data [REDACTED] [REDACTED] other research materials, and the assessment was conducted truthfully. Furthermore, it is stated that permission to use the data for the preparation of this report was granted by [REDACTED] [REDACTED]

Report written by 
 Yeong-Chul Park Ph.D. in Toxicology

[REDACTED] 2025
 Date

5. 결론

- 본 예시는 비동물-인간-관련 NAM의 대표적인 예시라고 할 수 있음.
- 발암성시험은 거의 10억원과 2년 반의 고비용-장기간 시험임. 많은 사례를 통해 독성학적으로 불필요한 발암성시험이지만 가이드라인을 제시 후 시험 수행을 요구함.
- 아래와 같이 발암성 시험을 위해서는 4개의 가이드라인을 검토 후 신중하게 수행되어야 함. 개발자의 입장에서는 경비와 시간을 무시하지 못함. 이와 같이 발암성에 대한 증거비중도와 같은 가이드라인이 우리나라 규제기관이 작성하면 오늘날 규제기관이 해결해야 하는 심사기간의 단축에 큰 도움이 됨.
- (합성의약품의 발암성시험의 4개 가이드라인: ICH S1A의 의약품의 장기 설치류 발암성 연구 필요성(1996년 3월), S1B의 의약품 발암성 시험(1997년 7월), S1C(R2) 발암성 연구를 위한 용량 선정(2008년 9월) 등과 더불어 2022년 ICH S1B(R1)이 가이드라인으로 제정되었음. 따라서 합성의약품의 발암성시험은 4가지 가이드라인을 참고하여 수행되어야 함)

<참고문헌>

- ICH S10, International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use. Guidance for industry: S10 photosafety evaluation of pharmaceuticals. 2015.
- OECD test no. 432. Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD). OECD test no. 432: in vitro T3 NRU phototoxicity test. 2019.
- ICH E14/S7B, International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use. ICH E14/S7B: implementation working group clinical and nonclinical evaluation of QT/QTc interval prolongation and proarrhythmic potential: questions and answers. 2022.
- OECD test guideline no. 439. Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD). OECD test guideline no. 439: in vitro skin irritation: reconstructed human epidermis test methods. 2021.
- ICH M7(R2). International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use. Guidance for industry: M7(R2) assessment and control of DNA reactive (mutagenic) impurities in pharmaceuticals to limit potential carcinogenic risk. 2023.
- ICH S1B(R1). International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use. Guidance for industry S1B(R1): Addendum to S1B testing for carcinogenicity of pharmaceuticals. 2022.
- ICH S11. International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use. Guidance for industry S11: nonclinical safety testing in support of development of pediatric pharmaceuticals. 2021.
- ICH S5(R3). International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use. Guidance for industry S5(R3): detection of reproductive and developmental toxicity for human pharmaceuticals. 2021.

9. 생물의약품의 IND를 위한 NAM-기반 사례에 대한 고찰

1. 안전성을 위한 비임상 프로그램의 유연성

- **질환의 중증도와 희귀질환 등의 유연성:** NAMs 기반 사례 연구의 빈도는 치료 대상 질환의 중증도를 반영함. ICH S9 지침에 따르면, 진행성 암 치료제 개발을 위한 비임상 프로그램은 다른 약물에 비해 더 유연할 수 있음(ICH S9). 또한 ICH S9에 명시된 유연성 중 일부는 사례 별로 다른 SLTD(serious and life-threatening diseases, 중증 및 생명 위협성 질환)에도 적용 될 수 있음(FDA, Rare Diseases). 예를 들어, FDA의 희귀질환 지침은 안전성과 유효성에 대한 적절한 기준을 유지하면서, 중증 장애 또는 생명을 위협하는 희귀질환 치료제에 대한 법적 기준 적용에 있어 폭넓은 유연성을 강조하고 있음.

2. 생물의약품에 대한 NAM-기반 비임상 안전성 프로그램 분석

1) 질환별 구성

- <표-1>은 2022년 modernization act 2.0 전후로 INDIND(investigational new drug, 임상시험 승인신청)를 위해 대동물의 안전성 자료가 없이 NAM-기반 안전성 자료 제출된 치료제인 23종의 생물의약품(biotherapeutics) 종류와 이유에 대해 설명한 것임. 대동물을 사용하지 않은 이유로 약리작용과 관련하여 동물이 없거나 교체반응성(cross-reactivity)이 없는 치료제로 제시됨. 적응증은 진행성 암(advanced cancer)의 16건, 중증 및 생명 위협성 질환(serious and life-threatening diseases)의 3건, 생명-비위험 치료 수요가 충족되지 않은 질환(Non-LTD<non-life-threatening disease> with unmet need)의 2건, 치료 옵션이 있는 생명을 위협하지 않는 질환(non-LTD<life-threatening disease> with therapeutic options)의 1건 등이었음. 특히 다소 놀라운 점은 거의 대부분 생물의약품에 대한 적절한 동물모델이 없다는 것임.

<표-1>비임상 안전성 평가를 위한 대형 동물 종(Large Animal Species)을 사용하지 않은 NAMs 기반 사례 연구 예시		
Case	Biotherapeutics Description	Species Justification Provided by Respondent
1	T-cell receptor engineered T cells against pMHC	No relevant animal models as target recognition is based on peptide presentation in context of human HLA
2	Multispecific against a solid tumor TAA	Target is expressed in animals, but we do not expect pharmacology based on modality/MoA in any preclinical species
3	Ex vivo gene therapy (presumed cell therapy) against malignant immune cells	No safety assessment done in large nonclinical species due to lack of pharmacology
4	Protein-based replacement drug for Factor VIII	No pharmacological effect in standard nonclinical species
6	TCE against pMHC	Lack of pharmacologically relevant animal species due to highly human specific target
7	Bispecific antibody targeting T cells and a TAA (presumed TCE)	No pharmacologically relevant animal species is available since one binder is human specific only
8	mAb targeting PD1 (receptor antagonist)	No response. Case study focused on an ePPND waiver, so assumption is NHP is a potentially relevant species.
9	TCE against a solid tumor TAA	Cynomolgus monkey was identified as a relevant species (comparable target expression pattern and drug binding to target)
10	Fc-modified anti-cytokine mAb	Cynomolgus monkey was identified as a relevant species (comparable binding, potency, and homology)
11	mAb targeting Amyloid protein component P	Dog: does not express target, rodents: express target but with different function, NHP expression is age-related (> 10 years)
12	CAR-T cell therapy against a solid tumor TAA	Standard species not relevant, used transgenic SCID mice
13	TCE (pMHCxCD3) against HIV	No relevant species
14	Bispecific protein TCRxCD3 against pMHC	No relevant species
15	Multispecific Ab against Alzheimer's disease	100% homology but target not found in healthy animals
16	Multispecific Ab against	Tumor target only, no target in healthy animals

	hematology TAA	
17	TCE against a hematology TAA	Antibody is not cross-reactive to target in animal models
18	Multispecific Ab: bispecific co-stimulator against a hematologic TAA; non-CD3-based mAb	Low/no expression of target in healthy cells resulting in no pharmacological response
19	mAb targeting complement factor C5	No cross-reactivity or pharmacologic activity in non-human animal species
20	Engineered T cells against oncogene antigen	The engineered T cells do not cross-react with any normal toxicology species
21	Bispecific TCR-based therapeutic that targets and activates T-cells based on expression of oncogene peptide	Not cross-reactive in normal toxicology species
22	CAR-T cell therapy	Lack of target expression and homology of target
23	Multispecific Ab TCE against malignant immune cells	Lack of species cross-reactivity
ePPND: enhanced pre- and postnatal development(강화된 태전·태후 발달)		

2) 진행성 암(advanced cancer) 치료제의 NAM-기반 안전성 패키지(nonclinical safety package)

- Table 1은 실제로 제출된 사례로 진행성 암(advanced cancer) 치료를 위한 개발 중인 생물의약품(biotherapeutics) 23 case 중 16건이 IND(investigational new drug, 임상시험승인신청)를 위해 부분적으로 NAM-기반 안전성 자료가 제출되거나 NAM만을 기반으로 한 비임상 안전성 패키지(nonclinical safety package)로 FIH 또는 1상 임상시험 진행된 것이 확인됨. 특히 8건(Table 1의 노란색)은 in vivo 독성시험이 수행되지 않고 in silico 및 in vitro의 NAM-기반 안전성 자료만 제출되어 NAM에 대한 의존성 높은 것을 알 수 있음. 또한 in vivo 시험에서 수행은 대동물이 아닌 소동물임. 이는 진행성 암 치료제의 안전성에 대해 유연성이 그 만큼 크다는 것을 의미함(Shenton 등, 2025).

TABLE 1 진행성 암 치료제의 안전성 평가에 사용된 NAM 예시

NAM-based approaches for advanced cancer indications relied largely on NAMs.

Case	Description ^a	Types of NAMs applied in safety assessment		
		In silico	In vitro/ ex vivo	In vivo ^b
1	T-cell receptor engineered T cells against pMHC	Yes	Yes	No
2	Multi-specific against a solid tumor TAA	Yes	Yes	No
3	Ex vivo gene therapy (presumed cell therapy)	Yes	Yes	Yes ^{c,d}
6	TCE against pMHC	Yes	Yes	No
7	Bispecific antibody targeting T cells and a TAA (presumed TCE)	Yes	Yes	No
9	TCE against a solid tumor TAA	Yes	Yes	Yes ^{d,e}
12	CAR T-cell therapy against a solid tumor TAA	No	Yes	Yes ^{c,f}
14	Bispecific protein TCRxCD3 against pMHC	Yes	Yes	No
16	Multi-specific Ab against hematology TAA	No	Yes	Yes ^{c,d}
17	TCE against a hematology TAA	Yes	Yes	Yes ^{c,d}
18	Multi-specific Ab: bispecific co-stimulator against a hematologic TAA; non-CD3-based mAb	Yes	Yes	Yes ^{c,d,e}
20	Engineered T cells against oncogene antigen	Yes	Yes	No
21	Bispecific TCR-based therapeutic that targets and activates T cells based on expression of oncogene peptide	Yes	Yes	No
22	CAR T-cell therapy	Yes	Yes ^g	
23	Multi-specific Ab TCE against malignant immune cells	Yes	Yes	No

CAR, chimeric antigen receptor; mAb, monoclonal antibody; pMHC, peptide-major histocompatibility complex (MHC); TAA, tumor-associated antigen; TCE, T-cell engager; TCR, T-cell receptor.
Note: Case Study 8 was focused on DART and not included in this table. Although we reported on 22 case studies, case study numbers ranged from 1 to 23 because one case study was excluded.

^a Case description is based on write-in text by the respondent. Assumptions listed are those of the authors.

^b None of these in vivo studies were dedicated nonclinical safety studies.

^c Pharmacology studies in mice (e.g., immunocompromised models) contributed to the weight-of-evidence for safety assessment.

^d PK studies in mice (e.g., immunocompromised, humanized, or FcRn transgenic mice) contributed to the weight-of-evidence for safety assessment and/or the justification of the clinical dose selection.

^e PK studies in large animals (e.g., NHPs or minipigs) supported nonclinical safety.

^f SCID mice injected with patient derived tumor were administered CAR T-cell therapy and at the end of the study all tissues were macroscopically and microscopically examined. These data were utilized to support clinical safety (cross-reactivity with murine target was established prior to study conduct).

^g Respondent reported that no safety endpoints were added to the pharmacology studies but adverse findings in the pharmacology studies would have been investigated although mice were not a relevant species.

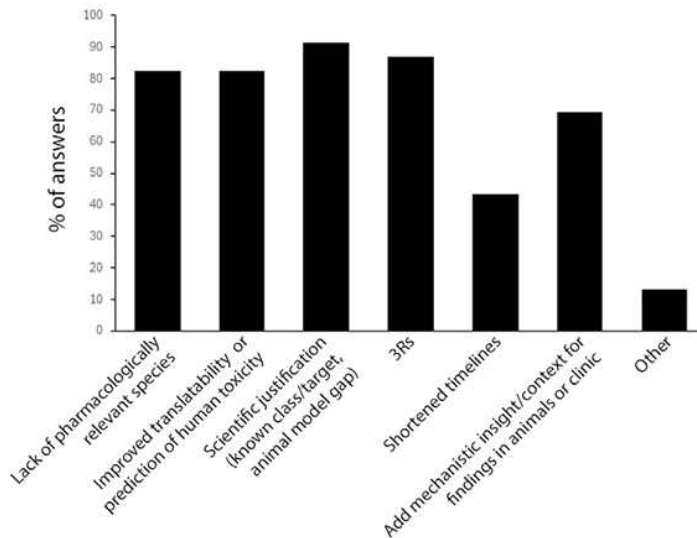
3) SLTD(특정 치료법이 없는 질환) 치료제의 안전성을 위한 비임상 프로그램

이러한 사례들은 ICH S9 적용 범위 외 질환을 대상으로 하는 의약품의 비임상 안전성 프로그램에서 유연성이 제한될 수 있다는 인식 때문에 특히 주목할 만했다.

- 23건 중 6건은 비종양학 적응증을 위해 개발 중이었음. 암과 관련된 비임상 가이드라인 ICH S9 적용 범위 외인 SLTD(특정 치료법이 없는 질환) 환자를 대상으로 개발 중인 사례는 6건 중 3건(<표-1> 11, 13, 19)이었음. 해당 적응증에는 혈청 아밀로이드증, 인간 면역결핍 바이러스(HIV), 일련의 희귀질환이 포함되었음.
- **알츠하이머 질환 치료제:** 진행성 암에 대한 NAM 기반 사례에서 in silico와 in vitro 패키지가 흔히 결합된 것과 달리, 이러한 적응증 개발 의약품의 경우 세 가지 사례 중 두 가지(혈청 아밀로이드증 및 희귀질환)에서 **안전성 평가에 마우스 모델이 사용되었음**. 혈청 아밀로이드증 프로그램(사례 11)의 경우, 최초 인체 임상시험(FIH)을 지원하기 위해 인간 혈청 **아밀로이드 A knock-in 마우스 모델**에서 항아밀로이드 성분 P 단일클론 항체(mAb)의 약리학 연구에 안전성 평가 지표가 포함됨. 희귀질환 사례(사례 19)에서는 NAM 기반 접근법이 마우스 교차반응성 대리 항체를 시험한 일련의 마우스 독성 연구를 활용하였음.
- **HIV 치료제:** 최종 비-ICH S9이지만 SLTD 사례(사례 13)는 HIV 치료를 위한 펩타이드-MHC 복합체(pMHCxCD3)를 표적하는 이중특이성 T세포 결합체(bis-specific T-cell engager)에 관한 것이었음. 채택된 접근법은 종양 항원(인간 특이적 pMHC 항원 포함)을 표적하는 T세포 결합체에 대한 접근법과 유사했음. 구체적으로, FIH(First-in-Human)를 가능하게 하는 독성학 패키지는 컴퓨터 시뮬레이션 평가(공개 및 독점 데이터베이스 검토), 시험관 내 세포 기반 기능 분석, 이차 약력학(PD) 연구(건강한 조직과의 비표적 교차 반응성 평가)로 구성되었음. NAM 기반 평가는 MABEL(minimum anticipated biological effect level, 생물학적영향-최소추정용량)을 기반으로 위험 식별, 위험 평가 및 FIH 용량 선택을 위해 응용되었음.

3. 결론 - 생물의약품의 IND를 위한 NAM-기반 사례에 대한 고찰

- NAM 자료를 사용하여 IND 통과 및 임상시험 진입에 성공한 생물의약품 23종 중 16종이 진행성 암(advanced cancer)이었고 나머지는 희귀질환으로 확인되었음.
- 특히 중요한 것은 이들 생물의약품의 비임상 안전성 프로그램에서 대동물을 전혀 사용하지 않았고 일부에서 소동물이 이용되었지만 50% 이상에서 in vitro 및 in silico 자료로 제출되었음.
- <그림>은 진행성 암에 대한 생물학제제 개발에 있어서 NAM을 사용한 이유에 대한 나타난 것으로 순서로 (1) 약리학적으로 관련성 있는 종의 부족, (2) 인간 독성에 대한 예측 가능성/전환성 향상, (3) 과학적 타당성 (잘 알려진 약물 계열/표적, 기존 동물 모델의 알려진 한계), (4) 3R 원칙, (5) 단축된 연구 기간, (6) 동물 또는 임상 연구 결과에 대한 추가적인 기전적 통찰력/맥락 제공, (7) 기타 등임. 이유로 (1) - (6)까지가 유사한 비율로 조사되었음.



<그림> Justifications for usage of NAMs

- NAM을 사용한 7가지 이유 중 4가지인 (1) 약리학적으로 관련성 있는 종의 부족, (2) 인간 독성에 대한 예측 가능성/전환성 향상, (3) 과학적 타당성 (잘 알려진 약물 계열/표적, 기존 동물 모델의 알려진 한계), (6) 동물 또는 임상 연구 결과에 대한 추가적인 기전적 통찰력/맥락 제공 등은 약리 및 독성 기전과 관련된 것임. 이는 생물의약품의 동물에서 표적 유무, 상호작용의 양적 affinity 그리고 약리/독성 mechanism에 대한 이해는 NAM 자료의 활용 가능성을 높이며 비용과 시간 절약에 결정적인 기여를 할 것으로 예측됨.

<참고문헌>

ICH (S9). Harmonised Tripartite Guideline: Nonclinical Evaluation for Anticancer Pharmaceuticals (S9). International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use.

FDA. Rare Diseases: Considerations for the Development of Drugs and Biological Products Guidance for Industry. U.S. Food and Drug Administration.

Jacintha Shenton, Imein Bousnina, Michael Oropallo, Rhiannon David, Lucinda Weir, Thomas K. Baker, Helen-Marie Dunmore, Remi Villenave, Mary McElroy, Betty Pettersen, Tushar Kokate, Claudette L. Fuller, Kimberly A. Homan, Eloise Hudry, Charles Wood, Sam Gunter, Opportunities and insights from pharmaceutical companies on the current use of new approach methodologies in nonclinical safety assessment, Drug Discovery Today, Volume 30, Issue 4, 2025, 104328, ISSN 1359-6446,

10. 비임상 연구 도구인 NAM의 핵심 5원칙 - 인간 관련성(Human Relevance)

1. New Approach Methodologies (NAMs): 기원과 의미

- 비임상연구에서 동물실험의 기여도:** 동물 모델은 임상시험 전 의약품의 효능과 안전성을 입증하는 데 있어 가장 신뢰할 수 있는 방법으로 간주되었음. 그러나 약 80~90%의 의약품이 임상 시험에서 실패하며, 그중 40~70%는 임상적 효능 부족이나 독성으로 인해 2/3상에서 실패함. 이에 대체 방법으로 전환하면 동물 실험과 관련된 윤리적 문제를 해결하고, 인간 상태를 더 정확하게 반영하며, 의약품의 품질, 안전성 및 효능을 더 정확하게 예측이 가능할 것으로 기대됨(Harrison, 2016).
- 용어의 최초 기원:** NAM(New Approach Methodologies)은 2016년 4월 헬싱키에서 열린 'New Approach Methodologies in Regulatory Science Proceedings of a scientific workshop'에서 공식적으로 제정된 용어로, 윤리적 연구 원칙을 수용하는 광범위한 기술, 기술 및 접근법을 포괄하며 전 세계 기관들의 규제 의사 결정에 점점 더 많이 채택되고 있음. 즉, 새로운 시험 또는 평가 방법이 NAM으로 인정받으려면 화학물질, 의약품 또는 기타 물질의 규제 위험성 또는 안전성 평가에 관련성이 있어야 함(ECHA, 2016).
- 동물대체법과 NAM의 차이점:** NAM은 동물 모델 대체법에 관한 오늘날의 논의 속에서 여러 가지 다른 의미를 지니게 되었음. 이 용어가 때로는 비동물적 방법 또는 새로운 대체 방법을 의미하기도 하지만, 대체적으로 NAM을 '신규 접근 방법론(New Approach Methodologies)'으로 정의하여 사용. 따라서 NAM은 단순히 동물대체법을 의미하거나 단순히 새로운 과학적 방법이 아님. NAM은 규제기관이 활용할 수 있는 방식으로 안전성을 평가하는 데 적합한 도구로서, 더 예측 가능하고 **인간 관련성이 높으며 비동물적 접근법임**(Lush Prize, 2005; Emulatebio, 2025; Devine 등, 2025). 따라서 **NAM이 동물대체시험법과 다른 점은 인간과 관련성이 더 높다는 것이고 결과적으로 이를 기반으로 하여야 규제기관의 활용성이 가능하다고 할 수 있음.**

<FDA, 2025> U.S. Food and Drug Administration sent this bulletin at 04/10/2025 04:11 PM EDT. US Food and Drug Administration FDA Announces Plan to Phase Out Animal Testing Requirement for Monoclonal Antibodies and Other Drugs

● FDA가 발표와 함께 공개한 새로운 로드맵은 신약의 안전성과 효능을 평가하기 위한 현대화된 프레임워크를 제시하며, 여기에는 신개념 평가 방법론(NAMs)이 대폭 도입된다. 주요 내용은 다음과 같다:

- 인체 내 약물 행동을 모델링**하고 잠재적 독성을 예측하는 **인공지능 기반 시뮬레이션.**
- 인간 세포 기반 모델 및 오가노이드**(실험실에서 배양한 소형 장기 모형)를 통해 실제 인간 조직이 새로운 치료법에 어떻게 반응할지 확인할 수 있음.
- 글로벌 인간 안전성 데이터를 활용**함으로써 FDA는 유사한 규제 기준을 가진 타국의 기존 임상 증거를 신뢰할 수 있어 반복적인 동물 실험의 필요성을 줄일 수 있음.

<원문>

- The FDA's new roadmap, released alongside the announcement, outlines a modernized framework for assessing drug safety and efficacy—one that heavily incorporates New Approach Methodologies (NAMs). These include:
- AI-based simulations that model how a drug behaves in the human body and predict possible toxicities.
- Human cell-based models and organoids—miniature lab-grown versions of organs—

that can show how real human tissue would respond to a new therapy.

- Global human safety data, enabling the FDA to rely on existing clinical evidence from other countries with comparable regulatory standards, reducing the need for repetitive animal studies.

2. New Approach Methodologies의 5 원칙

- 입법기관으로는 동물 희생의 감소가 주요 목적이지만 규제기관으로서는 동물 희생의 감소와 더불어 인체에서 안전성 확보가 핵심목표. 또한 개발자 입장에서는 NAM은 신약개발의 전반적인 프로세스에서 비용과 시간을 감소시킬 수 있는 방향으로 개발이 필요함.
- NAMs(신규 접근 방법론 또는 신규 접근법)은 규제 결정을 지원하고 신약 개발을 촉진하기 위해 **인간 관련성(human-relevant)**, 신뢰성(reliable) 및 재현성(reproducible)이 보장된 데이터와 더불어 다음과같이 5가지 요소에 적합한 방향으로 발전이 필요함.

- ① 인간 관련성(Human Relevance)
- ② 기전적 통찰력(Mechanistic Insight)
- ③ 변동성 감소(Reduced Variability)
- ④ 시스템 수준 통합(Systems-Level Integration)
- ⑤ 고속 스크리닝(High-Throughput Screening)

3. 약물 모달리티별 독성기전의 차이

- 신약 개발에서 앞서 비임상 측면에서 약물 모달리티(modarity)별 다음과 같은 독성기전에 대한 이해를 기반으로 출발이 중요함.

<비임상시험 항목>	합성의약품	폴리펩타이드 및 단백질 그리고 핵산 등의 고분자의약품	세포치료제
<ul style="list-style-type: none"> • 약리 표적과 관계 	<ul style="list-style-type: none"> • 무관하게 독성 발생 	<ul style="list-style-type: none"> • 수용체의 유무 • 수용체와의 affinity • 수용체/약물의 ratio 	<ul style="list-style-type: none"> • 표적치료제일 경우 관계가 있지만 영양적 요소 기전을 기반한 치료제는 무관
<ul style="list-style-type: none"> • 항원성 및 면역계 영향 	<ul style="list-style-type: none"> • 친전자성으로 전환되어 단백질과 결합할 경우에 발생하지만 낮은 빈도 	<ul style="list-style-type: none"> • 자체가 항원성을 가짐 • 특히 noncanonical amino acid일 경우 높음 	<ul style="list-style-type: none"> • 인체 및 환자-유래 세포이기 때문에 낮음
<ul style="list-style-type: none"> • 화학적 발암성 (chemical carcinogenesis) 	<ul style="list-style-type: none"> • 친전자성 대사체 발생에 의한 돌연변이원성으로 높음 	<ul style="list-style-type: none"> • noncanonical amino acid를 포함한 폴리펩타이드일 경우 주의 요함 	<ul style="list-style-type: none"> • 없음
<ul style="list-style-type: none"> • 종양원성 (tumorigenesis) 	<ul style="list-style-type: none"> • 없음 	<ul style="list-style-type: none"> • 없음 	<ul style="list-style-type: none"> • Immortal cell로 전환 가능성 높음
<ul style="list-style-type: none"> • 안전성약리 	<ul style="list-style-type: none"> • 종간 차이가 있기 때문에 임상시험에서 예측이 어려움 	<ul style="list-style-type: none"> • 다양한 수용체와 상호작용 가능성으로 예측 어려움 	<ul style="list-style-type: none"> • 낮음
<ul style="list-style-type: none"> • 독성기전의 핵심 요소 	<ul style="list-style-type: none"> • Cytochrome P450 	<ul style="list-style-type: none"> • 약물의 사이즈와 noncanonical 아미노산 및 핵산을 포함한 약물 	<ul style="list-style-type: none"> • 암세포로의 전이성
<ul style="list-style-type: none"> • 기타 사항 	약물의 전달체 vactor인 virus 및 lipi-nano particle은 고려하지 않음		

4. NAM의 제1요소 - 인간 관련성(Human Relevance)

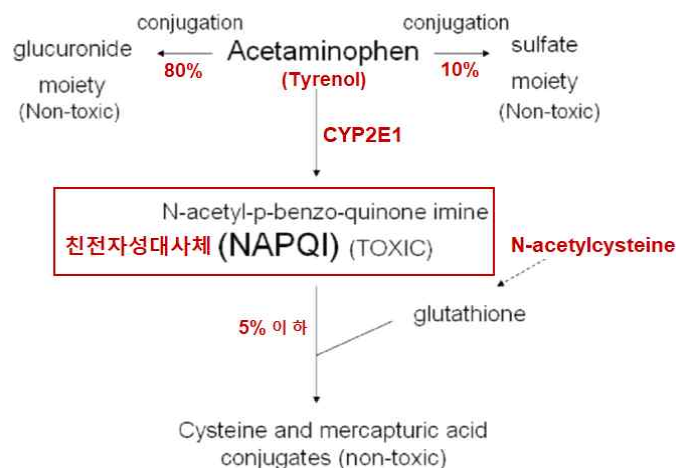
1) 합성의약품의 경우

- 앞페이지 '3. 약물 모달리티별 독성기전의 차이' 합성의약품에 있어서 독성기전의 핵심 요소는 cytochrome P450이라고 설명함.
- Cytochrome P450의 아종 CYP1, CYP2, CYP3 등의 효소는 약물 및 외인성물질 대사에 관여하는 효소로 극성대사체의 무독성 대사체와 친전자성 대사체의 독성대사체를 생성하는 양면성을 가지고 있음. 특히 친전자성 대사체는 DNA 염기와 결합하여 돌연변이를 유발하거나 효소 및 단백질에 결합하여 신호전달체계에 영향을 주어 독성을 유발함. 역으로 대부분의 항암제는 이와 같은 기전을 기반으로 암 치료제로 개발됨.

1-1) 인체의 모체와 태아 독성 차이 예시 - 타이레놀

① 타이레놀의 독성기전

- 지나친 과잉용량에 의해 제2상반응이 full 상태이면 tyrenol은 <그림>에서처럼 에탄올 대사의 핵심 **cytochrome P450인 CYP2E1에 의해 친전자성 대사체인 NAPQI 생성**. NAPQI는 간의 다양한 효소 결합 및 지질에 대한 영향을 통해 간독성의 원인이 됨. 따라서 tyrenol 용량이 제1상반응 대사의 기질이 되지 않도록 지속적으로 복용량이 감소되었음. 그럼에도 불구하고 빠른 해열을 위해 과잉복용을 하거나 음주 후 두통을 제거하기 위해 과잉용량으로 미국에서는 매년 50,000 명의 응급실 입원과 약 500명이 사망함. 이는 과용량에 의한 친전자성대사체 생성에 의한 독성에 기인함. 유럽에서는 약효가 느린 서방정에 의해 과잉복용에 의한 부작용을 없애기 위해 서방정 제제 금지됨.



<그림> Tyrenol(acetaminophen)의 2가지 경로: 무독성대사체 vs 독성대사체 생성

② 임신 중 태아에서 CYP2E1과 tyrenol(=acetaminophen) 대사

- 친전자성대사체는 반응성이 발생 후 단백질과 10⁻⁸초 정도로 빠르게 이루어지기 때문에 모체에서 발생하여 태아에게 전달되기는 어려움. 따라서 태아에서 CYP2E1 유무가 Tyrenol의 독성을 추정하는 중요한 요소가 됨.
- <그림>은 인간 임신 초기 태아 및 성인 간에서의 상대적 CYP 발현량(로그 2 척도)
- <그림-A>은 태아의 성인 간에서 CYP 발현량. <그림-B>는 인간 만삭 태반과 성인 간에서의 상대적 CYP 발현량.
- 굵은 글씨로 표시된 CYP 유전자들은 두 기관군 간 차등 발현이 확인된 것들이임(p<0.05; 절대 발현 변화율(FC) > 1, log2).
- <그림-A와 그림-B>에서 CYP2E1이 성인과 태아의 간 및 태반에서 가장 많이 발현 차이가 확인됨. 즉, 태아의 cytochrome P450 발현에서 CYP2E1은 가장 낮은 발현으로 확인됨(파란 네모).

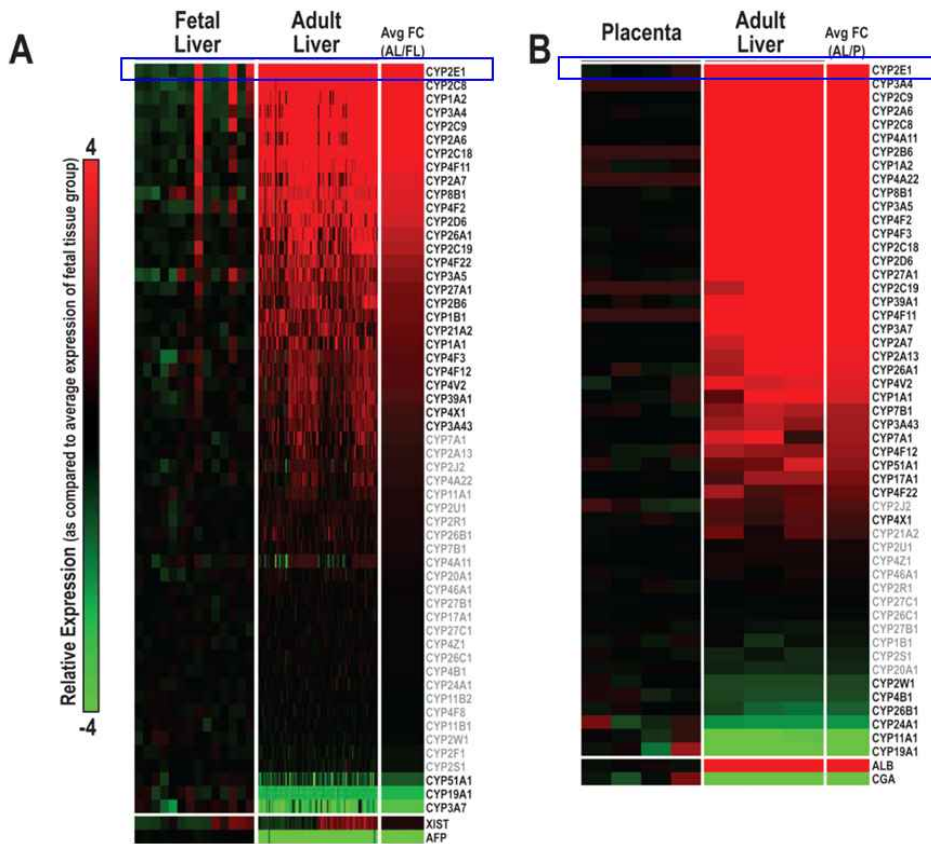


Figure 2: Global CYP expression profiles in human adult and fetal tissues.

④ 타이레놀의 모체와 태아에서의 독성 차이에 대한 이해

- Robinson(2020) 등의 연구에 따르면 CYP는 태아 조직 대비 성인 간에서 주로 높은 수준으로 발현됨. CYP 효소의 60%는 태반에서 정상 수준으로 발현되었음. 실험실 분석에서 성인 및 태아 조직 간 CYP 특이적 발현/활성 차이를 관찰되었으며 CYP2E1 및 CYP3A4는 성인 간 대비 태아 간에서 현저히 낮은 발현량을 보였음. 따라서 태아에 도달한 타이레놀은 CYP2E1 효소 활성이 없으므로 대사가 되지 않고 배출될 것으로 예상됨. 따라서 이러한 이유로 타이레놀에 대한 모체와 태아의 독성이 차이가 있음.

⑤ 트럼프, 임신초기 타이레놀 복용 시 자폐증(Autism) 유발에 대한 독성학적 결론

- 트럼프의 2025년 9월 23일 발표
 - FDA가 임신 중 아세트아미노펜 사용이 자폐증(autism) 또는 자폐 스펙트럼 장애(ASD, autism spectrum disorder) 위험과 관련 있다고 경고할 예정이라고 발표.
 - 타이레놀 사용을 가능한 한 피하라고 권고.
 - 백신도 소량으로, 장기간에 걸쳐 접종해야 한다고 주장했으나 의학적 근거는 제시하지 않음.
- Tyrenol은 과잉용량 복용에 의하여 CYP2E1-기반 대사에 의해 친전자성대사체인 NAPQI 독성으로 미국에서는 매년 50,000 여명의 응급실 입원과 약 500명이 사망함.
- 그러나 태아의 간 및 태반에서 친전자성대사체인 NAPQI를 생성하는 CYP2E1은 거의 발현되지 않음. 따라서 트럼프의 임신초기 타이레놀 복용 시 자폐증(Autism) 유발에 대한 독성학적 근거는 없음.

⑥ 결론: 인체의 모체와 태아 독성 차이 예시 - 타이레놀

- 특히 인체 내에서도 약물에 대해 모체와 태아에 대한 독성기전의 차이가 cytochrome P450 발현 유무에 따라 차이가 있다는 것을 확인 할 수 있음.

1-2) 제브라피쉬 기형 또는 배아-태아 치사율(MEFL) 평가 예시

① 제브라피쉬의 독성시험에 있어서 동물모델 적합성 주장

- 제브라피쉬(Danio rerio)는 어류와 인간 계통의 계통 발생학적 분석을 바탕으로 인간 질환 치료에 잠재적으로 활용 가능한 약물 선별에 적합한 모델이므로 주장됨. 특히 이는 신경계, 심혈관계, 소화계의 형태학적·생리학적 유사성을 보여준다고 함. 최근까지 제브라피쉬는 척추동물 발달 과정 중 약리학적 효과와 독성을 연구하기 위한 유망한 동물 모델이라고 주장됨 (Chahardehi 등, 2020; Hong 등, 2024; Bauer 등, 2021). 이에 인간과 제브라피쉬 사이의 세포 구조적 및 생화학적 유사성은 화학 물질 및 기타 물질이 인간 사회에 미칠 수 있는 영향을 신속하게 예측할 수 있다고 함.

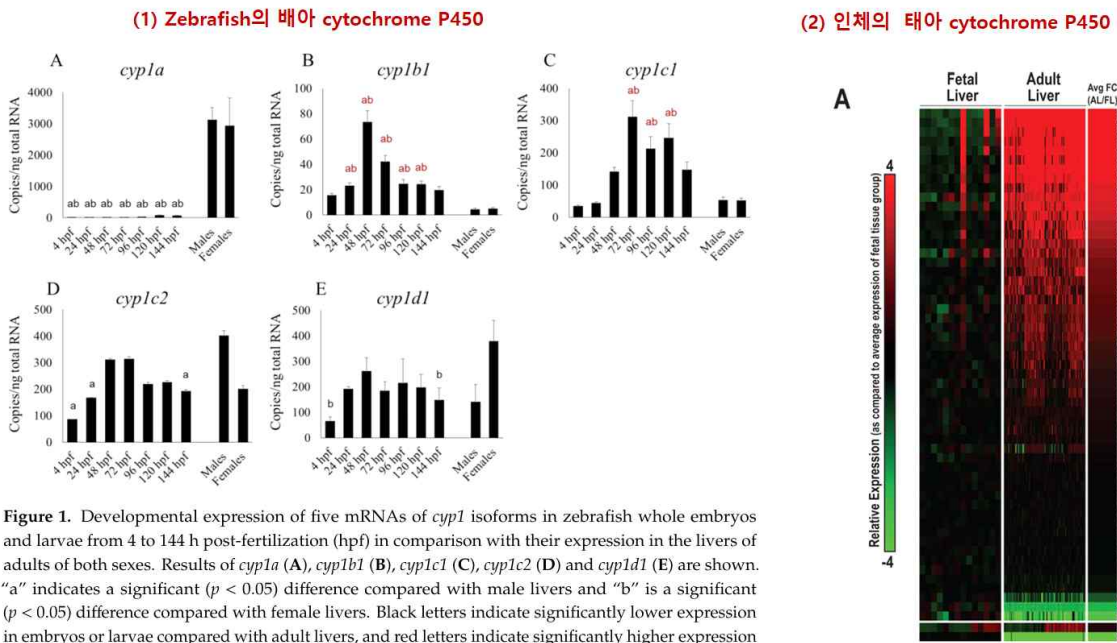
② 제브라피쉬 배아를 이용한 기형 또는 배아-태아 치사율(MEFL; the assessment of malformations or embryo-fetal lethality) 평가 소개

- 여러 연구에서 기형 또는 배아-태아 치사율(MEFL; the assessment of malformations or embryo-fetal lethality) 평가를 위해 제브라피쉬 배아를 사용할 것을 제안해 왔다. 그러나 국제조화위원회(ICH) S5(R3) 지침에 기반하여 전 세계적 요구를 충족하는 제브라피쉬 MEFL 시험 방법의 표준으로서 재현 가능한 프로토콜은 아직 확립되지 않았음

- 이러한 독성시험 방법을 확립하기 위해, 우리는 특히 기형 유발 가능성이 있는 화학물질에 의해 유발되는 MEFL을 검출하기 위한 새롭고 간편한 프로토콜을 개발하였음.
- 이 프로토콜은 발달 5일 이내의 수정된 제브라피시 난자(배아)를 사용함. 동한 프로토콜을 2~4개 실험실에서 수행한 독성 시험 결과, 높은 실험실 간 재현성이 확인되었음. 본 시험법은 랫드 MEFL을 유발한 22개 시험 화합물 중 18개를 검출할 수 있었음. 따라서 본 제브라피쉬 MEFL 시험법의 예측률은 랫드 대비 82%에 달했음. 종합적으로 본 연구는 ICH 가이드라인 S5(R3)를 충족하는 생식 및 발달 독성 평가용 제브라피쉬 MEFL 시험법의 간편하고 재현성 높은 프로토콜 확립을 제안하며, 이는 규제 목적으로 다른 출처의 정보와 결합하여 추가 고려되길 바램(Mori 등, 2024).

③ 제브라피쉬의 배아-태아 치사율 시험법에 대한 평가

- 제브라피쉬의 배아-태아 치사율 시험법에 대한 평가 시험법은 랫드 MEFL을 유발한 22개 시험 화합물 중 18개를 검출하였고 예측률은 랫드 대비 82%에 달했음(MEFL)
- 아래 <그림>은 zebrafish의 배아와 인체 태아의 cytochrome P450 발현에 대한 mRNA 수준에서 비교한 것임. Zebrafish 배아에서는 CYP1A, CYP1B1, CYP1C1, CYP1C2 그리고 CYP1D1 등의 5종이 확인되었음. 인체 태아에서는 CYP2J2가 가장 많이 발현되었고 CYP1A1, CYP1A2, CYP2B6, CYP4A4 및 CYP2E1 등은 거의 발현되지 않았음. 이는 CYP1A 아종과 전혀 반대되는 발현으로 제브라피쉬의 배아-태아 치사율 시험법은 인체의 생식발달 독성에 대한 예측에 있어서 상당한 괴리가 있을 것으로 추정됨,



<그림> Zebrafish 배아(Mori 등, 2024)와 인체 태아(Robinson 등, 2020)의 cytochrome P450 mRNA 발현 비교

5. 결론: NAM의 제1요소 - 인간 관련성(Human Relevance)

- 합성의약품의 독성기전에서 핵심원리는 아래의 <표>에서처럼 cytochrome P450 효소이며 효소 대사에 의해 극성대사체 또는 친전자성 대사체 생성에 따라 독성이 결정됨.
- 타이레놀의 인간 모체와 태아의 독성 비교를 통해 동일한 신체 내에 존재하지만 Cytochrome P450 발현에 따라 독성이 달라짐.
- 동물대체법으로 사료되는 제브라피쉬의 배아-태아 치사율 시험법에 대한 평가 시험법(MEFL; the assessment of malformations or embryo-fetal lethality)은 랫드 MEFL을 유발한 22개 시험 화합물 중 18개를 검출하였고 예측률은 랫드 대비 82%에 달했음. 그러나 Cytochrome P450의 일치성의 거의 없기 때문에 인체 생식-발달 독성 예측에 한계가 있을 것으로 추정됨.
- 대부분의 동물대체법 시험은 제브라피쉬의 배아-태아 치사율 시험법과 같이 이와 같은 독성 기전에 이해가 없이 개발됨. NAM이 동물대체법 시험고 차이점은 바로 인간-관련성(Human Relevance) 독성기전 이해가 시험법에 반영되어 개발된다는 점임. 이에 추가적으로 NAM의 방향은 Human Relevance을 기반한 약리시험과 독성시험이 동일한 시스템에서 이루어질 확률이 높을 것으로 예상됨.

<표> 신약 개발에서 앞서 비임상 측면에서 약물 모달리티(modality)별 다음과 같은 독성기전에 대한 이해를 기반으로 출발이 중요함.			
<비임상시험 항목>	합성의약품	폴리펩타이드 및 단백질 그리고 핵산 등의 고분자의약품	세포치료제
• 약리 표적과 관계	• 무관하게 독성 발생	• 수용체의 유무 • 수용체와의 affinity • 수용체/약물의 ratio	• 표적치료제일 경우 관계가 있지만 영양적 요소 기전을 기반한 치료제는 무관
• 항원성 및 면역계 영향	• 친전자성으로 전환되어 단백질과 결합할 경우에 발생하지만 낮은 빈도	• 자체가 항원성을 가짐 • 특히 noncanonical amino acid일 경우 높음	• 인체 및 환자-유래 세포이기 때문에 낮음
• 화학적 발암성 (chemical carcinogenesis)	• 친전자성 대사체 발생에 의한 돌연변이원성으로 높음	• noncanonical amino acid를 포함한 폴리펩타이드일 경우 주의 요함	• 없음
• 종양원성 (tumorigenesis)	• 없음	• 없음	• Immortal cell로 전환 가능성 높음
• 안전성약리	• 종간 차이가 있기 때문에 임상시험에서 예측이 어려움	• 다양한 수용체와 상호작용 가능성으로 예측 어려움	• 낮음
• 독성기전의 핵심 요소	• Cytochrome P450	• 약물의 사이즈와 noncanonical 아미노산 및 핵산을 포함한 약물	• 암세포로의 전이성
• 기타 사항	약물의 전달체 vector인 virus 및 lipi-nano particle은 고려하지 않음		

<참고문헌>

Chahardehi AM, Arsad H, Lim V. Zebrafish as a Successful Animal Model for Screening Toxicity of Medicinal Plants. Plants (Basel). 2020 Oct 12;9(10):1345.

