
면역조절 효능을 보유한 생균치료제의 면역원성 바이오마커 탐색을 위한 방법론

주관연구개발기관 : 가톨릭대학교 산학협력단

공동연구개발기관 : 연세대학교 산학협력단

고려대학교 산학협력단

(주) 입셀

(주) 지놈앤컴퍼니

(주) 세라트젠

(주) 애임스바이오사이언스

2025.09.23

스마트임상시험신기술개발연구사업단

- 본 지침서/안내서는 보건복지부의 재원으로 국가임상시험지원재단 스마트임상시험신기술개발연구사업단의 지원을 받아 수행한 「첨단 바이오 분야 초기 임상시험 관련 기술 개발」 (과제고유번호: RS-2023-KH141565)의 결과물로 제작되었습니다.
- 본 지침서는 보건복지부, 식품의약품안전처 등 관련 기관의 제도 및 정책과 상이할 수 있으며, 어떠한 법적 구속력 및 책임을 가지지 않으므로 참고용으로만 활용하시기 바랍니다.
- 본 지침서의 내용은 현재의 과학적·기술적 근거 등을 토대로 작성되었으며, 향후 과학기술의 발전 및 관련 법규정의 개정 및 구체적인 사실관계의 변화 등에 따라 내용이 달라질 수 있습니다.
- 본 저작물에 대한 권한은 (주) 지놈앤컴퍼니에 있으며, 무단으로 지침서의 내용을 수정하여 재배포하는 것을 금합니다. 또한, 본 지침서의 전부 또는 일부를 인용·활용할 경우 반드시 출처를 명시하여야 합니다.

제·개정 이력

연번	제·개정번호	승인일자	주요내용 및 사유
1		2025.10.31	제정

면역조절 효능을 보유한 생균치료제의 면역원성 바이오마커 탐색을 위한 방법론 제안서

2025.9.23.

