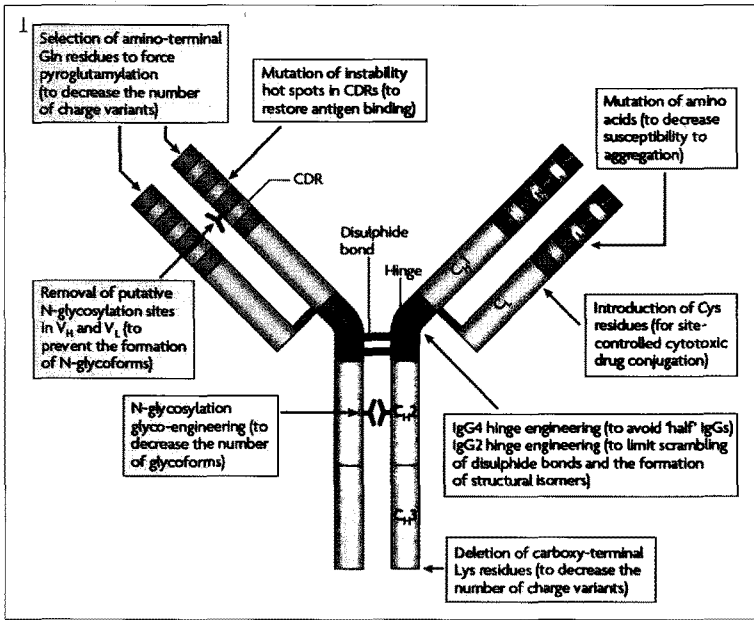


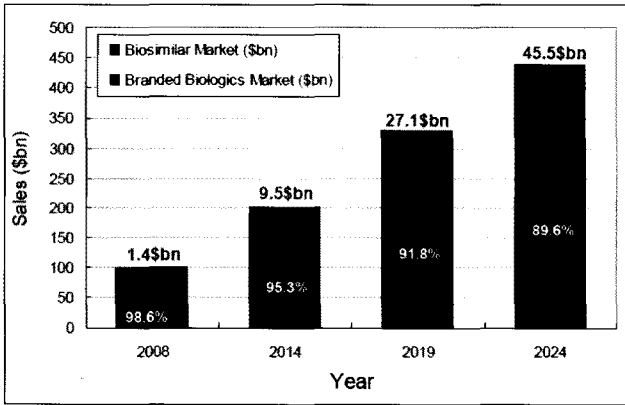


03 바이오시밀러 개발 유의점

아미노산 서열의
확인용 기술



▶▶ 항체의 구조 및 전사후변형



Source: visiongain 2009 World Biosimilar Market Forecast, 2009-2024

글 문경덕 한화케미칼(주) 바이오연구소 수석연구원
kyungduk.moon@hanwha.co.kr
경희대학교 유전공학과 졸업 후 KAIST에서 석사학위(생명과학)를, 퍼듀대학교에서 박사학위(약용 화학 및 분자 약리학)를 받았다.

이상의 판매를 하고 있는 블록버스터 제품이다. 그 품목으로는 엔브렐, 에포젠, 레미케이드, 리툭산, 뉴라스타, 휴미라, 허셉틴, 아바스틴 등이 있으며, 엔브렐은 2012년, 에포젠과 레미케이드는 2013년, 리툭산과 뉴라스타는 2015년, 휴미라는 2016년, 허셉틴과 아바스틴은 2019년에 각각 그 특허가 만료된다. 이들 제품들의 공통적인 특징은 모든 제품이 단백질로 되어 있는 생체 물질이므로 오리지널 제품과 모든 것을 동일하게 만드는 것이 거의 불가능하다는 것이다. 이와 같은 이유로 바이오시밀러 제품의 허가 가이드라인이 훨씬 까다롭게 만들어져야 하는 지도 모른다.

이를 반영하듯 미국은 여전히 동등 생물 의약품에 대한 가이드라인을 내놓고 있지 않다가 로이터에 의하면 최근에서야 산업계의 요구로 올해 안에 일반적인 안내서를 공표할 예정이라 한다. 하지만, 미국 FDA를 제외한 유럽의약품청(EMA)의 경우 2004년부터 동등 생물 의약품에 대한 별도의 관련 규정 및 가이드라인을 마련하였고, 특히, 항체 의약품에 대해 별도로 2010년 말에 가이드라인 초안이 발간되어 2011년 6월까지 각계의 의견을 수렴했다.