Taeyeon Hong, Junho Park, Gwonhwa Song, Whasun Lim, Brief guidelines for zebrafish embryotoxicity tests, Molecules and Cells, Volume 47, Issue 8, 2024, 100090, ISSN 1016-8478.

Bauer B, Mally A, Liedtke D. Zebrafish Embryos and Larvae as Alternative Animal Models for

Toxicity Testing. *Int J Mol Sci.* 2021 Dec 14;22(24):13417.

Nawaji T, Yamashita N, Umeda H, Zhang S, Mizoguchi N, Seki M, Kitazawa T, Teraoka H. Cytochrome P450 Expression and Chemical Metabolic Activity before Full Liver Development in Zebrafish. *Pharmaceuticals (Basel).* 2020 Dec 11;13(12):456.

Mori K, Aoki Y, Mikashima F, Maki K, Tanaka T, Hayashi M, Sugimoto W, Ono M, Umekita S, Niino T, Fujiwara M, Ebata T, Hirata H, Kojima H. Validation of a new protocol for a zebrafish MEFL (malformation or embryo-fetal lethality) test method that conforms to the ICH S5 (R3) guideline. *J Toxicol Sci.* 2024;49(8):337-348.

Robinson JF, Hamilton EG, Lam J, Chen H, Woodruff TJ. Differences in cytochrome p450 enzyme expression and activity in fetal and adult tissues. *Placenta.* 2020 Oct;100:35-44.

11. 비임상 NAM의 핵심 5원칙 - (2) 기전적 통찰력(Mechanistic Insight)

1. New Approach Methodologies (NAMs): 기원과 의미

- 비임상연구에서 동물실험의 기여도:** 동물 모델은 임상시험 전 의약품의 효능과 안전성을 입증하는 데 있어 가장 신뢰할 수 있는 방법으로 간주가 되었음. 그러나 약 80~90%의 의약품이 임상시험에서 실패하며, 그중 40~70%는 임상적 효능 부족이나 독성으로 인해 2/3상에서 실패함. 이에 대체 방법으로 전환하면 동물 실험과 관련된 윤리적 문제를 해결하고, 인간 상태를 더 정확하게 반영하며, 의약품의 품질, 안전성 및 효능을 더 정확하게 예측이 가능할 것으로 기대되었음(Harrison, 2016).
- 용어의 최초 기원:** NAM(New Approach Methodologies)은 2016년 4월 헬싱키에서 열린 'New Approach Methodologies in Regulatory Science Proceedings of a scientific workshop'에서 공식적으로 제정된 용어로, 윤리적 연구 원칙을 수용하는 광범위한 기술, 기술 및 접근법을 포괄하며 전 세계 기관들의 규제 의사 결정에 점점 더 많이 채택되고 있음. 즉, 새로운 시험 또는 평가 방법이 NAM으로 인정받으려면 화학물질, 의약품 또는 기타 물질의 규제 위험성 또는 안전성 평가에 관련성이 있어야 함(ECHA, 2016).
- 동물대체법과 NAM의 차이점:** NAM은 동물 모델 대체법에 관한 오늘날의 논의 속에서 여러 가지 다른 의미를 지니게 되었음. 이 용어가 때로는 비동물적 방법 또는 새로운 대체 방법을 의미하기도 하지만, 대체적으로 NAM을 '신규 접근 방법론(New Approach Methodologies)'으로 정의하여 사용. 따라서 NAM은 단순히 동물대체시험법(Animal-alternative test)을 의미하거나 단순히 새로운 과학적 방법이 아님. NAM은 인간 관련성(Human Relevance)을 기반으로 비임상 자료 생산이 이루어지므로 임상시험에서 예측력이 더 높은 비동물적 접근법임(Lush Prize, 2005; Emulatebio, 2025; Devine 등, 2025). 따라서 NAM이 동물대체시험법과 다른 점은 인간 관련성이 더 높다는 것이고 결과적으로 이를 기반으로 한 자료가 규제기관의 활용성이 가능하다고 할 수 있음.

<FDA, 2025> U.S. Food and Drug Administration sent this bulletin at 04/10/2025 04:11 PM EDT. US Food and Drug Administration FDA Announces Plan to Phase Out Animal Testing Requirement for Monoclonal Antibodies and Other Drugs

- FDA가 발표와 함께 공개한 새로운 로드맵은 신약의 안전성과 효능을 평가하기 위한 현대화된 프레임워크를 제시하며, 여기에는 신개념 평가 방법론(NAMs)이 대폭 도입된다. 주요 내용은 다음과 같다:
- **인체 내 약물 행동을 모델링**하고 잠재적 독성을 예측하는 **인공지능 기반 시뮬레이션**.
- **인간 세포 기반 모델 및 오가노이드**(실험실에서 배양한 소형 장기 모형)를 통해 실제 인간 조직이 새로운 치료법에 어떻게 반응할지 확인할 수 있음.
- **글로벌 인간 안전성 데이터를 활용**함으로써 FDA는 유사한 규제 기준을 가진 타국의 기존 임상 증거를 신뢰할 수 있어 반복적인 동물 실험의 필요성을 줄일 수 있음.

<원문>

- The FDA's new roadmap, released alongside the announcement, outlines a modernized framework for assessing drug safety and efficacy—one that heavily incorporates New Approach Methodologies (NAMs). These include:
- AI-based simulations that model how a drug behaves in the human body and predict possible toxicities.
- Human cell-based models and organoids—miniature lab-grown versions of organs—that can show how real human tissue would respond to a new therapy.

- Global human safety data, enabling the FDA to rely on existing clinical evidence from other countries with comparable regulatory standards, reducing the need for repetitive animal studies.

2. New Approach Methodologies의 5 원칙

- 입법기관으로는 동물 희생의 감소가 주요 목적이지만 규제기관으로서는 동물 희생의 감소와 더불어 인체에서 안전성 확보가 핵심목표. 또한 개발자 입장에서는 NAM은 신약개발의 전반적인 프로세스에서 비용과 시간을 감소시킬 수 있는 방향으로 개발이 필요함.
- NAMs(신규 접근 방법론 또는 신규 접근법)은 규제 결정을 지원하고 신약 개발을 촉진하기 위해 **인간 관련성(human-relevant)**, 신뢰성(reliable) 및 재현성(reproducible)이 보장된 데이터와 더불어 다음과 같이 5가지 요소에 적합한 방향으로 발전이 필요함.
 - ① 인간 관련성(Human Relevance): 동물 모델보다 인간 생물학을 더 가깝게 반영하는 첨단 체외 모델(예: 오가노이드, 칩 위의 장기), 컴퓨터 시뮬레이션 모델링 및 AI 기반 독성 예측의 사용을 장려할 것임. 이는 NAM이 인간 유래 세포를 활용하거나 인간 생리학적 조건을 모사하여 중간 외삽과 관련된 불확실성을 줄이기 위함임.
 - ② **기전적 통찰력(Mechanistic Insight)**
 - ③ **변동성 감소(Reduced Variability)**
 - ④ **시스템 수준 통합(Systems-Level Integration)**
 - ⑤ **고속 스크리닝(High-Throughput Screening)**

3. 약물 모달리티별 독성기전의 차이

- 신약 개발에서 앞서 비임상 측면에서 약물 모달리티(modarity)별 다음과 같은 독성기전에 대한 이해를 기반으로 출발이 중요함.

<비임상시험 항목>	합성의약품	폴리펩타이드 및 단백질 그리고 핵산 등의 고분자의약품	세포치료제
<ul style="list-style-type: none"> • 약리 표적과 관계 	<ul style="list-style-type: none"> • 무관하게 독성 발생 	<ul style="list-style-type: none"> • 수용체의 유무 • 수용체와의 affinity • 수용체/약물의 ratio 	<ul style="list-style-type: none"> • 표적치료제일 경우 관계가 있지만 영양적 요소 기전을 기반한 치료제는 무관
<ul style="list-style-type: none"> • 항원성 및 면역계 영향 	<ul style="list-style-type: none"> • 친전자성으로 전환되어 단백질과 결합할 경우에 발생하지만 낮은 빈도 	<ul style="list-style-type: none"> • 자체가 항원성을 가짐 • 특히 noncanonical amino acid일 경우 높음 	<ul style="list-style-type: none"> • 인체 및 환자-유래 세포이기 때문에 낮음
<ul style="list-style-type: none"> • 화학적 발암성 (chemical carcinogenesis) 	<ul style="list-style-type: none"> • 친전자성 대사체 발생에 의한 돌연변이원성으로 높음 	<ul style="list-style-type: none"> • Noncanonical amino acid를 포함한 폴리펩타이드일 경우 주의 요함 	<ul style="list-style-type: none"> • 없음
<ul style="list-style-type: none"> • 종양원성 (tumorigenesis) 	<ul style="list-style-type: none"> • 없음 	<ul style="list-style-type: none"> • 없음 	<ul style="list-style-type: none"> • Immortal cell로 전환 가능성 높음
<ul style="list-style-type: none"> • 안전성약리 	<ul style="list-style-type: none"> • 종간 차이가 있기 때문에 임상시험에서 예측이 어려움 	<ul style="list-style-type: none"> • 다양한 수용체와 상호작용에 의한 cross-reactivity 가능성으로 예측 어려움 	<ul style="list-style-type: none"> • 낮음
<ul style="list-style-type: none"> • 독성기전의 핵심 요소 	<ul style="list-style-type: none"> • Cytochrome P450 	<ul style="list-style-type: none"> • 약물의 사이즈와 noncanonical 아미노산 및 핵산을 포함한 약물 • Cross-reactivity 	<ul style="list-style-type: none"> • 암세포로의 전이성
<ul style="list-style-type: none"> • 기타 사항 	약물의 전달체 vector인 virus 및 lipid-nano particle은 고려하지 않음		

4. 비임상 NAM의 핵심 5원칙 - 기전적 통찰력(Mechanistic Insight)

1) NAM의 광범위한 채택을 가로막는 장애물

① 약물의 전신적 영향

- NAM은 큰 잠재력을 지녔음에도 불구하고, 광범위한 규제 승인을 위해 필요한 엄격한 과학적 검증 기준을 충족하는 데 있어 중대한 도전에 직면해 있음. 핵심 문제는 현재의 NAM이 일반적으로 단일 세포나 장기 수준에서의 통찰력만을 제공할 뿐, 여러 장기 간의 복잡한 상호작용이나 약물이 전신에 미치는 체계적 효과를 포착하지 못한다는 점임.
- 예를 들어 주요 장기 기능을 모방하는 3차원 세포 배양체인 오가노이드는 전체 장기 생리학을 재현할 수 있는 혈관 시스템을 갖추지 못함. 진전이 이루어지고 있지만, 전신적 약물 분포, 대사, 면역 반응을 아우르는 인간 생리학의 완전한 복잡성을 재현하는 것은 여전히 상당한 과학적·공학적 장벽임.

② 약물 모달리티별 전체적 독성 프로파일

- 다양한 NAM 분석법의 예측 가능성과 발전 정도는 상당히 차이가 있음. 예를 들어, 단백질과 같은 생물학적 제제의 예측 독성학 분야에서 NAM은 상당한 진전을 이루었는데, 이는 잘 정의된 단백질-단백질 상호작용이 체외 모델링에 더 적합하기 때문임.
- 반면, 합성의약품의 독성 예측은 뒤쳐져 있음. 이러한 화합물은 종종 "점착성(sticker)" 행동을 보이며 더 광범위한 생물학적 표적과 더 복잡하고 비특이적인 상호작용을 일으킴. 현재의 NAM으로 전체 독성학적 프로파일을 정확히 포착하기 어려움. 앞으로 이러한 과제를 해결하고 NAM의 잠재력을 완전히 실현하기 위해서는 강력한 검증 노력이 필수적일 것임.

2) 합성의약품의 독성기전

- Mechanism-based activation (MBA, 기전-기반 활성화)은 사이토크롬 P450에 의한 약물 대사적 생체활성화(metabolic bioactivation of a xenobiotic by cytochrome P450)로, 고반응성 중간체를 생성하여 이후 해당 효소에 결합함으로써 준불가역적 또는 불가역적 억제를 초래하는 현상을 의미함.
- 약물의 기전-기반 활성화는 합성의약품의 drug-drug interaction에 의한 독성을 제외하고 합성의약품의 잠재적 기능성 그룹(예: 티오펜, 푸란, 알킬아민 등)이 cytochrome P450에 의한 고반응성 중간체(highly reactive intermediates) 생성에 기인함.
- 지난 10년간 분자 모델링 기법, 특히 밀도 함수 이론을 통해 약물이 CYP450 효소에 의해 고반응성 중간체(highly reactive intermediates)를 생성하는 가장 타당한 메커니즘이 밝혀졌음 (Hirao 등, 2025; Goings 등, 2022). 따라서 CYP450 효소에 의해 고반응성 중간체(highly reactive intermediates) 생성 기전에 대한 이해는 합리적 약물 설계, 독성 예방 과정, 신규 억제제 및 촉매 발견 등을 통해 응용이 가능함.
- 특히 합성의약품에 대해 NAM으로 전체 독성학적 프로파일을 정확히 포착하기 어려움을 **둔이 확인할 필요성은 없음**. 이유는 합성의약품의 비표적 전신독성은 고반응성 중간체(highly reactive intermediates) 생성에 기인하기 때문임. 즉, 구체적으로 어느 기관에서 발생하는지에 대한 학인 어렵지만 독성 기전의 핵심 원리이기 때문에 비표적 전신독성을 유발한다는 것

은 추정이 가능함.

3) CYP450의 최신 computational NAM 모델 - AOM과 BOM의 결합한 SOM 라벨링 접근법

- 지금까지의 대사 예측 알고리즘은 대사 원자(AOM, Atom of metabolism)에만 의존하여 대사 부위(SOM, sites of metabolism)를 예측.
- 그러나 원자와 Cytochrome P450의 모호한 매칭의 극복하고 다양한 촉매반응의 오분류를 줄이기 위해 AOM과 BOM(bond of metabolism)의 결합을 통한 SOM labelling의 필요성
- 즉, hydroxylation 및 heteroatom oxidation과 같은 단일 원자 위치에서 발생하는 반응은 AOM으로 labelling하고 화학결합이 이루어지는 원자쌍이 관여하는 반응인 dealkylation, hydrolysis, 그리고 epoxidation은 BOM으로 labelling. 특히 cytochrome P450에 의한 이들 반응(dealkylation, hydrolysis, 그리고 epoxidation)은 친전자성 대사체의 Reactive intermediate을 생성에 있어 핵심적인 역할을 함.
- 이에 대한 자세한 내용은 AITOX 컨설팅보고서 81. FDA 2020-2024년 승인된 합성신약의 대사체-90% 예측 AI-프로그램을 참조

4) 합성의약품의 친전자성 물질 생성 기전: Cytochrome P450 vs Natural decomposition

4-1) 합성의약품에 대한 독성 예측에 대한 의견

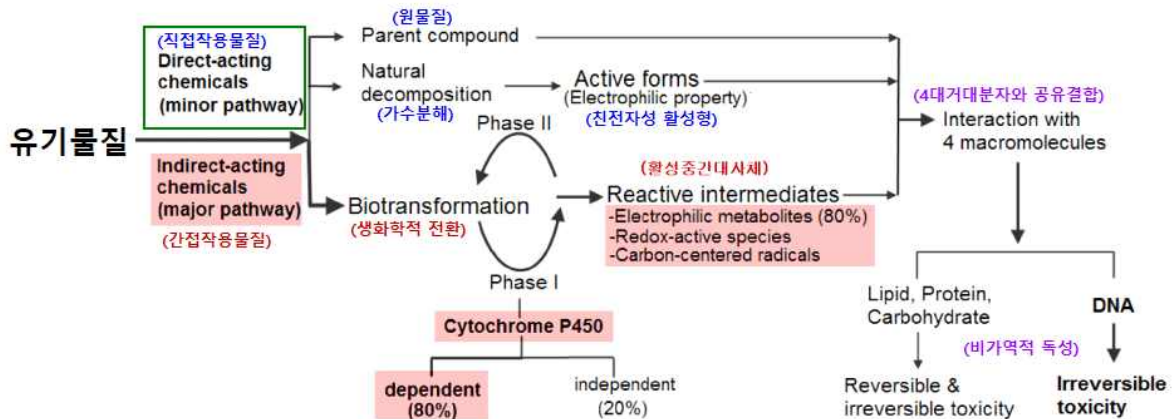
- <참고문헌-1>은 NAM을 위해서 가장 문제되는 약물 모달리티가 '합성의약품의 독성 예측이 가장 뒤쳐져 있고 비특이적인 상호작용으로 인하여 전체 독성학적 프로파일을 정확히 포착하기 어렵다고' 주장함.

<p><참고문헌-1> Brandon Parry et al., How new approach methodologies are reshaping drug discovery. https://www.mckinsey.com. June 18, 2025.</p> <ul style="list-style-type: none"> • <주장> 반면, 합성의약품의 독성 예측은 뒤쳐져 있음. 이러한 화합물은 종종 "점착성 (sticker)" 행동을 보이며 더 광범위한 생물학적 표적과 더 복잡하고 비특이적인 상호작용을 일으킴. 현재의 NAM으로 전체 독성학적 프로파일을 정확히 포착하기 어려움. 앞으로 이러한 과제를 해결하고 NAM의 잠재력을 완전히 실현하기 위해서는 강력한 검증 노력이 필수적일 것임. • <원문>Conversely, predicting the toxicity of small molecules lags behind. These compounds often display "stickier" behavior and engage in more-complex, frequently nonspecific interactions with a broader range of biological targets, which complicates accurately capturing their entire toxicological profile with current NAMs. Looking ahead, strong validation efforts will be crucial in addressing these challenges and realizing the full potential of NAMs.
--

4-2) 친전자성 생성의 2 경로: Cytochrome P450 vs Natural decomposition

- 사실 <참고문헌-1>에 대한 주장은 독성학에 대한 기본 원리의 이해 부족으로 기인하는 것으로 추정됨. 파라셀수스의 용량이 약과 독으로 결정한다는 500년 전의 dogma 인식에 벗어나지 못하는 것임.
- 사실 규제기관이나 제약업계 등도 파라셀수스의 도그마에서 벗어나지 못하기 때문에 인허가 과정에서 수많은 비논리적이면서 비독성학적 기반의 troubleshooting 발생과 글로벌 신약 하나 제대로 개발을 못한 이유가 됨. 최근 국내의 모 규제기관에서는 인허가 과정을 신속하게 진행하기 위해 200 여명의 인허가 전문가를 모집한다고 함. 아주 다행스러운 정책 변화이지만 올바른 독성학을 배우지 못한 약대 출신 중심으로 선발된다면 규제기관의 미래는 아주 희망적이지 못할 것으로 추정됨. 가이드라인이나 펼치면서 막무가내의 주장에 얼마나 많은 개발자가 규제기관의 비논리적/비학문적 주장을 경험한 것은 인지상정임. 예를 들어 2019 Annual meeting of the American College of Toxicology에서 IND를 위한 약리/독성 평가자인 Dr. Alapatt의 발표된 내용에 따르면 팀내 또는 조직 내에서도 NOAEL에 대한 이해가 서로 다르다는 것임(Baldrick 등, 2020). 우리나라 규제기관의 비논리적/비학문적 테러라는 것은 획일성에서 나옴. FDA에서처럼 심사자들의 견해가 차이가 있다면 개발자와 의견과 일치하는 경우에는 개발자의 의견이 받아들일 수 있다는 점임. IND(investigational new drug, 임상시험 승인신청)의 심사위원은 대부분 약대 출신임. IND의 핵심은 비임상 독성과 약리를 기반으로 임상시험 예측에 대한 심사가 이루어짐. 대부분의 개발자 의견에 따르면 비임상 자료 분석에서 치밀하지 못하다는 것임. 이러한 측면에서 약대의 독성학 교육이 얼마나 허약한지 이해가 되며 동시에 약대에서 올바른 독성학 교육은 우리나라 신약 개발 중요한 기여를 한다는 것을 명심할 필요성 있음. 예를 들어 미국 FDA의 약리/독성 리뷰어처럼 동물을 이용한 독성 시험 자료 하나 없이 IND에서 임상시험 승인이 가능할 정도의 수준을 끌어 올릴 정도의 독성학 수준이 필요하다는 것임. 어떤 방법으로든 200 여명 인허가 전문가의 새로운 선발자들에게 제대로 된 독성학 교육이 필요하다고 사료됨. 만약 규제기관 내의 교육에서 벗어나지 못한다면 인허가에서 획일성은 더욱 증가되며 또 다른 인허가의 비논리적/비학문적 끈대를 양성할 뿐일 것으로 사료됨.

- 약대에서 IND를 위한 독성학 핵심은 파라셀수스의 용량이 약과 독으로 결정한다는 500년 전의 dogma 인식에서 벗어나야 함. 벗어나는 우선적인 것은 어떻게 친전자성 물질이 생성되며 어떻게 이들에 의해 독성이 발현되는지에 대한 이해임. 아래의 <그림>은 합성의약품의 기본 성분인 유기물질이 체내에서 어떻게 친전자성으로 전환되는가에 대한 2가지 경로인 가수분해와 같은 비효소적인 친전자성 활성화형 생성 경로인 natural decomposition(자연분해)과 효소적 방법인 biotransformation에 의한 활성중간대사체(reactive intermediate, reactive metabolite)임. 이들은 DNA 및 단백질의 전자가 풍부한 친핵성 부위에 공유결합하여 돌연변이와 효소활성 저해를 유발, 또는 지질과산화물을 통해 독성을 유발함. 따라서 **합성의약품의 독성기전은 대부분 DNA 손상, 효소 비활성 그리고 산화적 스트레스 등 3가지 주요 원인**이 됨.



<그림> 유기물질이 독성기전의 기본 원리(박영철, 2010; Park 등, 2014)

- 대부분의 항암제 단독으로 처리하였을 경우에 수많은 부작용이 발생하는 이유는 이들 친전자성 전환물질이 암세포뿐만 아니라 정상세포도 공격하기 때문임. 따라서 앞서 <참고문헌-1>에서 "이러한 화합물은 종종 "점착성(sticker)" 행동을 보이며 더 광범위한 생물학적 표적과 더 복잡하고 비특이적인 상호작용을 일으킴. 현재의 NAM으로 전체 독성학적 프로파일을 정확히 포착하기 어려움. 앞으로 이러한 과제를 해결하고 NAM의 잠재력을 완전히 실현하기 위해서는 강력한 검증 노력이 필수적일 것임."이라는 의미는 합성의약품의 독성학을 모른다는 자기 고백과 마찬가지로.

4-3) Cytochrome P450 vs Natural decomposition의 예시

4-3-1) Astrazeneca가 개발한 Osimertinib의 Biotransformation 예시

- 또한 cytochrome P450에 의한 친전자성으로 전환되는 물질들은 정상세포에는 독성을 유발하지만 암세포의 증식과 사멸을 유도하는 거의 모든 항암제 개발에 응용되는 기본 독성 원리임. 예를 들어 아래의 <Figure 1>의 Receptor tyrosine kinase(RTK) 저해제의 예시처럼 Astrazeneca가 개발한 Osimertinib와 유한양행의 Lasertinib에 주목할 점은 RTK의 TK-domain에서 돌연변이가 발생한 T790M 및 T790M에 각각 선택적이면서 공유결합(covalent bond)을 통한 비가역성의 친전자성(electrophilic)으로 전환되는 물질임(Sattler 등, 2023).

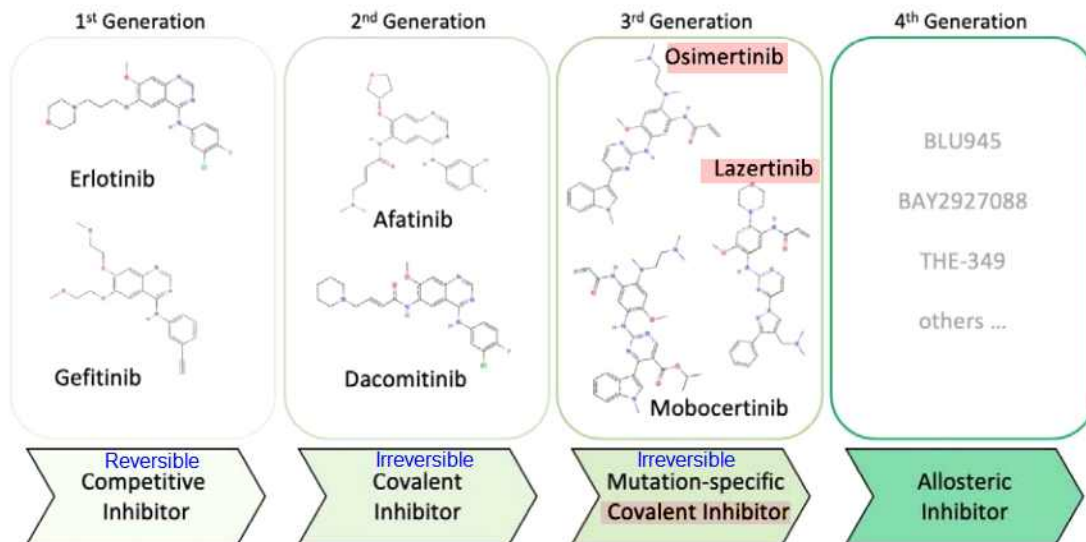


Figure 1. Evolution of EGFR tyrosine kinase inhibitors.

- Osimertinib은 주로 CYP3A4/5에 대사되어 7종의 대사산물이 확인되었음(Dickinson 등, 2016). 대사체의 확인은 cytochrome P450이 가장 많은 간세포 배양을 통해 확인되었고 마우스, 랫드, 개, 그리고 인간의 간세포 배양에서 각 종별 대사체가 Table 4에서처럼 모두 다름이 확인할 수 있음. 친전자성대사체는 독성물질이므로 체내 방어체계는 간에서만 유일하게 합성되며 cysteine를 포함한 3개의 아미노산으로 구성된 glutathione(GSH)에 제거됨. GSH의 cysteine은 -SH의 전자가 풍부한 친핵성 물질임. GSH가 간에서만 합성되기 때문에 간이 해독의 중심기 관임. Table 4에서 인간 간세포에서 생성된 대사체 중 M10 대사체만 GSH와 결합하기 때문에 CYP3A4/5에 의해 생성된 유일한 친전자성 대사체임. 특히 가 종별 친전자성 대사체 생성에서 차이가 나는데 이는 중간 cytochrome P450이 다르기 때문이며 이와 같은 기전에 인하여 독성의 중간 차이가 발생함. 따라서 M10 대사체가 암세포에서 Receptor tyrosine kinase(RTK)와 결합하여 암 성장을 억제하는 약리작용 핵심 대사체임을 알 수 있음. 이와 같이 cytochrome P450에 의한 대사 경로와 친전자성 대사체 생성 여부에 대한 확인은 신약개발 및 독성기전 이해에 핵심요소임.

TABLE 4. Semiquantification by ultraviolet (UV) spectroscopy of osimertinib metabolites in mouse, rat, dog, and human hepatocytes

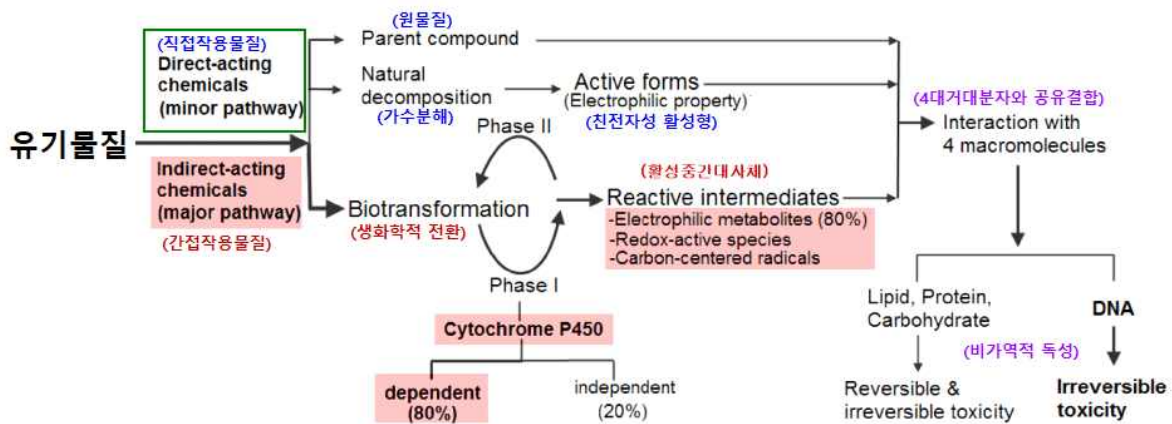
Peak ID	Proposed Structure	Proportion (%) of UV Chromatogram (320–330 nm) ^a			
		Mouse	Rat	Dog	Human
M1	Oxidation (+O)	<1	<1	1–10	<1
M2	Dealkylation (-C ₄ H ₉ N)	ND	<1	<1	<1
AZ7550	Demethylation (-CH ₂)	1–10	1–10	1–10	1–10
M4	Oxidation (+O)	1–10	1–10	1–10	1–10
M5	Oxidation (+O ₂)	<1	<1	<1	ND
AZ5104	Demethylation (-CH ₂)	<1	<1	<1	<1
M7	Oxidation (+O)	ND	ND	<1	ND
M8	Cysteine-glycine adduct	ND	<1	ND	<1
M9	Demethylation (-CH ₂) + oxidation (+O)	1–10	<1	<1	ND
M10	Glutathione adduct	1–10	>10	1–10	<1
M11	Acetylation or deamination + glutathione	1–10	1–10	ND	ND
M12	Dealkylation (-C ₄ H ₉ N) + glutathione	1–10	ND	ND	ND
M13	Oxidation (+O) + glutathione	1–10	1–10	ND	ND
M14	Oxidation (+O) + sulfation	ND	ND	<1	ND
M15	Glutathione adduct	<1	<1	ND	ND
M16	Oxidation (+O) + glucuronidation	<1	<1	ND	ND

^a% represents percentage of parent (osimertinib) UV response
ND, not detectable by mass spectrometry.

4-3-2) 타이레놀은 인간 태아 독성을 유발하지 않지만 가슴기 살균제는 왜 유발하는가?

① 타이레놀의 모체와 태아에서의 독성 차이에 대한 이해: Robinson(2020) 등의 연구에 따르면 CYP는 태아 조직 대비 성인 간에서 주로 높은 수준으로 발현됨. CYP 효소의 60%는 태반에서 정상 수준으로 발현되었음. 실험실 분석에서 성인 및 태아 조직 간 CYP 특이적 발현/활성 차이를 관찰되었으며 CYP2E1 및 CYP3A4는 성인 간 대비 태아 간에서 현저히 낮은 발현량을 보였음. 따라서 태아에 도달한 타이레놀은 CYP2E1 효소 활성이 없으므로 대사가 되지 않고 배출될 것으로 예상됨. 따라서 이러한 이유로 타이레놀에 대한 모체와 태아의 독성이 차이가 있음. 즉, CYP2E1이 태아에서는 발현되지 않으므로 타이레놀의 친전자성대사체가 생성되지 않기 때문에 태아에 독성이 유발하지 않음(참고: 91. 비임상 NAM의 핵심 5원칙 - 인간 관련성(Human Relevance)).

② 가슴기살제 CMIT/MIT의 태아 독성: 체내를 구성하는 당, 단백질, 지질, 그리고 핵산 등과 공유결합을 하여 독성을 유발하는 물질은 반드시 아래의 <그림>에서처럼 2가지 경로인 가수분해와 같은 비효소적인 친전자성 활성화형 생성 경로인 natural decomposition(자연분해)과 효소적 방법인 biotransformation에 의한 활성중간대사체(reactive intermediate, reactive metabolite)임. 즉 이들은 친전자성물질은 비효소적 자연분해와 cytochrome P450에 의한 효소적 biotransformation에 기인함. 타이레놀이 성인에서 독성을 유발하고 태아에서 독성을 유발하지 않는 이유는 cytochrome P450의 CYP2E1에 의한 효소적 biotransformation에 의해 대사에 의해 친전자성대사체 생성 유무에서 차이가 있기 때문임. 가슴기살균제 CMIT/MIT는 친전자성 물질로 전환되며 4대거대분자와 결합하여 독성을 유발함. 친전자성 물질로의 전환이 효소적 경로가 아닌 비효소적 자연분해에 의해 이루어짐.

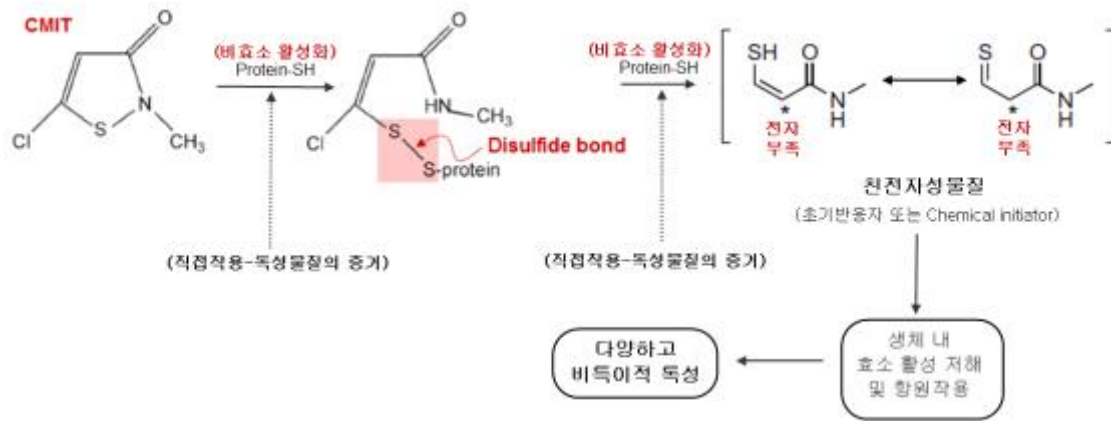


<그림> 유기물질이 독성기전의 기본 원리(박영철, 2010; Park 등, 2014)

- CMIT는 아래의 <그림 10-9>에서처럼 cytochrome P450에 의해 친전자성으로 전환되는 것이 아니라 생체 내 단백질 등과 비특이적 반응으로 친전자성 물질로 전환되어 생체내 거대분자와 결합하여 독성을 유발하는 기전임 (Mutschler 등, 2019). 따라서 중간 차이가 있는 cytochrome P450에 의존한 대사가 아니고 자연분해에 기인하므로 중간 독성의 차이가 없이 생체 내 물이 존재하는 어느 곳에서도 독성을 유발할 수 있음.

<그림 10-9> CMIT의 비효소적 활성화를 통해 독성을 유발하는 기전(박영철, 2019)

(Continued)



<참고문헌>

- Dickinson PA, Cantarini MV, Collier J, Frewer P, Martin S, Pickup K, Ballard P. Metabolic Disposition of Osimertinib in Rats, Dogs, and Humans: Insights into a Drug Designed to Bind Covalently to a Cysteine Residue of Epidermal Growth Factor Receptor. *Drug Metab Dispos.* 2016 Aug;44(8):1201-12.
- ICH S2 (R1) Genotoxicity testing and data interpretation for pharmaceuticals intended for human use - Scientific guideline
- 박영철 (2010). 독성학의 분자-생화학적 원리, 한국학술정보(주), ISBN 978-89-268-1259-4.
- Park YC, Lee S, Cho MH. The Simplest Flowchart Stating the Mechanisms for Organic Xenobiotics-induced Toxicity: Can it Possibly be Accepted as a "Central Dogma" for Toxic Mechanisms? *Toxicol Res.* 2014 Sep;30(3):179-84.
- Baldrick P, Cosenza ME, Alapatt T, Bolon B, Rhodes M, Waterson I. Toxicology Paradise: Sorting Out Adverse and Non-adverse Findings in Animal Toxicity Studies. *International Journal of Toxicology.* 2020;39(5):365-378.
- Sattler M, Mambetsariev I, Fricke J, Tan T, Liu S, Vaidehi N, Pisick E, Mirzapoiiazova T, Rock AG, Merla A, Sharma S, Salgia R. A Closer Look at EGFR Inhibitor Resistance in Non-Small Cell Lung Cancer through the Lens of Precision Medicine. *J Clin Med.* 2023 Mar 1;12(5):1936.

12. 비임상 NAM의 핵심 5원칙 - (3) 기전적 통찰력(Mechanistic Insight)

1. New Approach Methodologies (NAMs): 기원과 의미

- 비임상연구에서 동물실험의 기여도:** 동물 모델은 임상시험 전 의약품의 효능과 안전성을 입증하는 데 있어 가장 신뢰할 수 있는 방법으로 간주가 되었음. 그러나 약 80~90%의 의약품이 임상시험에서 실패하며, 그중 40~70%는 임상적 효능 부족이나 독성으로 인해 2/3상에서 실패함. 이에 대체 방법으로 전환하면 동물 실험과 관련된 윤리적 문제를 해결하고, 인간 상태를 더 정확하게 반영하며, 의약품의 품질, 안전성 및 효능을 더 정확하게 예측이 가능할 것으로 기대되었음(Harrison, 2016).
- 용어의 최초 기원:** NAM(New Approach Methodologies)은 2016년 4월 헬싱키에서 열린 'New Approach Methodologies in Regulatory Science Proceedings of a scientific workshop'에서 공식적으로 제정된 용어로, 윤리적 연구 원칙을 수용하는 광범위한 기술, 기술 및 접근법을 포괄하며 전 세계 기관들의 규제 의사 결정에 점점 더 많이 채택되고 있음. 즉, 새로운 시험 또는 평가 방법이 NAM으로 인정받으려면 화학물질, 의약품 또는 기타 물질의 규제 위험성 또는 안전성 평가에 관련성이 있어야 함(ECHA, 2016).
- 동물대체법과 NAM의 차이점:** NAM은 동물 모델 대체법에 관한 오늘날의 논의 속에서 여러 가지 다른 의미를 지니게 되었음. 이 용어가 때로는 비동물적 방법 또는 새로운 대체 방법을 의미하기도 하지만, 대체적으로 NAM을 '신규 접근 방법론(New Approach Methodologies)'으로 정의하여 사용. 따라서 NAM은 단순히 동물대체시험법(Animal-alternative test)을 의미하거나 단순히 새로운 과학적 방법이 아님. NAM은 인간 관련성(Human Relevance)을 기반으로 비임상 자료 생산이 이루어지므로 임상시험에서 예측력이 더 높은 비동물적 접근법임(Lush Prize, 2005; Emulatebio, 2025; Devine 등, 2025). 따라서 NAM이 동물대체시험법과 다른 점은 인간 관련성이 더 높다는 것이고 결과적으로 이를 기반으로 한 자료가 규제기관의 활용성이 가능하다고 할 수 있음.

<FDA, 2025> U.S. Food and Drug Administration sent this bulletin at 04/10/2025 04:11 PM EDT. US Food and Drug Administration FDA Announces Plan to Phase Out Animal Testing Requirement for Monoclonal Antibodies and Other Drugs

- FDA가 발표와 함께 공개한 새로운 로드맵은 신약의 안전성과 효능을 평가하기 위한 현대화된 프레임워크를 제시하며, 여기에는 신개념 평가 방법론(NAMs)이 대폭 도입된다. 주요 내용은 다음과 같다:
 - 인체 내 약물 행동을 모델링**하고 잠재적 독성을 예측하는 **인공지능 기반 시뮬레이션**.
 - 인간 세포 기반 모델 및 오가노이드**(실험실에서 배양한 소형 장기 모형)를 통해 실제 인간 조직이 새로운 치료법에 어떻게 반응할지 확인할 수 있음.
 - 글로벌 인간 안전성 데이터를 활용**함으로써 FDA는 유사한 규제 기준을 가진 타국의 기존 임상 증거를 신뢰할 수 있어 반복적인 동물 실험의 필요성을 줄일 수 있음.

<원문>

- The FDA's new roadmap, released alongside the announcement, outlines a modernized framework for assessing drug safety and efficacy—one that heavily incorporates New Approach Methodologies (NAMs). These include:
 - AI-based simulations that model how a drug behaves in the human body and predict possible toxicities.
 - Human cell-based models and organoids—miniature lab-grown versions of organs—that can show how real human tissue would respond to a new therapy.

- Global human safety data, enabling the FDA to rely on existing clinical evidence from other countries with comparable regulatory standards, reducing the need for repetitive animal studies.

2. New Approach Methodologies의 5 원칙

- 입법기관으로는 동물 희생의 감소가 주요 목적이지만 규제기관으로서는 동물 희생의 감소와 더불어 인체에서 안전성 확보가 핵심목표. 또한 개발자 입장에서 NAM은 신약개발의 전반적인 프로세스에서 비용과 시간을 감소시킬 수 있는 방향으로 개발이 필요함.
- NAMs(신규 접근 방법론 또는 신규 접근법)은 규제 결정을 지원하고 신약 개발을 촉진하기 위해 **인간 관련성(human-relevant)**, 신뢰성(reliable) 및 재현성(reproducible)이 보장된 데이터와 더불어 다음과 같이 5가지 요소에 적합한 방향으로 발전이 필요함.
 - ① 인간 관련성(Human Relevance): 동물 모델보다 인간 생물학을 더 가깝게 반영하는 첨단 체외 모델(예: 오가노이드, 칩 위의 장기), 컴퓨터 시뮬레이션 모델링 및 AI 기반 독성 예측의 사용을 장려할 것임. 이는 NAM이 인간 유래 세포를 활용하거나 인간 생리학적 조건을 모사하여 중간 외삽과 관련된 불확실성을 줄이기 위함임.
 - ② **기전적 통찰력(Mechanistic Insight)**
 - ③ **변동성 감소(Reduced Variability)**
 - ④ **시스템 수준 통합(Systems-Level Integration)**
 - ⑤ **고속 스크리닝(High-Throughput Screening)**

3. 약물 모달리티별 독성기전의 차이

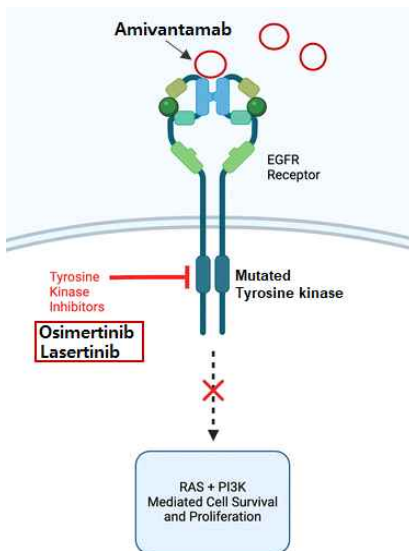
- 신약 개발에서 앞서 비임상 측면에서 약물 모달리티(modality)별 다음과 같은 독성기전에 대한 이해를 기반으로 출발이 중요함.