4공동(지놈앤컴퍼니) 초안 작성

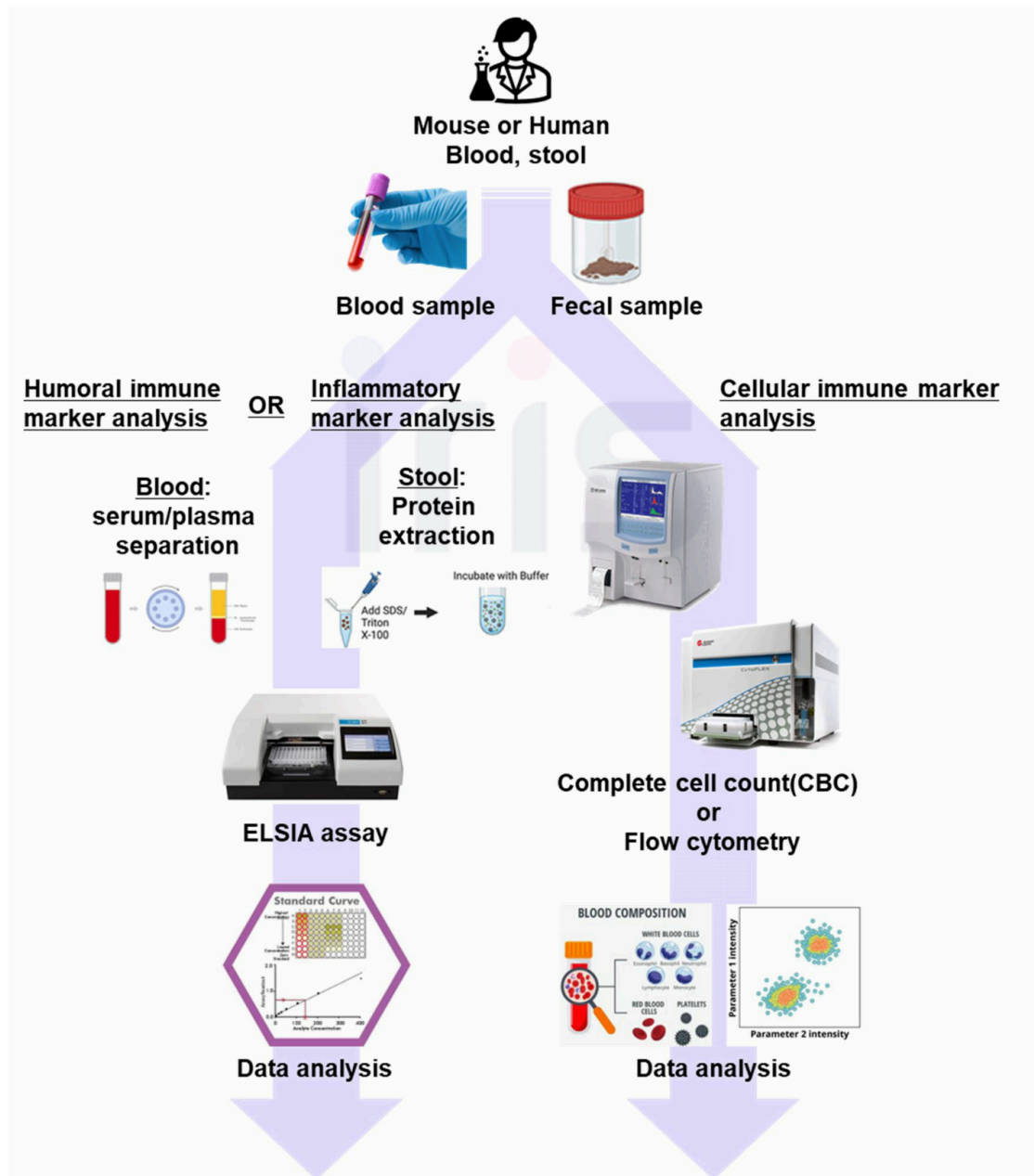


그림 1 생균치료제의 면역조절 효능연계 바이오마커 분석 도식도

1. 목적

2022년 4월 제정된 식품의약품안전처의 가이드라인에 따르면, 생균치료제(Live Biotherapeutic Product, LBP)는 박테리아 등 살아있는 미생물을 주성분(유효성분)으로 하여 제조한 의약품으로, 같거나 다른 종의 미생물로부터 유래한 하나 또는 여러 개의 미생물 균주를 포함한 의약품을 말한다. 해당 가이드라인에 따르면 생균치료제는 기존적으로 사람이나 다른 생물체에서 유래된 것을 원료 또는 재료로 하여 제조한 의약품인 “생물의약품”에 속하여, 생균치료제의 비임상 평가는 「생물학적제제 등의 품목허가 심사 규정」에 따른다. 생균치료제의 약리 작용을 이해하기 위해서는 대부분의 생균치료제가 경구투여되며, 대체로 그 자체가 전신 노출되지 않는 특징을 가진다고 알려진 치료제가 어떻게 장뿐만 아니라 전신 효능을 가질 수 있는지 확인이 필요하다.

최근 연구에 따르면, 몸의 70~80%의 면역세포가 장 점막에 집중되어 있어 장내 미생물 균형과 장 건강이 면역력에 직접적인 영향을 미친다고 알려져 있다. 이는 기본적으로 세균의 세포벽에 있는 지질다당류, 지질테이코산, 펩티도글리칸, 또는 고유한 핵산 서열 등 작은 분자 모티프인 PAMP(병원체연관분자패턴)가 숙주(인체)에는 존재하지 않아, 면역 세포의 패턴인지수용체(PRR)가 이를 인식하여 면역반응을 일으키기 때문이다. PAMP는 식물과 동물 모두에게서 발견되지 않아, 면역 체계가 외래 비자기(non-self)물질로 인식하게 하는 중요한 표지 분자가 된다. 이 중 특정 균주 혹은 균총은 사이토카인과 인터페론 같은 면역 물질의 생산을 증가시키는 면역증진 반응을 유도하거나 장 내의 조절 T 세포(Treg)와 상호작용하여 장의 면역 항상성을 유지하는 데 중요한 역할을 한다. 이러한 면역 조절 기능을 가진 균주를 생균치료제로 개발할 수 있다. 면역조절 효능을 보유한 생균치료제의 면역원성 바이오마커를 탐색하기 위해서는 동물모델 기반 비임상 연구에서 바이오마커를 탐색하되, 해당 바이오마커가 임상적으로 사용할 수 있는지 확인이 필요하다. 면역원성 바이오마커로는 cytokine과 같은 체액성 면역 마커와 혈액 내 존재하는 면역 세포의 수 및 활성도를 측정하는 세포성 면역 마커뿐만 아니라 임상적으로 염증이나 감

염의 마커로 사용하는 염증 마커를 모니터링하는 방법을 사용할 수 있다.

2. 면역조절 효능을 보유한 단일 생균치료제의 약리 작용을 확인하기 위한 의약품의 면역원성 바이오마커 탐색 방법

그림 1의 면역조절 효능을 보유한 단일 생균치료제의 효능 연계 면역원성 바이오마커 탐색 방법을 요약하여 보여주고 있다.