우리나라의 경우에도 2009년에 식약청에서 동등 생물 의약품 가이드라인을 마련하였다. 1990

선진국을 중심으로 1970년대 제한 효소가 발견되고 이를 이용한 유전자 조작 기술이 도입된 후 한국에서는 1980년대 처음으로 유전공학이라는 학문이 소개되었으며, 이후 대학과 대학원을 중심으로 유전공학과가 생기기 시작하여 한국 바이오산업이 일어나게 되는 초석이 되었다. 유전자 재조합 기술은 제한 효소를 이용하여 DNA를 절단하고 붙인 후 호스트인 대장균이나 진균 세포에서 발현시키는 기술로서 이 기술이 도입되고 나서부터 바이오 의약품의 대량 생산이 가능하게 되었다.

▶▶ 제품 허가 까다로운 바이오시밀러

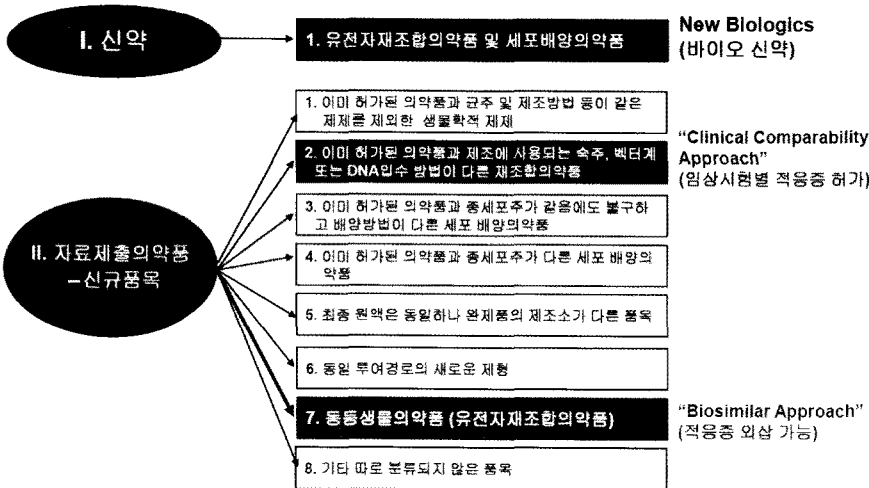
바이오 의약품은 합성 의약품과는 달리 분자량이 크고 매우 복잡한 구조를 가지고 있는 생체 내 단백질이 대부분이므로 구조와 활성이 그 단백질을 생성하는 세포주의 종류와 제조 방법에 따라 매우 다르다. 이와 같은 특성 때문에 바이오 의약품은 합성 의약품의 경우와는 달리 제네릭 의약품 개발이 시도되지 않았다. 하지만, 신약을 개발할 경우 상대적으로 성공할 가능성이 낮고, 새로운 타깃을 선정하는 데 많은 시간과 경비가 소요되며, 기존 시장성이 높은 블록버스터 제품들의 특허가 만료되는 등의 이유로 최근 몇 년간 바이오시밀러 의약품 개발이 시작되었다.

바이오시밀러 제품은 초기 바이오 단백질 의약품인 에포젠을 포함하여 최근에 개발, 시판되는 항체 의약품으로 이들 대부분은 10억 달러



년대에 IG 생명과학에서 만든 인간 성장 호르몬이나 알파-인터페론 등의 독자적인 바이오 제품이 있었으나 이는 처음으로 개발한 제품이 아니라 선진국에서 개발하여 시판하였던 제품이므로 엄밀히 말한다면 바이오시밀러라고 할 수 있다. 이후 2000년대에는 셀트리온의 허셉틴과 한화의 엔브렐, 삼성의 리톡산 등의 바이오시밀러 제품들이 KFDA에서 정한 가이드라인을 통과하였으며, 현재 임상이 진행 중이다.

원제품과 똑같은 단백질 시밀러 제조 불가능



▶▶ KFDA 바이오 의약품 품목 구분

유전자 재조합 기법으로 만들어지는 단백질 치료제의 경우 대부분은 당단백질로 당화 구조체 사슬의 수와 길이, 부착된 당의 종류와 양에 따라 생물활성이나 생체 내 안정성에 차이가 생길 수 있다. 현재까지 시장에서 블록버스터로 팔리고 있는 대표적인 단백질 치료제에는 EPO(에리스로포이에틴), G-CSF(조혈촉진인자), 인슐린, 인간 성장 호르몬(hGH), IFN-알파와 베타 등이 있으며, 이들 대부분은 가까운 시일 내에 특허가 만료되는 치료용 단백질이다.