<비임상시험 항목>	합성의약품	폴리펩타이드 및 단백질 그리고 핵산 등의 고분자의약품	세포치료제
• 약리 표적과 관계	• 무관하게 독성 발생 • (Off-target toxicity)	• 수용체의 유무 • 수용체와의 affinity • 수용체/약물의 ratio	• 표적치료제일 경우 관계가 있지만 영양적 요소 기전을 기반한 치료제는 무관
• 항원성 및 면역계 영향	• 친전자성으로 전환되어 단백질과 결합할 경우에 발생하지만 낮은 빈도	• 자체가 항원성을 가짐 • 특히 noncanonical amino acid일 경우 높음	• 인체 및 환자-유래 세포이기 때문에 낮음
• 화학적 발암성 (chemical carcinogenesis)	• 친전자성 대사체 발생에 의한 돌연변이원성으로 높음	• Noncanonical amino acid를 포함한 폴리펩타이드일 경우 주의 요함	• 없음
• 종양원성 (tumorigenesis)	• 없음	• 없음	• Immortal cell로 전환 가능성 높음
• 안전성약리	• 중간 차이가 있기 때문에 임상시험에서 예측이 어려움	• 다양한 수용체와 상호작용에 의한 cross-reactivity 가능성으로 예측 어려움	• 낮음
• 독성기전의 핵심 요소	• Cytochrome P450	• 약물의 사이즈와 noncanonical 아미노산 및 핵산을 포함한 약물 • Cross-reactivity	• 암세포로의 전이성
• 기타 사항	약물의 전달체 vector인 virus 및 lipid-nano particle은 고려하지 않음		

5) Astrazeneca의 Osimertinib vs 유한양행의 Lasertinib의 신약 개발에서 독성학적 중요성

5-1) Osimertinib과 Lasertinib의 항암기전과 친전자성대사체

5-1-1) 항암기전: 유한양행의 Lasertinib은 비소세포폐암의 이중항체치료제인 아미반타맵(amivantamab)과 병용요법으로 이용되는 합성의약품임. 약리기전은 EGFR(epidermal growth factor receptor)의 세포막 내 영역에 존재하는 receptor tyrosine kinase(RTK)의 저해제임. Amivantamab이 암세포의 세포막 표면 영역의 부분에 결합하여도 돌연변이 tyrosine kinase가 존재한다면 암세포 증식을 막지 못함. <그림>에서처럼 Lasertinib과 Osimertinib은 돌연변이 tyrosine kinase에 공유결합하여 암세포 증식을 차단함. 만약 친전자성으로 RTK에 공유결합이 이루어지지 않는다면 쉽게 분리되어 돌연변이형 RTK의 비정상적인 활성화로 Amivantamab 역할도 넘어 세포 증식이 지속될 것임(Zhong 2021; Wu 등, 2022; Lee 등, 2025) .



<그림> Osimertinib과 Lasertinib의 receptor tyrosine kinase(RTK)의 저해 기전

5-1-2) Osimertinib과 Lasertinib의 친전자성 생성과정

① Osimertinib의 종별 친전자성 대사체 분석

- Table 4는 마우스, 랫드, 개 그리고 사람의 primary hepatocyte에서 대사체를 확인한 것임. 종별 대사체 프로파일링은 모두 다르다는 것을 확인할 수 있음. 인체 간세포에서 RTK 활성 저해가 가능한 유일한 친전자성 대사체는 glutathione(GSH)와 결합된 형태인 M10 대사체임. 친전자성대사체와 결합하는 유일한 생체 내 물질은 GSH뿐임. 반면에 마우스, 랫드 그리고 비글견인 경우에 M10뿐만 아니라 여러 친전자성대사체가 생성되는 것을 확인할 수 있음.

TABLE 4
Semiquantification by ultraviolet (UV) spectroscopy of osimertinib metabolites in mouse, rat, dog, and human hepatocytes

Peak ID	Proposed Structure	Proportion (%) of UV Chromatogram (320-330 nm) ^a			
		Mouse	Rat	Dog	Human
M1	Oxidation (+O)	<1	<1	1-10	<1
M2	Dealkylation (-C ₄ H ₉ N)	ND	<1	<1	<1
AZ7550	Demethylation (-CH ₂)	1-10	1-10	1-10	1-10
M4	Oxidation (+O)	1-10	1-10	1-10	1-10
M5	Oxidation (+O ₂)	<1	<1	<1	ND
AZ5104	Demethylation (-CH ₂)	<1	<1	<1	<1
M7	Oxidation (+O)	ND	ND	<1	ND
M8	Cysteine-glycine adduct	ND	<1	ND	<1
M9	Demethylation (-CH ₂) + oxidation (+O)	1-10	<1	<1	ND
M10	Glutathione adduct	1-10	>10	1-10	<1
M11	Acetylation or deamination + glutathione	1-10	1-10	ND	ND
M12	Dealkylation (-C ₃ H ₉ N) + glutathione	1-10	ND	ND	ND
M13	Oxidation (+O) + glutathione	1-10	1-10	ND	ND
M14	Oxidation (+O) + sulfation	ND	ND	<1	ND
M15	Glutathione adduct	<1	<1	ND	ND
M16	Oxidation (+O) + glucuronidation	<1	<1	ND	ND

^a% represents percentage of parent (osimertinib) UV response
ND, not detectable by mass spectrometry.

- Table 3을 통해 Osimertinib의 대사에 관여하는 cytochrome P450을 나타낸 것임. 약 50% 정도로 CYP3A4와 CYP3A5, 그리고 나머지 약 50%가 CYP1A2, 2A6와 2C9에 의해 대사되는 것을 확인할 수 있음. 논문에서는 확인이 되지 않았지만 약리작용을 하는 M10은 CYP3A4에 의해 생성될 가능성이 높을 것으로 추정됨.

TABLE 3
Percentage of metabolism^a of osimertinib, AZ5104, and AZ7750 through recombinant expressed cytochrome isoforms

Cytochrome Isoform	Compound		
	Osimertinib	AZ5104	AZ7750
1A2	12.0	0.373	ND
2A6	15.5	ND	ND
2B6	ND	ND	ND
2C8	ND	3.19	0.129
2C9	15.5	0.160	ND
2C19	ND	0.958	ND
2D6	ND	0.285	ND
2E1	3.0	ND	ND
3A4	44.4	67.0	99.9
3A5	9.6	28.1	ND

^aRelative contribution for the 10 displayed cytochrome isoforms only.
ND, not detected.

② Lasertinib

- LAZCLUZE® (lazertinib)에 대한 Medical Information(2025)에 따르면 lazertinib은 CYP3A4의 기질임. 또한 <참고문헌-1>에서처럼 **건강한 사람을 대상으로 임상시험에서 glutathione-S-transferase mu 1 (GSTM1)을 통해** glutathione conjugation이 되었음. 이는 CYP3A4에 의해 친전자성대사체로 biotransformation된다는 것을 의미함.

<참고문헌-1> Mehta J, Thompson C, Scheers E, Leclercq L, Jang SB, Kim DK, Haddish-Berhane N, Hellemans P, Jiao JJ, Clemens PL. Clinical Pharmacokinetic Assessment of Lazertinib in Healthy Adult Participants: Effects of GSTM1 Genotype. Clin Drug Investig. 2025 Dec;45(12):935-944.

Abstract

Background and objective: Lazertinib, a potent and irreversible third-generation oral **epidermal growth factor receptor (EGFR) tyrosine kinase inhibitor (TKI)**, has shown promising efficacy and favorable tolerability in EGFR-mutated non-small cell lung cancer (NSCLC). On the basis of in vitro findings, lazertinib is primarily metabolized by glutathione conjugation via **glutathione-S-transferase mu 1 (GSTM1)**, occurring via enzymatic activity of GST or non-enzymatic processes, as well as through **cytochrome P450 3A4**. Here, we report the effect of GSTM1 on lazertinib pharmacokinetics (PK) using clinical evaluations.

Methods: The effect of GSTM1 on lazertinib PK was evaluated in multiple phase 1 pharmacology studies. Clinical studies ([NCT03556436](#), [NCT04410081](#), and [NCT05076877](#)) involving healthy adult participants given lazertinib were analyzed on the basis of GSTM1 genotype (null [i.e., no expression] or non-null [i.e., expression]).

Results: In a clinical study where participants were genotyped and analyzed to determine the association of lazertinib plasma maximum concentration (C_{max}) and area under curve (AUC) with a panel of genes known to affect PK, GSTM1 genotype showed a statistically significant association with AUC. Compared with null GSTM1 participants, non-null GSTM1 participants had relatively lower plasma exposure owing to increased GSTM1-mediated clearance. The mean single-dose and steady-state plasma C_{max} and AUC of lazertinib was 1.1- to 1.8-fold and 1.4- to 2.2-fold higher in null GSTM1 participants, respectively. The safety profiles of lazertinib were generally comparable across null and non-null GSTM1 participants.

Conclusions: Overall, GSTM1 status affected lazertinib PK in healthy participants and hence further research is warranted to determine the magnitude of PK differences and whether they are clinically meaningful in the NSCLC patient population intended to be treated with lazertinib.

③ Osimertinib과 Lasertinib의 친전자성대사체 생성에서 공통점

- 인체의 간세포 및 인체에서 Osimertinib은 거의 50% 정도가 CYP3A4, 또한 Lasertinib도 CYP3A4에 의해 친전자성대사체로 전환된다는 점

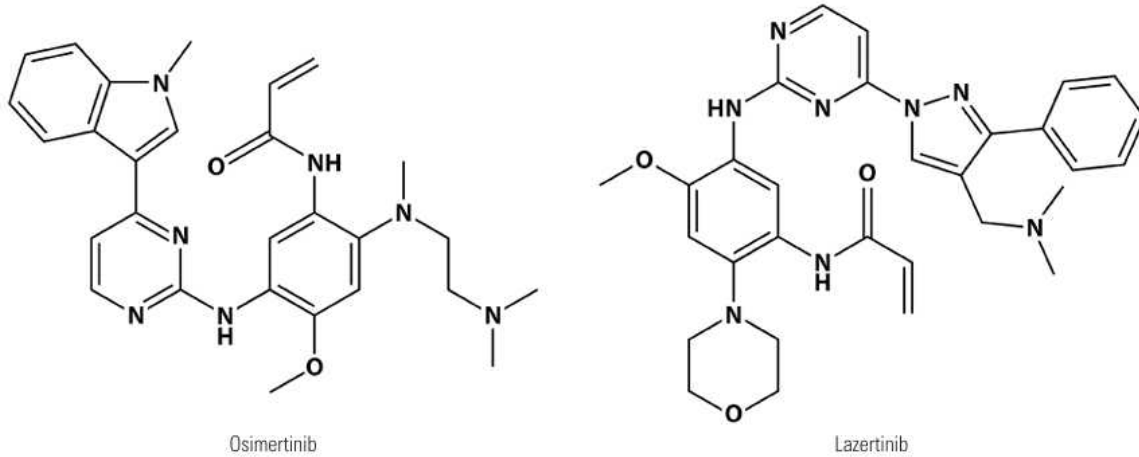


Fig. 1. Chemical structures of lazertinib and osimertinib.

④ Osimertinib vs Lasertinib의 신약 개발에서 독성학적 중요성

- 토픽의 중요성은 기전 기반 방식(mechanism-based approach)을 통한 Osimertinib 유사체 개발을 위한 다음과 같은 알고리즘 개발임
- Fig 1처럼 이들 원물질과 실제적으로 돌연변이 RTK에 공유결합하는 M10의 친전자성대사체로 전환되는 CYP3A4-관련 대사 변환 규칙(relevant metabolic transformation rules) 적용을 통한 알고리즘 개발. 물론 Lasertinib의 친전자성대사체도 포함되면 좀 더 예측력이 강화될 수 있을 것으로 예상됨. 물론 CY3A4에 의한 친전자성대사체를 형성되는 기질을 포함하여 dataset 구성하는 것도 도움이 될 수 있음.
- M10의 친전자성대사체 예측 프로그램 개발 후 Osimertinib과 Lasertinib의 다양한 변형을 통해 M10 대사체 확인. 그리고 인체 간세포를 이용하여 M10 대사체 형성 확인.
- 실제로 Lazertinib도 Osimertinib의 유사체로 개발된 것을 유한양행이 라이선스 획득 후 개발된 것으로 알려짐.

6) 유전독성시험의 문제점과 새로운 NAM의 방법 개발

6-1) 유전독성시험의 구성

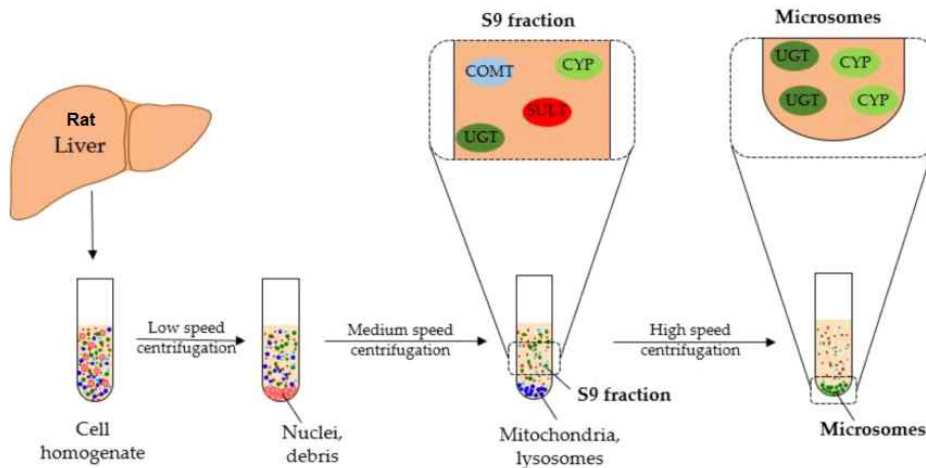
- 일반적으로 아래의 <표>에서 노란색 부분처럼 in vitro 복귀돌연변이시험, in vitro 염색체 이상시험, 마우스를 이용한 소핵시험 등 3가지로 구성되며 이의 결과를 인체의 유전독성을 예측함(ICH S2 (R1); 2012, OECD test methods for genotoxicity).

<Table> OECD test methods for genetic toxicity

Gene mutation	Clastogenicity/aneuploidy	DNA damage/repair
In vitro assays - Bacterial tests: TG 471 - Mammalian test: TG 476, TG 490	In vitro assays - Chromosomal aberration: TG 473 - Micronuclei and aneuploidy: TG 487	In vitro assays
In vivo assays: - Somatic cells TG 488, TG 470 - Germline cell assays TG 488	In vivo assays - Chromosomal aberration: TG 475 - Micronuclei and aneuploidy: TG 474 - Germ cells assays: TG 483, TG 485, TG 478	In vivo assays - UDS TG 486 - Comet TG 489

6-2) In vitro 유전독성시험에서 S9 fraction

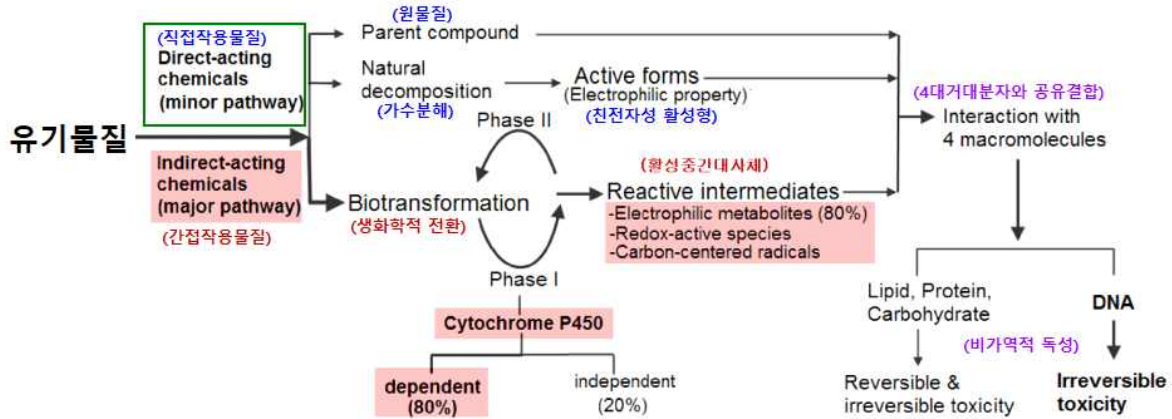
- In vitro 복귀돌연변이시험과 in vitro 염색체이상시험에서는 실제로 DNA 돌연변이를 유발하는 cytochrome P450 시스템을 가지고 있지 않음. 대사에 의한 친전자성대사체를 유도하기 위해 <그림>과 같이 랫드의 간 분획을 추출하여 cytochrome P450 효소 시스템을 추가하며 이를 S9 fraction이라고함. 따라서 In vitro 유전독성시험에는 S9 fraction는 넣은 유전독성시험법을 대사활성법, 포함하지 않는 유전독성시험을 직접법이라고 함.



<그림> 랫드의 간에서 추출한 cytochrome P450 효소 시스템인 S9 fraction 추출 과정

6-3) 유전독성시험과 독성기전의 원리와 관계

- <그림>에서처럼 cytochrome P450-비의존적 자연분해에 의해 직접작용물질의 친전자성물질로 전환되는 과정은 유전독성시험에서 직접법에 해당하고 cytochrome P450-의존적 biotransformation에 의한 친전자성대사체가 생성되는 기전은 유전독성시험의 대사활성법이 됨.



<그림> 유기물질이 독성기전의 기본 원리(박영철, 2010; Park 등, 2014)

6-4) 유전독성시험을 통한 인체 예측력

- 만약 in vitro 유전독성시험에서 약물이 자연분해에 의해 친전자성물질로 전환되어 DNA 손상이 발생하면 인체에도 발생할 가능성이 높음. 그러나 이러한 물질은 활성이 아주 높아 흡수 후 바로 활성화되어 독성을 유발하기 때문에 실제적인 약물로 개발되기가 어려움. 우리가 다루는 약물의 경우 5% 정도가 직접작용물질임.
- 반면에 cytochrome P450-의존성 대사활성법에서 유전독성이 발생하면 자체를 해석하는데 한계가 있음. 친전자성 대사체를 포함하는 생체 유일한 물질이 glutathione임. 앞서 보여준 Table 4에서처럼 마우스, 랫드, 개 그리고 사람에서 glutathione과 결합하는 대사체가 모든 개체에 다르다는 것을 확인 할 수 있음. 이와 같은 차이는 인체 예측력을 낮추는 원인이 됨.

TABLE 4
Semiquantification by ultraviolet (UV) spectroscopy of osimertinib metabolites in mouse, rat, dog, and human hepatocytes

Peak ID	Proposed Structure	Proportion (%) of UV Chromatogram (320-330 nm) ^a			
		Mouse	Rat	Dog	Human
M1	Oxidation (+O)	<1	<1	1-10	<1
M2	Dealkylation (-C ₄ H ₉ N)	ND	<1	<1	<1
AZ7550	Demethylation (-CH ₂)	1-10	1-10	1-10	1-10
M4	Oxidation (+O)	1-10	1-10	1-10	1-10
M5	Oxidation (+O ₂)	<1	<1	<1	ND
AZ5104	Demethylation (-CH ₂)	<1	<1	<1	<1
M7	Oxidation (+O)	ND	ND	<1	ND
M8	Cysteine-glycine adduct	ND	<1	ND	<1
M9	Demethylation (-CH ₂) + oxidation (+O)	1-10	<1	<1	ND
M10	Glutathione adduct	1-10	>10	1-10	<1
M11	Acetylation or deamination + glutathione	1-10	1-10	ND	ND
M12	Dealkylation (-C ₄ H ₉ N) + glutathione	1-10	ND	ND	ND
M13	Oxidation (+O) + glutathione	1-10	1-10	ND	ND
M14	Oxidation (+O) + sulfation	ND	ND	<1	ND
M15	Glutathione adduct	<1	<1	ND	ND
M16	Oxidation (+O) + glucuronidation	<1	<1	ND	ND

^a% represents percentage of parent (osimertinib) UV response
ND, not detectable by mass spectrometry.

6-5) 유전독성시험을 통한 인체 예측력을 낮추는 원인

- 동물종과 사람의 Cytochrome P450의 공유율: <표 3-6> 인체 및 동물종의 CYP 동질효소 종류와 일치율 비교를 나타낸 것임. 인체 cytochrome P450의 20 여종과 다른 동물종과의 공유율은 비인간-영장류 27%, 랫드 14.3%, 그리고 마우스 11.8%로 확인됨(Konstandi 등, 2014)
- 이는 유전독성시험의 인간에 대한 예측률이 14.3%에 불과하다는 것을 의미함. 이와같은 중간 cytochrome P450 아종의 차이로 Table 4에처럼 다양한 증별 Osimertinib의 친전자성 대사체 생성에 차이가 발생하며 신약개발에 어려움을 줌.

<표 3-6> 인체 및 동물종의 CYP 동질효소 종류와 일치율 비교


CYP family	CYP subfamily	CYP isozyme			
		Human	Monkey	Rat	Mouse
CYP1	CYP1A	CYP1A1	CYP1A1	CYP1A1	CYP1A1
		CYP1A2	CYP1A2	CYP1A2	CYP1A2
	CYP1B	CYP1B1	CYP1B1	CYP1B1	CYP1B1
CYP2	CYP2A	CYP2A6	CYP2A23	CYP2A1	CYP2A4
		CYP2A7	CYP2A24	CYP2A2	CYP2A5
		CYP2A13		CYP2A3	CYP2A12
				CYP2A22	
	CYP2B	CYP2B6	CYP2B17	CYP2B1	CYP2B9
		CYP2B7		CYP2B2	CYP2B10
				CYP2B3	
	CYP2C	CYP2C8	CYP2C20	CYP2C6	CYP2C29
		CYP2C9	CYP2C43	CYP2C7	CYP2C37
		CYP2C18		CYP2C11	CYP2C38
		CYP2C19		CYP2C12	CYP2C39
				CYP2C13	CYP2C40
				CYP2C22	CYP2C44
				CYP2C23	CYP2C50
					CYP2C50
					CYP2C55
					CYP2D9
	CYP2D	CYP2D6	CYP2D17	CYP2D1	CYP2D9
		CYP2D7	CYP2D19	CYP2D2	CYP2D10
		CYP2D8	CYP2D29	CYP2D3	CYP2D11
		CYP2D30	CYP2D4	CYP2D12	
		CYP2D42	CYP2D5	CYP2D13	
			CYP2D18	CYP2D22	
				CYP2D26	
				CYP2D34	
			CYP2D40		
CYP2E	CYP2E1	CYP2E1	CYP2E1	CYP2E1	
CYP3	CYP3A	CYP3A4	CYP3A8	CYP3A1	CYP3A11
		CYP3A5		CYP3A2	CYP3A13
			CYP3A9	CYP3A16	
			CYP3A18	CYP3A25	
			CYP3A62	CYP3A41	
			CYP3A44		
인체 CYP에 대한 일치율			4/15 = 27%	4/28 = 14.3%	4/34 = 11.8%

(Konstandi, 2014)

6-6) 유전독성시험의 문제점과 새로운 NAM의 방법 개발

- <표 3-6> 인체 및 동물종의 CYP 동질효소 종류와 일치율 비교와 Table 4의 다양한 증별 Osimertinib의 친전자성 대사체 생성 차이에서처럼 cytochrome P450의 차이는 독성 및 약리 작용을 파악하는데 있어서 cytochrome P450의 대사체 분석이 얼마나 중요한 역할을 하는 것에 대한 이해에 좋은 자료임.

- 이와 같은 cytochrome P450에 의한 중간 차이를 줄이고 인체 예측율을 높이기 위해서는 랫드의 cytochrome P450아니라 **인체 간의 cytochrome P450**을 사용하는 것이 바람직함
- **인체 간의 cytochrome P450을 이용한 유전독성 및 약리기전 스크린**은 규제 결정을 지원하고 신약 개발을 촉진하기 위해 **인간 관련성(human-relevant)과 관련된** NAM(신규 접근 방법론 또는 신규 접근법)의 핵심 예시라고 할 수 있음.
- 유전독성시험 방법도 NAM 측면에서 인간의 간 S9 fraction을 사용할 것으로 예상되며 이미 아래와 같이 상품화 제품도 많이 있음.

 MilliporeSigma
www.sigmaaldrich.com › US › en

S9 from Liver, Pooled from human | Sigma-Aldrich


The hepatic S9 pools from a variety of biological sources represent the post-mitochondrial supernatant fraction from homogenized liver. Known to be a rich source of drug metabolizing...

Brand: SIGMA

 xenotech.com
www.xenotech.com › 2023 › 03

Human Liver S9 Fraction – Pool of 50 Lot No. 2310054

To measure glutathione S-transferase activity (GST), liver S9 samples (5 to 50 µg/mL) were incubated in triplicate at 37 ± 2°C for 10 minutes in potassium phosphate buffer (100 mM, pH 6.5...

 ScienceDirect
www.sciencedirect.com › s9-fraction

S9 Fraction - an overview | ScienceDirect Topics

The liver S9 fractions contain both microsomal and cytosolic fractions. They regroup therefore the same metabolic enzyme profile (phase I and phase II enzymes including their cofactors) as...

<참고문헌>

- Konstandi, M. (2014). Consequences of psychophysiological stress on cytochrome P450-catalyzed drug metabolism. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. 45:149–167.
- Mehta J, Thompson C, Scheers E, Leclercq L, Jang SB, Kim DK, Haddish-Berhane N, Hellemans P, Jiao JJ, Clemens PL. Clinical Pharmacokinetic Assessment of Lazertinib in Healthy Adult Participants: Effects of GSTM1 Genotype. *Clin Drug Investig*. 2025 Dec;45(12):935-944.
- Wu Q, Qian W, Sun X, Jiang S. Small-molecule inhibitors, immune checkpoint inhibitors, and more: FDA-approved novel therapeutic drugs for solid tumors from 1991 to 2021. *J Hematol Oncol*. 2022 Oct 8;15(1):143
- Zhong L, Li Y, Xiong L, Wang W, Wu M, Yuan T, Yang W, Tian C, Miao Z, Wang T, Yang

S. Small molecules in targeted cancer therapy: advances, challenges, and future perspectives. *Signal Transduct Target Ther.* 2021 May 31;6(1):201.

- Lee SH, Lu S, Hayashi H, Felip E, Spira AI, Girard N, Kim YJ, Ostapenko Y, Danchaivijitr P, Liu B, Alip A, Korbenfeld E, Dias JM, Lee KH, Xiong H, How SH, Cheng Y, Chang GC, Chih-Hsin Yang J, Besse B, Thomas M, Shah S, Baig M, Curtin JC, Zhang J, Xie J, Sun T, Sethi S, Wang M, Fennema E, Daksh M, Ennis M, Bauml JM, Cho BC. Lazertinib Versus Osimertinib in Previously Untreated EGFR-Mutant Advanced NSCLC: A Randomized, Double-Blind, Exploratory Analysis From MARIPOSA. *J Thorac Oncol.* 2025 Nov;20(11):1655-1668.

13. 시스템 수준 통합(Systems-Level Integration): 인간 조직-유래 물질을 활용한 NAM과 MABEL로부터 MRSD 산출 예시

1. MAM의 5대 핵심 요소와 설명

- NAMs(신규 접근 방법론 또는 신규 접근법)은 규제 결정을 지원하고 신약 개발을 촉진하기 위해 **인간 관련성(human-relevant)**, 신뢰성(reliable) 및 재현성(reproducible)이 보장된 데이터와 더불어 다음과 같이 5가지 요소에 적합한 방향으로 발전이 필요함. 본 보고서를 통해 인간 관련성(Human Relevance)과 **기전적 통찰력(Mechanistic Insight)** 그리고 **변동성 감소(Reduced Variability)**은 대략적으로 설명되었다고 사료되며 다음과 같이 요약됨.

- ① **인간 관련성(Human Relevance):** 임상시험에서 환자에 대한 안전성과 효력에 대한 예측하기 위해서 NAM에서 가장 중요한 부분임. 앞서 예시에서처럼 알츠하이머병, 파킨슨병, 류마티스성 관절염, 호흡기질환의 천식 등에서처럼 NHP(nonhuman primate)를 포함한 비글건 과 랫드 등에서 인간에서 예측에서 25% 이하의 반응예측률이 확인되었음. 이는 동물모델에 대한 지나친 의존성과 환자의 이질성을 고려하지 않은 결과임. 따라서 NAM은 **인간 유래 세포를 활용하거나 인간 생리학적 조건을 모사하여** 중간 외삽과 관련된 불확실성을 줄임.

<예시> NAM의 대표적인 수단인 organoid도 인체-유래 및 환자-유래 세포 및 조직을 이용하여 제작되어야 함. 동물모델의 예측률이 낮는데 동물-유래 세포 및 조직으로 제작된 organoid는 더욱 예측을 어렵게 함.

- ② **기전적 통찰력(Mechanistic Insight):** 오늘날 새로운 치료 기전으로 다양한 모달리티가 존재가 존재하는데 크게 합성의약품, 펩타이드-단백질-핵산 등의 고분자의약품 그리고 세포치료제 등으로 구분할 수 있음. 이들의 약리기전은 대체적으로 표적 단백질 및 표적 세포 등의 표적을 가지고 있으므로 이들 표적을 가진 세포 및 조직 등을 이용한 NAM이 수행되어야 함. 따라서 NAM은 분자 및 세포 기전에 대한 상세한 이해를 제공하여 작용 기전 분석과 표적 위험 완화함. NAM 기반 접근법은 일반적으로 약리학적으로 관련성 있는 종이 부족한 사례에서 촉발되었음. 약리학적으로 관련성 있는 종이 부재할 경우, 표적 조절에 대한 기존 경험 및 /또는 NAM 또는 임상적 완화 및 모니터링을 통해 추정 위험을 해결할 수 있는 능력이 NAM 기반 제출의 기초가 되었음. 따라서 약리학적으로 관련 있는 종의 유무와 무관하게 NAM 기반 제출의 촉발 요인이 될 것임.

<예시> 2006년 영국에서 백혈병 치료제인 TGN1412의 임상시험에 의한 비극을 예로 들 수 있음 TGN1412은 단일클론항체(Anti-CD28 monoclonal antibody)로 백혈구 표면의 면역계 단백질인 CD28에만 특이적 결합. 그러나 CD28은 사람에게만 존재하는 면역계 단백질임. 따라서 랫드와 NHP 동물을 이용한 독성시험에서 TGN1412의 adverse effect를 확인하기는 어려움. 결과적으로 임상시험에서 TGN1412 결합에 의한 CD28 활성화는 사이토카인(cytokine)의 과도한 분비 즉, 사이토카인 폭풍(cytokine storm)로 염증성 혈관손상과 다발성장기부전을 유도도 혼수상태, 그리고 후에 사망이나 암도 유발됨

- ③ **시스템 수준 통합(Systems-Level Integration):** NAMs는 더 빠르고 효율적인 독성 시험을 가능하게 할 뿐만 아니라, 유해성 및 노출 평가 측면에서 인간과 더 관련성 높은 의사 결정을 가능하게 함으로써 오늘날의 규제 업무를 근본적으로 변화시킬 잠재력을 가지고 있음. 특히 여러 NAM 접근법을 결합할 수 있는 능력은 복잡한 생물학적 상호작용의 포괄적인 모델링을 가능하게 하여 보다 전체적인 안전성 평가 능력이 필요함. 그러나 현재 규제 위험 평가에서 NAMs의 광범위한 적용을 가로막는 몇 가지 장애물이 존재함. NAM은 동물모델 자체를 사용하는 것이 아니기 때문에 전신독성과 임상안전용량을 추정하기가 쉽지 않음.

<예시> NOAEL 및 LOAEL 등을 추정하는 반복투여독성 평가의 한계가 NAMs의 광범위한

적용을 위한 주요 과제됨.

- ④ **변동성 감소(Reduced Variability): 종 특이적 반응**을 피함으로써 NAM은 독성학 데이터의 일관성과 해석 가능성을 향상시킬 수 있음.

<예시> 독성시험에서 합성의약품의 설치류와 비설치류 등의 2종, 반면에 바이오의약품의 경우에는 1종으로 수행됨. 바이오의약품인 경우에 모든 종에서 대사 경로가 동일하지만 합성의약품의 경우에는 cytochrome P450의 중간 차이로 대사가 다르며 그 결과에 따라 독성 발현에서도 차이가 있음. 따라서 합성의약품의 독성시험을 통한 인체 예측 실패를 줄이기 위해 2종을 사용하며 이는 종 특이적 반응의 감소시키는 결과를 가져옴. 합성의약품에서 중요한 독성시험 중 하나가 유전독성시험임. 이때 in vitro 시험에서 랫드의 간에서 발체된 S9 fraction(cytochrome P450 효소계를 함유) 사용함. 향후에는 사람의 S사람의 S9 fraction를 사용할 필요성이 있음. 앞서 설명하였듯이 **변동성 감소에서** 무엇보다도 중요한 원인으로 사료되는 것은 환자 집단의 이질성(heterogeneity)임. 이로 인하여 임상 시험시험에서 치료제에 대한 환자의 반응률은 평균 25-30%임. 예를 들어 치매환자 집단 10년 추적조사에서 파킨슨병의 예후는 복용한 환자의 4분의 1만 양호한 상태이며 Levodopa의 이질성에 기인하는 것으로 확인되었음(Williams-Gray 등, 2013).

- ⑤ **고속 스크리닝(High-Throughput Screening):** 이러한 방법은 대규모 화학 물질 라이브러리의 신속한 평가를 가능하게 하여 잠재적으로 유해한 물질의 조기 식별을 용이하게 함.

2. 시스템 수준 통합(Systems-Level Integration)의 개념과 예시 검토

1) NAM의 광범위한 채택을 가로막는 가장 큰 장애물 - 시스템 수준 통합

- NAM은 큰 잠재력을 지녔음에도 불구하고, 광범위한 규제 승인을 위해 필요한 엄격한 과학적 검증 기준을 충족하는 데 있어 중대한 도전에 직면해 있음. 핵심 문제는 현재의 NAM이 일반적으로 단일 세포나 장기 수준에서의 통찰력만을 제공할 뿐, 여러 장기 간의 복잡한 상호작용이나 약물이 전신에 미치는 체계적 효과를 포착하지 못한다는 점임.
- 예를 들어 주요 장기 기능을 모방하는 3차원 세포 배양체인 오가노이드는 전체 장기 생리학을 재현할 수 있는 혈관 시스템을 갖추지 못함. 진전이 이루어지고 있지만, 전신적 약물 분포, 대사, 면역 반응을 아우르는 인간 생리학의 완전한 복잡성을 재현하는 것은 여전히 상당한 과학적·공학적 장벽임.
- 궁극적으로 **시스템 수준 통합에 대한 핵심 문제는 개체에 대한 실험이 없는 임상시험에서 인체 최초투여용량(first-in-human, FIH)이면서 임상최대권장초기용량인 MRSD(maximum recommended starting dose)을 어떻게 설정할 거인가 문제임.**
- 예를 들어 <표 11-3>에서처럼 저분자 합성의약품과 바이오의약품에 대한 임상최대권장초기용량(maximum recommended starting dose, MRSD)의 결정을 동물실험을 통한 반복투여독성시험이 없이 어떻게 설정하는 것인가가 **NAM의 광범위한 채택을 가로막는 가장 큰 장애물이며 시스템 수준 통합의 문제임.**

<표 11-3> 약물 모달리티별 임상시험에서 안전용량 추정 방법

항목	소분자 합성의약품	바이오효약품	성장호르몬, 사이토카인, 단클론항체, 면역강화제 등의 바이오효약품
독성용량기술치	NOAEL	NOAEL	MABEL
용량반응곡선의 특징	효능 및 독성의 곡선이 분리	효능 및 독성의 곡선이 분리	효능과 반응의 동일한 곡선
종내 차이에 대한 안전계수 (safety factor)	10	10	공극적으로 전신혈관계 내에 존재하거나 전신혈관계로 이동하지 않는다면 '1'
종간 차이에 대한 안전계수 (safety factor)	HED = NOAEL x 전환계수	AED(동물등가용량) = HED	SF = RO ratio = 사람 RO/동물 RO
MRSD(임상임상 최대권장초기용량)	MRSD = HED/10	MRSD = AED/10	MRSD = MABEL/(RO ratio)

NOAEL: no observed adverse effect level, 최대비독성용량, HED: human equivalent dose, 인체등가용량, MABEL: minimum anticipated biological effect level, 최소기대생물학적영향용량, AED: animal equivalent dose, 동물등가용량, RO; receptor occupancy, 수용체점유율

2) 시스템 수준 통합의 예시 검색

- <표-3>은 동물모델이 없거나 비임상 자료가 실질적으로 효능 및 안전성을 지원하지 못할 경우 NAMs이 어떻게 사용되는가와 더불어 FDA의 승인과 결정을 보여주는 사례라고 할 수 있음(건설팅보고서 참고: 88. Modernization 3.0과 IND를 위한 FDA의 NAM 활용 사례)
- 따라서 <표-3> 중 하나를 선택하여 NOAEL MABEL이 어떻게 추정되었는가에 대한 검토는 **시스템 수준 통합(Systems-Level Integration) 예시**가 됨.

<표-3> 유효성을 위한 CDER의 규제 의사 결정에 모델 기반 접근법 활용 사례

약물 (광범위한 적응증)	NAM 종류 및 설명	규제적 영향(Regulatory Impact)
Kalydeco (cystic fibrosis) (NDA 203188)	<ul style="list-style-type: none"> Fischer rat 갑상선 세포를 이용한 체외 CFTR 염화물 수송 분석법(돌연변이 발현) 및 낭포성 섬유증 환자로부터 유래한 인간 기관지 상피 세포에서의 염화물 수송 	<ul style="list-style-type: none"> 내용: 추가 임상시험 없이 특정 CFTR 유전자 변이 환자를 포함하도록 칼리데코의 적응증을 확대하였음. 방법: FDA는 치료 반응성 CFTR 돌연변이를 입증하기 위한 CFTR 염소 이온 수송 분석법을 승인했으며, 특정 반응 기준치(염소 이온 수송 >10%)로 지정하였음. 영향: 이 반응 기준치는 적어도 하나의 CFTR 돌연변이를 가진 환자를 대상으로 한 적절하고 잘 통제된 임상시험의 효능 데이터와 시험관 내 반응 데이터를 상호 검증하여 결정되었음.
Galafold20 (Fabry disease) (NDA 208623)	<ul style="list-style-type: none"> 특이적 돌연변이를 가진 GLA 유전자를 발현하는 HEK-293 세포를 이용한 체외 GAL(galactosidase) 활성 분석법으로 비정상적으로 접힌 알파-갈락토시다제 (α-galactosidase A; α-GAL A) 단백질을 생성함. 	<ul style="list-style-type: none"> 내용: 추가 임상 시험 없이 특정 GLA 유전자 변이 환자를 대상으로 갈라폴드(Galafold)의 적응증을 확대하였음. 신청자는 파브리병을 앓고 있으며 치료 가능한 GLA 변이를 가진 성인 환자에서 갈라폴드의 임상적 이점을 확인하고 기술행기 위해 승인 후 임상시험을 수행해야 했음. 방법: FDA는 α-GAL A 활성 검사를 활용하여 치료 반응성 GLA를 입증하기 위한 일련의 기준값을 수용했음. 구체적인 반응 기준값은 다음과 같음: 1) 치료 전 수준 대비 α-GAL A 활성의 상대적 증가율 ≥20%, 2) 야생형(정상) 알파-갈락토시다제 A 활성의 절대적 증가율 ≥3%. 영향: 이러한 반응 기준치는 후속 임상시험에서 신장 간질 모세혈관 내 globotriaosylceramide (GL-3 또는 Gb3) 수치 감소라는 대리 평가 지표를 통해 얻은 데이터를 바탕으로 임상적 이점을 예측하거나 합리적으로 예측할 수 있는 것으로 판단되었음.

<ul style="list-style-type: none"> α-galactosidase A(EC 3.2.1.22, α-GAL, α-GAL A; 체계적 명칭 α-D-갈락토사이드 갈락토하이드롤라제)는 글리코사이드 가수분해 효소임. 이 효소는 당단백질, 당지질 및 다당류의 절단을 포함한 여러 이화 작용 과정을 촉매되며 GLA 유전자에 의해 암호화됨. 		
<p>Veopoz21 (CHAPLE disease) (BLA 761339)</p>	<ul style="list-style-type: none"> 고전적 및 대안적 보체 시스템에 대한 기전적 통찰을 위한 체외용혈 분석법(CH50; the validated ex vivo hemolysis assay) 	<ul style="list-style-type: none"> 내용: 미충족 의료 수요에 대한 1차 치료제인 베오포즈(Veopoz)의 승인을 지원하였음. 관련 임상 데이터와 함께, 기전적 비임상 데이터는 베오포즈의 효능에 대한 실질적 증거를 뒷받침하고 승인을 지원하기 위한 확인 증거로 활용되었음. 방법: 약리학적으로 관련성 있는 종이 부재한 상황에서, 세포 기반 분석법을 통해 세포독성, 용혈 및/또는 C5a 생성을 평가함으로써 베오포즈의 보체 활성화 차단 능력을 검증하였음. 검증된 체외용혈 분석법(CH50)에서 80% 이상의 억제율은 보체 활성화 감소 및 임상적 이점과 연관된 반응의 기준치로 설정되었음. 영향: FDA는 동물, 건강한 지원자 및 Veopoz로 치료받은 CHAPLE 질환 환자에서 일관된 약력학적 반응(즉, 보체 매개 용혈 억제)을 입증한 종합적 증거 평가를 수용하였음.
<ul style="list-style-type: none"> 채플병(CHAPLE disease)은 장을 통해 단백질이 손실되는 특징을 보이는 극히 드물고 심각한 유전 질환으로, 전 세계적으로 이 질환을 앓고 있는 환자는 100명 미만으로 알려져 있음. 		
<p>Kimmtrak22 (uveal melanoma) (BLA 761228)</p>	<ul style="list-style-type: none"> 중적 결합 특이성을 입증하고, 35개 인간 조직에서 잠재적 교차 반응성을 규명. 각 조직에 대해 과학적으로 타당하게 평가 가능한 지표 사용하여 13개 조직에서 특이적 독성 가능성을 평가하기 위한 인간 조직 및 세포 기반 체외 분석법 	<ul style="list-style-type: none"> 내용: 약리학적으로 관련성 있는 동물모델이 부재한 상황에서 Kimmtrak을 활용한 임상시험의 안전성을 입증하여 이 혁신적 생물학적 제제의 승인을 이끌어냄. 방법: 체외 분석법 세트는 Kimmtrak의 표적에 대한 높은 결합 특이성과 친화력을 입증했으며, HLA-A*02:01 양성 피부 및 포도막 흑색종 성장 억제 가설을 뒷받침하는 전염증성 사이토카인 및 세포용해성 단백질 수준을 평가하고, Kimmtrak의 표적/종양 외 교차반응 효과를 분석하여 HLA-A*02:01 양성 피부 및 포도막 흑색종 환자에 대한 임상적 효능 가능성을 입증함. 양성 피부 및 포도막 흑색종 성장 억제, Kimmtrak의 비표적/비종양 교차반응성 효과 평가, HLA-A*02:01 양성 절제 불가능 또는 전이성 포도막 흑색종 환자에 대한 임상적 효능 가능성 입증. 영향: 임상시험은 이후 조직학적 또는 세포학적 검사로 전이성 포도막 흑색종이 확인된 HLA-A*02:01 양성 환자 중 전이성 환경에서 치료 경험이 없거나 이전에 국소 간 표적 치료를 받은 환자를 대상으로 진행되었으며, Kimmtrak이 환자의 전체 생존율을 증가시킨다는 점을 입증하였음.
<ul style="list-style-type: none"> KIMMTRAK: 수술로 제거할 수 없거나 전이된 포도막 흑색종이 있는 HLA-A*02:01 양성 성인 환자의 치료에 사용되는 처방약. 그러나 KIMMTRAK은 중증 또는 생명을 위협할 수 있는 심각한 부작용을 유발할 수 있으며, 일반적으로 첫 세 번의 주입 기간 내에 발생함. 		