가. Humoral immune marker analysis

- A. **체액성 면역 마커의 종류와 역할:** 체액성 면역 마커는 B세포가 분비하는 항체(면역글로불린)와 항원 제시 후 B세포를 활성화시키는 사이토카인, 그리고 활성화된 B세포를 감지하는 데 사용되는 CD 마커 등을 포함한다. 체액성 면역 마커로 대표적으로 사용되는 마커는 항체와 사이토카인이다. 항체는 B세포에서 분비하는 면역글로불린으로 혈액과 림프에서 발견되며, IgG, IgM, IGA, IgD, IgE의 다섯 가지 유형이 있다. 각 면역글로불린은 다른 생물학적 특징을 가지고 있으며, 다른 항원에 대해서 반응하게 된다. 공통적인 특징으로는 세균이나 바이러스 같은 외부 물질에 맞서 싸우기 위해 만들어지며, 특정 침입 물질과 결합하여 이를 무력화시키고 제거하는 역할을 한다. 반면 사이토카인은 면역 세포와 다양한 다른 세포(예를 들어, 장 표피세포)에서 분비되는 작은 단백질로, 세포 간 신호 전달을 통해 면역 반응 조절, 세포 성장 및 분화, 염증 등에 관여한다. 혈액 샘플에서는 모든 체액성 면역 마커가 분석이 가능하며, 분변 샘플에서는 IgA와 같은 장 점막의 주요 면역글로불린의 배출량을 측정하여, 장내 점막 면역 기능을 평가할 수 있으며, TNF-alpha와 같은 사이토카인은 염증성 장질환(IBD)과 같은 질병의 활성도를 측정하는데 사용될 수 있다. 면역조절 효능을 보유한 생균치료제에 대한 면역원성을 이해하기 위해서는 혈액뿐만 아니라 분변 내에서 면역 마커 분석이 필요하다.

B. **체액성 면역 마커 검출 방법:** 대표적인 체액성 면역 마커를 분석하는 방법은 ELISA 검사가 있다. ELISA 검사는 항체나, 항원 자체의 농도를 측정하는데 사용되는 면역분석법으로, 항원과 항체를 특이적으로 결합하는 원리를 이용하여 특정 물질의 양을 정량화할 수 있다. 하지만 ELISA 분석 시, 샘플 소모량이 많아 다양한 면역 마커를 정량화하기 적절하지 않다. 최근 Luminex기술과 같은 멀티플렉스 플랫폼 개발로, 단일 샘플에서 동시에 10가지 이상의 마커를 프로파일링 할 수 있다. 특히 해당 기술은 다양한 사이토카인을 동시에 분석하는데 적절하다.

나. Inflammatory marker analysis

A. **염증성 면역 마커의 종류와 역할:** 염증성 면역 마커는 신체 내 염증 정도를 나타내는 지표로, 사이토카인과 같은 면역 단백질 일부 및 염증 과정에서 방출되는 세포 분비 단백질 등이 있다. 이 중 염증이거나 감염에 반응하여 방출되는 세포 분비 단백질은 간이나 백혈구 특히 호중구에 의해 생성되는 단백질로, 염증을 조기에 감지하고, 심각도를 평가하는데 유용한 면역 마커이다. 간에서 분비되는 염증 마커로는 혈청 아밀로이드 A(Serum amyloid A, SAA), 고감도 C-반응단백(high sensitivity C-reactive protein, hs-CRP)이 대표적이며, 각각 류마티스관절염과 심장질환 혹은 면역관문억제제의 반응성을 모니터링할 때 사용된다. 칼프로텍틴(Calprotectin)이나 락토페린(Lactoferrin)은 대표적인 분변이나 혈액에서 측정되는 염증성 면역 마커로, 호중구에 의해 생성되는 단백질이다. 대장 염증에 의한 염증성 장질환(IBD)이나 장 감염의 진단 및 경과 모니터링에서 사용된다. 세포 분비 단백질은 아니지만 적혈구 침강 속도(Erythrocyte sedimentation rate test)는 혈액에서 흔히 쓰이는 전신 염증성 면역 마커로, 염증이 있으면 혈장 내 급성기 단백질인 피브리노겐과 글로불린이 증가하여 적혈구가 서로 응집하여 빨리 침강하는 현상을 통해 염증 정도를 파악할 수 있다. 이 외에도 MPO, PMN-elastase와 같은 호중기 유래 효소가 염증성 면역 마커로 알려져 있다.

B. **염증성 면역 마커 검출 방법:** 단백질 기반의 염증성 마커의 경우, 사이토카인과 마찬가지로 ELISA를 통해 검출 및 정량하는 것이 가장 표준적이다. 최근 고감도 자동화 장비에서 흔히 사용되는 EIA, CLIA, Nephelometry/Turbidimetry 또한 면역화학적 방법을 통해 염증성 면역 마커를 검출할 수 있다. 반면 ESR은 다른 염증성 면역 마커처럼 ELISA나 면역화학적 방법으로 측정하지 않고, 혈액학적 검사법으로 WHO나 ICSH에서 권장하는 Westergren 방법이나, 광학적 센서나 적외선 방식기반 자동화 장비로 직접 적혈구가 가라앉는 속도를 측정한다.