당단백질 중의 하나인 EPO는 전 세계에서 약 5조3천억 원의 매출을 올리는 빈혈 치료제로 2013년 특허가 만료되어 치료용 단백질 시밀러의 강력한 후보자로 선택될 가능성이 높다. EPO는 3개의 Asn과 하나의 Ser에 다양한 형태의 N-당질화가 존재하는 것으로 알려져 있으며, 이들 당에 따라 에포에틴 알파, 에포에틴 베타, 다베포에틴 알파 등 10여 가지로 분류되고 있다. N-말단의 마지막에는 시알산이 존재하는데 이 시알산의 전체 길이 여부가 EPO의 반감기를 결정짓는 데 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 한 예로서, 14~18개의 시알산이 존재하는 다베포에틴 알파의 경우에는 6~10개의 시알산 잔기가 존재하는 rhEPO보다 약 3배나 긴 반감기를 가지고 있으며, 이 당사슬을 제거하는 경우 EPO의 반감기가 급감하는 등 이들 당의 수가 의약품의 생리 활성, 체내 동태 및 안정성에 크게 영향을 준다.

하지만, 현재까지의 당분석 기술로는 정확한 각각의 구조를 알 수 없으므로 오리지널 제품과 완전히 동등한 시밀러 제품을 만드는 것은 거의 불가능하다. 이런 이유로 한국 식약청인 KFDA나 미국의 FDA, 유럽의 EMEA 등에서는 허가 기준을 합성 의약품이 정한 가이드라인과는 다른 바이오시밀러 가이드라인에 따르고 있다.

동질성 확보 위해 항체 당사슬 반드시 고려해야

위에서 언급한 것처럼 바이오시밀러 제품 허가에 가장 큰 이슈가 되고 있는 것은 비교 동등성으로 물리학적 성질, 생물학적 성질, 면역학적 성질, 순도, 오염 물질, 역가, 함량 등을 포함한 모든 성질에서 오리지널 제품과 비교했을 때 그 동질성이 있다는 것을 보여줘야 한다는 것이다. 현재 바이오시밀러 붐을 일으키고 있는 대표적인 바이오 의약품인 항체는 약 150kDa의 분자량을



가지고 있으며, 중쇄와 경쇄의 헤테로다имер로 구성돼 있다. 항체의 1차 구조와 2차 구조는 DNA 염기서열에 의해 구조가 결정되므로 오리지널 제품과 시밀러 제품의 경우 차이가 없지만, 이후 생성되는 3차 구조 및 전사후변형의 경우에는 세포의 특성 및 다른 환경적인 요인에 의해 조금씩 다른 구조를 가질 수도 있다. 이 중 대표적인 당사슬의 경우에는 그 구조가 매우 다를 수 있으므로 바이오시밀러의 동질성을 확보하기 위해서는 반드시 고려해야만 하는 항목이다.

항체는 면역글로불린 A, D, E, G, M의 5가지 아이소타입이 존재하며 이 중 주로 항체 의약품으로 사용되는 것은 IgG 타입이다. IgG는 IgG1에서부터 IgG2, IgG3, IgG4까지 존재하며 이들의 구조적 특징은 주로 경첩이라고 알려져 있는 부위의 아미노산 수와 서열의 차이로 결정된다. 이 경첩 부위는 CH1과 CH2 부위 사이에 존재하며 이 부분이 길어지게 되면 유연성이 좋아져 항원과의 결합에 특이성을 결정하는 데에 중요한 요인이 될 수 있다. 또한, 이들 5가지 아이소타입들은 CH2와 CH3를 구성하는 아미노산 서열에도 차이가 있으며, 항체의 기본적인 특징인 항원과의 결합을 통한 중화 효과라는 기능 이외에도 항체가 가지는 다른 주요 기능인 항체 의존성 세포 독성(ADCC)과 도움체 의존 세포 독성(CDC)을 결정할 수 있다. 즉, 다른 면역글로불린과는 다르게 IgG1의 경우에는 CH2와 CH3 부위에 존재하는 아미노산에 면역세포인 T림프구나 NKT셀이 결합할 수 있다. 항체와 결합된 면역 세포들은 항체에 의해 활성화되어 항체가 결합하고 있는 세포들을 용해하게 되는데 이를 ADCC라고 하며, 보체가 결합하여 세포 용해를 일으키는 것을 CDC라고 한다. ADCC와 CDC의 경우 항체의 중화 효과에 비해 보조적이라고 생각될 수도 있지만 매우 중요한 역할로서 항체 의약품 중에서, 특히 항암제로 제조되는 항체의 경우 항암 효능을 배가시켜 주는 데 중요한 역할을 한다고 알려져 있다.