3. 포도막 흑색종 치료제인 IMCgp100의 MRSD를 통한 시스템 수준 통합 예시

- 융합단백질인 포도막 흑색종 치료제인 IMCgp100(tebentafusp)은 인간 조직 in vitro 실험임. 실험은 2차원 인간 암 세포주와 1차 세포의 공동 배양과 컴퓨터 시뮬레이션 접근법으로 보완을 통해 FIH(First-in-Human, 안전 초기 투여량)를 위한 MABEL 계산 후 임상 개발 단계로 진입, 결과적으로 2022년에 승인됨.

<표> KIMMTRAK의 비임상 NAM과 규제 결과 요약

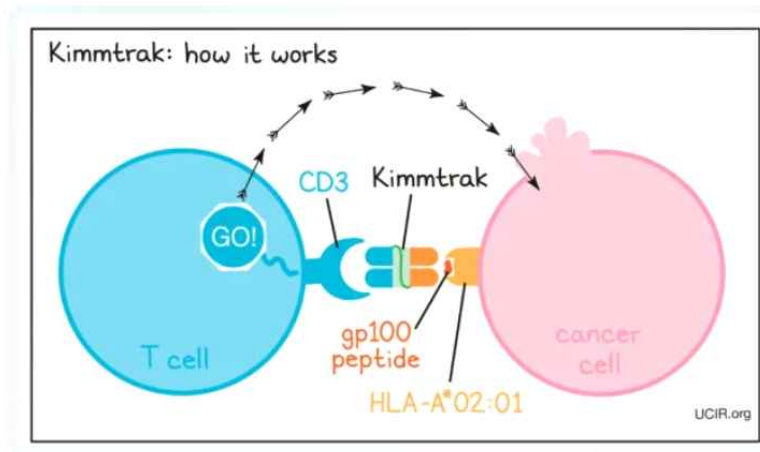
약물 (광범위한 적응증)	NAM 종류 및 설명	규제적 영향(Regulatory Impact)
<p>Kimmtrak (IMCgp100, tebentafusp) (uveal melanoma)</p>	<ul style="list-style-type: none"> 중적 결합 특이성을 입증하고, 35개 인간 조직에서 잠재적 교차 반응성을 규명. 각 조직에 대해 	<ul style="list-style-type: none"> 내용: 약리학적으로 관련성 있는 동물모델이 부재한 상황에서 Kimmtrak을 활용한 임상시험의 안전성을 입증하여 이 혁신적 생물학적 제제의 승인을 이끌어냄. 방법: 체외 분석법 세트는 Kimmtrak의 표적에 대한 높은 결합 특이성과 친화력을 입증했으며, HLA-A*02:01 양성 피부 및 포도막 흑색종 성장 억제 가설을 뒷받침하는 전염증성 사이토카인

<p>(BLA 761228)</p>	<p>과학적으로 타당 한 기능적 평가 지표를 사용하여 13개 조직에서 장 기 특이적 독성 가능성을 평가하 기 위한 인간 조 진 및 세포 기 체외 분석법</p>	<p>및 세포용해성 단백질 수준을 평가하고, Kimmtrak의 표적/중양 외 교차반응 효과를 분석하여 HLA-A*02:01 양성 피부 및 포도막 흑색종 환자에 대한 임상적 효능 가능성을 입증함. 양성 피부 및 포도막 흑색종 성장 억제, Kimmtrak의 비표적/비중양 교차반응성 효과 평가, HLA-A*02:01 양성 절제 불가능 또는 전이성 포도막 흑색종 환자에 대한 임상적 효능 가능성 입증.</p> <ul style="list-style-type: none"> • 영향: 임상시험은 이후 조직학적 또는 세포학적 검사로 전이성 포도막 흑색종이 확인된 HLA-A*02:01 양성 환자 중 전이성 환경에서 치료 경험이 없거나 이전에 국소 간 표적 치료를 받은 환자를 대상으로 진행되었으며, Kimmtrak이 환자의 전체 생존율을 증가시킨다는 점을 입증하였음.
<ul style="list-style-type: none"> • KIMMTRAK: 수술로 제거할 수 없거나 전이된 포도막 흑색종이 있는 HLA-A*02:01 양성 성인 환자의 치료에 사용되는 처방약. 그러나 KIMMTRAK은 중증 또는 생명을 위협할 수 있는 심각한 부작용을 유발할 수 있으며, 일반적으로 첫 세 번의 주입 기간 내에 발생함 		

3-1) IMCgp100의 약리기전과 비임상 구성

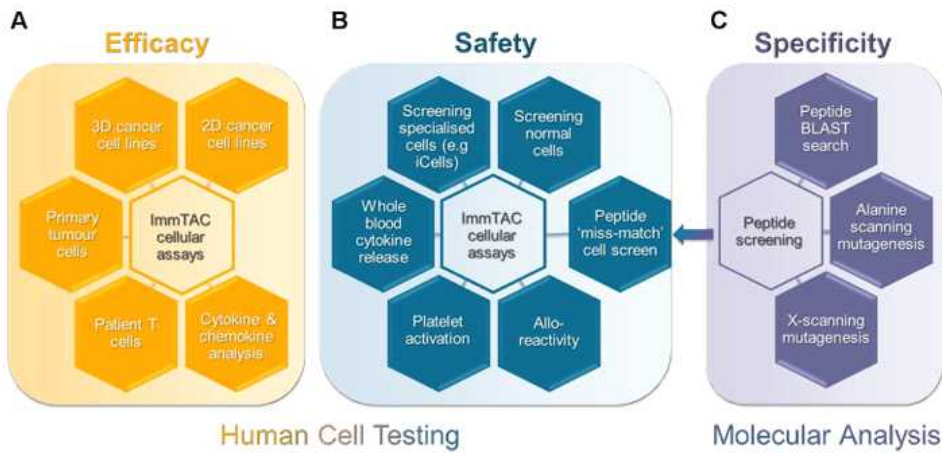
① IMCgp100 약리작용의 기전

- IMCgp100은 용해성 친화도 강화 T 세포 수용체(a soluble, affinity-enhanced T cell receptor (TCR))와 항-CD3 단일 사슬 가변 단편(scFv, single-chain variable fragment) 항체로 구성된 융합 단백질임(Boudousquie 등, 2017). IMCgp100은 HLA A*02:01에 gp100 항원결합부위를 제시하는 암세포와 CD3 발현 T 세포를 결합시키도록 설계되었음. 현재 테벤타푸스프(KIMMTRAK; Immunocore)로 알려진 이 약물은 2022년 포도막 흑색종 치료제로 승인되었음(Howlett 등, 2023). (포도막흑색종(veal melanoma)은 눈의 포도막에 발생하는 안구암의 일종. 전통적으로는 홍채, 맥락막, 섬모체에서 발생하는 경우로 분류할 수 있으나, 전이 위험이 낮은 I형과 전이 위험이 높은 II형으로 나누는 것도 가능함. 흐린 시야, 시력 소실, 광시증 등의 증상이 나타날 수 있으나 증상이 없는 경우도 있음.)



<그림> IMCgp100 또는 KIMMTRAK에 의한 T-cell과 암세포의 gp100 항원결합부위 결합 작용

- 비임상 NAM 패키지의 개략도 설명:** 안전성 및 효능에 대한 평가를 <그림-1>과 같이 요약됨. (A) 표적 펩타이드-HLA(human leukocyte antigen)를 제시하는 광범위한 적응증 관련 세포에 대한 ImmTAC(Immune Mobilising Monoclonal TCR Against Cancer) 분자의 효능을 평가. 이러한 세포 분석에는 관심 적응증과 관련된 환자 원발 종양 세포 및 환자 T 세포가 모두 포함됨. 사이토카인 및 케모카인 분석은 효능 측정의 핵심 요소이다. (B) ImmTAC 분자의 안전성 프로파일은 정상 및 특화된 항원 양성/음성 세포를 광범위하게 스크리닝하는 다양한 세포 분석법을 통해 측정됨. ImmTAC에 의한 사이토카인 방출 및 혈소판 활성화는 전혈에서 측정된다. 이중 반응성 분석법은 다양한 HLA 하위형에 대한 교차 반응성을 평가함. (C) 잠재적 펩타이드 교차반응성(cross-reactivity)을 평가하기 위해 컴퓨터 기반 BLAST 검색 및 알라닌/X-스캐닝 펩타이드 돌연변이 분석을 포함한 포괄적인 펩타이드 스크리닝 패키지를 사용함. 표적 펩타이드와 밀접하게 관련된 것으로 확인된 잠재적 off-target 펩타이드(펩타이드 '미스매치')는 교차반응성 평가를 위해 세포 분석법으로 추가 스크리닝됨.



3-2) IMCgp100의 NAM을 통한 MRSD 산출 - 시스템 수준 통합 예시

① **효능평가:** IMCgp100 및 유사한 공학화된 이중특이성 TCR 기반 분자의 비임상 효능 및 안전성 평가를 위해 Harper 등(2018)은 상용 2차원 인간 암세포주를 중심으로 한 강력한 체외 전용 평가 패키지를 개발하였음. 효능 평가를 위해 항원 특이적이고 적응증과 관련된 인간 종양 세포를 사용하여 젓산 탈수소효소(LDH) 방출 및 세포 사멸 측정을 통해 표적 세포 사멸에 대한 항원 제시의 영향을 측정하였음. **인터페론- γ (IFN γ) 방출 및 인체 종양 세포의 시험관 내 사멸에 관한 데이터는 최소 예상 생물학적 효과 수준(MABEL, minimum anticipated biological effect level) 계산에 기여하였음.** MABEL 계산은 임상시험을 위한 안전한 시작 용량을 도출하기 위한 보수적 접근법으로 활용되며, 여기서는 **인터페론- γ (IFN γ) 방출에 대한 약리 효능을 측정하여 추정됨.**

② **MABEL 및 MRSD 산출:** <그림-2>은 흑색종 환자(ImmTAC-gp100) 또는 건강한 기증자(ImmTAC-nybr1, ImmTAC-mageA3 및 ImmTAC-nyeso용) 등이 4인으로 기증된 효능 세포(E = PBMC)인 말초혈 단핵 세포(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)를 이용한 ImmTAC-gp100의 농도에 따른 IFN γ 방출의 용량-약리반응 곡선을 나타낸 것임. 정상인 기증자 3인의 분석에서 거의 동일하게 ImmTAC-gp100 농도 10^{-11} 에서 10^{-9} M 사이에서 효능이 확인됨. 그러나 환자의 경우에는 10^{-12} 에서 반응이 확인되어 최소약리반응 용량인 MABEL(minimum anticipated biological effect level, 최소기대생물학적영향용량)은 1 pM로 설정됨. 따라서 임상시험에서 IMCgp100(또는 ImmTAC-gp100) 초기용량은 MRSD = 1 pM/RO ratio이지만 사람의 세포를 사용하였기 때문에 중간 안전계수인 RO ratio는 제외되어 MRSD = 1 pM됨. 실제로 IMCgp100에 대한 IFN γ 방출은 포화되어 특이성이 사라지는 10^{-9} M 즉, 1 nM까지 치료 안전 영역이라고 할 수 있음. 따라서 임상시험에서 1 pM부터 시작하여 dose escalation 방법으로 1 nM까지 투여 가능할 것으로 추정됨. 특히 건강한 기증자 3인과 암 환자의 표적 세포에 대해 비슷한 면역 반응을 보여 암 환자의 면역 체계가 손상되지 않았음을 나타냄.

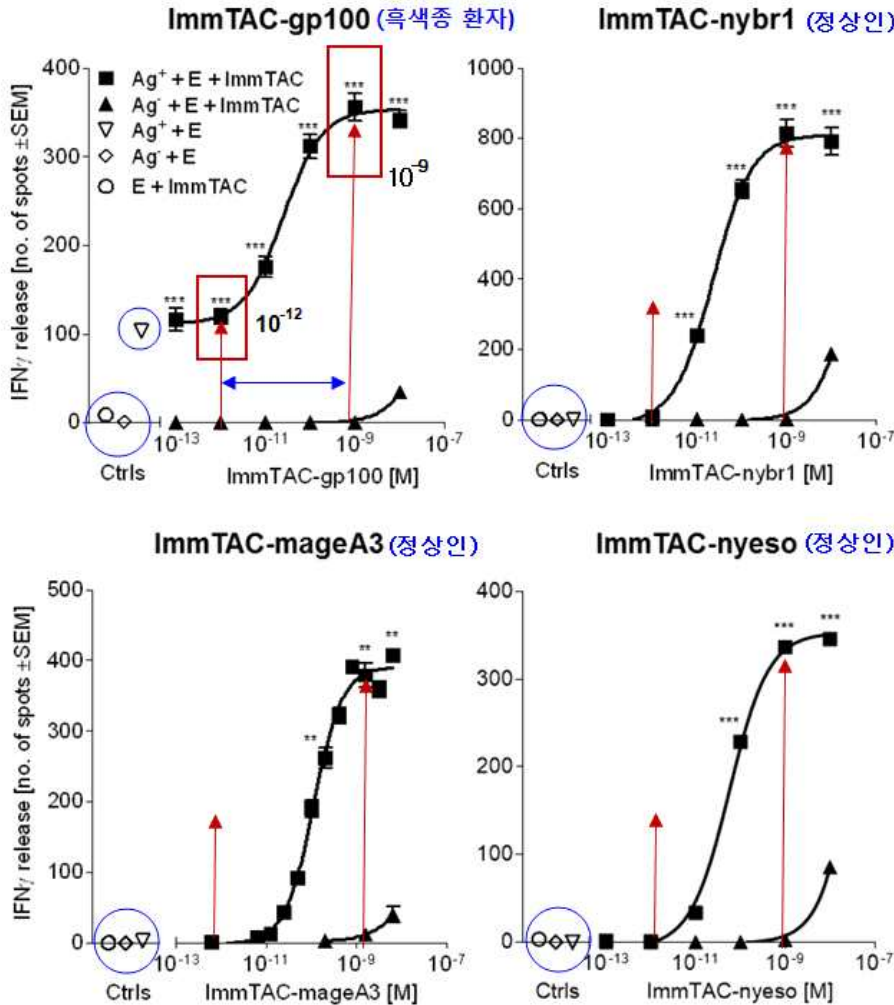
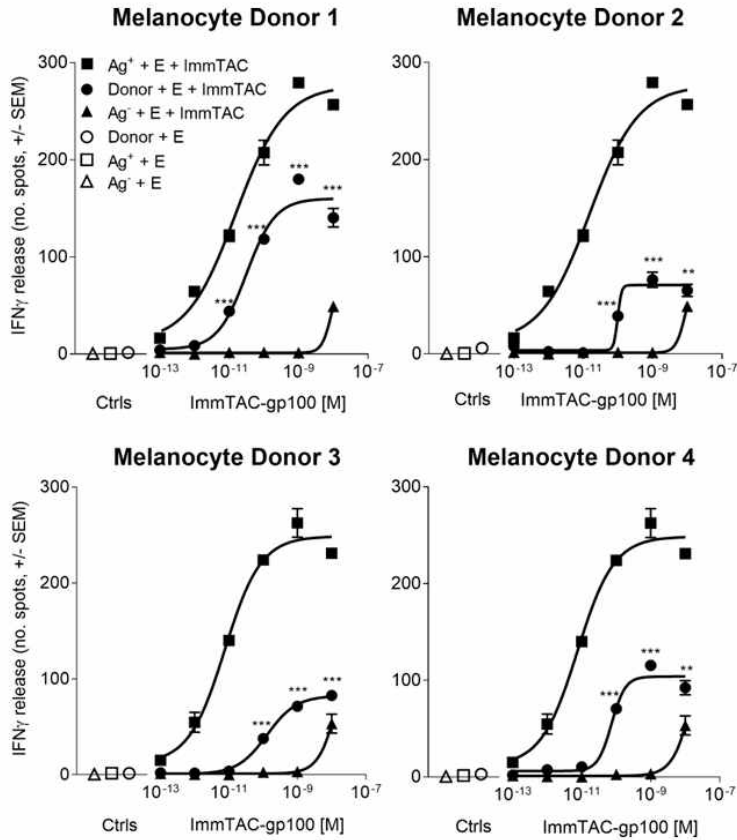


Fig 2. ImmTAC-mediated T cell activation and cytotoxicity.

<그림-2>. ImmTAC 매개 T세포 활성화 및 세포독성. 효능 세포(E = PBMCs)는 흑색종 환자 (ImmTAC-gp100용) 또는 건강한 기증자(ImmTAC-nybr1, ImmTAC-mageA3 및 ImmTAC-nyeso용)로부터 얻어졌으며, 표적 펩타이드-HLA를 제시하는 항원(Ag+) 세포주 또는 HLA(관련성이 있으나 표적 펩타이드를 제시하지 않는 항원(Ag-) 세포주와 함께 배양되었음. 세포는 ImmTAC 분자의 유무 하에서 배양되었음. IFN γ 방출은 ELISpot 분석으로 평가하였음. 항원 제시 세포: ImmTAC-gp100, ImmTAC-nybr1, ImmTAC-mageA3 및 ImmTAC-nyeso에 대해 각각 Mel526, CAMA1, A2b2m, EJM 및 IM9. 항원 음성 세포: ImmTAC-gp100, ImmTAC-nybr1, ImmTAC-mageA3 및 ImmTAC-nyeso에 대해 각각 A375, MDA MB231, Colo205 및 Mel526. 효능 세포(E) + ImmTAC 존재 하에서 Ag+ 세포와 Ag- 세포 간의 통계적 차이는 양방향 분산 분석(Two-way ANOVA)을 사용하여 측정되었으며, *** p<0.0001, ** p<0.01입니다. 표시되지 않은 결과는 유의미하지 않았음.

③ **안전성 평가:** <그림-4> 피부 멜라닌 세포에 대한 ImmTAC-gp100의 표적 특이적 비종양 활성을 나타낸 것임. 안전성 평가를 위해 항원 양성 또는 항원 음성 인체 유래 1차 멜라닌 세포를 표적 세포로 확인했으며, 단일 기증자의 말초혈 단핵 세포(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)를 효과 세포로 사용하여 표적/비종양 활성을 조사하였음. 표적 외 또는 종양 외 영향은 광범위한 면역 활성화 위험을 평가하기 위해 인간 전혈을 사용한 사이토카인 방출 분석(CRA, Cytokine Release Assays) 및 혈소판 활성화 분석을 통해 평가 수행. 대체 HLA 아형에 대한 인식 위험은 효과기 T 세포를 고유하고 가장 빈번한 HLA 아형을 포괄하는 광범위한 1차 인간 세포 및 세포주 패널과 공동 배양하는 동종반응성 분석을 통해 평가하였음. ELISpot 기술을 사용하여 IFN γ 방출을 정량화하였음. 분자 안전성과 특이성을 추가로 평가하기 위해 인간 게놈 내에서 표적과 높은 서열 상동성을 공유하는 펩타이드를 식별하는 보완적인 *in silico* 접근법을 병행하여 사용하였음. IMCgp100의 표적 조직으로 인간 1차 흑색세포를 선택한 것은 생체 내에서 gp100 표적의 발현으로 정당화되었지만, 잠재적 비표적 영향을 조사하고 비임상 안전성 평가의 폭을 넓히기 위해 다른 조직에서 유래한 인간 1차 세포도 고려될 수 있었음. 그러나 본 연구에서는 인간 1차 흑색세포와 말초혈액 단핵구(PBMCs)의 2차원 공동배양 예측력이 만족스러운 것으로 판단되었으며, 4명의 기증자라도 MABEL 기반 용량 범위 설정에 충분하였음(Boudousquie 등, 2017; Ryan 등, 2012). 또한 피부 전사체 및 HLA 리간도체를 생체 내에서 완전히 반영하지 못할 수 있는 인간 1차 흑색세포 2차원 배양을 보완하거나 대체할 수 있는 새로운 고급 피부 체외 모델이 존재함. 세포 안전성 분석의 중요한 확장으로 iPS(induced pluripotent stem) 세포 및 3차원 세포 배양의 활용을 논의하여 체외 안전성 평가 패키지의 엄밀성을 강화하고자 하였음(Harper 등, 2018).



<그림-4> 피부 멜라닌 세포에 대한 ImiTAC-gp100의 표적 특이적 비종양 활성화. HLA-A * 02 양성 건강한 기증자 4명(멜라닌 세포 기증자 1-4)의 정상 인간 표피 멜라닌 세포(NHEM, Normal Human Epidermal Melanocytes), gp100 양성(항원 양성) 흑색종 세포 (Mel526 세포주) 및 gp100 음성(Ag-) 대조 흑색종 세포(A375 세포주)를 대상으로, 다클론성(비종양 특이적) 말초혈액 단핵구(PBMC) 효과기 세포(E)와 함께 배양한 후, gp100 특이적 ImiTAC 분자(ImmTAC-gp100)의 농도를 증가시키며 유무에 따라 측정하였음. 표시된 결과는 가장 반응성이 높은 기증자 PBMC를 나타냄. 효과기 세포(E) + ImiTAC 분자 존재 하에서 기증자 NHEM 세포와 항원 처리 흑색종 세포 간 IFN γ 방출의 통계적 차이는 양방향 분산분석(Two-way ANOVA)을 통해 측정되었음. 여기서 *** $p < 0.0001$, ** $p < 0.01$. 표시된 경우 결과는 유의하지 않았음.

4. 결론

4-1) 포도막 흑색종 치료제인 IMCgp100을 통한 시스템 수준 통합 예시에 대한 결론

- 동물 개체 실험을 배제하는 NAM의 광범위한 채택을 가로막는 가장 큰 장애물은 FIH을 위한 MRSD을 산출하는 것임. 합성의약품과일부 바이오의약품인 경우 MRSD는 반복투여독성시험을 통한 NOAEL을 기반하여 추정됨.
- 반면에 성장호르몬, 사이토카인, 단클론항체, 면역강화제 등의 바이오의약품인 경우에는 수용체와 리간드의 상호작용을 통한 최소약리작용 용량인 MABEL을 이용하여 MRSD = MABEL/RO ratio로 추정됨.
- **IMCgp100의 경우에는 환자 및 정상인으로 분리된 T세포의 IFN γ 방출에 대한 용량-반응곡선으로 이루어졌음.** 따라서 안전계수인 사람과 동물의 항체-단백질의 ratiofn 산출되는 안전계수 적용이 불필요. 이와같은 결과로 MRSD = MABEL인 1 pM로 결정됨. 특히 IFN γ 방출은 포화되어 특이성이 사라지는 10⁻⁹M 즉, 1 nM까지 치료 안전 영역이라고 할 수 있음. 따라서 임상시험에서 1 pM부터 시작하여 dose escalation 방법으로 1 nM까지 투여 가능할 것으로 추정됨.
- 이와 같이 합성의약품의 NOAEL과는 다르게 항체(단백질)의약품은 표적과의 결합에 의한 최소 약리효능을 in vitro에서 추정되는 MABEL로 MRSD 추정이 가능함. **따라서 성장호르몬, 사이토카인, 단클론항체, 면역강화제 등의 바이오의약품인 경우에는 in vitro NAM으로 시스템 수준 통합의 가능하다는 것을 입증됨.**

4-2) NAM의 5요소에 대한 결론

- NAMs(신규 접근 방법론 또는 신규 접근법)은 규제 결정을 지원하고 신약 개발을 촉진하기 위해 **인간 관련성(human-relevant)**, 신뢰성(reliable) 및 재현성(reproducible)이 보장된 데이터와 더불어 **다음과 같이 5가지 요소**에 적합한 방향으로 발전이 필요함. 본 보고서를 통해 인간 관련성(Human Relevance)과 **기전적 통찰력(Mechanistic Insight)** 그리고 **변동성 감소(Reduced Variability)**은 대략적으로 설명되었다고 사료되며 다음과 같이 요약됨.

- ① **인간 관련성(Human Relevance)**
- ② **기전적 통찰력(Mechanistic Insight)**
- ③ **시스템 수준 통합(Systems-Level Integration)**
- ④ **변동성 감소(Reduced Variability)**
- ⑤ **고속 스크리닝(High-Throughput Screening)**

- 그러나 NAM(New Approach Methodologies, 신규 접근 방법론)의 5가지 중 ① **인간 관련성(Human Relevance)**, ② **기전적 통찰력(Mechanistic Insight)** 그리고 ③ **시스템 수준 통합(Systems-Level Integration)** 등 3가지가 규제기관 및 개발자 사이에 중요한 요점이며 다음과 같은 3가지 질문을 기반으로 자료에 대한 논의가 이루어질 것으로 사료됨.

1. 독성 및 약리 자료가 **인간과의 관련성**을 어떻게 설명할 것인가?
2. 독성 및 약리 자료가 어떻게 분자-세포 수준의 **기전을 설명**할 것인가?
3. 세포 또는 기관 등의 부분별 시험으로 구성된 **독성과 약리 자료가 개체 수준**에서 어떻게 설명이 가능한가?

<참고문헌>

Boudousquie, C. et al. Polyfunctional response by ImmTAC (IMCgp100) redirected CD8 + and CD4 + T cells. *Immunology* 152, 425–438 (2017).

Harper, J. et al. An approved in vitro approach to preclinical safety and efficacy evaluation of engineered T cell receptor anti-CD3 bispecific (ImmTAC) molecules. *PLoS ONE* 13, e0205491 (2018)

Howlett, S., Carter, T. J., Shaw, H. M. & Nathan, P. D. Tebentafusp: a first-in-class treatment for metastatic uveal melanoma. *Ther. Adv. Méd. Oncol.* 15, 17588359231160140 (2023).

Boudousquie, C. et al. Polyfunctional response by ImmTAC (IMCgp100) redirected CD8 + and CD4 + T cells. *Immunology* 152, 425–438 (2017).

Ryan, P. C. et al. In vitro MABEL approach for nonclinical safety assessment of MEDI-565 (MT111). *ALTEX Proceedings*, 1/12, Proceedings of W8. https://proceedings.altex.org/data/2012-01/085087_Ryan31.pdf (2012).

Williams-Gray CH, Mason SL, Evans JR, et al. The CamPaIGN study of Parkinson's disease: 10-year outlook in an incident population-based cohort. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2013; 84: 1258–1264.

14. 현대약품의 임신중절 약물-미프지미소정의 Human relevance-독성학적 고찰

(본 글은 학문적인 측면에서 고찰한 것임)

1. 미프지미소정에 대한 기사

<ul style="list-style-type: none"> • 불법으로 구하던 임신 중지 약물 '미프진'...입법 공백 속 4년째 도전 나선 현대약품(입력 2025.11.18. 09:12. 조선비즈) • 현대약품, 임신중절 약 '미프지미소정' 국내 품목허가 신청. 국내 품목 허가 후 시판 예정 (입력 2025.01.02. 10:59; M메디 소비자 뉴스)
<p>1) 조선비즈 기사(홍다영 기자)</p> <p>정부가 임신 중지 약물 도입을 국정 과제로 확정하면서 현대약품(11,030원 ▼ 990 -8.24%)의 미프진(미프지미소)이 주목받고 있다. 미프진은 '먹는 낙태약'으로 현대약품이 4년째 국내 도입을 추진하고 있다.</p> <p>미프진은 임신을 유지하는 호르몬을 억제하고 자궁 수축을 유도하는 원리로 임신을 중지한다. 세계보건기구(WHO)가 2005년 필수 의약품으로 지정해 미국, 영국, 프랑스 등 100개국에서 판매한다. 국내에선 불법이라 중국에서 생산한 복제약이 밀수입돼 수십만원에 암암리에 거래되고 있다.</p> <p>◇현대약품, 英 제약사에서 판권 계약</p> <p>현대약품은 지난 2021년 영국 제약사 라인파마 인터내셔널과 미프진에 대한 국내 판권을 독점 계약했다. 현대약품은 미프진을 국내에 도입하기 위해 그해 7월 식품의약품안전처에 품목 허가를 신청했다. 식약처는 자료 보안을 요청했고 현대약품이 일부 자료를 구비하지 못해 허가를 취했다.</p> <p>현대약품은 2023년 3월 다시 식약처에 품목 허가를 신청했으나 마찬가지로 자료 문제로 품목 허가 절차가 잠정 중단됐다. 현대약품은 지난해 12월 미프진 품목 허가를 3번째로 신청했다. 품목 허가 심사 결과는 아직 나오지 않았다.</p> <p>식약처는 관련 관련 법 개정이 필요하다는 입장이다. 식약처 관계자는 "임신 몇주까지 약물을 사용할 수 있는지 등을 정해야 품목 허가 절차를 진행할 수 있다"면서 "법 개정이 처리돼야 하기 때문에 품목 허가 결과가 미뤄지고 있다"고 했다.</p> <p>2) M메디 소비자 뉴스 기사(방수진 기자)</p> <p>현대약품은 임신 중절 약 '미프지미소정(사진·미페프리스톤·미소프로스톨)'에 대한 품목허가를 식품의약품안전처에 신청했다고 2일 밝혔다.</p> <p>현대약품에 따르면, 임상은 총 3건으로 미국 및 멕시코에서 실시됐는데 미페프리스톤과 미소프로스톨 투여의 자궁 내 임신 중절에 대한 유효성과 안전성을 평가했다.</p> <p>임상시험에서 임상적 유효성(임신 중절 성공률)은 외과적 개입 없이 완전한 유산이 이루어진 경우로 정의됐다.</p> <p>3건의 연구에서 임신 중절 성공률은 각 임상시험별 94.9%, 96.2%, 97.3% 이었다.</p> <p>현대약품은 이러한 결과가 200mg의 경구용 미페프리스톤 복용 후 800mcg의 미소프로스톨을 복용하는 요법이 임신 63일(9주) 이하인 임신을 종료하는데 효과적임을 나타낸다고 설명했다.</p> <p>3건의 주요 임상시험에서 가장 흔하게 보고된 이상반응들은 통증(93.4%), 메스꺼움(70.8%), 설사(59.5%), 쇠약(55.7%) 등이었다고 회사는 전했다.</p> <p>현대약품은 "미프지미소정은 미페프리스톤 200mg 1정과 미소프로스톨 200µg(mcg) 4정으로 구성된 콤플렉스 형태로 세계보건기구(WHO)에서도 필수약품으로 지정한 경구용 임신 중절 약물"이라며 "임신 유지에 필수적인 프로게스테론의 작용을 억제하는 안티-프로게스테론인 미페프리스톤 1정을 먼저 복용하고 1~2일 후에 자궁 수축을 촉진하는 미소프로스톨 4정을 복용하는 것을 용법으로 한다"고 했다.</p> <p>이어 "이 또한 세계보건기구(WHO)에서 권장하는 임신 63일(9주)까지의 의료적 임신중절 방법으로 안전성과 유효성을 검토 받고 허가 받은 의약품을 국내에 소개해 안전하게 허가 승인된 의약품으로 사용이 가능할 것으로 기대된다"고 덧붙였다.</p> <p>회사는 국내 품목 허가 후 국내 시판 예정이다.</p>

2. 미프지미소정의 약리 작용과 복제약(Generics) 동향

1) Mechanism of action

1-1) 원성분: 미프지미소정의 원물질은 미페프리스톤(Mifepristone)으로 2000년 FDA로부터 수술적 낙태의 대안으로 승인됨(FDA, 2025)..

1-2) Mifepristone에 의한 낙태의 Mechanism of action: 주요 작용 기전은 Figure 15.9에서처럼 항프로게스테론제인 Mifepristone이 자궁내막 프로게스테론 수용체(progesterone receptor)에 결합하여 모체 용모막의 퇴행을 유발하고(Libraries, 2024), 결국 배아가 자궁내막에서 분리되도록 하는 것임. 또한 미페프리스톤은 또한 자궁경부를 연화시키는데, 이는 일차적 효과이거나 배아 분리에 따른 프로스타글란딘 방출로 인해 낙태 작용을 촉진할 수 있음. 미페프리스톤은 임신중절을 위해 미소프로스톨(misoprostol, 프로스타글란딘 유사체)과 병용하여 사용되며 미페프리스톤 투여 후 1~2일 후에 미소프로스톨을 투여함. 미소프로스톨은 자궁경부 숙화(cervical ripening, 자궁 경부가 부드러워지고 팽창하는 과정)를 유도함. 두 번째 구성 성분인 미소프로스톨을 복용하지 않은 여성의 경우, 임신이 지속되어 출산에 이를 가능성이 있음. 임신 9주 이내의 임신 종결에 효과적임(Cadepond 등, 1997; Baulieu 등, 1997, Davenport 등, 2017).

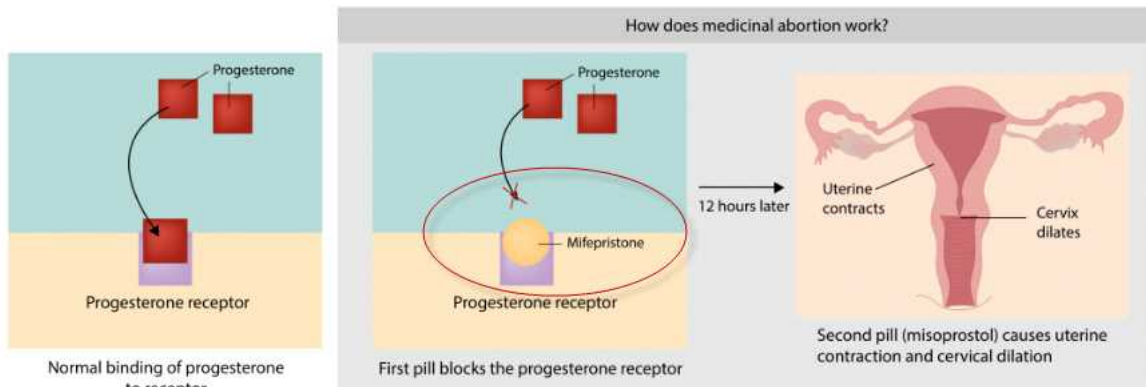


Figure 15.9 Mechanism of medicinal abortion (Mifepristone).

2) 복제약(Generics) 동향

- FDA는 2000년 9월 임신 7주까지의 의학적 임신중절용으로 미페프렉스(미페프리스톤)를 최초 승인했으며, 이는 2016년 임신 10주까지 확대되었음. 또한 FDA는 2019년 4월 미페프렉스의 제네릭 제품인 미페프리스톤 정제 200mg을 복제약으로 승인하였음. 제네릭 제품의 승인은 미페프리스톤 정제 200mg이 미페프렉스와 치료상 동등하며 안전하게 대체될 수 있다는 FDA의 판단이 반영됨. 승인된 제네릭 제품은 미페프렉스와 마찬가지로 임신 70일까지의 자궁내 임신 의학적 중절에 사용됨. 승인된 미페프렉스 제네릭 제품의 라벨링은 미페프렉스의 라벨링과 일치함(FDA, 2025).

3. 안전성에 대한 문제 제기

- 미페프리스톤은 일반적으로 임신 9~10주까지의 의학적 낙태에 사용되므로, 발생 및 장기형성이라는 중요한 시기에 노출될 경우 발달 중인 배아/태아에 대한 모든 부작용 또는 기형 유발 효과를 고려해야 한다고 주장.
- 독성학 및 기형학 보고서는 일부 동물에서 미페프리스톤 및 미소프로스톨의 기형 유발 효과를 입증한 연구를 인용하여 teratogen(기형유발물질) 있음(Wolf등, 1990; Tarantal 등, 1994; Pastuszek 등, 1998; da Silva 등, 2006).
- 임신 초기(1분기)에 미페프리스톤에 노출된 여성을 위한 현재 임상 지침은 인간 대상의 제한된 발표 증거를 바탕으로 기형 유발성이 확인되지 않았다고 명시되고 있음(Turner 등, 2024).

4. 미페프리스톤(Mifepristone)이 기형유발물질이 아닌 이유에 대한 독성학적 고찰

1) 미페프리스톤의 대사 경로

1-1) CYP3A4에 의한 극성(무독성)대사체 생성 경로

- 미페프리스톤의 산화에 관여하는 주요 효소는 CYP3A4, 이 효소는 약물에 의해 기전 기반으로 미페프리스톤을 비활성화 유도. CYP3A4에 의한 산화는 미페프리스톤의 항프로게스테론제 역할을 제한함(Khan 등, 2002). 또한 CYP3A5도 미페프리스톤의 탈메틸화 대사물로 전환하여 항프로게스테론제 역할을 제한함.

1-2) CYP2B6에 의한 친전자성 대사체 생성 경로

- Fig. 9는 CYP2B6에 의한 Mifepristone(RU486)의 대사활성화(metabolic activation)를 통해 1) 17-oxirene related reactive species(친전자성 대사체)과 2) the 4,5-epoxide reactive species(친전자성 대사체) 생성과 이에 의해 헤모글로빈 및 아포단백질 변형과 glutathione(GSH)-포합체(conjugate)를 생성하는 경로를 나타낸 것임(Lin 등, 2009).

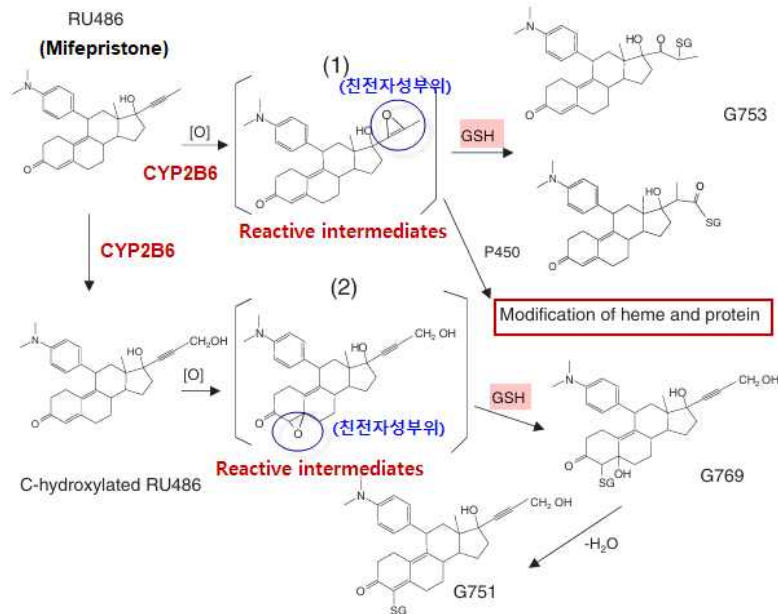


Fig. 9. Proposed scheme for the **metabolic bioactivation** of RU486(Mifepristone) by P450s leading to heme and apoprotein modification and four GSH conjugates(CYP2B6에 의한 RU486의 대사활성화 <metabolic activation>를 통해 헤모글로빈 및 아포단백질 변형과 글루타티온(GSH) 포합체를 생성하는 제안된 경로)

2) 미페프리스톤의 teratogen(기형유발물질) 유무에 대한 독성학적 고찰

2-1) 인체와 동물의 cytochrome P450 효소의 차이

- <표 3-6>은 인체 및 동물종의 CYP 동질효소 종류와 일치율 비교한 것임. 미페프리스톤의 대사에 관여하는 cytochrome P450 효소인 CYP2B6와 CYP3A4는 인체-특이적 효소이며 다른 동물에 없는 효소로 파악됨.
- 따라서 앞에서 서술된 "독성학 및 기형학 보고서는 일부 동물에서 미페프리스톤 및 미소프로스톨의 기형 유발 효과를 입증한 연구를 인용하여 teratogen(기형유발물질) 있음(Wolf등, 1990; Tarantal 등, 1994; Pastuszak 등, 1998; da Silva 등, 2006)" 주장은 human-relevance 측면에서 인간에게 외삽될 수 없음.