원제품과 동일 세포 이용해 제조해야 유리

위에서 언급한 치료용 단백질처럼 항체도 당이 결합되어 있는 당단백질로서 당화는 주로 Asn 잔기에 결합하는 N-당화와 Ser/Thr 잔기에 결합하는 O-당화가 있다. 항체에 결합돼 있는 당사슬은 숙



	N-당화	O-당화
전구체	Sugar-Nucleotides Lipid-linked Sugars	Sugar-Nucleotides
위치	Asn-Xaa-Ser/T	Ser/Thr
어디서	소포체와 Golgi	Golgi
언제	단백질의 생합성과 동시에 발생	단백질 생합성 완료 후에 발생
어떻게	당과 함께 단백질 접힘과 조립	단백질 접힘과 조립 후에 당 부가

▶ 당화 비교

주세포의 종류, 재조합체의 조작 방법, 그리고 배양 조건 등에 따라 그 구조나 형태가 달라질 수 있는데, 이와 같은 특성 때문에 현재 개발되고 있는 모든 바이오시밀러의 경우 오리지널 의약품이 제조된 세포와 생산공정을 거의 유사하게 적용하여 바이오시밀러 제품을 제조하고 있다. 하지만, 여전히 제품의 성상이 달라질 수 있는 가능성이 있어서 오리지널 제품과 바이오시밀러 제품과의

동질성을 비교하기 위해서는 다음과 같은 사안을 점검해야 한다.

첫째, 아이덴티티를 확인해야 한다. 이를 위해서는 DNA 염기서열과 펩티드 매핑, 그리고 면역원성이 있는지를 확인해야 하고, 둘째, 기능을 확인하기 위해서는 바인딩에 의한 중화작용을 포함하여 세포 기반 검색과 ADCC 및 CDC를 확인해야 하며, Fc의 시험관 내 기능을 확인하기 위한 각 수용기들의 결합·해리능을 확인해야 한다. 셋째로는 숙주 세포에서 발현함으로써 생길 수 있는 당사슬과 인산화를 포함한 전사후 수식 패턴을 확인하기 위해 모든 다양한 방법을 동원해야 하는데, 예를 들면 모세관 전기영동, 액체크로마토그래피, MALDI-TOF, 등전위점 초점화, 양이온 교환 크로마토그래피 등의 기술을 이용하여 동질성을 분석해야 한다.

바이오시밀러를 제조하는 데에 가장 유념해야 할 것은 1차 구조를 결정하는 아미노산 서열의 아이덴티티는 필수적이고, 오리지널 제품과 가능하면 동일한 세포를 이용하여 제조를 하는 것이 매우 유리하다. 이렇게 함으로써 가장 기본적인 때대를 동등하게 만들 수 있으며, 이후 진출하고자 하는 시장에서 시판되는 오리지널 제품의 철저한 분석을 통해 가능한 많은 데이터를 수집 분석하여 시밀러 제품의 동등성을 충분히 보일 수 있는 생산공정을 초기부터 개발해야 한다.

한편, 데이터모니터에 의하면 바이오시밀러 시장은 2009년 말 전 세계 바이오 의약품의 총매출규모인 1천300억 달러와 비교하여 2015년 이후에 수백억 달러에 이를 정도로 성장할 것이라고 예측되지만 시장을 선점해야만 수익을 충분히 얻을 수 있는 높은 경쟁을 필요로 하는 시장이며, 아직도 규제당국의 명확한 가이드라인을 지켜보며 개발해야 하는 어려움이 있음을 충분히 고려해야 한다. 특히, 동등성 확보 측면에서 최신 기술들을 적시에 발굴하고 꾸준히 접목하는 전략적 접근만이 선진국 바이오시밀러 개발 업체와의 경쟁에서 우위를 점할 수 있을 것이다.

유효성 확보된 바이오시밀러로 바이오베터 개발

현재 바이오 제약사업은 1990년대의 제1세대 붐 이후 제2세대 붐이라고 할 수 있을 정도로 투자 및 개발이 진행되고 있는데, 예를 들면, 한화, 삼성, LG 등을 포함한 국내 대기업들의 진출과 로체, 암젠, 제넨테크, 엘리 릴리 등 세계의 유수 제약 업계, 그리고 기존에 시밀러 제품을 개발해 오고 있었던 인도의 란박시, 이스라엘의 테바, 중국의 여러 바이오텍 기업의 진출까지 전 세계적으로 활발히 일어나고 있다. 이들 회사들은 기존의 설비, 경험과 지식의 노하우를 바탕으로 바이오시밀러를 비교적 쉽게 공략할 수 있기 때문에 바이오시밀러 집중에 따른 리스크를 분산해야 한다. 향후 블록버스터급의 세계적인 신약 바이오 의약품의 개발을 위해서는, 우선 단기적으로는 10년 이상 안전성과 유효성이 확보된 바이오시밀러의 타깃을 이용하여 개발 위험을 줄이면서도 기존 의약품보다 성능이 개선된 바이오베터를 개발하고, 더 나아가서는 새로운 타깃을 찾는 신약 개발에 좀 더 역점을 두어야 할 것이다. 