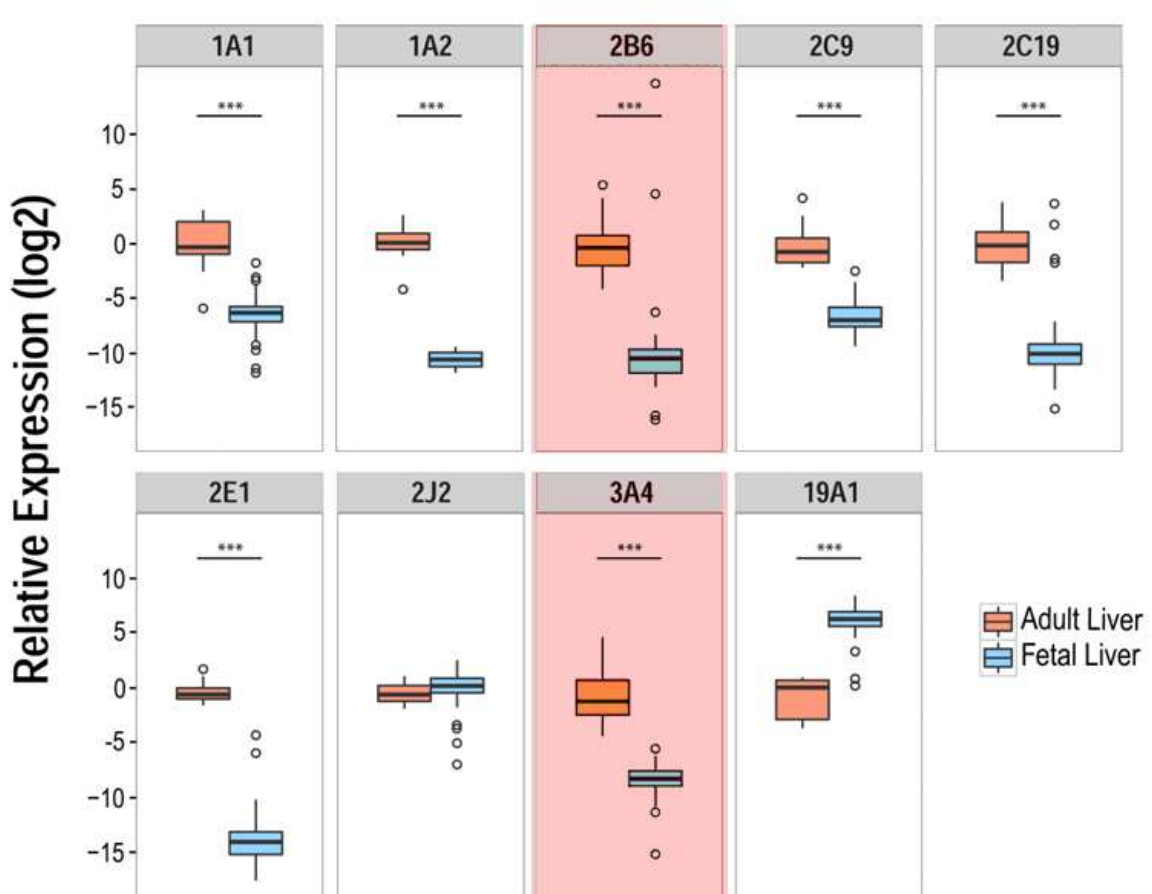
<표 3-6> 인체 및 동물종의 CYP 동질효소 종류와 일치율 비교

CYP family	CYP subfamily	CYP isozyme				
		Human	Monkey	Rat	Mouse	
CYP1	CYP1A	CYP1A1	CYP1A1	CYP1A1	CYP1A1	
		CYP1A2	CYP1A2	CYP1A2	CYP1A2	
	CYP1B	CYP1B1	CYP1B1	CYP1B1	CYP1B1	
CYP2	CYP2A	CYP2A6	CYP2A23	CYP2A1	CYP2A4	
		CYP2A7	CYP2A24	CYP2A2	CYP2A5	
		CYP2A13		CYP2A3	CYP2A12	
				CYP2A22		
	CYP2B	CYP2B6	CYP2B17	CYP2B1	CYP2B9	
		CYP2B7		CYP2B2	CYP2B10	
				CYP2B3		
	CYP2C	CYP2C8	CYP2C20	CYP2C6	CYP2C29	
			CYP2C9	CYP2C43	CYP2C7	CYP2C37
		CYP2C18		CYP2C11	CYP2C38	
			CYP2C19		CYP2C12	CYP2C39
				CYP2C13	CYP2C40	
				CYP2C22	CYP2C44	
				CYP2C23	CYP2C50	
					CYP2C50	
					CYP2C55	
		CYP2D	CYP2D6	CYP2D17	CYP2D1	CYP2D9
			CYP2D7	CYP2D19	CYP2D2	CYP2D10
			CYP2D8	CYP2D29	CYP2D3	CYP2D11
				CYP2D30	CYP2D4	CYP2D12
				CYP2D42	CYP2D5	CYP2D13
				CYP2D18	CYP2D22	
					CYP2D26	
				CYP2D34		
			CYP2D40			
CYP2E	CYP2E1	CYP2E1	CYP2E1	CYP2E1		
CYP3	CYP3A	CYP3A4	CYP3A8	CYP3A1	CYP3A11	
		CYP3A5		CYP3A2	CYP3A13	
		CYP3A7		CYP3A9	CYP3A16	
		CYP3A43		CYP3A18	CYP3A25	
				CYP3A62	CYP3A41	
			CYP3A44			
인체 CYP에 대한 일치율			4/15 = 27%	4/28 = 14.3%	4/34 = 11.8%	

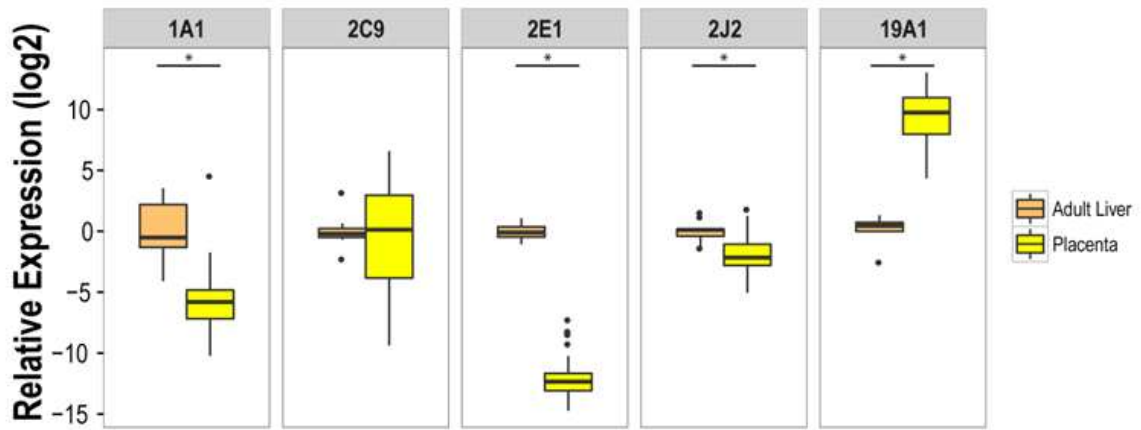
(Konstandi, 2014 & 박영철 2019)

2-2) 성인과 태아의 cytochrome P450 효소의 차이

- CYP2B6와 CYP3A4는 인체-특이적 효소임. CYP2B6와 CYP3A4의 성인과 태아에서 활성 차이를 확인할 필요성이 있음.
- <그림 4>에서처럼 독성대사체인 친전자성대사체를 생성하는 CYP2B6 발현량은 성인 간에서 태아 간보다 224배 높았음. (논문의 원문 내용: 후속 및 신규 태반(임신 2기/만삭) mRNA 평가에서 CYP2B6은 검출되지 않았거나 극히 미량 검출>. <그림 5>에서처럼 태반에서도 CYP2B6와 CYP3A4 등의 효소는 검출되지 않았거나 미량 검출됨. 무독성대사체를 생성하는 CYP3A4 발현량도 태아 간에서 현저히 낮았음(Robinson 등, 2020).
- 따라서 CYP2B6와 CYP3A4 효소는 성인-특이적 cytochrome P450이지만 태아에서는 발현이 아주 미미하거나 발현이 되지 않은 cytochrome P450 효소임이 확인되었음(Robinson 등, 2020).



<그림 4> 성인 인간 간 및 임신 2기 태아 간에서의 CYP 발현. 성인 인간 간(n=9) 및 태아 간(n=84)에서의 상대적 CYP RNA 발현(log2). 값은 조정된 log2 평균과 평균에 대한 표준 오차(SE)를 나타냅니다. 별표(*)는 유의성을 나타냅니다(t-검정, p<0.05).

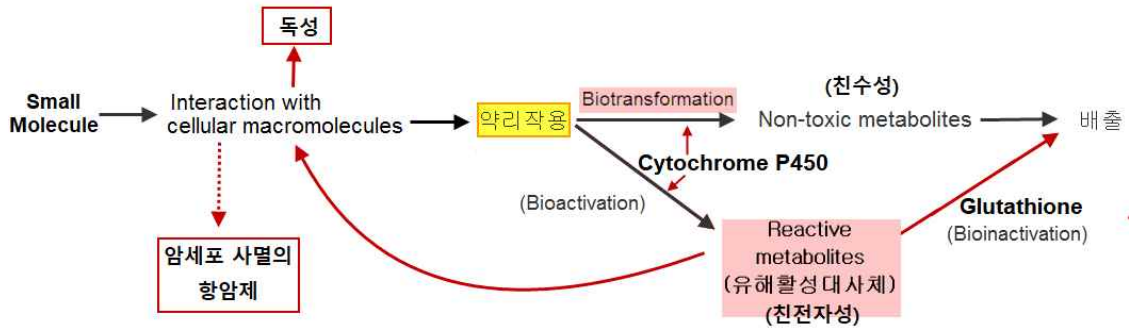


<그림 5> 성인 인간 간 및 임신 2기 태반에서의 CYP 발현: 성인 인간 간(n=9) 및 임신 2기 태반(n=47)에서의 상대적 CYP 발현(log2). 별표(*)는 유의성을 나타냄(t-검정, p<0.05).

3) 미페프리스톤의 teratogen(기형유발물질) 유무에 대한 독성학적 고찰에 대한 결론

3-1) 합성의약품 또는 유기물질의 독성 기전

- 합성의약품 또는 유기물질이 독성을 유발하기 위해서는 원물질(parent compound)의 친전자성(electrophilic)으로 전환되어 세포의 단백질 및 DNA와의 비가역적 공유결합이 이루어져야 함. 즉, 아래의 <그림>과 같이 약물의 약리작용은 대체적으로 원물질 자체에 의해 이루어지며 cytochrome P450에 의해 극성대사체와 친수성대사체로 전환되어 배출됨. 반면에 독성물질은 cytochrome P450에 의해 대사되어 전자가 부족한 친전자성대사체로 전환되어 전자가 풍부한 단백질 및 DNA에 비가역적 공유결합이 이루어짐.



<그림> 약물의 독성물질로 전환과정과 DNA 및 단백질과의 공유결합 과정

3-2) 미페프리스톤의 teratogen(기형유발물질)에 대한 판단

- 미페프리스톤(Mifepristone)은 CYP2B6에 의해 친전자성대사체로 전환되어 독성 가능성을 유발할 수 있지만 CYP2B6는 성인-특이적 cytochrome P450 효소이지만 태아에서는 발현되지 않음. 따라서 Mifepristone의 동물에서 teratogen 가능성이 있을 수 있지만 모체의 태아에서 발현되지 않아 teratogen 가능성이 없음.
- CYP2B6는 성인 간에서 1-7% 정도의 발현되는 소량 발현의 cytochrome P450임. 따라서 CYP2B6에 의한 Mifepristone 대사로 발생하는 소량의 친전자성 독성대사체 생성도 GSH에 의해 무독화될 가능성 높음. 특히 성인 간의 40%를 차지하는 CYP3A4에 의하여 Mifepristone의 무독성대사체로 전환될 확률이 높음(Robinson 등, 2020).

5. 결론: 현대약품의 임신중절 약물-미프지미소정의 Human relevance-독성학적 고찰

1) 안전성에 대한 문제 제기 내용

- 미페프리스톤은 일반적으로 임신 9~10주까지의 의학적 낙태에 사용되므로, 발생 및 장기형성이라는 중요한 시기에 노출될 경우 발달 중인 배아/태아에 대한 모든 부작용 또는 기형 유발 효과를 고려해야 한다고 주장.
- 독성학 및 기형학 보고서는 일부 동물에서 미페프리스톤 및 미소프로스톨의 기형 유발 효과를 입증한 연구를 인용하여 teratogen(기형유발물질) 있음(Wolf 등, 1990; Tarantal 등, 1994; Pastuszak 등, 1998; da Silva 등, 2006).
- 임신 초기(1분기)에 미페프리스톤에 노출된 여성을 위한 현재 임상 지침은 인간 대상의 제한된 발표 증거를 바탕으로 기형 유발성이 확인되지 않았다고 명시되고 있음(Turner 등, 2024).

2) 독성학적 고찰

- 미페프리스톤(Mifepristone)은 CYP2B6에 의해 친전자성대사체로 전환되어 독성 및 기형 유발 가능성이 있지만 CYP2B6는 성인에서만 전체 cytochrome P450 중 1-7% 소량으로 발현되는 성인-특이적 효소임. 따라서 CYP2B6에서 발현이 되지 않거나 아주 극미한 소량으로 발현되어 태아 내 다양한 거대분자와 공유결합을 통해 독성을 유발하는 teratogen(기형유발물질) 가능성은 아주 낮음. 따라서 미페프리스톤은 태아 및 모체에 있어서 안전성이 높은 약물로 판단됨.

3) CYP2B6 활성 부존재에 따른 미페프리스톤(Mifepristone)의 태아에 작용기전 예측

- 아래 <그림>에서처럼(Libraries, 2024) 미페프리스톤은 자궁내막 progesterone receptor은 원물질 자체로 비공유결합하여 모체 용모막의 퇴행을 유발함. 비공유결합은 progesterone receptor에 가역적 결합을 의미하며 일시적 결합을 의미함. 만약 미페프리스톤 투여 후 미소프로스톨은 자궁경부 숙화가 이루어지지 않으면 미페프리스톤은 자궁내막에서 분리되어 항프로게스테론제 역할은 중지됨. 이는 미소프로스톨을 복용하지 않은 여성의 경우, 임신이 지속되어 출산에 이를 가능성이 있다는 측면에서 설명됨.

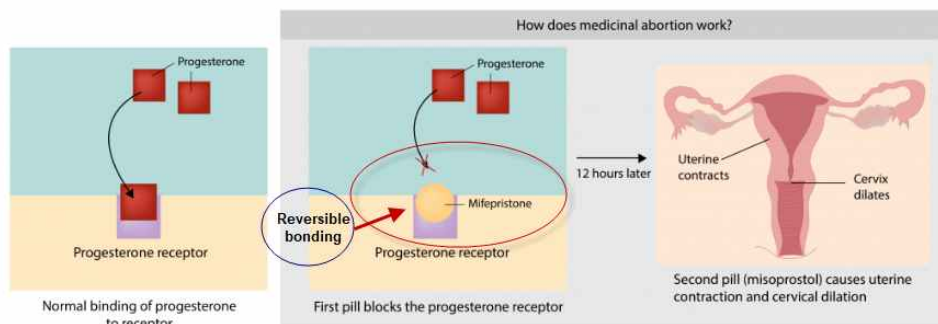


Figure 15.9 Mechanism of medicinal abortion (Mifepristone).

<참고문헌>

Konstandi, M. (2014). Consequences of psychophysiological stress on cytochrome P450-catalyzed drug metabolism. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. 45:149–167.

Lin HL, Zhang H, Hollenberg PF. Metabolic activation of mifepristone [RU486; 17beta-hydroxy-11beta-(4-dimethylaminophenyl)-17alpha-(1-propynyl)-estra-4,9-dien-3-one] by mammalian cytochromes P450 and the mechanism-based inactivation of human CYP2B6. *J Pharmacol Exp Ther*. 2009;329(1):26-37.

Turner JV, Garratt D, Barwick A, McLindon LA, Spark MJ, Smith A. Congenital and Fetal Effects After Mifepristone Exposure and Continuation of Pregnancy: A Systematic Review. *Clin Pharmacol Ther*. 2024 Nov;116(5):1207-1216.

Davenport M, Delgado G, Harrison MP, Khau V. Embryo Survival after Mifepristone: A Systematic Review of the Literature. *Issues Law Med*. 2017 Spring;32(1):3-18.

Wolf, J.P., Chillik, C.F., Dubois, C., Ulmann, A., Baulieu, E.E. &Hodgen, G.D. Tolerance of perinidatory primate embryos to RU486 exposure in vitro and in vivo. *Contraception* 41, 85–92(1990).

Tarantal, A.F., Otiang-a-Owiti, G. & Hendrickx, A.G. Holoprosencephaly in a long-tailed macaque (*Macaca fascicularis*): a case report. *J. Med. Primatol*. 23, 319–324 (1994).

FDA, 2025. Official FDA Drug Label For mifepristone (PO)

Cadepond F, Ulmann A, Baulieu EE. RU486 (mifepristone): mechanisms of action and clinical uses. *Annu Rev Med*. 1997;48:129-56.

Baulieu EE. RU 486 (mifepristone). A short overview of its mechanisms of action and clinical uses at the end of 1996. *Ann N Y Acad Sci*. 1997 Sep 26;828:47-58.

da Silva Dal Pizzol, T., Knop, F.P. & Mengue, S.S. Prenatalexposure to misoprostol and congenital anomalies: systematicreview and meta- analysis. *Reprod. Toxicol*. 22, 666–671 (2006).

Pastuszak, A.L. et al. Use of misoprostol during pregnancy and Möbius' syndrome in infants. *N. Engl. J. Med*. 338, 1881–1885(1998)

Khan KK, He YQ, Correia MA, Halpert JR. Differential oxidation of mifepristone by cytochromes P450 3A4 and 3A5: selective inactivation of P450 3A4. *Drug Metab Dispos*. 2002 Sep;30(9):985-90.

Robinson JF, Hamilton EG, Lam J, Chen H, Woodruff TJ. Differences in cytochrome p450 enzyme expression and activity in fetal and adult tissues. *Placenta*. 2020 Oct;100:35-44.

Libraries, 2024. <https://open.lib.umn.edu/evolutionbiology/chapter/15-7-abortion/>

15. NAM의 출현과 현대독성학의 새로운 정의

1. NAM의 기원과 신약 개발의 적용

1) REACH에서 FDA의 NAM 응용

- NAM(New Approach Methodologies, 신규 접근 방법론)의 기원은 비의도적 노출 화학물질에 대한 안전성 평가를 기반으로 기원한 용어임. 즉, REACH(Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals, 화학물질의 등록, 평가, 허가 및 제한)에 응용되어 출현되었음(Dent 등, 2022). 약물에 적용은 1997년 Modernization Act 후 동물대체시험법이 강조된 약 25년 후인 2022년 Modernization Act 2의 전후로 NAM에 대한 적극적인 응용과 관심이 더 높아졌다고 할 수 있음(U.S. Congress. 2022; U.S. FDA, 2024). 산업물질과 같은 비의도적 노출 NAM과 약물과 같은 의도적 노출에서 NAM의 접근에서는 차이가 있음(European Medicines Agency, 2023)..

2) 산업물질 등의 비의도적 노출에서 NAM

- REACH 하의 화학 안전성 평가는 유해성 식별 및 분류, 데이터가 부족한 수천 가지 화합물 스크리닝, 노출 수준에서의 안전성 이분법적 판단, 환경 및 직업적 노출 경로, 인구 수준 보호를 포함함.

3) 약물 등의 의도적 노출에서 NAM

- 의약품 개발은 안전성과 유효성 평가, 인간 임상 결과 예측, 개별 환자에 대한 위험-이익 분석, 장기간 치료 용량, 약동학·생체분포·면역 반응과의 통합을 모두 포함함. 예를 들면 동일한 체외 간 모델은 잠재적 간독성 산업용 화학물질을 표시하는 데는 적합할 수 있으나, 신약 후보물질의 진행 여부를 결정하는 데는 불충분할 수 있음. 이는 위험성, 규제 체계, 과학적 질문이 근본적으로 다르기 때문임(National Research Council, 2007).

4) 비의도적 노출과 의도적 노출에서 NAM의 차이

- 이와 같이 차이를 기반으로 비의도적 노출에서 NAM은 단순한 동물실험 대체에 무게를 두지만, 약물 등의 의도적 노출에서 NAM 성공은 단순히 동물실험 대체 수단이라는 사고방식을 넘어서야 함. 즉, **NAM은 인간과 더 관련성 높은 기전 정보를 제공하며 사용 맥락(The context of Use, COU)의 신중한 정의와 규제 의사 결정 과정에서 적절한 검증 기준이 필요함.**

2. 규제 의사 결정 과정에서 NAM 평가를 위한 고려 사항과 COU

- <표-1>에서처럼 규제 의사 결정 과정에서 NAM 평가 시 주요 5가지 고려 사항으로 **1. 사용 맥락(COU, the context of use)**, 2. NAM의 임상적 적응증에 대한 생물학적 관련성, 3. NAM의 기술적 특성 분석, 4. 데이터 무결성 및 결과의 타당성(Data integrity and validity of results), 5. 정보 투명성 등으로 구성. NAM 평가는 단순히 관료적 check box가 아니며 규제 기관과 개발자 간의 임상시험의 안전성을 위한 심오한 이해가 요구되는 의사 결정 과정임. **그러나 NAM 평가 시 핵심적인 요소는 COU임을 <표-1>을 통해 알 수 있음**(European Commission, 2025; U.S. FDA, 2024).

<표-1> 규제 의사 결정 과정에서 NAM 평가 시 주요 고려 사항과 COU와의 관계	
1. 사용 맥락(COU)	<ul style="list-style-type: none"> • NAM에 대한 COU가 규제 요구 사항을 충족할 수 있도록 적절히 기술되었는가? • NAM은 약물의 안전한 사용 또는 잠재적 임상적 유효성에 대한 정보를 어떻게 제공하도록 의도되었는가? • 사용된 NAM은 현재 인정된 방법을 개선하거나 대체하기 위한 것인가? • 사용된 NAM은 인정된 비임상 연구의 평가 지표와 중복되는 데이터를 생성하는가? • COU 기술의 한계점은 무엇인가?
2. NAM의 임상적 적응증에 대한 생물학적 관련성	<ul style="list-style-type: none"> • NAM endpoint(최종점)의 생물학적 관련성이 명확히 기술되고 정당화되어, NAM endpoint와 관심 생물학적 종점 간의 관계가 분명한가? • NAM endpoint가 임상적으로 의미 있는 변화 측정에 어떻게 기여하는가? • 연구 결과는 어떻게 정당화되었으며, COU에서 논의되었으며, 또는 기존 발표 문헌에 의해 어떻게 뒷받침되었는가? • 시험 결과는 연구 대상 종 또는 최종점과 관련된 기존 생체 내(in vivo) 또는 생체 외(in vitro) 데이터 또는 과거 대조군 데이터와 어떻게 비교 평가되었는가?
3. NAM의 기술적 특성 분석	<ul style="list-style-type: none"> • NAM의 방법론은 COU에 정보를 제공하기 위해 어떻게 특별히 설계되었는가? • NAM 연구 보고서는 연구 설계 및 시험 구성 요소에 대한 충분히 상세한 설명을 포함하여 방법론을 완전히 이해하고 데이터 및 결과를 독립적으로 해석할 수 있도록 하는가? • 선택된 평가 지표(들)에 정보를 제공하고 의도된 COU를 다루기 위해 양성 및 음성 대조군은 어떻게 정당화되었는가?
4. 정보 투명성	<ul style="list-style-type: none"> • 검토를 위해 제출된 Raw data는 무엇인가? • COU 및 방법론에 대한 과학적·규제적 신뢰를 확보하기 위해 NAM에 대한 상세 정보가 광범위한 과학계 내에서 공개적으로 peer-review를 거쳤는가?
5. 데이터 무결성 및 결과의 타당성(Data integrity and validity of results)	<ul style="list-style-type: none"> • 보고서에 연구 설계, 수행 및 감독에 대한 과학적 신뢰를 확보할 수 있을 만큼 충분한 정보가 제공되었는가(예: NAM이 미국 FDA GLP 규정 준수, OECD 연구 설계 지침 및/또는 규제 기관이 설정한 기타 기준을 따라 수행되었는가)?

3. NAM에서 COU의 정의와 검증

3-1) FDA의 COU 정의

- FDA는 COU를 "의약품 개발 도구의 사용 방법과 의약품 또는 생물학적 제제 개발 지원 목적에 대한 간결한 설명(The FDA describes context of use as "a concise description of how the drug development tool is to be used and its purpose in supporting the development of drugs or biologics)으로 정의(FDA, 2023). 즉, **신약 개발에서 COU는 약리 또는 독성에 대한 연구 수행 맥락(the context of study conduct)임.**
- 어떻게 보면 정의 자체가 관료적이라고 느낄 수도 있지만, 그 함의는 심오함. **COU는 NAM 출현 후 주목을 받고 있어 인허가의 기존 관료적 체크박스(check box)가 아님.** 그러나 현재 인허가에서 수용되고 있는 NAM이 ① 어떤 목적에 유효한가? ② 어떤 COU에서? ③ 어떤 결정을 내리기 위해? 등의 질문에 대한 답이 필요함. 이는 NMA의 핵심 요소가 COU이며 결국 규제 당국의 수용 가속화에 영향을 주는 핵심 요소임. **즉, COU는 독성학 패키지의 보호 기준을 유지하거나 초과하면서 임상 결과 예측을 향상시키는 것을 반드시 의미해야 하며 이는 NAM이 규제 프레임 내 안착에 있어 중요함.**

3-2) ICCVAM의 COU 정의와 검증

- 미국 동물대체시험법 검증을 위한 범부처 협동위원회인 ICCVAM(Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods)은 <그림-1>과 같이 유연하고 목적에 부합하는 NAM 검증 전략의 개발 및 실행 과정에서 고려해야 할 핵심 개념을 나타낸 것임 (ICCVAM, 2024). 이러한 개념들은 다양한 목적으로 NAM을 활용하는 데 광범위하게 적용될 수 있으나, 특정 시나리오와 적용 분야에 따라 필요에 맞게 조정되어야 함. **고려해야 할 포괄적인 개념 중 중요한 하나는 COU(context of use, 사용 맥락), 즉 NAM이 의도된 목적(예시: 스크리닝, 유해성 식별, 효능 평가, 정량적 위험 평가의 출발점 등)임.** COU는 검증 과정의 유연성과 특정 COU에 대한 NAM 적합성 확립 방식을 결정함. 이러한 유연하고 목적 적합 (fit-for-purpose)에 부합하는 검증 과정에 관여하는 핵심 개념은 생물학적 관련성, 기술적 특성 분석, 데이터 무결성, 정보 투명성임. 즉, <표-1> 규제 의사 결정 과정에서 NAM 평가 시 **주요 고려 사항과 Figure 1에서처럼 NAM의 유연하고 목적에 부합하는 NAM 검증 전략의 개발 및 실행 과정에서 COU이 구성할 요소와 다름이 없음.** NAM과 COU 내의 요소는 상호 연관되고 의존적임. 특히 **검증 과정의 모든 요소들은 독립적인 검토를 받아야 함.**

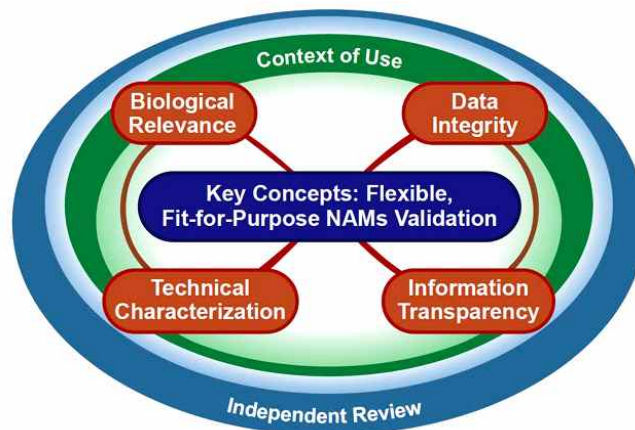


Figure 1. Key concepts to consider during development and implementation of flexible, fit-for purpose NAMs validation strategies(ICCVAM, 2024)

3-3) COU의 검증

- NAM은 다른 종으로부터 추론하기보다 인간 생물학을 직접 탐구할 수 있는 능력이므로 진정으로 과학적 진보임. 그러나 약물의 안전성 스크리닝에서 의약품 개발까지의 여정은 자동적이지 않기 때문에 특정 COU에 맞춤형 엄격한 검증이 필요함.
- OECD TG34의 위험성 평가를 위한 신규 또는 개정 시험 방법의 검증 및 국제적 수용에 관한 지침 문서(Guidance document on the validation and international acceptance of new or updated test methods for hazard assessment)에서 검증(validation)은 **특정 COU에서 NAM의 적합성을 판단함**으로써 과학적 신뢰도를 확립하는 견고하면서도 **유연한 과정**이어야 한다고 규정하고 있음(OECD TG4, 2005). 이러한 유연성은 의도된 것이며 필수적임.
- COU의 핵심 검증 원칙에는 관심 종말점(endpoint)에 대한 생물학적 관련성(Biological relevance to the endpoint of interest), 재현-가능한 결과를 통한 기술적 신뢰성(Technical reliability with reproducible results), 독립적 검토를 허용하는 투명한 데이터(Transparent data allowing independent review), 한계를 명시하는 정의된 적용 가능 영역(Defined applicability domain specifying limitations, **사용 맥락에 적합한 성능 기준(Performance standards appropriate to the context of use)**이 포함되어야 함(Ball 등, 2022; NTP, 2024). 이는 결국 **NAM 검증이 곧 COU 검증이라고 할 수 있음.**

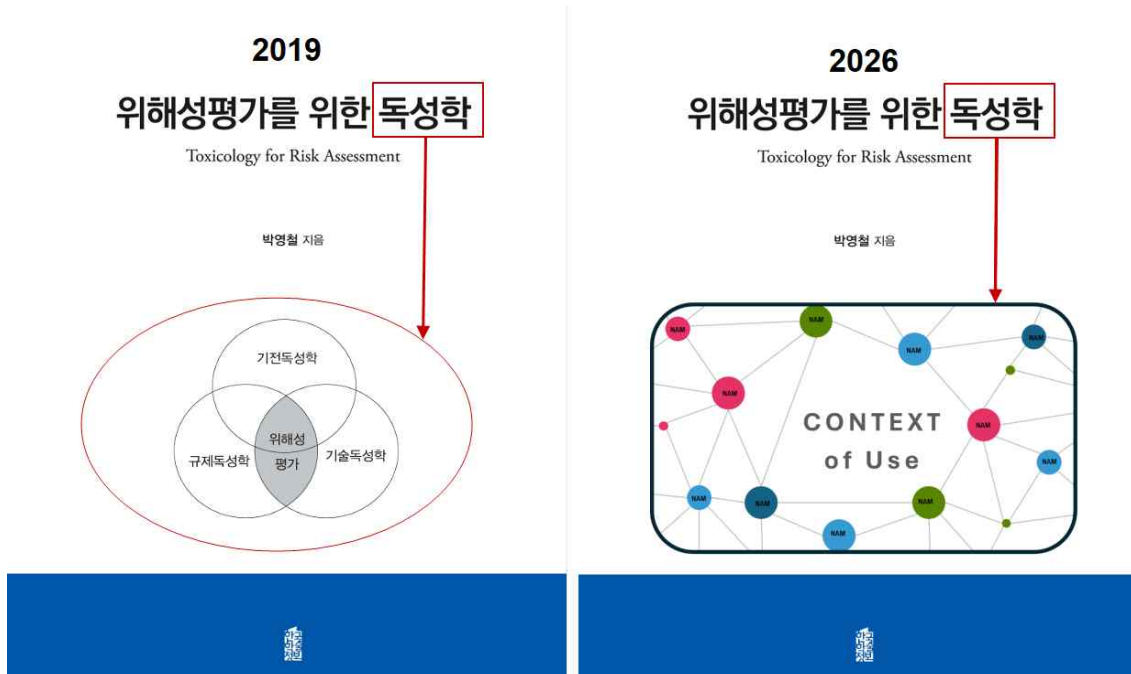
4. 현대독성학의 정의 변화와 COU

4-1) 현대독성학의 기존 정의

- 독성학은 동물실험 및 in vitro 연구를 통해 독성 기전을 파악하고 인체에 외삽하는 학문이라고 정의되었음.
- 그리고 오늘날 3대 현대독성학은 분자·세포학적 수준에서의 독성기전을 확인하는 기전독성학 (mechanistic toxicology), 유해성확인을 위한 독성시험의 기술독성학(descriptive toxicology) 그리고 비임상연구과 관련된 규제독성학(regulatory toxicology) 등으로 구성.

4-2) 현대독성학의 새로운 정의

- 동물실험의 제한으로 인간-관련성(human-relevance)에 부합하는 in vitro, ex vivo 그리고 in silico 등을 기반으로 인체 독성의 예측이 규제적 측면에서 NAM이 도구가 됨. 그리고 NAM의 규제적 적합성을 COU로 설명됨. 즉, 따라서 적어도 신약 개발 분야에서 현대독성학은 기전, 기술 그리고 규제가 함축적으로 설명되는 COU로 정의됨.
- 따라서 향후 더 이상 동물실험이 허용되지 않는 상황에서 현대독성학은 아래의 <그림>에서 처럼 NAM의 사용 맥락(the context of Usage<Use>, COU)으로 정의될 것임. 즉, 신약 개발에서 현대 독성학은 'Toxicology is defined as the "context of use" relating to the prediction of human toxicity.



<그림> 현대 독성학의 정의에 대한 수정

5. 결론

- 독성학은 동물실험 및 in vitro 연구를 통해 독성 기전을 파악하고 인체에 외삽하는 학문이라고 정의되었음.
- 그리고 오늘날 3대 현대독성학은 분자·세포학적 수준에서의 독성기전을 확인하는 기전독성학 (mechanistic toxicology), 유해성확인을 위한 독성시험의 기술독성학(descriptive toxicology) 그리고 비임상연구과 관련된 규제독성학(regulatory toxicology) 등으로 구성.
- NAM(New Approach Methodologies, 신규 접근 방법론)은 REACH(Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals, 화학물질의 등록, 평가, 허가 및 제한)로 부터 출발하였지만 2022년 Modernization Act 2의 전후로 신약개발에 있어서 비임상연구의 핵심 도구가 되었음.
- NAM은 REACH에서는 동물대체법의 수준이지만 신약 개발에서는 동물 사용을 줄이기 위해 'more human-relevant safety assessment'로 정의됨. 좀 더 광의적인 측면에서는 NAM은 인체의 안전성뿐만 아니라 효능성 예측도 포함한 비임상연구로 정의되기도 함.
- **약물 스크리닝, 유해성 식별, 효능 평가, NOEL 등 정량적 위험 평가의 point of departure 등을 포함하는 비임상연구로 NAM 정의될 수 있으며 COU(context of use, 사용 맥락)는 NAM이 의도된 목적임.**
- 그러나 현실에서 NAM은 비동물적 도구를 이용하여 인체 독성의 예측을 위한 비임상 과정이며 그 적합성은 COU로 설명됨. 따라서 적어도 신약 개발 분야에서 현대독성학은 기전, 기술 그리고 규제가 함축적으로 설명되는 COU로 정의됨. Toxicology = The context of use relevant to human's toxicity prediction.

<참고문헌>

OECD TG34. Organisation for Economic Co-operation and Development. (2005). Guidance document on the validation and international acceptance of new or updated test methods for hazard assessment (OECD Series on Testing and Assessment No. 34). OECD Publishing. <https://doi.org/10.1787/9789264085350-en>

ICCVAM, 2024. Validation, Qualification, and Regulatory Acceptance of New Approach Methodologies. A Report of the Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods (ICCVAM, 대체 방법 검증에 관한 기관간 협의 위원회) Validation Workgroup. 2024.

Ball, N., Cronin, M. T. D., Shen, J., Blackwell, K., Booth, E. D., Bouhifd, M., Donley, E., Esdaile, D., Freedman, D., Grimm, F., Gromelski, M., Hougaard Bennekou, S., Hewitt, M., Jaworska, J., Kramer, N., Kreiling, R., Luechtefeld, T., Munn, S., Nelms, M., ... Hartung, T. (2022). A framework for establishing scientific confidence in new approach methodologies. *Archives of Toxicology*, 96(11), 2865–2879. <https://doi.org/10.1007/s00204-022-03365-4>

Dent, M., Amaral, R. T., Da Silva, P. A., Ansell, J., Bober, F., Boobis, A., Cronin, M.,"; embryo, M., Endres, W., Faulhammer, F., Grignard, E., Gundert-Remy, U., Heinonen, T., Hougaard Bennekou, S., Hougaard, P., Hubesch, B., Laffont, M., Lewis, D., Lund, S., ... Yang, C. (2022). A framework for chemical safety assessment incorporating new approach methodologies within REACH. *Archives of Toxicology*, 96(3), 743–766. <https://doi.org/10.1007/s00204-021-03215-9>

European Commission. (2025). Roadmap towards phasing out animal testing. https://single-market-economy.ec.europa.eu/sectors/chemicals/reach/roadmap-towards-phasing-out-animal-testing_en

European Medicines Agency. (2023). Regulatory acceptance of new approach methodologies (NAMs) to reduce animal use in testing. <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory-overview/research-development/ethical-use-animals-medicine-testing/regulatory-acceptance-new-approach-methodologies-nams-reduce-animal-use-testing>

National Research Council. (2007). Toxicity testing in the 21st century: A vision and a strategy. National Academies Press. <https://doi.org/10.17226/11970>

National Toxicology Program. (2024). Validation, qualification, and regulatory acceptance of new approach methodologies. National Institute of Environmental Health Sciences. <https://ntp.niehs.nih.gov/>

Organisation for Economic Co-operation and Development. (2005). Guidance document on the validation and international acceptance of new or updated test methods for hazard assessment (OECD Series on Testing and Assessment No. 34). OECD Publishing. <https://doi.org/10.1787/9789264085350-en>

U.S. Congress. (2022). FDA Modernization Act 2.0. Consolidated Appropriations Act, 2023, Public Law 117-328.

U.S. FDA(Food and Drug Administration). (2024). Roadmap to reducing animal testing in preclinical safety studies. <https://www.fda.gov/media/186092/download>

16. FDA의 NAM 적격성 신청과 평가를 위한 ISTAND 프로그램과 승인된 NAM 현황

1. FDA 신약개발 도구 ISTAND 프로그램 안내

1-1) ISTAND 출현과 의약품 개발 도구(DDT, drug development tools)

- 미국 FDA는 기존 비임상시험 및 임상시험에서 적격성 프로그램의 범위를 벗어났지만, 신약 개발에 여전히 유용할 수 있는 신약 개발 도구의 혁신을 장려하기 위해 2020년 **신약 개발을 위한 혁신적 과학 기술 접근법**(ISTAND, Innovative Science and Technology Approaches for New Drugs) 시범 프로그램을 설립
- 시범 프로그램에서 고려될 수 있는 접근법인 NAM(new approach methodologies, 신규 접근 방법론)은 다음과 같으며 매년 ISTAND 프로그램에 2~4건 접근법의 제출을 접수하였음.
 - 안전성 또는 효능 문제를 평가하기 위한 미세생리학적 시스템 활용
 - 새로운 비임상 약리학 또는 독성학 분석법 개발
 - 환자 평가, 새로운 평가 지표 개발 또는 연구 설계 정보 제공을 위한 인공지능 기반 알고리즘 활용
- 그러나 FDA는 혁신적인 의약품 개발이 환자 및 소비자에게 신속하게 새로운 치료법을 제공하는 중요한 방법임을 인식하여 2025년 7월 31일 **ISTAND 시범 프로그램이 상설적인 의약품 개발 도구(DDT, drug development tools) 적격성 정규 프로그램으로 전환**되었음을 발표하였음(FDA Voices, 2025).

1-2) NAM의 ISTAND 적격성(Qualification) 획득의 의미

- 의약품의 경우, 적격성 획득 시 NAM은 “의약품 개발 도구(Drug Development Tool, DDT)”로 분류되며, **해당 기술의 재검토나 재확인 없이도 IND, NDA 또는 BLA에 적합한 데이터로 인정됨.**

1-3) NAM의 ISTAND 적격성 획득 과정

- 2025년 4월 발표된 전임상 안전성 연구에서 동물실험을 줄이기 위한 로드맵(FDA, 2025: Roadmap to Reducing Animal Testing in **Preclinical Safety Studies**)에서 동물에서 NAM으로의 전환을 위한 계획을 **6 가지 핵심 과학적-기술적 단계**를 제시함. **이들 중 ③ 검증 및 적격성 평가 경로 수립이 ISTAND 프로그램을 언급하는 것임.**

- ① NAM의 평가 지표 및 적용 사례 매핑
- ② NAM 기술 개발 지원
- ③ **검증 및 적격성 평가 경로 수립**
- ④ 규제 지침 및 기준 개발
- ⑤ 교육, 소통 및 문화 변화
- ⑥ 결과 모니터링 및 반복적 개선

2. 의약품 개발 도구(DDT, Drug Development Tool) 적격성(Qualification) 프로그램

- ISTDAND 적격성(Qualification)은 의약품 개발 도구(DDT, Drug Development Tool) 적격성(Qualification) 프로그램에 이루어짐. 동물실험을 사용해야만 하는 약물에 적용되는 Animal Model Qualification을 포함하여 NAM에 대한 적격성이 결정됨.

2-1) 바이오마커 적격성 프로그램 개정

- FDA는 DDT의 핵심인 바이오마커에 대한 적격성 프로그램(BQP, Biomarker Qualification Program) 계획 내용 요소에 대한 개요를 2025년 7월에 개정판을 공개하였음. **따라서 ISTDAND 적격성 프로그램 및 의약품 개발 도구(DDT, Drug Development Tool) 적격성 프로그램은 곧 바이오마커에 대한 적격성 프로그램(BQP, Biomarker Qualification Program)을 의미함.**
- 이 업데이트된 문서는 21세기 치료법 법안 제507조에 의해 제정된 의약품 개발 도구(DDT) 적격성 절차에 따라 적격성 계획 제출을 준비하는 신청자에게 포괄적인 지침을 제공함. 해당 문서는 바이오마커 신청자를 위한 자료를 다음 웹사이트에서 확인할 수 있음.

<https://www.fda.gov/drugs/biomarker-qualification-program/resources-biomarker-requestors>.

2-2) 바이오마커 신청자를 위한 자료

① 바이오마커 적격성 평가 프로그램(BQP) 참여 방법

- 예비 제출물, 일반 문의 사항이 있거나 회의 요청을 원하시면 BQP (CDER-BiomarkerQualificationProgram@fda.hhs.gov)로 연락.

② 자격 부여 절차

- 바이오마커 자격에 대한 적격성 부여는 제안된 사용 맥락(COU, context of use)에 대한 바이오마커 개발을 위해 점진적으로 상세한 정보를 제공하는 3단계 과정임.
- 본 자료는 신청자가 FDA 바이오마커 자격의 적격성 부여 프로그램에 완전한 제출을 할 수 있도록 지원하기 위한 자원임.
- 신규 FD&C법 제507조에 따라 의약품 개발 도구 자격 부여 절차가 어떻게 변경되는지에 대한 설명은 [21세기 치료법\(21st Century Cures Act\)](#): DDT 자격의 적격성 부여를 참조

3. 의약품 개발 도구(DDT, Drug Development Tool) - NAM의 검증 및 적격성 평가 경로 수립 3 단계

3-1) 적격성 인증 획득의 3 단계

- <참고자료-1> Innovative Science and Technology Approaches for New Drugs (ISTAND)

Program Submission Process(신약 개발을 위한 혁신적 과학기술 접근법(ISTAND) 프로그램 제출 절차)에서처럼 ISTAND를 통한 적격성 인증 획득은 3 단계로 진행되며 다음과 요약됨.

- ① 제안된 COU를 포함한 간단한 **LOI(Letter of Intent, 의향서)**를 제출하여 프로그램 참여를 요청
 - ② 접수가 승인되면, 신청자는 모든 방법론 정보, 검증 데이터 및 기타 계획된 검증 실험을 포함한 **자격 인증 계획서 또는 적격성 계획서(QP, Qualification Plan)**를 제출하도록 요청받음.
 - ③ 자격 인증 계획서가 승인되면, 신청자는 실험 결과 및 기타 관련 데이터를 포함한 **완전한 자격 인증 패키지(FQP, Full Qualification Package)**를 제출함. 이 패키지가 승인되면 **FDA는 해당 NAM이 특정 COU(the context of use, 사용 맥락)에 대해 승인되었음을** 알리는 서한을 발급함.
- 제출물에 포함된 특정 정보는 프로그램에 선정될 경우, 507조에 따라 공개될 예정이며, 자세한 내용은 다음의 **'Drug Development Tool Qualification Process: Transparency Provision(의약품 개발 도구 자격 요건 절차: 투명성 규정)**에서 확인할 수 있음. 507조는 21세기 치료법(21st Century Cures Act) 제3011조에 의해 제정된 연방 식품, 의약품 및 화장품법(FD&C Act) 제507조를 의미함

3-2) Drug Development Tool Qualification Process: Transparency Provision(의약품 개발 도구 자격 또는 적격성 요건 절차: 투명성 규정)

- 2016년 12월 13일 제정된 21세기 치료법(21st Century Cures Act)에 따라<참고-1>, 연방 식품·의약품·화장품법(FD&C Act)에 새로운 제507조인 의약품 개발 도구(DDT)<참고-2>의 자격 부여(Qualification of Drug Development Tools)<참고-3>이 추가되었음.
- 제507조에는 신청자의 제출 자료 및 해당 제출에 대한 FDA의 공식 서면 결정에 적용되는 투명성 조항이 포함됨<참고-4>. 제507조의 투명성 조항에 따라 FDA는 아래 표에 포함된 정보를 공개 게시할 예정임.
- 제507조의 투명성 조항은 2016년 12월 13일(21세기 치료법 제정일) 이후 FDA에 제출된 의향서(LOI), 적격성 계획서(QP), 완전한 적격성 패키지(FQP)에 적용됨.
- 이 외에도 FDA는 LOI, QP 또는 FQP에 대한 모든 업데이트 및/또는 DDT(의약품 개발 계획) 수립에 중대한 영향을 미치는 기타 제출물을 공개 게시할 예정임.
- <표-1>는 제507조의 투명성 규정에 따라 LOI, QP, FQP 및 자격 결정에 대해 공개 게시될 내용에 대한 설명표

<표-1> DDT의 적격성을 위한 LOI, QP, FQP 및 자격 결정에 대해 공개 게시될 내용 설명표	
DDT Submission	Documents and/or Information FDA will post on its website, consistent with new section 507(c)
Other Documents	
Letter of Intent (LOI) <의향서>	<ul style="list-style-type: none"> • Date of receipt and status (under consideration, accepted, or declined) • Requestor Name • DDT Type (i.e. Animal Model, Biomarker, Clinical Outcome Assessment)

	<ul style="list-style-type: none"> • DDT Name/Description • Proposed Context of Use • DDT Requestor's Submitted LOI Summary • Drug development need the DDT is intended to address • Notation if FDA consulted external experts • FDA Formal Written Decision Letter (accepting or declining to accept the LOI)
Qualification Plan (QP) <자격 인증 계획서 또는 적격성 계획서>	<ul style="list-style-type: none"> • Date of receipt and status (under consideration, accepted, or declined) • Requestor Name • DDT Type (i.e. Animal Model, Biomarker, Clinical Outcome Assessment) • DDT Name/Description • Proposed Context of Use • DDT Requestor's Submitted QP Summary • Notation if FDA consulted external experts • FDA Formal Written Decision Letter (accepting or declining to accept the QP)
Full Qualification Package (FQP) <완전한 자격 또는 적격성 인증 패키지>	<ul style="list-style-type: none"> • Date of receipt and status (under consideration, accepted, or declined) • Requestor Name • DDT Type (i.e. Animal Model, Biomarker, Clinical Outcome Assessment) • DDT Name • Final Context of Use • DDT Requestor's Submitted FQP Summary • Notation if FDA consulted external experts
Qualification Determination <적격성 결정>	<ul style="list-style-type: none"> • Requestor Name • DDT Type (i.e. Biomarker, Clinical Outcome Assessment) • DDT Name • FDA Formal Written Qualification Determination Letter • FDA Executive Summary including final Context of Use and DDT use considerations • Redacted discipline-specific reviews • FDA rescission or modification letter (if applicable)

<참고-1> Further information regarding the 21st Century Cures Act can be found at <https://www.congress.gov/114/bills/hr34/BILLS-114hr34enr.pdf>. The content section pertinent to this letter is Subtitle B – Advancing New Drug Therapies, Sec. 3011 Qualification of drug development tools, which is largely codified at section 507 of the Federal Food, Drug, and Cosmetic Act (FD&C Act), or 21 U.S.C. 357.

<참고-2> The term drug refers to both human drugs and biological products unless otherwise specified.

<참고-3> Section 507 of the FD&C Act defines “drug development tool” to include biomarkers and clinical outcome assessments, and “any other method, material, or measure that the Secretary determines aids drug development and regulatory review for purposes of this section.”

<참고-4> FD&C Act Sec. 507(c) (21 U.S.C. § 357(c)).

<참고-5> A biomarker can be a single concept or a panel of multiple concepts.

3-3) DDT 신청 프로그램별 제출물의 확인을 위한 방문 웹사이트

<ul style="list-style-type: none"> • Animal Model Qualification Submissions • Biomarker⁵Qualification Submissions • Clinical Outcome Assessments (COA) Qualification Submissions • CDER & CBER's DDT Qualification Project Search database

4. I STAND 프로그램 제출 절차에 대한 구체적 및 단계별 설명

4-1) 의향서(LOI) 제출과 발생할 수 있는 상황

<참고자료-1>은 I STAND 프로그램 제출 절차를 좀 더 구체적으로 나타낸 것이며 의향서(LOI) 후 수락되지 않는 등의 상황이 발생할 수 있는 경우 및 대처 방법을 설명한 것임

<참고자료-1> Innovative Science and Technology Approaches for New Drugs (ISTAND) Program Submission Process(신약 개발을 위한 혁신적 과학기술 접근법(ISTAND) 프로그램 제출 절차)

1. 제출 절차

- 21세기 치료법 법안(21st Century Cures Act)은 의약품 개발 도구(DDT, Drug development tool) 자격 부여를 위한 다단계 절차를 공식적으로 제정하였음. DDT 자격 부여는 특정 사용 맥락(COU)에 대한 것이며, 자격 또는 적격성을 부여받은 DDT는 의약품 또는 생물학적 제제 개발에 종사하는 모든 사람이 해당 COU에 사용할 수 있음.
- 자격(적격성) 부여 절차에는 다음 세 가지 제출이 포함됨.
 - 의향서(LOI),
 - 자격 부여 계획서(QP),
 - 완전한 자격 부여 패키지(FQP).

2. 의향서(LOI)

- I STAND 프로그램 지원자는 먼저 <ISTAND@fda.hhs.gov>로 의향서를 제출. LOI의 내용 요소는 LOI 내용 요소 파일에서 확인할 수 있음<참고자료-2>.
- 완성된 LOI 접수 후, I STAND 프로그램 담당자는 제출물을 검토하고 신청자에게 제출물이 프로그램에 접수되어 기술 검토 단계로 진행될지 여부에 대한 정보를 제공함. 접수 여부는 제출물의 질, 의약품 개발 필요성, 기술적 실현 가능성 및 주제 전문가 역량을 기준으로 결정됨.
- LOI가 검토를 위해 접수된 경우, 신청자는 검토 담당자에게 발표를 요청받을 수 있음. 모든 회의 절차는 기밀로 유지되며, 모든 논의는 구속력이 없음.

3. 다음 단계

- 주제 전문가 검토 후, DDT 위원회는 제출물의 과학적 가치, 특정 약물 개발 요구 사항 해결을 위한 DDT의 능력, 제안된 자격 부여 노력을 뒷받침하는 정보 및 자원 가용성, DDT의 실현 가능성 및 실용성 입증 등 여러 요소를 바탕으로 제출물을 프로그램에 수용할지 여부를 결정함.
- I STAND의 목표는 신약 개발 프로그램에서 사용될 신약 개발 도구의 적격성을 입증하는 것이지만, 일부 신약 개발 도구의 경우에 인증이 최선의 방법이 아닐 수 있음. 이러한 경우 I STAND는 신청자와 기관 주제 전문가들이 최적의 진행 경로(예: 지침 개발 또는 공개 회의)를 찾는 노력이 필요함.
- LOI 또는 QP 제출을 수락하기로 한 결정은 신청자가 결정 통지서의 권고 사항 및 의견을 해결하는 경우, 각각 다음 단계인 QP 또는 FQP로 진행할 수 있음을 의미함. 신청자는 해당 단계에서 수락되지 않는 한 LOI 또는 QP 단계에서 다음 단계로 진행할 수 없음.

4-2) 의향서(LOI)에 포함할 내용

- FDA는 신약 혁신적 과학기술 접근법(ISTAND) 프로그램 의향서(LOI)에 포함되어야 할 정보를 설명하는 모델 내용 개요를 제공. <참고자료-2>에서처럼 의향서에는 커버 레터가 첨부되어야 하며 다음 정보를 포함해야 함.
- 문헌을 인용할 경우, 번호가 매겨진 참고문헌 목록에서 해당 출처에 할당된 번호를 사용하여 인용함.
- 제출물에 포함된 특정 정보는 프로그램에 선정될 경우, 507조에 따라 공개될 예정이며, 자세한 내용은 다음의 'Drug Development Tool Qualification Process: Transparency Provision(의약품 개발 도구 자격 요건 절차: 투명성 규정)'에서 확인할 수 있음. 507조는 21세기 치료법(21st Century Cures Act) 제3011조에 의해 제정된 연방 식품, 의약품 및 화장품법(FD&C Act) 제507조를 의미함

<참고자료-2> ISTAND Qualification Letter of Intent (LOI) Model Content Elements (ISTAND 자격 의향서(LOI) 모델 내용 요소)

- 1. 제출물 제목:** 제출물에 대한 한 문장 설명.
- 2. 요청 기관:**
 - 기관명: 실제 주소; 전화번호; 웹사이트 주소
 - 주요 연락처: 이름; 직책; 주소; 전화번호; 이메일
 - 대체 연락처: 이름; 직책; 주소; 전화번호; 이메일
 - 지원 또는 참여 기관 또는 개인
- 3. 약물 개발 필요성 진술:** 본 제출물이 해결하고자 하는 약물 개발 필요성을 기술함(해당되는 경우). 유사한 사용 맥락(COU)에서 현재 사용 중인 도구 대비 제안된 이점도 포함해야 함. (최대 200단어 목표)
- 4. ISTAND 적용성 진술:** 본 프로그램은 바이오마커나 임상 결과 평가(COA, Clinical outcome assessment)가 아닌 의약품 개발 도구를 지원하기 위해 설계되었음. 의약품 개발 도구는 의약품 개발을 촉진할 잠재력을 가진 방법, 물질 또는 측정법을 의미하며, 바이오마커와 COA는 BEST 용어집에서 정의됨. 본 제출물이 바이오마커 또는 COA 정의에 부합하지 않는 의약품 개발 도구인 이유를 명시해야 함. (250단어)
- 5. 사용 맥락 진술서:** 의약품 개발 도구의 사용 방식 및 의약품 개발 관련 사용 목적을 완전하고 명확하게 기술한 진술서임. COU 진술서 예시는 <참고자료-3>의 '바이오마커 적격성 제출물' 및 '적격 바이오마커' 웹페이지에서 확인할 수 있음. 의약품 개발 도구는 의약품 개발을 지원하기 위한 도구로 인정됨을 유의하십시오. 해당 도구가 다른 목적(예: 임상적 의사 결정 지원)으로 사용될 수 있으나, 특정 의약품 개발 용도를 다루지 않는 COU는 프로그램 범위에서 제외됩니다. LOI에는 단 하나의 COU만 포함되어야 함. (250단어)
- 6. 약물 개발 용도:** 현재 상태를 배경으로 해당 도구의 구체적인 약물 개발 용도를 기술하십시오. 의사 결정 트리거가 포함된 흐름도를 제공하십시오(예: 도구가 목표로 하는 약물 개발 요구사항의 현재 패러다임은 무엇인지, ISTAND 도구가 어떻게 작동되어 현재 패러다임을 변경하는지, 특정 규제 결과 변경을 포함). 예시 흐름도는 <참고자료-4> Example Drug Development Use Flow Diagrams에서 확인.
- 7. 기술적 설명:** 과학적/기술적 접근법, 작동 특성, 의약품 개발에서의 실현된 및 잠재적 활용에 대한 기술적 설명을 제공하십시오. 해당 도구의 임상적 분석적 타당성 정보 또는 타당성 확립 계획(해당 시)을 포함 <참고자료-3>
- 8. 기존 규제 기관과의 상호작용:** 본 제출과 관련하여 FDA 또는 미국 외 규제 기관(예: EMA, PMDA)과의 기존 또는 동시 진행 중인 상호작용을 설명하십시오. 상호작용의 시기, 성격 및 결과에 대한 정보를 포함 <참고자료-3>

4-3) 의향서(LOI)의 예시

- <참고자료-3>은 의향서 원본 요약이며 <별표-1>은 Knee osteoarthritis's Biomarker Qualification Letter of Intent (LOI) Template 즉, 무릎 골관절염의 바이오마커 적격성 의향서 (LOI) 템플릿임.

<참고자료-3> Biomarker Qualification Letter of Intent (LOI) Template(바이오마커 적격성 의향서(LOI) 원본과 예시: <별표-1>)

- Administrative Information
- Context of Use
- Drug Development Need
- Biomarker Information
- Biomarker Measurement Information
- Additional Considerations for Radiographic Biomarkers
- Supporting Information
- Previous Regulatory Interactions
- Attachments

본 바이오마커 개발 제안과 관련된 출판물 목록을 제출해 주십시오.

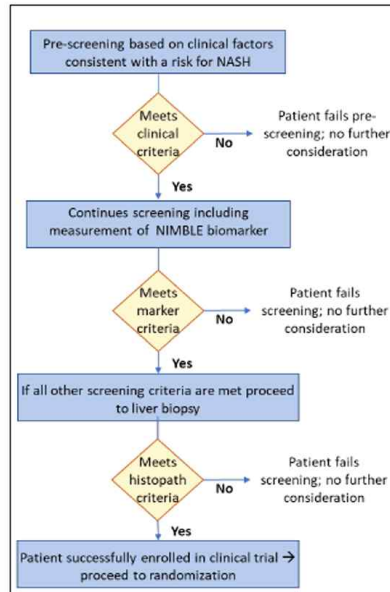
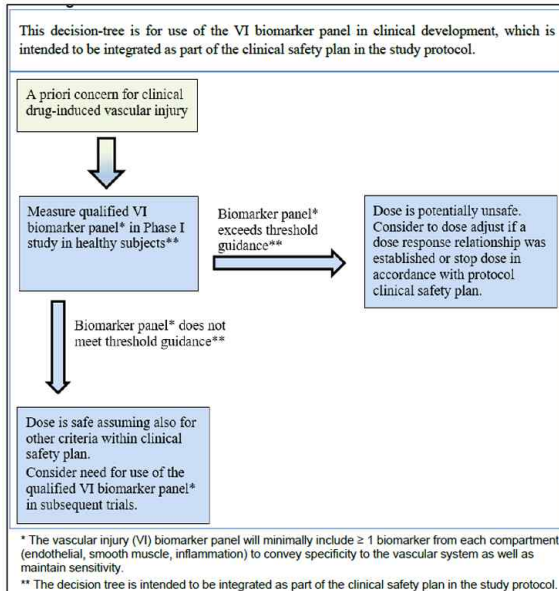
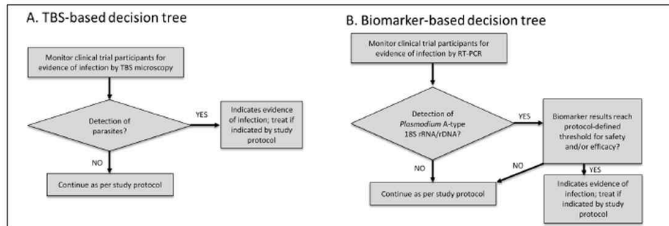
선택 사항* - 본 바이오마커 개발 노력이 장기적 목표의 일부인 경우, 장기적 목표를 요약해 주십시오.*

선택 사항* - 추가로 제출하고자 하는 지원 자료가 있는 경우, 첨부 파일로 제출해 주십시오.

*선택 사항은 공개되지 않습니다.

우편 주소 및 기타 중요한 제출 관련 지침은 바이오마커 자격 심사 담당자 및 제출 절차 안내를 참조하십시오. 제출 절차에 관한 문의 사항은 CDERBiomarkerQualificationProgram@fda.hhs.gov로 연락주시기 바랍니다.

<참고자료-4> Example Drug Development Use Flow Diagrams(출처: ISTDAND Qualification Letter of Intent (LOI) Model Content Elements (ISTAND 자격 의향서))



5. 승인된 NAM의 현황과 결론

- <표>는 2025년 11월 18일 기준 FDA IStand 프로그램에 승인된 모든 기술의 최신 요약한 것임. IStand 프로그램에 공식적으로 채택된 11가지 기술 중에는 비임상 시험용 7가지 in vitro 시스템이 승인되었음. 독성예측을 위한 NAM 5가지를 포함한 비임상 NAM은 다음과 같음(CDER Statement, 1/23/2024 & (9/24/2024)
 - 4개는 미세생리학적 시스템(MPS) 또는 장기-온-어-칩 기술(4 are microphysiological systems (MPS) or organ-on-a-chip technologies)
 - 3개는 표준 2D 세포 배양 기법 사용(3 use standard 2D cell culture techniques)
 - 0개는 3D 오가노이드 또는 스페로이드(0 are 3D organoids or spheroids)
- MPS와 오가노이드 시스템은 조직 독성 예측을 위한 유사한 응용 분야를 추구하는 경우가 다수로 규제 승인을 향한 경쟁에서 MPS 기술이 현재 오가노이드보다 선호되고 있음.
- FDA에 이어 전 세계 정부 및 비정부 기관들도 NAM 검증 및 적격성 평가를 위한 자체 가이드라인을 신속히 마련 중임. 명확해진 NAM 지침은 신약 개발사에게 매력적인 제안이 될 것이며, 가장 견고하고 유익한 NAM 규제 프레임워크 개발 경쟁은 급속히 격화될 것으로 사료 됨.

<표> 2025년 11월 18일 기준 FDA IStand 프로그램에 승인된 모든 기술의 최신 요약

NAMs in FDA IStand				
PRECLINICAL	SPECIFICITY	Integral Molecular	Specificity Screening Using the Membrane Proteome Array (MPA)	In Vitro
		Charles River	Retrogenix Platform for Specificity/Off-target Screening	In Vitro
	TOXICOLOGY	Fresenius Kabi	Local tolerance of epidurally/intrathecally administered leachables	In Vitro
		Emulate	Human Liver-Chip for Prediction of Drug-Induced Liver Injury	In Vitro
		Mt. Sinai	Human Kidney Chip for Assessment of Relative Nephrotoxicity	In Vitro
	Texas A&M	Human chorio-decidual organ on chip for derisking rodent DART studies	In Vitro	
	DOSING	OPTIn	Liver acinus microphysiological system for drug candidate dosing	In Vitro
CLINICAL	CLINICAL ENDPOINT ADJUDICATION	AstraZeneca	AI/ML-based adjudication of clinical events	AI
		Brigham and Women's Hospital	Heart Failure Natural Language Processing (HF-NLP) Model	AI
	CLINICAL OUTCOMES	Deliberate Solutions	AI-COA™ for Automated Depression and Anxiety Severity Measurement	AI
	STATISTICS	Independent	WKE to estimate survival function for time-to-event endpoints in clinical trials	Statistical Method

*As of 18 November, 2025 © 2025 InnovApproach Consulting IA

<참고문헌>

FDA Voices: "FDA Advances Drug Development Innovation by Establishing IStand as Permanent Qualification Program" (7/31/2025)

FDA. Roadmap to Reducing Animal Testing in Preclinical Safety Studies

CDER Statement(9/24/2024): "FDA's IStand Pilot Program accepts a submission of first organ-on-a-chip technology designed to predict human drug-induced liver injury (DILI)" (9/24/2024)

CDER Statement(1/23/2024): "FDA's IStand Pilot Program accepts submission of first artificial intelligence-based and digital health technology for neuroscience"

17. NAM(new approach methodologies, 신규 접근 방법)의 FDA 적격성 인증과 실제 제출된 NAM 분석

1. NAM의 출현과 독성학 분야의 상황

1) 국내와 NAM에 대한 분석

- NAM(New approach methodologies 신규접근방법)은 신약 개발에서 동물실험의 중지를 위해 비임상연구의 약리 및 독성을 통한 인체 예측뿐만 아니라 임상시험에서 사용되는 새로운 접근 방법임. 가장 중요한 부분은 인체에서 독성 및 약리 예측이 기본 목적이기 때문에 NAM 개발에 있어서 human-relevance가 바탕이 되어야 함.
 - 독성 분야에 30여 년 동안 7권 독성-관련 서적과 100 여편의 논문을 발표하면서 사용된 참고문헌을 경험으로 추정했을 때 미국 50%, 중국 30% 그리고 유럽 20% 그리고 나머지 지역에서 발행된 논문이었음. 미국은 독성학 분야의 리더 국가라고 치더라도 중국의 독성학 수준은 우리나라와 질적 및 양적 측면에서 비교조차 불가할 정도로 앞섰다고 할 수 있음. 이와 같은 차이에 있어서 근본적인 문제는 학계 및 규제기관에서 독성학에 대한 기본 원리와 지식의 부재한 측면에서 세계적인 흐름에 사상누각적 접근이라고 사료됨. 약물 개발과 관계된 것이라면 대학의 약대와 규제기관에 대한 허상적이고 뿌리가 없는 독성학 교육과 규제 제도에 기인이라고 사료됨. 더 독하게 평가한다면 신약 개발에 반하고 국민 안전성의 핑계로 망국적인 비논리-권위적 고자세의 규제 제도와 논문 연구비에 기반한 논문 점수 채우기 집착에 기인한다고 할 수 있음. 이에 기반한 국내의 비임상의 낮은 수준과 글로벌 신약이 없다는 것은 자명한 일임. 또한 식품공전에 존재하는 식품을 좀 더 추출·농축하여 건강기능성식품을 개발하는데 유전독성시험을 요구하거나 3개월 독성시험을 요구하는 것은 유전독성 및 아만성 독성을 유발하는 식품을 공전에 올렸다는 자기모순 사례로 앞서 평가한 약대와 규제기관의 무개념 제도 설정이라고 할 수 있음. 이러한 주장에 대해 자기가 먹는 물에 침을 뱉는다고 할 수도 있지만 비임상 및 독성학의 글로벌 수준을 기원하면서 노력한 것을 생각하면 안타까울 따름임. 이제 신약개발을 위한 비임상 및 임상연구에서 FDA에 이어 전 세계 정부 및 비정부 기관들도 NAM 검증 및 적격성 평가를 위한 **신약 개발을 위한 혁신적 과학 기술 접근법(ISTAND, Innovative Science and Technology Approaches for New Drugs)**와 같은 가이드라인을 신속히 마련 중임. 이는 신약개발의 비임상 규제제도가 전면적으로 변화된다는 것을 의미하기 때문에 우리나라의 규제기관 역시 글로벌 수준으로 올리는 기회로 삼을 수 있다는 것을 의미함.
 - 이와 같은 기원을 하는 마음으로 **NAM에 대한 정보 제공 및 세계적 흐름에 대해 지속적으로 제공하려고 합니다.** 특히 **NAM은 비임상의 독성과 약리 그리고 임상시험 등의 모두를 포함**하기에 누구나 사용하고 있는 개발 프로그램을 **ISTAND에 제출할 수 있으며 이는 연구과제의 최종 목적점으로 제시하여 신약개발에 도움이 되는 도구 개발의 중요한 수단이 될 수 있습니다.**
- #### 2) NAM 개발을 위한 구체적 절차
- 미국 FDA는 기존 비임상시험 및 임상시험에서 적격성 프로그램의 범위를 벗어났지만, 신약 개발에 여전히 유용할 수 있는 신약 개발 도구의 혁신을 장려하기 위해 2020년 **신약 개발을 위한 혁신적 과학 기술 접근법(ISTAND, Innovative Science and Technology Approaches for New Drugs)** 시범 프로그램을 설립하였음.
 - 그러나 FDA는 혁신적인 의약품 개발이 환자 및 소비자에게 신속하게 새로운 치료법을 제공하는 중요한 방법임을 인식하여 2025년 7월 31일 **ISTAND 시범 프로그램이 상설적인 의약품 개발 도구(DDT, drug development tools) 적격성 정규 프로그램으로 전환**되었음을 발표하였

음(FDA Voices, 2025).

- FDA IStand 프로그램을 통해 적격성을 평가 및 승인되면 해당 기술의 재검토나 재확인 없이도 IND, NDA 또는 BLA에 **적합한 데이터로 인정**됨.
- NAM(new approach methodologies, 신규 접근 방법)의 FDA 적격성을 입증받기 위해서는 IStand 프로그램에 **DDT 적격성**을 받아야 함.
- NAM의 적격성의 과정을 간단히 요약하면: LOI 제출 → FDA의 주제 전문가에 의한 초기 평가: 수용 가능성 결정 통보와 더불어 구체적인 고려사항, 권고사항과 데이터 요청 사항 등에 대한 요청 → 신청자의 적격성 자격 계획서(QP, Qualification Plan) 작성 및 제출 → FDA 심사 → 최종 적격성 부여 패키지(FQP, Final Qualification Plan) 요청 및 제출 → FDA 최종 결정 → NAM의 DDT Qualification

2. IStand 프로그램에서의 NAM 적격성 승인 과정

2-1) 의향서(LOI) 제출과 발생할 수 있는 상황

- <참고자료-1>은 IStand 프로그램 제출 절차를 좀 더 구체적으로 나타낸 것이며 의향서(LOI) 후 수락되지 않는 등의 상황이 발생할 수 있는 경우 및 대처 방법을 설명한 것임

<참고자료-1>Innovative Science and Technology Approaches for New Drugs (ISTAND) Program Submission Process(신약 개발을 위한 혁신적 과학기술 접근법(ISTAND) 프로그램 제출 절차)

1. 제출 절차

- 21세기 치료법 법안(21st Century Cures Act)은 의약품 개발 도구(DDT, Drug development tool) 자격 부여를 위한 다단계 절차를 공식적으로 제정하였음. DDT 자격 부여는 특정 사용 맥락(COU)에 대한 것이며, 자격 또는 적격성을 부여받은 DDT는 의약품 또는 생물학적 제제 개발에 종사하는 모든 사람이 해당 COU에 사용할 수 있음.
- 자격(적격성) 부여 절차에는 다음 세 가지 제출이 포함됨.
 - 의향서(LOI),
 - 적격성 자격 부여 계획서(QP),
 - 완전한 자격 부여 패키지(FQP).

2. 의향서(LOI)

- IStand 프로그램 지원자는 먼저 <ISTAND@fda.hhs.gov>로 의향서를 제출. LOI의 내용 요소는 LOI 내용 요소 파일에서 확인할 수 있음
- 완성된 LOI 접수 후, IStand 프로그램 담당자는 제출물을 검토하고 신청자에게 제출물이 프로그램에 접수되어 기술 검토 단계로 진행될지 여부에 대한 정보를 제공함. 접수 여부는 제출물의 질, 의약품 개발 필요성, 기술적 실현 가능성 및 주제 전문가 역량을 기준으로 결정됨.
- LOI가 검토를 위해 접수된 경우, 신청자는 검토 담당자에게 발표를 요청받을 수 있음. 모든 회의 절차는 기밀로 유지되며, 모든 논의는 구속력이 없음.

3. 다음 단계

- 주제 전문가 검토 후, DDT 위원회는 제출물의 과학적 가치, 특정 약물 개발 요구 사항 해결을 위한 DDT의 능력, 제안된 자격 부여 노력을 뒷받침하는 정보 및 자원 가용성, DDT의 실현 가능성 및 실용성 입증 등 여러 요소를 바탕으로 제출물을 프로그램에 수용할지 여부를 결정함.
- IStand의 목표는 신약 개발 프로그램에서 사용될 신약 개발 도구의 적격성을 입증하는 것이지만, 일부 신약 개발 도구의 경우에 인증이 최선의 방법이 아닐 수 있음. 이러한 경우 IStand는 신청자와 기관 주제 전문가들이 최적의 진행 경로(예: 지침 개발 또는 공개 회의)를 찾는 노력이 필요함.
- LOI 또는 QP 제출을 수락하기로 한 결정은 신청자가 결정 통지서의 권고 사항 및 의견을 해결하는 경우, 각각 다음 단계인 QP 또는 FQP로 진행할 수 있음을 의미함. 신청자는 해당 단계에서 수락되

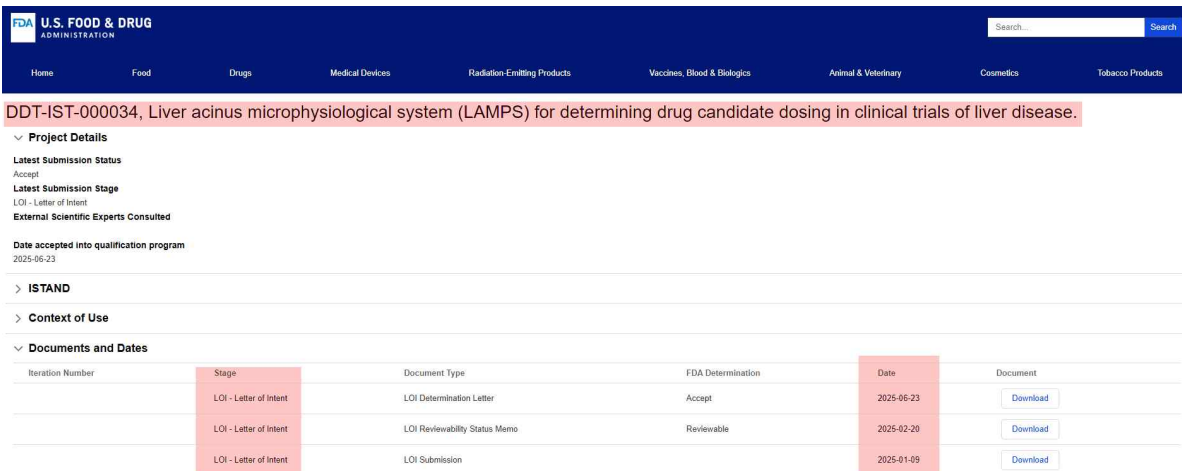
지 않는 한 LOI 또는 QP 단계에서 다음 단계로 진행할 수 없음.

3. DDT-IST-000034에 대한 예시

3-1) LOI 수정까지의 과정

- DDT-IST-000034은 Liver acinus microphysiological system (LAMPS) for determining drug candidate dosing in clinical trials of liver disease(간 질환 임상시험에서 약물 후보물질 투여량 결정용 간 소엽 미세생리학적 시스템(LAMPS)의 NAM으로 아래의 <자료>에서처럼 2025년 1월 9일 LOI 제출, 2025년 2월 20일 FDA 검토 후 LOI 수정 요청, 2025년 6월 23일 수정된 LOI 수용. 이 과정에서 신청자의 답변은 비밀 유지이지만 FDA의 문서는 공개적으로 이루어짐으로 LOI에 대한 FDA의 초기 검토 후 LDI 수정 요구에 확인은 **Michael Phelan의 경험의 중요한 요소를 확인이 가능할 것으로 사료됨.**

<자료> DDT-IST-000034에 대한 의향성 제출 및 진행 과정임.



3-2) DDT-IST-000034의 최초 LOI 내용

ISTAND Qualification Letter of Intent(ISTAND 적격성 의향서)

- **Submission Title:** Liver acinus microphysiological system (LAMPS) for determining drug candidate dosing in clinical trials of liver disease.

CONTEXT OF USE Statement

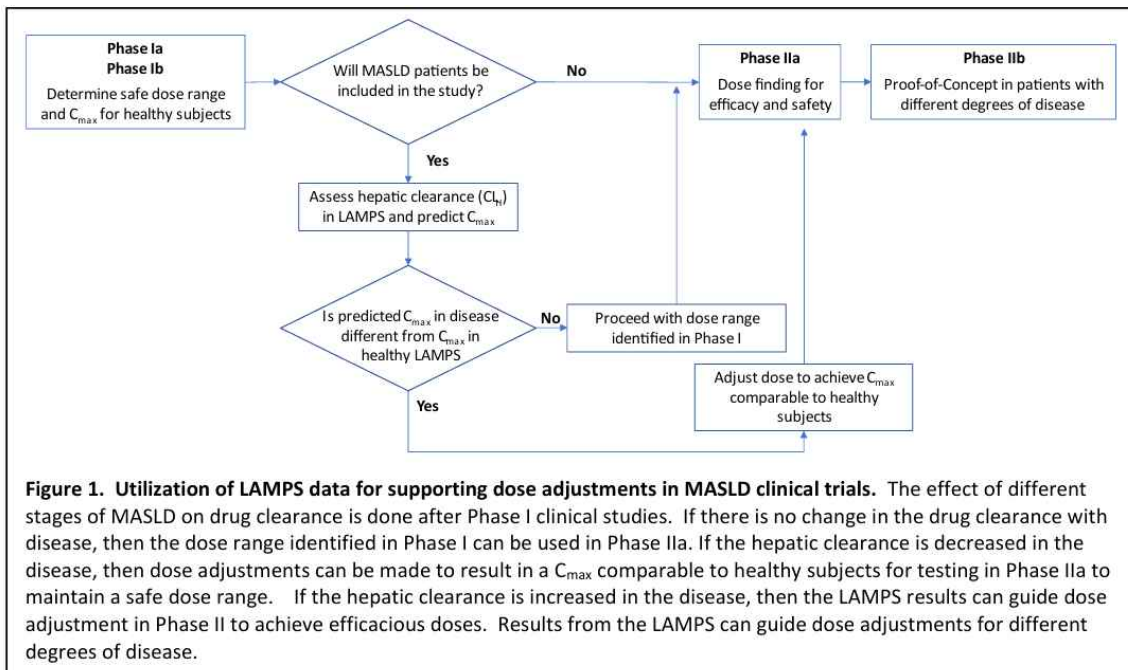
- LAMPS는 대사이상 지방간질환인 MASLD(Metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease) 환자에서 약물 후보물질의 간 대사 제거율을 확립하고, 대사이상 지방간질환(MASLD, Metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease) 환자가 포함된 임상시험에서 약물 후보물질의 투여량 결정에 도움을 주기 위한 DDT(drug development tool)임.

Drug Development Use

- MASLD 치료제 개발에 관한 FDA 지침은 약물의 약동학 특성이 규명될 때까지 비정상 간 기능을 가진 환자를 1상 및 초기 개념 증명 임상시험에서 배제하도록 규정(FDA, 2018).
- 그러나 대사성 기능 장애 관련 지방간염(MASH, Metabolic dysfunction-Associated Fatty Liver Disease) 간 질환 전반에 걸친 적절한 용량 조정을 뒷받침하기 위해, 약물 개발 프

로그래밍 초기 단계에서 간 기능 장애에 대한 전용 연구를 통해 그 영향을 연구할 것을 권장함(FDA, 2003).

- 전용 간 기능 장애 연구의 경우, 간 손상 정도를 평가하기 위해 Child-Pugh 점수를 사용하여 장애 정도를 평가할 것을 권장함.
- 그러나 Child-Pugh 점수는 간 질환의 병기를 분류하기 위해 고안된 것이 아니며, Child-Pugh 분류와 MASLD(병기 간 상관관계는 확립되지 않았음).
- LAMPS는 관류 매질의 주요 구성 요소를 조작하여 MASLD의 다양한 단계를 유도할 수 있으며, 이는 젖산 탈수소효소(LDH)/알라닌 아미노트랜스퍼라제(ALT) 누출, 간 지방증, 프로콜라겐 1A1 분비 지표 등 여러 지표를 모니터링하여 정량화할 수 있음.
- 이러한 지표들은 비침습적 임상 바이오마커인 ALT 및 간 경직도 또는 간 지방 함량에 대한 영상 기반 평가와 연관될 수 있으며, 이는 MASLD에 대한 개념 증명 (proof-of-concept) 종결점으로 인정받고 있음.
- 따라서 LAMPS DDT는 1상 임상시험 이후 약물 개발 파이프라인 초기 단계에서 다양한 MASLD 정도에 따른 용량 조정을 위한 지원 데이터를 제공하여, 간 질환 환자를 대상으로 한 시험에서 안전한 용량 범위를 유지하는 2상 시험 설계에 도움을 줄 수 있음(Figure 1).



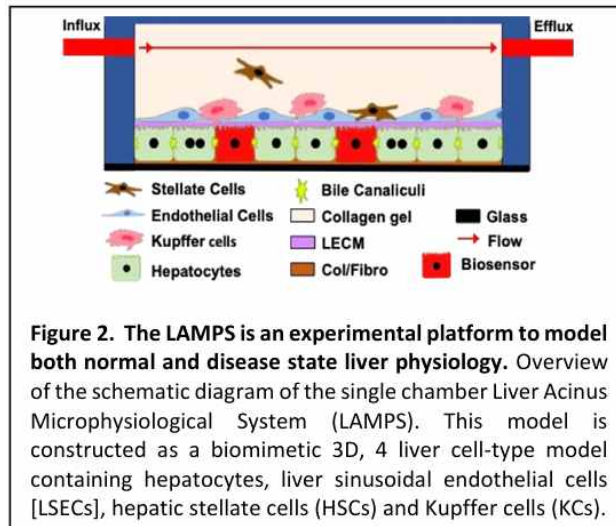
<Figure 1의 설명> MASLD 임상시험에서 용량 조정을 지원하기 위한 LAMPS 데이터 활용을 나타낸 것입니다. MASLD의 다양한 단계가 약물 제거율에 미치는 영향은 1상 임상 연구 이후에 평가됩니다. 질환에 따른 약물 제거율 변화가 없다면, 1상에서 확인된 용량 범위를 2a상에 그대로 적용할 수 있습니다. 질환으로 인해 간 제거율이 감소한 경우, 2a상 시험에서 건강한 피험자와 유사한 C_{max} 를 달성하도록 용량을 조정하여 안전한 용량 범위를 유지할 수 있습니다. 질병 상태에서 간 청소율이 증가한 경우, LAMPS 결과를 바탕으로 2상에서 유효 용량을 달성하기 위한 용량 조정이 가능합니다. LAMPS 결과는 다양한 질병 단계에 따른 용량 조정을 안내할 수 있습니다.

Technical Description

- 간 소엽 미세생리학적 시스템(LAMPS)은 정상 및 질병 상태의 간 생리학을 모델링하기 위한 구조화된 생체모방체임. LAMPS는 간세포, 간 정맥 내피세포(LSECs), 간성상세포(HSCs), 쿠프퍼 세포(KCs) 등 4가지 주요 간 세포 유형 간의 순차적 세포 적응 및 세포 간 자가 조직화를 결합하여 구축된 3차원 적응 간 모델임(Lee-Montiel 등, 2017; Verneti 등,

2016).

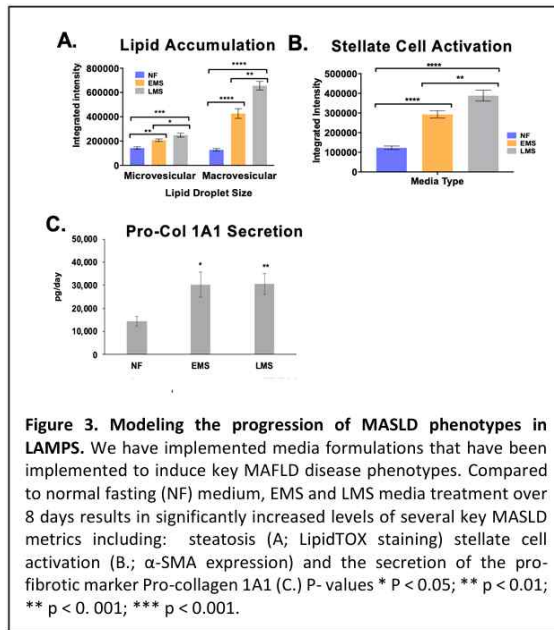
- 칩은 먼저 콜라겐과 피브로넥틴 매트릭스로 장치를 코팅한 후 간세포를 접종하여 조립됨. 다음으로, 탈세포화된 돼지 세포외 기질(ECM)을 간세포 층 위에 도포하고, 이어서 간소혈관내피세포(LSECs)와 쿠퍼세포(KCs)를 추가한 후, HSCs를 함유한 콜라겐 I 용액으로 칩을 덮음(Figure 2). 산소 구역화는 간 기능과 대사의 핵심 요소임. 본 실험의 LAMPS에서 개별 장치의 산소 장력을 배지 유속 조절로 제어함으로써 구역 1(12~15%)의 높은 산소 장력과 구역 3(3~6%)의 낮은 산소 장력 미세환경을 확립 및 유지할 수 있음을 규명하였음. 15 μ /h 및 5 μ /h의 유속은 각각 12~15%와 3~6%의 산소 분압을 생성하였음(Lee-Montiel 등, 2017). LAMPS는 정상 간 생리학 평가, ADME-Tox 연구, 전이성 간 종양 미세환경 모델링, MASLD 진행 연구 및 MASLD 약물 효능 시험 플랫폼으로 구현되었음(Verneti 등, 2016; Lefever 등, 2014; Miedel 등, 2019; Xia 등, 2024; Saydmohammed 등, 2021).



<Figure 2. 설명> LAMPS는 정상 및 질환 상태의 간 생리학을 모델링하기 위한 실험 플랫폼임. 단일 챔버 간 소엽 미세생리학적 시스템(LAMPS)의 개략도 개요. 본 모델은 간세포, 간 정맥 내피세포 [LSECs], 간성상세포(HSCs), 쿠퍼 세포(KCs)를 포함한 생체모방 3차원, 4종 간세포 유형 모델로 구축되었음.

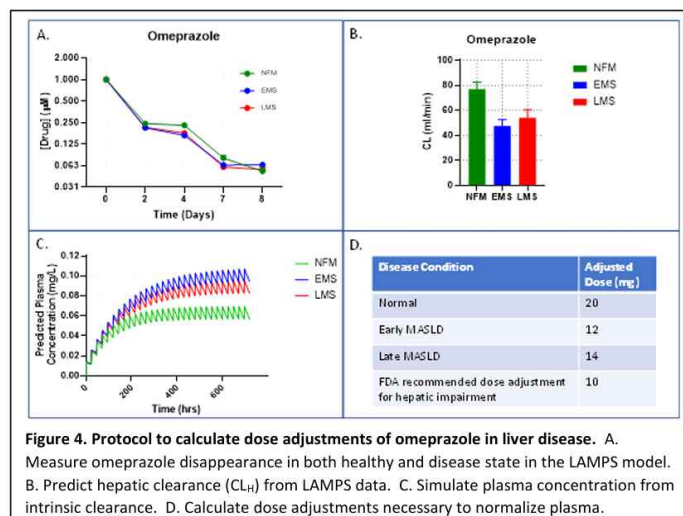
- LAMPS는 간 기능 및 MASLD 표현형 유도에 있어 재현성이 입증되었음(Xia 등, 2024; Sakolish 등, 2021). **미국 국립전환의학연구센터(NCATS, National Center for Advancing Translational Sciences) 지원 조직칩 시험센터 프로그램의 일환으로, 텍사스 A&M 조직칩 시험센터(Tex-Val TCTC)는 알부민 및 요소 분비, CYP3A4 대사 등 LAMPS 기초 간세포 기능의 실험실 간 재현성을 입증하였음(Liver MPS Platforms, 2025).** 본 실험 결과와 일관되게, Tex-Val TCTC는 9일 동안 낮은 기초 젖산 탈수소효소 누출을 보였으며, 톨카폰, 트로 바플록사신 및 카페인의 약물 유도 효과가 그들의 실험실에서 재현되었음(Sakolish 등, 2021). 본 실험에서 LAMPS가 본질적인 간 청소율을 예측할 수 있는 능력을 확립했음(Schurdak 등, 2020). 이와 같은 능력은 Tex-Val TCTC에 의해 여러 약물에 대해 확인되었으며, 체외 청소율과 알려진 임상 청소율을 비교한 피어슨 상관 계수는 0.77(p-값 <0.05)이었음(Sakolish 등, 2021).
- MASLD 진행과 관련된 여러 주요 표현형 및 기능적 변화를 유도하는 배지 조성을 개발했음(Verneti 등, 2016; Lefever 등, 2014; Xia 등, 2024). 대조군인 정상 공복 배지(NF)는 정상 혈당 및 인슐린 수치를 포함함. 초기 대사증후군 배지(EMS)는 단순 지방증 및 성상세포 활성화의 분자적 유발인자인 증가된 유리 지방산(올레산 및 팔미트산), 포도당, 인슐린을 포함함. 후기 대사증후군 배지(LMS)는 지방산, 고농도 포도당, 인슐린 및 두 가지 섬유화 촉진 인자(변형성장인자 β 1; TGF- β)와 지질다당류(LPS)를 함유하여 MASLD 표현형의 중증도를 증가시킴. EMS와 LMS는 MASLD 진행과 연관된 간 지방증, 성상세포 활성화 및 섬유화를 증가시키며(Figure 3), 이는 LAMPS에서 정량화됨(Saydmohammed 등, 2021).

MASLD 표현형의 유도는 MASLD 발병 위험도가 서로 다른 유전적 변이를 가진 환자를 포함한 다섯 가지 다른 환자 간세포 배양군에 대해 여러 연구에서 높은 재현성을 보인 것으로 입증되었음(Xia 등, 2024).



<Figure 3 설명> LAMPS에서 MASLD 표현형 진행 모델링. 주요 MAFLD 질환 표현형을 유도하기 위해 구현된 배지 조성을 적용하였습니다. 정상 공복(NF) 배지에 비해, 8일간 EMS 및 LMS 배지 처리는 다음과 같은 여러 주요 MASLD 지표의 수준을 유의미하게 증가시킵니다: 지방증(A; LipidTOX 염색), 별세포 활성화(B); α -SMA 발현), 그리고 섬유화 촉진 표지자인 프로콜라겐 1A1 분비(C)가 유의하게 증가하였다. P-값 * $P < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$. * $P < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

- LAMPS를 DDT로 활용하는 목적은 간 질환 환자의 용량 조정 필요성 평가를 지원하고 변경 사항을 권고하기 위함임. 본 접근법은 건강한 모델과 MASLD LAMPS 모델 모두에서 화합물의 내인성 클리어런스 변이를 측정하고, 계산 모델링을 활용하여 적절한 조정 용량을 결정하는 것을 포함함. 예를 들어, LC-MS/MS 분석을 통해 오메프라졸 처리된 LAMPS 모델에서 수집된 유출 매체 내 오메프라졸 농도의 시간 의존적 감소를 입증하였음. 이 데이터를 활용하여 내재적 클리어런스를 계산한 결과, MASLD에서 오메프라졸의 혈장 농도를 잠재적 독성 임계치 이하로 유지하기 위해 용량 조정이 필요할 수 있음을 보여주었음 (Figure 4). 건강한 간 비교 모델과 함께 MASLD 유도 모델에서 오메프라졸을 시험한 결과, 당사 EMS 배지에서 감소된 내재적 청소율을 고려할 때 약 40%의 용량 감량이 필요함을 나타냈음. 이 결과는 간 기능 장애 환자에 대해 FDA 오메프라졸 제품 모노그래프에서 권장하는 50% 용량 감량과 일치함.



<Figure 4 설명> 간 질환 시 오메프라졸 용량 조정 계산 프로토콜. A. LAMPS 모델에서 건강한 상태와 질환 상태 모두에서 오메프라졸 소실 측정. B. LAMPS 데이터로부터 간 청소율(CL_H) 예측. C. 내인성 청소율로부터 혈장 농도

시뮬레이션. D. 혈장 농도 정상화를 위한 필요한 용량 조정 계산.

Biological/Clinical Validity

- 간 내인성 청소율 변화에 따른 용량 조정의 필요성을 평가하기 위한 MASLD 유도형 LAMPS 모델의 적합성을 검증하기 위해, 실험을 통해 8개 약물의 시험을 제안함. 이들 약물 중 간기능 장애 환자를 대상으로 한 임상시험에서 용량 조정이 필요하다고 확인된 4개 약물과, Child-Pugh C 등급 미만 환자에게 용량 조정이 불필요하다고 판단된 4개 약물이 포함됨. 선정된 화합물은 <Table 1>에 기재되어 있음.

Compound	Dose Adjustment for Hepatic Impairment	Reference
Omeprazole	20 → 10 mg	21
Paclitaxel	135 → 100 mg/m ²	22
Acetaminophen	↓max daily dose by 50%	22, 23
Resmetirom	C _{max} ↑ 170% in moderate hepatic impairment	24
Metformin	No dose adjustment for Child Pugh A, B	22
Azithromycin	No dose adjustment	22
Atorvastatin	No dose adjustment	25
Ciprofloxacin	No dose adjustment	25

Previous Regulatory Interactions

본 제출과 관련하여 기존 또는 동시 진행 중인 규제 기관 협의 사항은 없음

3-3) FDA의 DDT-IST-000034에 대한 초기 검토 및 권고 사항

- FDA는 2025년 1월 9일 CDER 혁신적 신약 과학기술 접근법(IST) 시범 프로그램(ISTAND)에 제출된 의향서(LOI) DDT-IST-000034에 대한 검토를 완료하였음.
- FDA는 2025년 6월 23일 ISTAND 시범 프로그램에 제출된 의향서(LOI)에 대한 검토를 완료 후 접수하기로 결정.
- 적격성 자격 계획서(QP, Qualification Plan) 작성 시, 첨부된 부록<참고자료-2>에 명시된 구체적인 고려사항 및 권고사항과 데이터 요청 사항을 QP 본문 내에서 각각 서술 요청하였음.
- 부록 항목과 제출물 내 해당 응답 위치 간의 상호 참조를 포함한 요약본을 제공 요청. 본 DDT 개발 노력이 구체화됨에 따라, 제출된 데이터, 귀사의 사용 맥락 세부사항 및 DDT 검증에 사용된 연구 설계가 궁극적으로 이러한 고려사항 및 권고사항 중 어느 것이 가장 적용 가능한지를 결정할 것으로 통보함.
- 제출물 및 QP 내용 요소 개요에 대한 자세한 내용은 바이오마커 다음 웹페이지: <https://www.fda.gov/drugs/biomarker-qualification-program/resourcesbiomarker-requestors>

<참고자료-2> DDT-IST-000034에 대한 FDA의 고려 및 권장 사항 제시와 AITOX의 의견

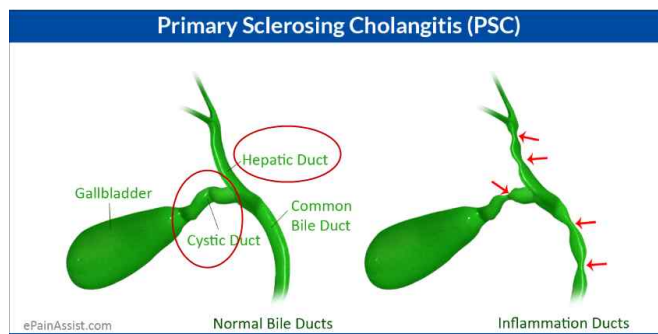
Context of Use (COU)에서 고려 사항

“LAMPS는 대사성 기능 장애 관련 지방간 질환(MASLD) 환자의 약물 후보물질 간 대사 제거율을 확립하고, MASLD 환자가 포함된 임상시험에서 약물 후보물질 투여량 결정에 도움을 주는 DDT입니다.”

FDA의 질문 및 권장 사항과 이에 대한 의견

FDA Q1. LAMPS가 질병 중증도가 다양한 원발성 담즙성 담관염(PBC, Primary Biliary Cholangitis) 및 원발성 경화성 담관염(PSC, Primary sclerosing cholangitis) 환자의 용량 조정에 적용될 수 있습니까?

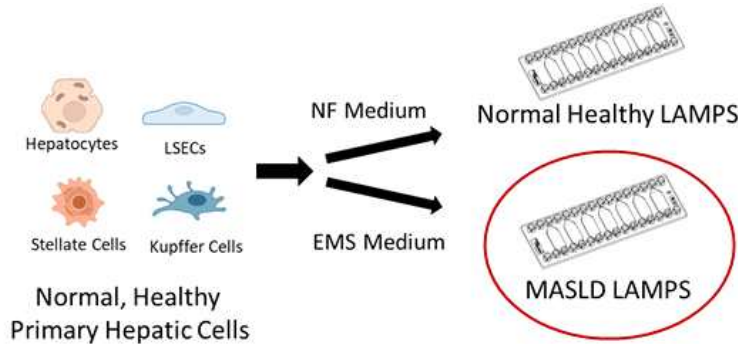
<AITOX의 의견>: 대사이상 지방간질환(MASLD, Metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease) 환자가 포함된 임상시험에서 약물 후보물질의 투여량 결정에 도움을 주기 위한 DDT(drug development tool)임. 아래의 <그림>에서처럼 PBC 또는 PSC는 간관(hepatic duct) 및 담관 염증을 유도하여 혈류의 변화를 초래할 수 밖에 없음(iDiseases.com, 2024). 따라서 중증도에 차이가 있을 수 있지만 LAMPS의 PBS 및 PSC에 응용이 가능할 것으로 사료됨(Steinberg 등, 2025; Peiseler 등, 2022; iDiseases.com, 2024)



FDA Q2. LAMPS(Liver acinus microphysiological system)가 간경변증(보상성 및 비보상성 간경변증) 환자의 약물 간 클리어런스 정보 제공에도 유용할 수 있습니까?

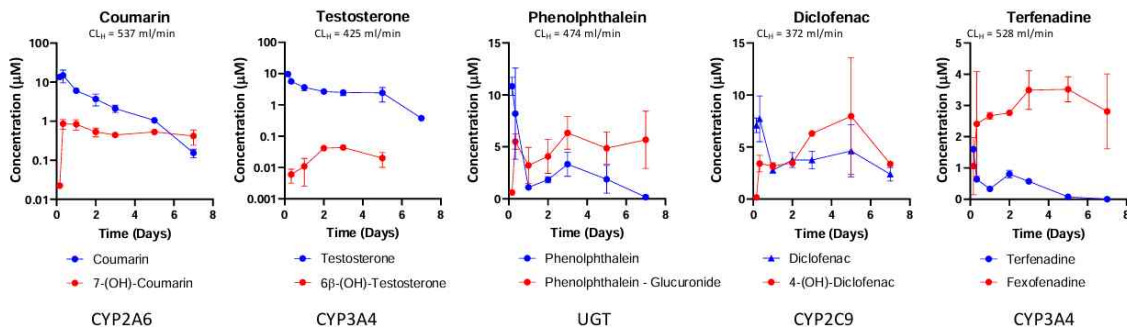
<AITOX의 의견>: LAMPS는 ADME-Tox 연구에서 대사 기능 장애 관련 지방간 질환(MASLD) 진행을 입증하는 도구로, 컴퓨터 예측 MASLD 치료제의 안전성과 효능을 시험하는 수단으로, 그리고 임상 시험 코호트 선정에 도움을 주기 위해 MASLD 진행 및 약물 치료 반응에서의

유전자형 특이적 차이를 규명하는 정밀 의학 플랫폼으로 활용되어 왔음(Verneti 등, 2016; Lefever 등, 2014; Miedel 등, 2019; Xia 등, 2024; Saydmohammed 등, 2021). 아래의 <그림>에서처럼 정상적인 간 세포에 질환모델별로 미디움을 달리함으로써 표적 질환 LAMPS의 유도가 가능함.



FDA Q3. LAMPS는 약동학(PK)뿐만 아니라 약력학(PD), 특히 우려 수준이 높은 특정 환자 집단에서 약물 독성을 평가할 때도 유용할 수 있습니까?

<AITOX의 의견>: 약물 유발 간독성은 약리학적 안전성 평가에서 여전히 중요한 과제이지만, 세포 유형별 간독성 반응을 구별할 수 있는 분석 도구의 부족으로 독성 경로의 메커니즘에 대한 이해가 부족한 상태임. 그러나 한편으로 실질 세포와 비실질 세포를 결합한 3D 공동 배양 시스템은 간세포 기능성, 알부민/요소 분비 및 cytochrome P450 활성을 향상시켜 간독성 예측을 개선 중에 있음(Yuan 등, 2025). 특히 신청자인 Schurdak 등(2024)의 발표에서 아래의 <그림-1>에서처럼 LAMPS를 이용한 약물들의 대사에 따른 원물질 및 대사체의 PK 및 TK의 지표 확인이 가능함을 발표하였음(Schurdak 등, 2024). 특히 <표-1>에서처럼 DDT인 본 LAMPS에서 표적질환인 MASLD 환자에서 간의 Phase I & II reaction과 관련된 효소들의 활성이 변화한다는 것을 확인되었으며 이러한 변화도 반영하여 PK 지표가 추정됨. 최근에서는 6가지 서로 다른 세포 모델을 통합한 면역능 간-온-어-칩 플랫폼을 활용하여 약물 후보물질의 간독성 프로파일을 신속하게 평가하는 원리 증명(proof-of-principle)을 제시됨(Yuan 등, 2025). 또한 <그림-2>에서처럼 면역능 간-온-어-칩 플랫폼에 통합된 표적 세포 제거 전략을 확립하여 간독성 결정 인자의 신속한 식별을 가능이 가능하였음.

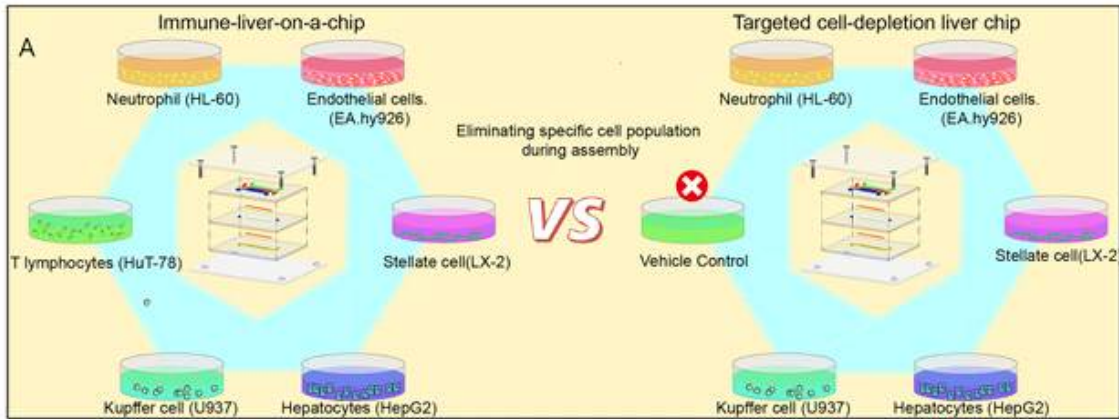


<그림-1> LAMPS를 통한 약물 및 cytochrome P450 효소별 혈중 크리언스의 변화

<표-1> 대사이상 지방간질환인 MASLD(Metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease) 환자에서 Phase I & II reaction과 관련된 효소들의 활성 변화

• MASLD affects CYP isoform activity differently

Liver metabolic enzymes affected by MASLD		
Phase	Activity	Enzyme/ co-factor
I	Decreased	CYP1A2 (70%) CYP2C19 (75%) CYP3A4/5 (33%) CYP2A6 (100%)
	Increased	CYP2C9 (40%) CYP2E1 CYP2B6
	No change	CYP2C8 CYP2D6
II	Decreased	SULT1A1 GST GSH



<그림-2> Targeted depletion methodology(표적 제거 방법론): 조립 과정에서 표적 세포를 생략하여 세포 유형 특이적 칩을 생성하였음. 예시: T 세포 제거 칩의 경우, 조립 시 T 세포가 없는 배양 배지를 사용함. 독성 변화는 제거된 시스템과 완전한 시스템을 비교하여 평가함.

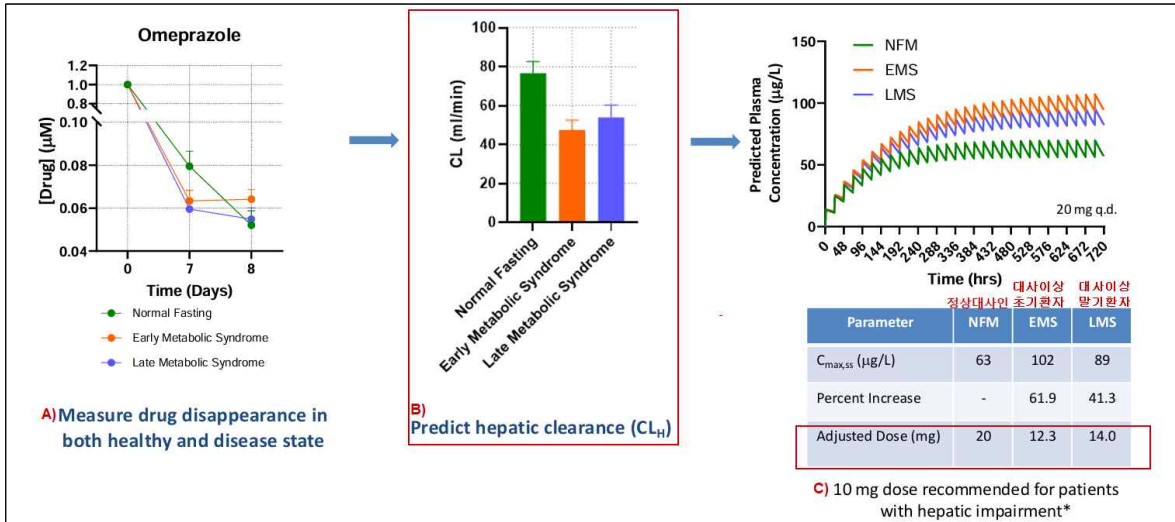
FDA Q4. MASLD로 인한 간경변증 환자를 대상으로 임상시험을 시작하기 전에 전용 간기능 장애(HI) 연구가 필요합니다. 현재 LAMPS 분석법은 다중 약물에서 일관되고 고품질의 성능을 입증하기 전까지는 간기능장애 연구를 대체할 수 없습니다. 그러나 신뢰성과 효능에 대한 충분한 증거가 확보된다면, 향후 체외 분석법 또는 복합 분석법이 대안이 될 가능성을 배제하지 않습니다. 제안된 COU를 정확히 반영하기 위해 흐름도 업데이트가 필요합니다.

<AITOX 의견> 생략

분석적 및 임상적 고려사항

FDA Q5. 간기능 장애에 따른 용량 조정을 결정하는 과정의 각 단계에 대해 실험/계산 데이터와 실제 임상 데이터(기준값) 간의 포괄적인 비교를 제시하십시오. 다음 요소를 포함하십시오: a) 플랫폼에서 얻은 원약물 농도, b) 예측 간 청소율(CLH), c) 시뮬레이션된 약물 혈장 농도, d) 계산된 용량 조정량. 상세한 실험 설정(예: 투여 일정 및 계산 방법)을 포함하십시오.

<AITOX 의견> 전체 약물에 대한 검색은 찾기가 어려웠고 환자의 질병 정도에 따른 투약 용량 결정은 아래의 <그림>의 C에서처럼 확인이 되었음.

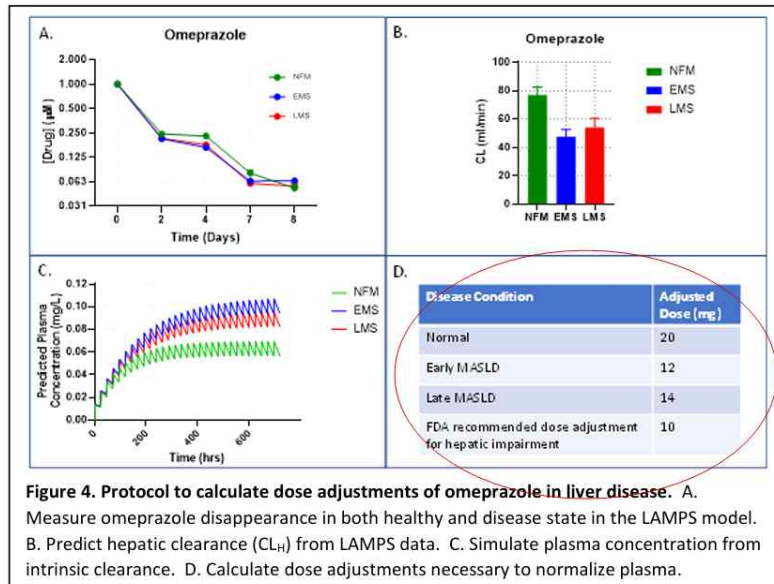


<그림> MASLD 환자에서 약물 후보물질 용량 결정 지침에 LAMPS 사용 방법이 적용되는 예시

FDA Q6. 그림 4에서 설명된 바와 같이, 배출 매체에서의 시간 의존적 약물 손실이 내재적 청소율 및 예상 혈장 농도 계산에 사용된다고 명시하였습니다. 그러나 LOI의 <Figure 4>에서 **파트 A의 곡선들은 중첩** 가능해 보입니다. 파트 A에 표시된 결과가 파트 B 및 C에 표시된 계산된 청소율 및 예측 혈장 농도를 어떻게 뒷받침하는지 설명하십시오.

<AITOX 의견> LOI에 있는 <그림-1>과 검색을 통해 찾은 자료의 비교를 통해 <표-1>과 동일한 실험의 결과로 추정됨. 동일한 실험의 결과이지만 <그림-1>의 D와 <그림-2>의 PK 지표 및 보정 절차의 표기 유무에 대한 차이가 있음. 따라서 <표-1> 및 사용된 자료로 질문에 충분히 설명이 가능할 것으로 사료됨.

<그림-1> LOI의 자료



<표-1> Schurdak 등(2024)의 자료

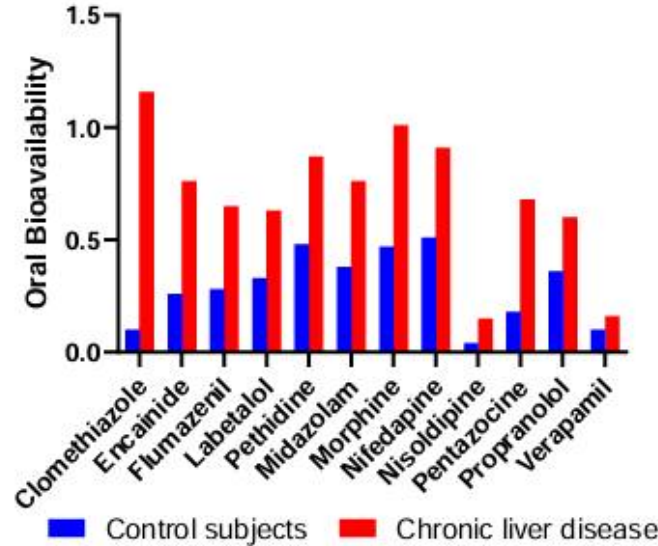
Parameter	NFM	EMS	LMS
$C_{max,ss}$ ($\mu\text{g/L}$)	63	102	89
Percent Increase	-	61.9	41.3
Adjusted Dose (mg)	20	12.3	14.0

10 mg dose recommended for patients with hepatic impairment*

FDA Q7. 제안된 8개 시험 화합물의 수와 선정 근거를 제시하십시오. 용량-의존적 간독성을 보이는 것으로 알려진 약물을 포함하고, LAMPS를 통해 용량-의존적 독성을 입증한 약물로 목록을 확장하십시오. 또한 더 넓은 용량 조정 범위(예: 20%, 40%, 60%)가 필요한 약물도 포함해야 합니다.

<AITOX 의견> <Table 1>은 MASLD 유도형 LAMPS 모델의 적합성을 검증하기 위해 통해 8개 약물의 시험을 의향성에 제출된 약물임. 먼저 실제로 인체 간 독성을 유발하는 약물을 검색할 필요성이 있음. 이를 바탕으로 MASLD를 포함한 간 질환은 <표-1>과 같이 간독성 물질에 대한 민감도를 변화시킬 수 있다는 자료를 고려하거나(Massart 등, 2017), <그림-1>에 서처럼 간 질환 환자에서 약물의 PK 지표인 생체이용률 증가에 대한 자료를 고려할 필요성이 있음(Delcò 등, 2005).

Compound	Dose Adjustment for Hepatic Impairment	Reference
Omeprazole	20 → 10 mg	21
Paclitaxel	135 → 100 mg/m ²	22
Acetaminophen	↓ max daily dose by 50%	22, 23
Resmetirom	C_{max} ↑ 170% in moderate hepatic impairment	24
Metformin	No dose adjustment for Child Pugh A, B	22
Azithromycin	No dose adjustment	22
Atorvastatin	No dose adjustment	25
Ciprofloxacin	No dose adjustment	25



<그림-1> 간 질환 환자에서 약물의 생체이용률 증가에 대한 자료

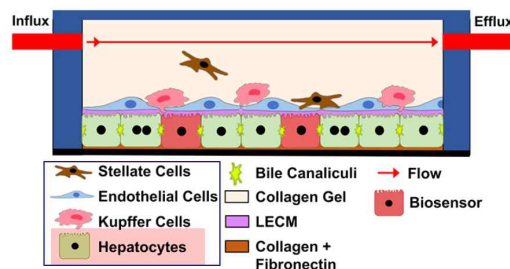
<표-1> 간질환 민감도에 대한 간독성 약물 또는 물질 용량에 의한 변화

Drug	Altered Hepatotoxicity in MASLD
Acetaminophen	Increased risk of acute liver injury
Halothane, Isoflurane	Increased risk of hepatotoxicity
Fosinopril	Increased risk of hepatitis
Losartan	Increased risk of hepatitis
Omeprazole	Increased risk of hepatitis
Piperacillin	Increased risk of hepatitis
Telithromycin	Increased risk of hepatitis
Ticlopidine	Increased risk of hepatitis

Massart, 2017 PMID: 28691103

FDA Q8. 간세포 외 추가된 세 가지 세포 유형의 역할을 설명하십시오. 간세포만을 사용한 단순화된 모델로도 간 약물 클리어런스를 적절히 예측할 수 있을까요?

<AITOX 의견> <그림-1> LOI에 제출된 LAMPS 도식도와 사용된 세포 4종류(붉은 네모 내)를 나타낸 것임. 간 소엽 미세생리학적 시스템(LAMPS)은 구조화된 생체모방체로, 간세포를 이용한 순차적 세포 층화 및 세포 간 자가 조직화를 결합한 후 1차 간 소엽 내피세포(LSECs), 간성상세포(HSCs), 쿠퍼세포(Kupffer cells) 등 비간질세포(NPCs)를 추가하여 구축된 3차원 층상 모델임. 물론 간세포(hepatocyte)sms diranf 대사와 밀접한 세포이므로 약물의 클리어런스에 가장 중요한 영향을 줌. 그러나 간조직을 구성하는 세포들은 질병에 의해 약물 대사 및 약물의 이동 등에 영향을 줌(Delcò 등, 2005).



<그림-1> LOI에 제출된 LAMPS 도식도와 사용된 세포 4종류(붉은 네모 내)

통계적 고려사항

FDA Q9. QP 제출물에 통계적 분석 계획(SAP)을 포함하십시오. SAP에는 다음을 포함하되 이

에 국한되지 않아야 합니다: 스폰서가 제안한 의도된 용도(COU): LAMPS는 MASLD 환자에서 약물 후보물질의 간 클리어런스를 확립하고, MASLD 환자가 포함된 임상시험에서 약물 후보물질의 투여량 결정에 도움을 주는 DDT(의도된 용도)입니다.

- ① LAMPS를 통한 체외 간 클리어런스와 시험 약물의 알려진 임상 클리어런스 간의 상관관계에 대한 계획된 분석.
- ② 2상 임상시험 등록을 위한 MASLD 환자 선정 기준 포함.
- ③ 선택된 시험 약물의 용량 조정 필요성 예측에 있어, LAMPS 및 기존 임상 연구에서 도출된 MASLD 환자 대상 시험 약물 용량 조정 관련 정성적 결론 비교를 위한 통계적 접근법.
- ④ 임상 연구 권고사항 대비 LAMPS 기반 용량 조정 권고사항의 정량적 분석을 위한 통계적 접근법.

<AITOX 의견> 임상관련 자료임

4. 결론

4-1) IStand Qualification Letter of Intent(IStand 적격성 의향서)와 FDA 요청의 분석 견해

- LOI 제출과 이에 대한 FDA 초기 검토 요청 내용에 대한 분석 결과, 다음과 같은 결론을 얻었음.
- ① LOI에서 철저하게 Human-relevance와 관련된 시스템을 사용하였고 자료를 제출하는 것으로 확인됨.
- ② LOI에서는 주로 특정 질병에 대한 비임상의 PK와 관련된 것이지만 FDA에서는 사용의 타 질병으로 확장성과 동시에 약리 PK와 독성의 용량-반응을 함께 요구하는 경향이 있음.
- ③ 하나의 질병에 대한 약물의 인체 용량 예측 및 보정에 재한 NAM이지만, 여러 조건에서도 예측이 가능하도록 다양한 약물에 대한 PK를 통해 중증도 차이에 따른 환자에게 적절한 약물 투여 시스템 요구.

4-2) IStand 프로그램에서의 최초 적격성 승인을 받은 Michael Phelan의 경험

- Michael Phelan은 FDA IStand 프로그램에 최초로 승인된 기술인 Integral Molecular Inc.의 막 단백질체 배열(Membrane Proteome Array)의 책임자였음(Integral Molecular, 2025). 프로그램 최초 신청자로서 FDA와 정기적으로 소통하며 프로그램 구조와 기대 사항에 대한 상당한 통찰력을 얻을 수 있었다고 함. 이 모든 경험을 글로 압축할 수는 없지만, 세 가지 핵심 교훈을 제시. 특히 문항 3은 우리나라 규제기관의 인적 구성이 얼마나 높은 전문성을 가져야 하는지를 보여줌.
- ① **사용 맥락(Context of Use, COU)**은 모든 제출 자료의 기초입니다. COU는 규제 당국에게 정확하고 유용해야 합니다. 모든 데이터와 실험은 COU 충족에 초점을 맞춰야 합니다.
- ② **투명성(Transparency)**은 절대 타협할 수 없습니다. 요약 보고서(Executive Summary)를 제외하고, QP(Qualified Plan) 및 FQP(Functional Qualified Plan)의 세부 내용은 기밀입니다. 규제 당국은 독점적 방법 및 모든 한계 사항 공개를 포함한 완전한 투명성을 기대합니다.
- ③ **과학적 엄밀성(Scientific rigour)**은 성공에 필수적입니다. **제출 자료는 임상, 약리학자, 독성학자, 생물통계학자, NAMs 연구 과학자를 포함한 FDA 인력에 의해 광범위하게 검토될 것입니다.** 생물학부터 통계학에 이르기까지, 제출 자료는 철저한 검증을 견뎌낼 수 있어야 합니다.

<참고문헌>

Peiseler M, Schwabe R, Hampe J, Kubes P, Heikenwalder M, Tacke F. Immune mechanisms linking metabolic injury to inflammation and fibrosis in fatty liver disease - novel insights into cellular communication circuits. *J Hepatol*. 2022 Oct;77(4):1136-1160.

Steinberg, Gregory R. et al. Integrative metabolism in MASLD and MASH: Pathophysiology and emerging mechanisms. *Journal of Hepatology*, 2025. Volume 83, Issue 2, 584 – 595.

iDiseases.com, 2024. Primary Sclerosing Cholangitis – Symptoms and Treatment

Yuan, S., Zhang, P., Yang, S. *et al.* Targeted cellular depletion in an immune-liver-on-a-chip platform elucidates cell-type-specific heterogeneity in drug-induced hepatotoxicity. *Commun Biol* **8**, 1560 (2025).

Schurdak et al., Qualification of Patient-derived Biomimetic Liver MPS as Drug Development Tools for Drug Metabolism, Toxicity, Drug Efficacy Testing, and Clinical Trial Cohort Selection. C-Path CIVM Workshop. 2024.

Sakolish, Courtney et al., Analysis of Reproducibility and Robustness of a Human Microfluidic Four-Cell Liver Acinus MicroPhysiology System. *Toxicology*. 2021 January 30; 448: 152651.

Aleman, J., K, R., Wiegand, C. *et al.* A metabolic dysfunction-associated steatotic liver acinus biomimetic induces pancreatic islet dysfunction in a coupled microphysiology system. *Commun Biol* **7**, 1317 (2024).

Massart J, Begriche K, Moreau C, Fromenty B. Role of nonalcoholic fatty liver disease as risk factor for drug-induced hepatotoxicity. *J Clin Transl Res*. 2017 Feb;3(Suppl 1):212-232.

Delco F, Tchambaz L, Schlienger R, Drewe J, Krahenbuhl S. Dose adjustment in patients with liver disease. *Drug Saf*. 2005;28(6):529-45.

18. NAM의 FDA-ISTAND 적격성 접수 현황과 인증 실패에 대한 예시 분석

1. 2026년 2월까지의 NAM의 FDA-ISTAND 프로젝트 접수 현황

1-1) DDT와 관련한 자료의 공개와 제한성

- 미국 FDA CDER(Center for Drug Evaluation and Research) 및 CBER(Center for Biologics Evaluation and Research)의 의약품 개발 도구(DDT, Drug development tool) 적격성 심사 프로젝트 검색 데이터베이스는 일반 이해관계자가 제출 단계, 적격성 심사 상태, 질환 및 치료 영역별로 DDT 적격성 심사 프로그램을 검색할 수 있음. 이 요건은 투명성을 위해 FDA에 제출된 STAND Qualification(ISTAND 적격성), LOI(Letter of Intent, 의향서), LOS(Letter of support, 지지서), QP(Qualification Plan, 적격성 자격 계획서), FQP(Final Qualification Plan, 최종 적격성 부여 패키지) 등에 적용됨.
- 그러나 DDT 신청자와 FDA 사이 모든 문서가 공개되는 것은 아니고 LOI를 비롯한 비공개로 제출된 FDA의 반응에 대한 자료들임. 이에 STAND 프로그램에서의 최초 적격성 승인을 받은 Michael Phelan은 규제 당국이 독점적 방법 및 모든 제한적인 사항 공개를 포함한 완전한 투명성을 요청하였음.

1-2) NAM의 FDA-ISTAND 프로젝트 목록과 특성

- FDA가 2020년 ISTAND(Innovative Science and Technology Approaches for New Drugs, 신약 개발을 위한 혁신적 과학 기술 접근법)을 시범 프로그램, 그리고 2025년 정식 프로그램 후 2026년 후 현재까지 접수된 **ISTAND project는 <표>에서처럼 DDT-IST-000061이 최종적 프로젝트로 61건 NAM이었음.**
- ISTAND Qualification(ISTAND 적격성), 의향서(LOI, Letter of Intent, 의향서), 적격성 자격 계획서(QP, Qualification Plan), 최종 적격성 부여 패키지(FQP, Final Qualification Plan) 등의 자료 제출 및 결정 과정임. 비록 61개의 NAM project가 제출되어 모든 과정을 거치는 것은 아니며 FDA는 "Accept, N/A Not Accept, Qualified, Not qualified, Modified, Rescinded, Issued, Not issued, Withdrawn" 등으로 update함. 이와 같은 이유로 61건 중 다수의 프로젝트가 목록에 list up되지 않았다는 것을 알 수 있음. 이는 신청자가 자진으로 Rescinded(자진 취소) 또는 Withdrawn(FDA에 의한 취소)된 것으로 추정되어 제출된 61건 중 27건 약 44% 정도가 심사가 이루어진 것으로 파악됨.
- <표>에서 ISTAND NAM Project를 위해 제출한 원천지를 보면 대부분 DDT-IST-000047의 텍사스 대학과 DDT-IST-000028의 개인 자격을 제외하면 대부분 신약과 관련된 제약회사, CRO 그리고 의료기기와 관련된 회사임.
- 단순히 비임상의 약리와 독성 예측 관련된 것뿐만 아니라 임상시험 관련된 프로젝트 등도 확인 할 수 있음.

- 심사가 이루어진 NAM 프로젝트 27 중 LOI 수준에서 'Not accept'는 6건이었으며 특히 6건 중 human-relevant 플랫폼을 이용하지 않은 유일한 1건은 제프라피쉬를 이용한 DDT-IST-000035이었음. **결과적으로 27건 NAM 프로젝트 27건에서 DDT-IST-000035건을 제외한 모든 플랫폼은 human-relevant 플랫폼이라는 것을 인식할 필요성이 있음.**

<표> 2020년부터 현재까지 IStand 인증을 위해 제출된 DDT 또는 NAM 목록

ISTAND project number	ISTAND-DDT project name	Latest submission stage & status	Organization name
DDT-IST-000006	Specificity Screening of Biotherapeutics for Improved Safety Profiling in IND Applications Using the Membrane Proteome Array (MPA)	QP - Accept	Integral Molecular, Inc.
DDT-IST-000013	Prognostic Covariate Adjustment (PROCOVA™) as an Efficient Statistical Methodology, Intended to Improve the Efficiency of Phase 2 and 3 Clinical Trials by Using Trial Subjects' Predicted Control Outcomes (Prognostic Scores) in Linear Covariate Adjustment	LOI - Letter of Intent -- Not Accept	Unlearn.AI, Inc
DDT-IST-000014	AI-COA™ for Automated Depression and Anxiety Severity Measurement	LOI - Letter of Intent -- Accept	Deliberate Solutions, Inc.
DDT-IST-000015	Local tolerance of epidurally/intrathecal administered leachables in vitro	LOI - Letter of Intent -- Accept	Fresenius Kabi Deutschland GmbH
DDT-IST-000016	Human Liver-Chip for Prediction of Drug-Induced Liver Injury	QP - Qualification Plan -- Accept	Emulate
DDT-IST-000019	In-Vitro 3D Human Model for Screening and Prioritization of NASH Clinical Candidates	LOI - Letter of Intent -- Not Accept	InSphero AG
DDT-IST-000020	Automating Identification, Detection, and Adjudication (AIDA) of Clinical Events using Artificial Intelligence (AI) and Machine Learning (ML)	QP - Qualification Plan -- Reviewable	AstraZeneca
DDT-IST-000027	The Heart Failure Natural Language Processing (HF-NLP) Model	LOI - Letter of Intent -- Accept	Brigham and Women's Hospital
DDT-IST-000028	Interval-Specific censoring set adjusted Kaplan-Meier estimator (WKE) to estimate the survival function for the time-to-event endpoints in clinical trials.	LOI - Letter of Intent -- Accept	Yaoshi Wu
DDT-IST-000030	PTSDx+	LOI - Letter of Intent -- Not Accept	Senseye, Inc.
DDT-IST-000032	Use of Retrogenix Platform Specificity/Off-target Screening to Enhance Biotherapeutic Safety Assessment	LOI - Letter of Intent -- Accept	Charles River Laboratories, Inc.
DDT-IST-000034	Liver acinus microphysiological system (LAMPS) for determining drug candidate dosing in clinical trials of liver disease.	LOI - Letter of Intent -- Accept	Organ Pathobiology and Therapeutics Institute
DDT-IST-000035	FDA Qualification and Regulatory Validation of a Zebrafish-Based Preclinical Model for Dravet Syndrome	LOI - Letter of Intent -- Not Accept	Zefit, Inc.
DDT-IST-000037	Binary dihydropyrimidine dehydrogenase (DPYD) Screening Tool for Exclusion of High-Toxicity Patients in Phase II Metastatic Colorectal Cancer Trials	LOI - Letter of Intent -- Not Accept	PGxAI, Inc.
DDT-IST-000041	An in-vitro, high throughput, 3D primary human spheroid model to assess Drug Induced Liver Injury (DILI)	LOI - Letter of Intent -- Not Accept	InSphero AG
DDT-IST-000043	Microphysiological Systems to Investigate Clinical Drug Induced Liver Injury Risk	LOI - Letter of Intent -- Accept	3Rs Collaborative

DDT-IST-000044	Quantifying hepatotoxicity using the liver acinus microphysiological system (LAMPS) for determining drug candidate dosing in clinical trials of liver disease	LOI - Letter of Intent -- Accept	Organ Pathophysiology and Therapeutics Institute
DDT-IST-000045	Human Kidney Chip for Assessment of Relative Nephrotoxicity	LOI - Letter of Intent -- Accept	Icahn School of Medicine at Mt. Sinai
DDT-IST-000046	Remote Disease Severity Assessment for Psoriasis Drug Clinical Trials: At-Home Image Collection and Artificial Intelligence-Based Scoring Models	LOI - Letter of Intent -- Accept	Johnson and Johnson
DDT-IST-000047	Human chorio-decidual interface organ on chip for derisking positive rodent DART studies for new modality investigational new drug candidates	LOI - Letter of Intent -- Accept	Texas A&M University
DDT-IST-000049	Human iPSC-Cardiomyocyte MEA Assay for Prediction of Clinical Cardiovascular Repolarization Risk	LOI - Letter of Intent -- Accept	Axion BioSystems
DDT-IST-000050	The MetaHeps technology for ex vivo drug causality assessment in immune-mediated drug-induced liver injury (DILI)	LOI - Letter of Intent -- Reviewable	TransHeps AG
DDT-IST-000051	Human -on-a-Chip Neuromuscular Junction Assay for Botulinum Toxin Potency Testing	LOI - Letter of Intent -- Reviewable	Hesperos, Inc.
DDT-IST-000053	AI-Driven Digital Liver Model for Prediction of Drug-Induced Liver Injury	LOI - Letter of Intent -- Reviewable	Absentia Labs, Inc.
DDT-IST-000054	Human neuromuscular junction-on-a-chip platform as a tool for botulinum toxin potency testing and medical countermeasure development	LOI - Letter of Intent -- Reviewable	Ananda Devices
DDT-IST-000057	Quantitative assessment for clinical drug-drug interaction (DDI) risk of new chemical entities (NCEs) using human liver chip	LOI - Letter of Intent -- Reviewable	Javelin Biotech, Inc.
DDT-IST-000061	AI-Driven Digital Cardiac Model for Prediction of Drug-Induced Cardiotoxicity	LOI - Letter of Intent -- Reviewable	Absentia Labs, Inc.

2. I STAND NAM Project의 실패 원인과 분석: DDT-IST-000041

2-1) DDT-IST-000041의 LOI 접수와 FDA 판단

- 웹사이트처럼 DDT-IST-000041은 **약물-유도 간 손상(DILI) 평가를 위한 체외 대량처리량 3차원 1차-인간 세포배양 구상체 모델**로 원제목은 **An in-vitro, high throughput, 3D primary human spheroid model to assess Drug Induced Liver Injury (DILI)**임. LOI는 2025년 5월 13일에 제출되었으며 2025년 5월 19일에 FDA로부터 초기 검토 가능하다는 접수가 되었음. 그러나 2025년 11월 05일 검토 의견을 근거로 CDER I STAND 프로그램에 대한 LOI 접수 불가로 결정되었음.

FDA U.S. FOOD & DRUG ADMINISTRATION				
Home Food Drugs Medical Devices Radiation-Emitting Products Vaccines, Blood & Biologics Animal & Veterinary				
DDT-IST-000041, An in-vitro, high throughput, 3D primary human spheroid model to assess Drug Induced Liver Injury (DILI)				
> I STAND				
> Context of Use				
▼ Documents and Dates				
Iteration Number	Stage	Document Type	FDA Determination	Date
1	LOI - Letter of Intent	LOI Determination Letter	Not Accept	2025-11-05
1	LOI - Letter of Intent	LOI Reviewability Status Memo	Reviewable	2025-05-19
1	LOI - Letter of Intent	LOI Submission		2025-05-13

2-2) DDT-IST-000041의 LOI 내용

<ul style="list-style-type: none"> • Letter of Intent: Innovative Science and Technology Approaches for New Drugs (I STAND) : Pilot Program • Title: An in-vitro, high throughput, 3D primary human spheroid model to assess Drug Induced Liver Injury (DILI) • Requesting Organization • Organization Name: InSphero AG, Wagistrasse 27A, 8952 Schlieren, Switzerland a) Primary Point of Contact: Madhu Nag, Chief Scientific Officer, madhu.nag@insphero.com b) Alternative Point of Contact: Bruno Filippi, VP Liver Safety, bruno.filippi@insphero.com
<p>Drug Development Need Statement(신약 개발 필요성 진술서)</p> <ul style="list-style-type: none"> • 약물 유발성 간 손상(DILI)은 여전히 중대한 과제로, 안전성 관련 임상시험 실패의 약 13%, 시판 후 약물 회수의 21%를 차지함. 전임상 시험의 발전에도 불구하고, 기존 방법들은 임상적으로 관련 있는 간독성을 예측에 실패하고 있음. • 인스페로의 1차 인간 간 스페로이드/미세조직(hLiMT, primary human liver spheroids/microtissues)은 다용도적이고 민감하며 생리학적으로 관련성 높은 체외 플랫폼을 제공함. 이 실질 및 비실질 1차 간 세포의 공동 배양체는 대규모로 재현성 있게 제조될 수 있으며, 96- 및 384-웰 플레이트 형식으로 최대 35일까지 배양 가능함. 이는 일상적 사용, 장기 치료 및 국제 운송에 이상적임. hLiMT는 과학적 동료 검토 문헌에서 광범위하게 인용됨. • 최근 FDA 승인 약물 152종을 대상으로 한 연구에서 hLiMT는 간독성 우려 약물을 72%의

민감도와 89%의 특이도로 정확히 식별하였음. 특히 이 모델은 이후 간독성으로 인해 시판이 중단된 10개 약물 중 8개를 스크린을 통해 독성 예측력을 입증하였음. hLiMT는 이미 다수의 중소 및 국제 제약 개발사들이 초기 발견 단계에서 세포 독성을 선별하고, 조건부 처리 및 전사체 분석과 같은 기법을 활용하여 개발 과정 중 선도 화합물을 평가하는 데 채택하고 있음. hLiMTs는 간 독성을 더 빠르고 정확하게 탐지함으로써 약물 개발의 중요한 공백을 메우고, 안전성 평가를 개선하며 궁극적으로 환자 치료 결과를 향상시킴.

ISTAND Applicability Statement (적용성 진술서)

- InSphero의 인간 간 미세조직(hLiMT) 플랫폼은 FDA의 ISTAND 시범 프로그램 하에서 특히 약물 개발 도구(DDT)로 자격을 부여받기 위해 제안되었음. 이 플랫폼은 비간질성 간 세포와 공동 배양된 1차 인간 간세포로 구성된 생리학적으로 관련성 있는 3차원 세포 배양 구상체를 특징으로 함. 세포주 및 1차 간세포의 평면 배양과 달리, hLiMT는 최대 35일 동안 알부민 분비 및 약물 대사 등 간 특이적 핵심 기능을 유지하여 생체 내 인간 간 생리학을 근접하게 모사하고 장기적 반복 치료를 가능하게 함.
- hLiMT 플랫폼은 소분자 치료제의 고효율 전임상 스크리닝을 위해 특별히 설계되어, 약물 개발 초기 단계에서 잠재적 간독성 위험을 예측함. 최근 FDA 승인 약물 152종을 활용한 검증 결과, "vMost-DILI-concern"으로 분류된 화합물 식별에 대해 높은 민감도(72%)와 특이도(89%)를 보여주었으며, 이는 세포주 및 1차 인간 간세포의 평면 배양을 이용한 분석법을 크게 능가하는 수치임. 본 모델의 예측 성능은 엄격한 5중 교차 검증(5-fold cross-validation)을 통해 확인되었으며, 이는 다수의 간세포 기증자 로트에 걸쳐 재현성과 견고성을 입증함.
- 정확하고 고처리량이며 확장 가능한 간독성 예측 능력을 갖춘 이 도구는 임상 결과 평가나 바이오마커 검증과 명확히 구분되는 독보적인 신약개발도구(DDT)로 자리매김함. 이는 결과 생성 보고서나 임상 상태를 나타내는 생리학적 바이오마커가 아니기 때문임. 이 도구의 적용은 동물 모델 의존도를 낮추고 간독성으로 인한 후기 임상시험 실패를 완화함으로써 약물 안전성 평가에 상당한 이점을 제공하며, 이는 FDA의 목표인 약물 개발 효율성 향상 및 환자 안전 증진과 직접적으로 부합함.

Context of Use Statement(사용 맥락 진술서)

- 이 도구는 정확하고 대량 처리 가능하며 확장 가능한 간독성 예측 능력을 바탕으로 독보적인 신약개발도구(DDT, drug development tool)로 자리매김하며, 결과 생성 보고서나 임상 상태를 나타내는 생리적 바이오마커가 아닌 점에서 임상 결과 평가나 바이오마커 검증과 명확히 구분됨. 이 도구의 적용은 동물모델에 대한 의존도를 줄이고 간독성으로 인한 후기 임상시험 실패를 완화함으로써 약물 안전성 평가에 상당한 이점을 제공하며, 이는 FDA의 목표인 약물 개발 효율성 향상 및 환자 안전 증진과 직접적으로 부합함.
- 인스페로의 인간 간 미세조직(hLiMT) 플랫폼은 소분자 치료제의 전임상 간독성 위험 평가를 용이하게 하는 약물 개발 도구(DDT)로 제안됨. hLiMT 플랫폼은 비간질 간세포와 공동 배양된 1차 인간 간세포로 구성된 생리학적으로 관련성 있는 3차원 스페로이드로 이루어짐. 이 미세조직은 약물 대사, 알부민 분비, 간 수송체 발현 등 중요한 간 특이적 기능을 배양 환경에서 최대 35일간 유지함. 고효율 스크리닝을 위해 특별히 설계된 이 시스템은 치료 후보물질 노출 후 **ATP 함량 변화**를 측정하여 세포독성 영향을 평가함.

- 사용 배경은 FDA 승인 약물의 광범위한 테스트에서 도출된 **C2C(Cytotoxicity to-Cmax)** 비율을 활용하여 잠재적 간독성을 조기에 식별하는 것임. 입증된 민감도와 특이도를 바탕으로 hLiMT 플랫폼은 기존 2차원 세포 배양 분석법을 크게 능가하여 간독성 용량과 안전한 용량을 보다 정확하게 구분함. 다양한 간세포 기증자 배치와 실험 실행 간에 보여주는 강력한 재현성은 예측 모델로서의 신뢰성을 더욱 부각시킴. 이 플랫폼을 약물 개발 초기 단계에 도입함으로써 기업들은 예측 정확도를 높이고, 간 손상과 관련된 후기 임상시험 실패를 최소화하며, 궁극적으로 환자 안전을 개선하고 규제 승인 절차를 간소화할 수 있음.

Drug Development Use (약물 개발 활용)

- 현재 약물 후보물질의 간독성 잠재력을 평가하는 패러다임(Figure 0)은 간 세포주 또는 1차 간세포의 평면 배양을 이용한 초기 스크리닝으로 시작되며, 이후 설치류 및 비설치류 종에서 확인을 위한 생체 내 시험을 진행함. 이후 컴퓨터 시뮬레이션과 생체 내 동물 데이터를 기반으로 한 약동학(PK) 및 약력학(PD) 모델링을 통해 최대권장시작임상용량(MRSD, Maximum recommended starting dose)을 결정함. 그러나 평면 세포 배양과 동물 모델 모두 인간 간독성 반응에 대한 예측 정확도가 낮은 등 상당한 한계가 있음. 이는 종종 임상 적용 실패로 이어지며, 임상 시험 중 간독성으로 인한 높은 약물 탈락률의 원인이 됨.
- IStand 인증 hLiMT를 활용한 새로운 패러다임을 제안함. 이는 임상 시험 전 단계에서 확장 가능하고 고처리량이며 인간 관련성을 지닌 체외 도구를 제공함으로써 이러한 한계를 해결함. 화합물 합성 시, 세포독성-Cmax(C2C) 비율은 확립된 in silico PK/PD 모델과 결합된 hLiMTs에서의 세포독성 측정을 통해 결정되며, 이후 설치류 및 비설치류 종에서 **확인적 in vivo 시험이 수행됨. 그런 다음 컴퓨터 시뮬레이션과 생체 내 동물 데이터를 모두 통합한 개선된 PK/PD 모델링을 hLiMTs의 세포 독성 측정과 결합하여 정밀한 C2C 비율을 계산하고, 이를 사용하여 최대 권장 시작 용량(MRSD)을 결정함.**
- 이 새롭게 제안된 패러다임은 기존 패러다임 대비 네 가지 이점을 제공함.
 1. hLiMT의 생리학적 관련성은 후속 동물 실험을 위한 인간 안전성 프로파일이 개선된 약물 후보물질 선별로 이어져, 결국 인간에게 간독성을 보일 화합물 시험에 사용되는 동물 수를 감소시킴.
 2. hLiMT의 생리학적 관련성은 MRSD 결정 정확도 향상을 통해 임상 현장에서의 간 관련 이상반응 발생률을 감소시킴.
 3. hLiMT의 생리학적 관련성은 현재 불리한 안전성 프로파일을 가진 약물 후보물질에 대한 신뢰도를 높일 것임. 간독성 위험이 높고 효능을 위해 더 높은 치료 용량이 필요한 물리화학적 특성을 가진 물질이라도 C2C 비율이 충분히 높다면 가능함. 이는 신약 개발을 위한 새로운 화학적 공간을 확대하고 불리한 PK/PD 프로파일로 인해 잠재적으로 가치 있는 약물 후보물질이 조기에 중단되는 것을 방지할 수 있음.
 4. 초기 PK/PD 컴퓨터 모델링 이후 동물 실험을 수행함으로써, 보다 정교한 생체 내 실험 프로토콜을 가능하게 하고 사용되는 동물 수를 줄일 수 있을 것임.

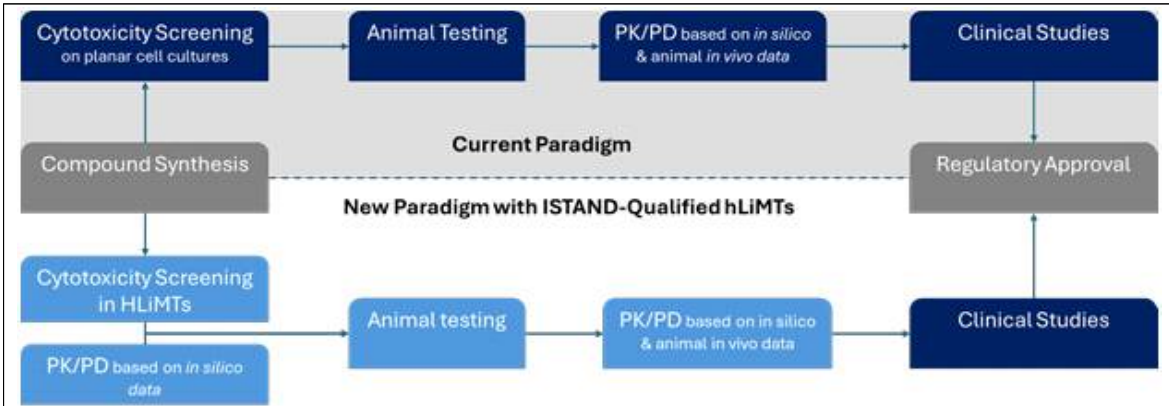


Figure 0: Current hepatotoxicity assessment paradigm and proposed IStand-Qualified hLiMTs alternative (현재 간독성 평가 패러다임과 제안된 IStand 인증 hLiMTs 대안)

Technical Description (기술적 설명): General description of the Human Liver Microtissues technology (인간 간 미세조직 기술에 대한 일반적 설명)

- 인간 간 미세조직(hLiMTs)은 신뢰할 수 있는 상업적 공급업체로부터 공급받은 냉동 보존된 1차 인간 간 세포를 사용하여 대규모로 안정적으로 제조됨. 이 세포들은 이식에 부적합하다고 판단된 기증자 간에서 분리도미(Messner 등, 2013). hLiMT는 InSphero가 재현성 있고 균일한 구상체 생산 및 수동 피펫 또는 완전 자동화 액체 처리기를 사용한 편리하고 견고한 취급을 위해 특별히 개발한 Akura™ 96- 및 384-스페로이드 마이크로플레이트에서 제조, 배양 및 분석됨. Akura™ 스페로이드 마이크로플레이트의 웰은 "SureXchange" 레지가 적용된 테이퍼형 디자인으로, 일상적인 세포 배양 작업 중 세포 스페로이드 흡입 또는 손실 위험을 최소화함. Akura™ 스페로이드 마이크로플레이트의 세포 반발성 표면은 스캐폴드 없이도 응집이 가능하며, 장기적인 스페로이드 형태 및 기능을 유지함. 평평한 바닥과 1mm 직경은 웰 내 세포 구형체의 신속한 위치 확인과 고해상도 공초점 이미지를 가능하게 함[Figure 1].

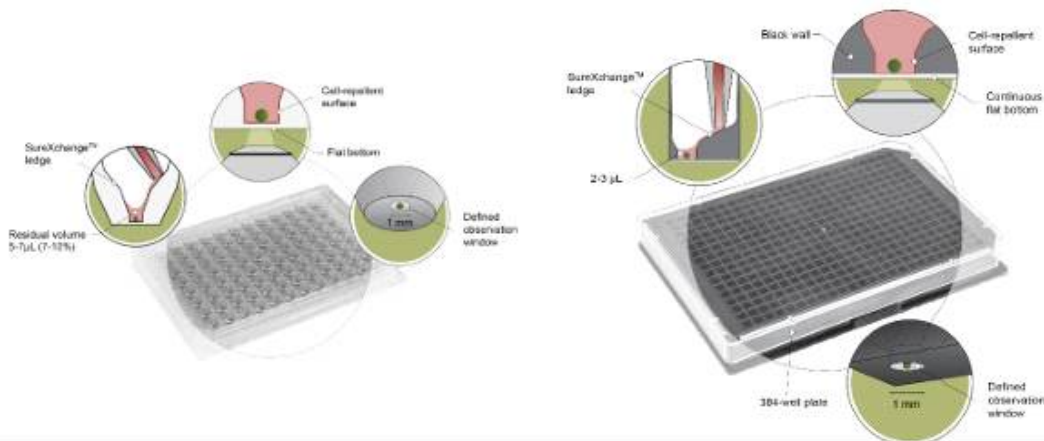


Figure 1: Akura™ 96 & 384 Spheroid Microplates

- 각 hLiMT는 약 2,000개의 간세포를 포함하며, 직경 약 200µm로 간세포, 쿠퍼 세포, 간 내피 세포 등 다양한 간 세포 유형으로 구성됨(Messner 등, 2013; Messner 등, 2018). hLiMT는 배양 35일 동안 안정적인 생존율과 알부민 분비를 보이며, 담관 소관을 형성하고 리포폴리사카라이드(LPS) 처리 시 IL-6 분비를 반응함. hLiMT는 특정 조건에 의해 유도될 수 있는 1상, 2상 및 3상 대사 관련 유전자를 안정적으로 발현하며 유기 화합물을 대사함(Messner 등, 2018).

Realized uses in drug development (신약 개발에서의 활용 사례)

- hLiMT의 안정적인 생존력과 지속적 간 기능은 시험 물질의 잠재적 간독성을 평가하기 위한 장기적 처리 가능성을 제공하며, 이는 1차 인간 간세포의 평면 배양보다 높은 민감도를 보임(Proctor 등, 2018). 세포독성 스크리닝을 넘어, hLiMT의 표준화, 확장성 및 생리학적 특성은 더 복잡한 독성학적 연구를 위한 유용한 체외 도구로 활용될 수 있음. 예를 들어, per- 및 poly-플루오로알킬 물질(PFAS)이 간에 미치는 영향 연구(Addicks 등, 2023; Rowan-Carroll 등, 2025; Reardon 등, 2021), 전임상 종에서 발견된 결과를 연구하고 인간에 대한 관련성을 평가(Bajaj 등, 2025), 또는 약물 및 후보 약물의 임상적 부작용 연구(Shinozawa 등, 2025; Bruderer 등, 2015; Subbiah 등, 2023; Paech 등, 2017) 등이 있음.
- 최근 연구(Fäs 등, 2025)에서는 경구 투여되는 저분자량 유기 약물의 임상적 간독성 평가에 hLiMT의 효과성을 평가하였음. FDA 승인 경구 투여 소분자 약물 152종을 선정하였음. 시험 약물 선정은 간 손상 유발 가능성에 따라 균형 있게 이루어졌으며, 45개 약물은 "간독성 우려 없음(vNo-DILI-concern)", 54개 약물은 "간독성 우려 낮음(vLess-DILI-concern)", 53개 약물은 "간독성 우려 높음(vMost-DILI-concern)"으로 분류되었음(Figure 2).

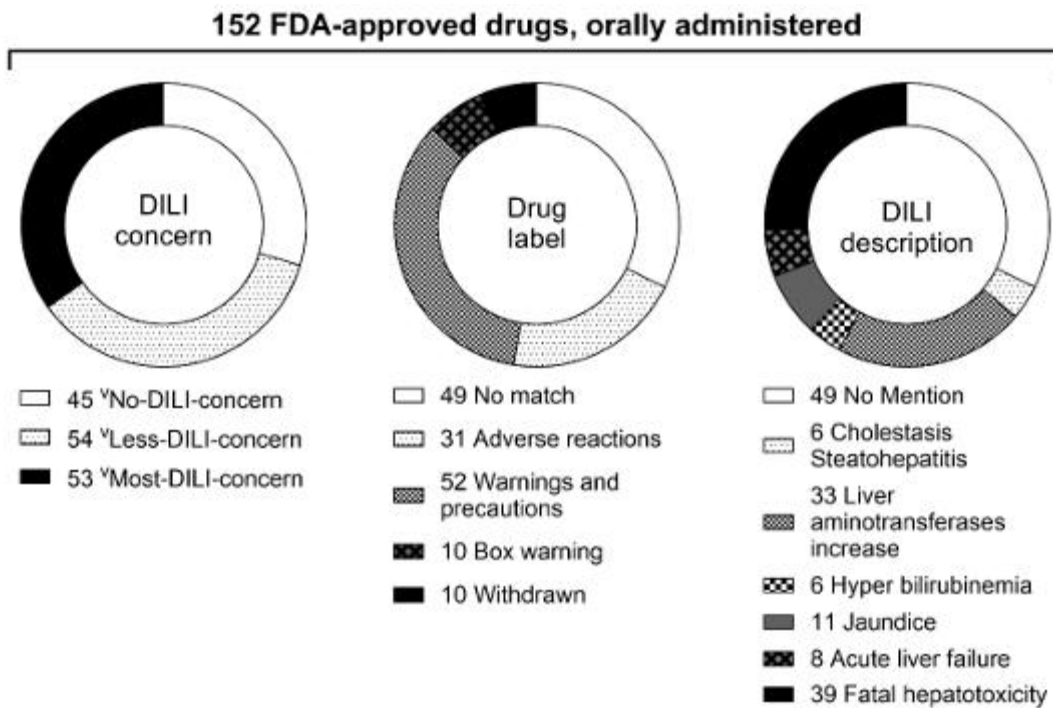


Figure 2: Description of the 152 FDA-approved drug set Schematic representations of the drugs in relation to the DILI concern class (DILI concern), Hepatotoxicity related warning (Drug label), DILI description on the drug label (DILI description). (152개 FDA 승인 약물 세트 설명 DILI 우려 등급(DILI concern), 간독성 관련 경고(Drug label), 약물 라벨상의 DILI 설명(DILI description)에 따른 약물 도식적 표현)

- 10명의 기증자로부터 얻은 간세포 풀과 단일 기증자의 비간질성 간 분획을 혼합하여 제작한 hLiMTs를 Akura™ 384-스피로이드 마이크로플레이트에서 배양한 후, 각 약물의 7가지 농도로 4회 기술적 반복 실험을 통해 7일간 처리하였음. 세포 배양액은 교환되었으며, 약물은 처리 0일, 2일 및 5일에 적용되었고, hLiMT의 생존력은 7일째 발광 기반 ATP 분석법을 사용하여 측정되었음. hLiMTs는 각 약물의 총 혈장 Cmax의 최대 200배까지 처리되었음. 결과는 IC₅₀ ATP만으로는 DILI 우려가 있는 서로 다른 약물군을 구분하기에 불충분함을 보여주었음. 그러나 총 혈장 Cmax를 포함하여 IC₅₀ ATP 대 총 혈장 Cmax 비율(이하 "C2C" 비율)을 계산함으로써 "vMost DILI-concern" 약물을 "vLess-DILI-concern" 및 "vNo-DILI-concern" 약물과 명확히 구분할 수 있었음(Figure 3). C2C 비율은 5중 교차 검증(5-fold cross-validation)을 통해 간독성 약물 식별에 유의미한 지표로 검증되었음. "간

독성 위험 매우 높음” 약물과 “간독성 위험 매우 낮음” 약물을 구분하는 민감도와 특이도는 각각 71.7%와 88.9%였음. 이 모델은 규제 라벨링을 기반으로 한 강력한 판별력도 보여주었음: “박스 경고” 또는 “시판 중지” 상태의 약물을 탐지하는 민감도는 각각 70%와 80%였습음. 간독성과 관련 경고가 없는 약물을 정확히 식별하는 능력을 반영하는 특이도 역시 87.8%로 높았음. 이 간독성 약물 식별 방법은 특히 신경계를 표적으로 하는 “vMost-DILI concern” 화합물에 효과적이었으며, 91.6%의 민감도와 90.9%의 특이도를 달성하였음.

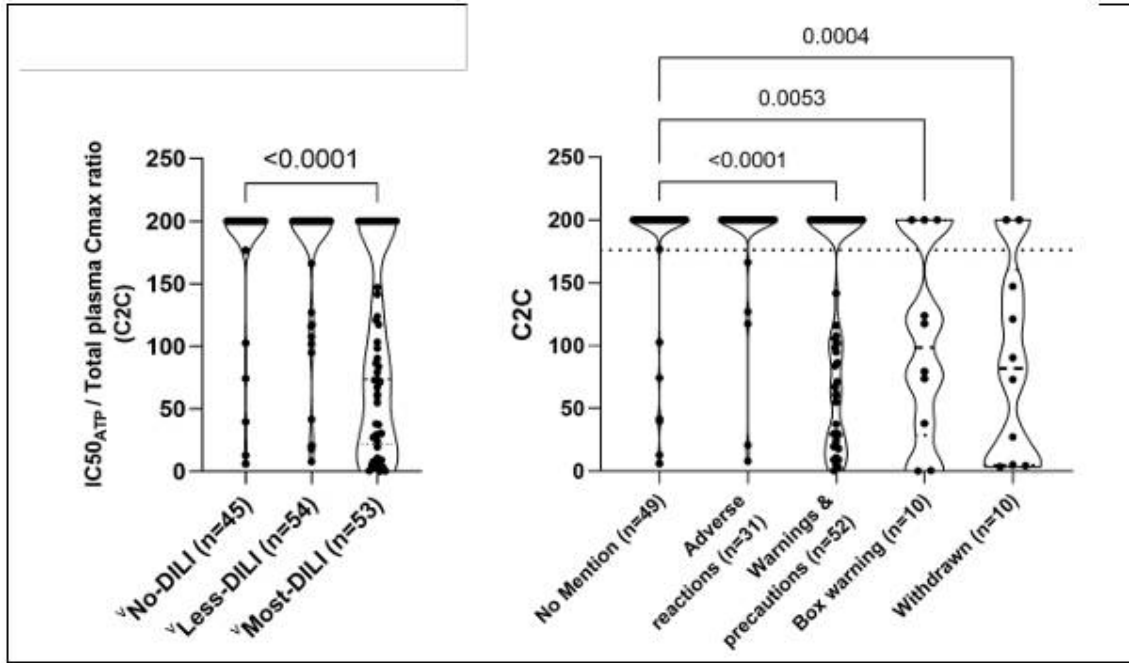
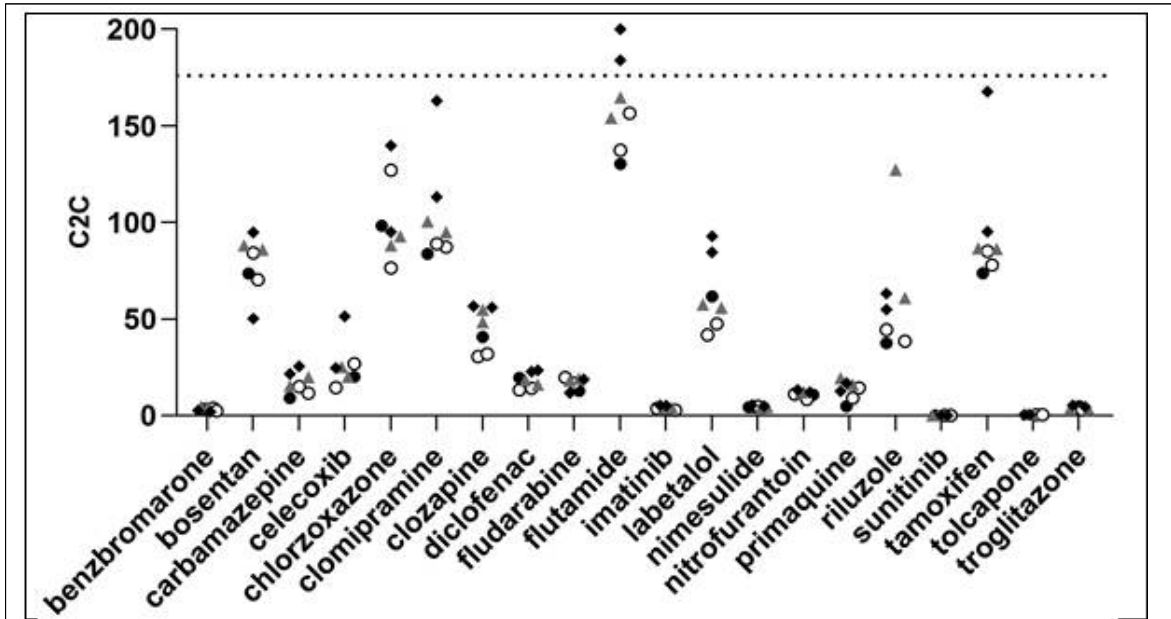


Figure 3: C2C ratio in relationship with clinical hepatotoxicity. (Left panel) C2C ratio of 152 FDA-approved drugs plotted against their DILI concern class. (Right panel) C2C ratio of 152 FDA-approved drugs plotted against their hepatotoxicity safety warning. Statistical differences between groups using Dunn's multiple comparisons tests are denoted, along with their p-values. A dotted line is drawn at C2C = 176. (임상적 간독성과의 관계에서 C2C 비율. (좌측 패널) 152개 FDA 승인 약물의 C2C 비율을 DILI 우려 등급에 대해 플롯한 그래프. (우측 패널) 152개 FDA 승인 약물의 C2C 비율을 간독성 안전성 경고에 대해 플롯한 그래프. Dunn의 다중 비교 검정을 사용한 그룹 간 통계적 차이는 p-값과 함께 표시됨. **점선은 C2C = 176 지점에 표시됨**)

- 1차 세포 배치 간 재현성은 10명의 기증자로 구성된 간세포 풀을 서로 다른 세 가지 조합으로 제조한 hLiMT에서 20개 약물 하위 집합을 테스트하고, 단일 기증자의 비간질성 간 분획과 공동 배양하여 평가했음. 결과는 20개 약물 중 19개에 대해 모든 세포 배치에서 일관되었음. 한 가지 예외는 플루타미드였는데, 한 세포 배치에서는 음성으로 나타났지만 다른 두 배치에서는 양성으로 나타났음(Figure 4).
- 실험 실행 간 재현성은 10명의 기증자로 구성된 간세포 풀과 단일 기증자의 비간질성 간 분획을 공동 배양한 세 가지 다른 조합 각각에서 20개 약물 하위 집합을 두 번 독립적으로 테스트하여 평가했음. 각 세포 배치에 대해 모든 실험 실행 간 결과가 일관되었음 (Figure 4).



<Figure 4> Reproducibility across experimental run and hepatocyte lot. C2C ratios of 20 FDA-approved drugs measured twice in hLiMTs made with 3 different 10 donor hepatocyte lots: Lot IPHH_32 (open circles), lot IPHH_24 (black diamond), and lot IPHH_18 (gray triangle). The initial measurements made in lot IPHH_32 are depicted as full black circles. A dotted line is drawn at C2C = 176. (실험 실행 및 간세포 배치 간 재현성. 3가지 다른 10기증자 간세포 배치(배치 IPHH_32: 빈 원, 배치 IPHH_24: 검정 마름모, 배치 IPHH_18: 회색 삼각형)로 제작된 hLiMT에서 2회 측정된 20개 FDA 승인 약물의 C2C 비율. IPHH_32 로트에서 수행된 초기 측정값은 검은색 원으로 표시되었음. 점선은 C2C = 176 지점에 그렸음)

Previous Regulatory Interactions

- With respect to this particular submission, we have not had any contact with regulators at either the US FDA or any Ex-US regulatory bodies.

3. DDT-IST-O00041의 FDA 접수 거부 결정문과 이유에 대한 AITOX의 평가

3-1) FDA 접수 거부 서신

- 다음은 FDA가 Appendix section에 서술된 내용의 이유로 **DDT-IST-O00041에 대한 LOI를 접수 거절한 서신**임.

<p>• Drug development Letter of intent(DDT-IST-000041) – FDA’s Determination letter</p>
<ul style="list-style-type: none"> • FDA has completed its review of the Letter of Intent (LOI) for Drug Development Tool (DDT), DDT-IST-000041, received on May 13, 2025, by the CDER Innovative Science and Technology Approaches for New Drugs (ISTAND) Program, submitted under section 507 of the Federal Food, Drug, and Cosmetic (FD&C) Act.1 • The LOI is for “An in vitro, high throughput, 3D primary human spheroid model to assess Drug Induced Liver Injury (DILI),” with proposed Context of Use (COU) as a Drug Development Tool (DDT) to facilitate preclinical hepatotoxicity risk assessment of small molecule therapeutics. • The FDA has made a determination to not accept the LOI into the CDER ISTAND Program based on the review comments provided in the Appendix section of this letter. (FDA는 본 서신의 부록 섹션에 제시된 검토 의견을 근거로, 해당 LOI를 CDER ISTAND 프로그램에 접수하지 않기로 결정) • As stated in section 507(a)(2)(B) of the FD&C Act, an LOI submission may not be accepted based upon several factors, including scientific merit. A not accept determination is not a final determination for a DDT and its context of use. • The primary utility of this tool is as a preclinical screening tool and does not meet a regulatory need for the FDA as specified in the context of use (COU). As such, your tool does not address a specified drug development need that fits within our regulatory framework and may be more suitable for internal decision-making by interested sponsors. • Should you choose to resubmit, FDA has provided you with comments and recommendations in the Appendix to help improve an amended LOI. Fully address each of the relevant comments, recommendations, and any data requests in your resubmission and in a separate addendum to your LOI resubmission, referencing the numbered list.(재제출을 선택하는 경우, FDA는 수정된 LOI 개선을 돕기 위해 부록에 의견 및 권고사항을 제공하였음. 재제출 시 관련 의견, 권고사항 및 모든 데이터 요청 사항을 번호가 매겨진 목록을 참조하여 LOI 재제출 문서와 별도의 부록에 각각 충분히 반영 하길 바람)

3-2) FDA의 접수 거부 이유에 대한 Appendix section 내용

<p>FDA’s COMMENTS AND RECOMMENDATIONS</p> <p>Context of Use Considerations:</p> <p>1. 제출된 도구는 선도물질 최적화 과정에서 간독성 가능성을 평가하기 위한 전임상 스크리</p>
--

닝 도구로 규정되었음. FDA는 신약 개발 전략을 규제하지 않으며, 제안된 사용 맥락은 규제 의사 결정 과정에 직접 적용될 수 없음. 본 도구가 신약 개발 초기 단계에서 내부적인 진행/중단 결정에 도움이 될 수 있음을 인정하나, 이러한 사용은 FDA 규제 권한 범위를 벗어남. IStand 프로그램의 적격성 자격을 얻기 위한 약물 개발 도구는 규제 결정을 내리기 위한 규제 제출 과정에서 **도구가 어떻게 사용될지 설명하는 사용 맥락을 제공해야 함**. 특정 약물 개발사와 협력하여 귀하의 도구를 그들의 약물 개발 과정에 통합하거나, 이 도구 사용이 FDA 의사 결정에 관련성 있는 데이터를 생성할 수 있는 대체 사용 맥락을 식별할 것을 권장함.

Pharmacology/Toxicology Considerations (약리학/독성학 고려 사항)

- FDA는 귀사의 기술 플랫폼의 과학적 가치를 인정하나, 현재 **사용 맥락은 직접적인 규제 적용성이 부족함**. IStand 프로그램 자격 심사팀의 평가를 거쳐, 귀사의 제출물에 대한 규제 관련 **사용 맥락을 수립하기 위해 IStand 범위 내에 포함될 수 있는 잠재적 시나리오 예시로 다음을 제안함**.

1. De-risking Clinical Hepatotoxicity Signals(임상 간독성 신호 위험 완화): 임상 바이오마커가 잠재적 간 손상을 시사할 때 간독성 우려를 완화하는 도구로 플랫폼을 활용할 수 있음. 예를 들어, 임상 연구에서 알라닌 아미노트랜스퍼라제(ALT), 아스파르테이트 아미노트랜스퍼라제(AST) 또는 기타 간 손상 지표가 상승하고 전임상 동물 데이터가 부정적인 경우, 해당 분석법은 임상 시험 관리 결정에 필요한 추가적인 기전 정보를 제공할 수 있음.

2. Disease-State Hepatotoxicity Assessment(질환 상태 간독성 평가): 기저 간 병리를 가진 대상 환자 집단을 더 잘 반영하는 질환 특이적 세포 모델을 통해 플랫폼의 유용성을 높일 수 있음. 예를 들어, 대사 기능 장애 관련 지방간염(MASH), 간경변증 또는 기타 간 병리를 가진 기증자로부터 유래한 간세포를 활용하면 임상적으로 관련성 있는 질환 환경에서 약물 효과를 평가할 수 있음. 이러한 질환 상태 모델은 적절히 검증될 경우, **해당 집단에서의 용량 최적화, 효능 평가 및 대사산물 안전성 평가에 정보를 제공하여 간 기능 저하 시 치료 지수에 관한 중요한 규제적 의문점을 해결할 수 있음**. 따라서 정상 및 질환 간세포를 사용한 시험 약물의 효과 비교는 잠재적 DILI 우려 회피나 환자 모니터링 필요성 증가 방지 등 임상 시험에서의 용량 확립에 도움이 될 수 있음.

3. Cross-Species Mechanistic Investigation(종간 기전 연구): 비교 가능한 동물-인간 구형체 시스템 개발은 전임상 연구와 임상 연구 간 상충되는 결과를 해결할 수 있음. 예를 들어, 초기 임상 연구에서 일부 피험자에게 간독성이 관찰될 경우, 병행된 동물 및 인간 세포 모델을 통해 종 특이적 독성 기전을 규명하고 위험 평가 전략을 수립할 수 있음. 이 접근법은 특히 동물 연구에서 양성 결과가 나타날 때 그 인간 관련성을 이해하고, 전임상 안전성 신호가 임상적 맥락을 필요로 할 때 규제 의사결정을 지원하는 데 유용할 것임.

- 이러한 제안들은 약물 개발 과정에서 일반적인 규제 요구사항과 부합하는 적용 사례를 보여줌. FDA는 특정 약물 개발사와 협력하여 이 플랫폼을 규제 제출물에 어떻게 통합할 수 있는지, 특히 비임상 및 임상 데이터 전체를 활용한 증거의 총합 접근법을 고려할 때 FDA 의사 결정 과정 및 규제 판단에 직접적으로 관련되는 데이터를 생성할 수 있는 맥락에 중점을 두고 식별할 것을 권장함.

4. AITOX의 의견 및 결론

4-1) Context of use의 핵심 내용

- 인간 간 미세조직(HLiMTs)는 10명의 기증자로부터 얻은 간세포 풀과 단일 기증자의 비간질성 간 분획을 혼합하여 제작된 구상체임. 3차원 구상체에서 50% ATP 합성 저해 농도인 IC₅₀ ATP와 임상적 혈장 Cmax의 비(ratio)인 cytotoxicity-to Cmax(C2C) 평가로 임상적 간독성 유무를 예측하였음.
- 신청자 Insphero의 Scientific Poster(insphero.com > wp-content > uploads)를 검색하여 아래와 같이 <Figure 3>과 같이 좀 더 상세한 설명 자료를 확인. 간독성 유무를 결정하는 C2C 임계치는 176이었음. FDA 승인 경구 투여 소분자 약물 152종을 선정하여 5 종류의 간독성 중증도에 따라 분류하여 특이도와 민감도가 확인되었음.

Result – Part 2

C2C score in relation to Hepatotoxicity related warning

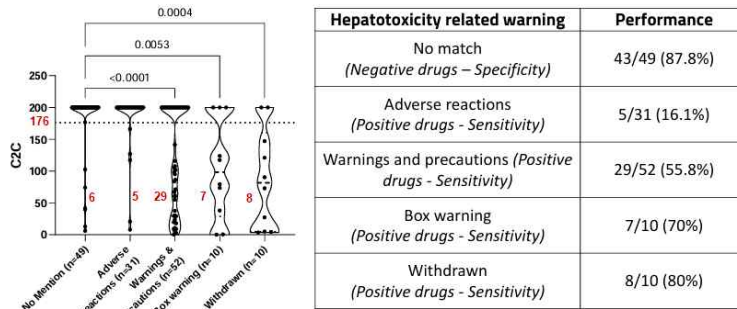


Figure 3: C2C score in relationship with drug label information
Left panel: C2C score of 152 FDA-approved drugs plotted against their hepatotoxicity safety warning (Dunn's multiple comparisons tests, p-values). Dotted line: 176. Right panel: Performance of the 176 C2C-threshold to classify drugs as positive (<176) or negative (>176). Negative drugs: number of true negative/number of drugs (% of true negative). Positive drugs: number of true positive/number of drugs (% of true positive)

(참고자료: <https://insphero.com/wp-content/uploads/2024/08/EARLYD1.pdf>)

4-2) 의견

- IStand는 기본적으로 비임상도구를 이용하여 인체에서의 독성과 약리의 예측 프로그램임. 만약 IND에 제출된 합성의약품 후보물질이 본 비임상 도구를 통해 간독성이 없다고 결론을 제시하면 여러분은 이를 수용할 수 있을까요?
- 사람 간세포의 3D 구상체에서 얻은 ATP 합성 50%의 합성 저해를 간독성 지표로 하여 인체의 유효성 용량으로 PK 지표인 Cmax(혈장최고농도)의 대비(ratio) 수치로 간독성 약물의 유무를 평가. In vitro/in vivo의 수치 176을 임계치로 하여 176보다 낮다는 것은 IC₅₀의 낮은 농도를 의미하여 간독성이 있다는 것을 의미함.

- 이와 같은 원리로 개발된 비임상 도구는 제한된 정보와 자료이지만 다음과 같은 문제점을 가지고 있음.

- ① 제출된 DDT는 인체 조직 및 인체의 Cmax를 사용하였더라도 임상시험에서 간독성 예측보다는 약물 초기의 스크리닝 수준에 적절한 플랫폼이라고 사료됨. 이와 같은 이유는 **COU에서 제시한 MRSD 추정을 할 수 있는 용량의 산술적 자료와 접근 방법이 없음. 플랫폼의 ISTD 승인을 위해서는 정확한 COU의 제시와 여기에 일치한 과학적 정밀성에서 문제가 있다고 사료됨.**
- ② FDA 승인된 약물 52종을 대상으로 인체의 In vitro/in vivo에 대한 176 임계치가 설정되었음. 승인된 52종 중 간독성 유발의 가능성이 높은 항암제 등을 포함하여 다양한 약물로 구성되었다는 측면에서 176 임계치가 임상시험에서 응용되는 모든 약물에 대한 기준치가 될 수 없다는 측면에서 간독성 예측의 혼란성과 제한성.
- ③ 간과 hepatocyte에 의한 약물-유도 간독성 발생 기전은 약물의 친전자성 전환체에 기인한다는 점을 반영하여 플랫폼의 독성학적 이해를 기반으로 개발되었다는 설득력의 부족함.
- ④ 신약의 대상은 질환 치료이므로 플랫폼 개발을 위한 COU에서 특정 질병 모델을 대상으로 하는 것이 바람직하여 독성의 유무 및 중정도 등의 분류적 접근보다 산술적 접근으로 용량 설정에 초점을 두어 플랫폼 개발이 ISTD DDT 승인에 더욱 도움이 될 것으로 사료됨.

4-3) <참고사항> ISTD 프로그램에서의 최초 적격성 승인을 받은 Michael Phelan의 경험의 참고할 필요성

- Michael Phelan은 FDA ISTD 프로그램에 최초로 승인된 기술인 Integral Molecular Inc.의 막 단백질체 배열(Membrane Proteome Array)의 책임자였음(Integral Molecular, 2025). 프로그램 최초 신청자로서 FDA와 정기적으로 소통하며 프로그램 구조와 기대 사항에 대한 상당한 통찰력을 얻을 수 있었다고 함. 이 모든 경험을 글로 압축할 수는 없지만, 세 가지 핵심 교훈을 제시.
- ① **사용 맥락(Context of Use, COU)**은 모든 제출 자료의 기초입니다. COU는 규제 당국에게 정확하고 유용해야 합니다. 모든 데이터와 실험은 COU 충족에 초점을 맞춰야 합니다.
 - ② **투명성(Transparency)**은 절대 타협할 수 없습니다. 요약 보고서(Executive Summary)를 제외하고, QP(Qualified Plan) 및 FQP(Functional Qualified Plan)의 세부 내용은 기밀입니다. 규제 당국은 독점적 방법 및 모든 한계 사항 공개를 포함한 완전한 투명성을 기대합니다.
 - ③ **과학적 엄밀성(Scientific rigour)**은 성공에 필수적입니다. **제출 자료는 임상, 약리학자, 독성학자, 생물통계학자, NAMs 연구 과학자를 포함한 FDA 인력에 의해 광범위하게 검토될 것입니다.** 생물학부터 통계학에 이르기까지, 제출 자료는 철저한 검증을 견뎌낼 수 있어야 합니다.

<참고문헌>

- Messner S, Agarkova I, Moritz W, Kelm JM. Multi-cell type human liver microtissues for hepatotoxicity testing. *Arch Toxicol.* 2013;87(1):209-213.
- Messner S, Fredriksson L, Lauschke VM, et al. Transcriptomic, Proteomic, and Functional Long-Term Characterization of Multicellular Three-Dimensional Human Liver Microtissues. *Appl In Vitro Toxicol.* 2018;4(1):1-12.
- Proctor WR, Foster AJ, Vogt J, et al. Utility of spherical human liver microtissues for prediction of clinical drug-induced liver injury. *Arch Toxicol.* 2017;91(8):2849-2863.
- Fäs L, Chen M, Tong W, et al. Physiological liver microtissue 384-well microplate system for preclinical hepatotoxicity assessment of therapeutic small molecule drugs. *Toxicol Sci.* 2025;203(1):79-87.
- Addicks GC, Rowan-Carroll A, Reardon AJF, et al. Per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) in mixtures show additive effects on transcriptomic points of departure in human liver spheroids. *Toxicol Sci.* 2023;194(1):38-52. doi:10.1093/toxsci/kfad044
- Rowan-Carroll A, Meier MJ, Yauk CL, et al. Deciphering per- and polyfluoroalkyl substances mode of action: comparative gene expression analysis in human liver spheroids. *Toxicol Sci.* 2025;205(1):124-142.
- Reardon AJF, Rowan-Carroll A, Ferguson SS, et al. Potency Ranking of Per- and Polyfluoroalkyl Substances Using High-Throughput Transcriptomic Analysis of Human Liver Spheroids. *Toxicol Sci.* 2021;184(1):154-169.
- Bajaj P, Brennan RJ, Laurent S, et al. Transcriptomic analysis in liver spheroids identifies a dog-specific mechanism of hepatotoxicity for amcenestrant. *Toxicol Sci.* 2025;204(2):228-241.
- Shinozawa T, Miyamoto K, Baker KS, et al. TAK-994 mechanistic investigation into drug induced liver injury. *Toxicol Sci.* 2025;204(2):143-153.
- Bruderer R, Bernhardt OM, Gandhi T, et al. Extending the limits of quantitative proteome profiling with data-independent acquisition and application to acetaminophen-treated three dimensional liver microtissues. *Mol Cell Proteomics.* 2015;14(5):1400-1410.
- Subbiah V, Chawla SP, Conley AP, et al. Preclinical Characterization and Phase I Trial Results of INBRX-109, A Third-Generation, Recombinant, Humanized, Death Receptor 5 Agonist Antibody, in Chondrosarcoma. *Clin Cancer Res.* 2023;29(16):2988-3003.
- Paech F, Messner S, Spickermann J, et al. Mechanisms of hepatotoxicity associated with the monocyclic antibiotic BAL30072. *Arch Toxicol.* 2017;91(11):3647-3662.