다. Cellular immune marker analysis

A. **세포성 면역 마커의 종류와 역할:** 세포성 면역 마커란, 면역세포 자체의 수, 분포, 활성화 상태, 표면 단백질(수용체, 분화 항원) 등을 지표로 삼는 마커를 말한다. 면역세포는 크게 림프구(lymphocyte)와 골수계 세포(myeloid cell) 두 가지 계통으로 나눌 수 있다. T세포, B세포, NK 세포는 림프구 계열로, 적응면역(adaptive immunity)의 핵심 역할을 하며, 항원 특이적 반응을 담당한다. 반면 골수계 세포로는 호중구(Neutrophil), 단핵구/대식세포(Monocyte/macrophage), 수지상세포(Dendritic cell) 등이 있으며, 선천면역(innate immunity)의 핵심 역할을 하며, 빠르고 비특이적인 면역 반응을 담당한다. 각 세포들은 특이적인 세포표면 단백질을 발현하는데, CD3는 대표적인 T세포 공통 표지자이며, CD19, CD20은 전형적인 B세포 표지자로 알려져 있다. 활성화 혹은 억제 상태를 반영하는 마커는 조절 T세포(Treg) 표지자인 CD25, 최근 면역관문억제제의 타겟으로 잘 알려진 PD-1, CTLA-4가 있으며, 기능적 지표로는 T세포의 아형 비율인 CD4/CD8로 면역 균형 상태를 파악하고, 면역 반응력을 측정하는 방법으로 세포 증식 반응(T cell proliferation assay) 등이 있다. 따라서 세포성 면역 마커는 면역세포 수를 통한 전반적인 면역 상태와 어떠한 면역세포가 얼마나 활성화되었고, 어떤 방향성(활성 혹은 억제)으로 작동 중인지 확인하는 것이다.

B. **세포성 면역 마커 검출 방법:** 면역세포의 수치적 지표를 확인하는 방법으로는 전혈구계산(Complete blood count, CBC)이 있으며, 각 면역세포의 크기를 기준으로 적혈구, 백혈구, 혈소판을 구분하는 방식이다. 이는 세포성 면역 상태를 반영하는 기초적인 방법이지만 면역학적 의미의 세포성 면역 마커 분석이라기보다는 선별 검사 성격이 강하다고 볼 수 있다. 따라서 대표적인 세포성 면역 마커 분석 방법은 세포에 형광 표지된 항체를 붙여서 CD 마커(예를 들어, CD3, CD4, CD9, CD19, CD56등) 발현 정도를 측정하는 유세포분석법 (Flow cytometry)이 대표적이며, 특정 면역세포 침윤 정도(예를 들어, 종양조직 내 CD8+ T세포 수)를 평가하기 위해서 immunohistochemistry(IHC)를 활용하기도 한다. 세포 기능적 마커를 검출하기 위해서는 세포 증식 검사, 사이토카인 분비 측정, 세포독성 측정하는 방법을 사용한다. 최근 좀 더 세분화된 면역세포의 분화도를 파악하기 위해서 전사인자(예를 들어, FoxP3, T-bet, GATA3 등) 및 분화 관련 유전자 발현 프로파일링을 통해 면역 세포 subset 활성 상태를 분석할 수 있다.

3. 참고문헌

- 1) 식약처. 생균치료제의 임상시험 시 품질·비임상 평가 가이드라인 (민원인 안내서). 2023.08. Available from: https://www.mfds.go.kr/brd/m_1060/view.do?seq=15331&srchFr=&srchTo=&srchWord=&srchTp=&itm_seq_1=0&itm_seq_2=0&multi_itm_seq=0&company_cd=&company_nm=&page=13
- 2) Danping Zheng, Timur Liwinshi and Eran Elinav. "Interaction between microbiota and immunity in health and disease." Cell Resaerch 30.6 (2020): 492-506. doi: 10.1038/s41422-020-0332-7
- 3) Alberto Mantovani and Cecilia Garlanda. "Humoral Innate Immunity and Acute-Phase Proteins." NEJM 388.5 (2023): 439-452. doi:

10.1056/NEJMra2206346.

- 4) Alain Menzel et al. "Common and Novel Markers for Measuring Inflammation and Oxidative Stress Ex Vivo in Research and Clinical Practice—Which to Use Regarding Disease Outcomes? " *Antioxidants* 10.3 (2021): 414. doi: 10.3390/antiox10030414.
- 5) Alex D. Waldman, Jill M. Fritz and Michael J. Lenardo. "A guide to cancer immunotherapy: from T cell basic science to clinical practice." *Nature Reviews Immunology* 20.11 (2020): 651-668. doi: 10.1038/s41577-020-0306-5.



발행기관 (주) 지놈앤컴퍼니
발행일 2025년 09월 23일
발행인 김혜림
편집위원장 민창기
편집위원 한승훈, 박성수, 김혜림
감수위원 분과위원회 위원 중 검토 의견서를 제출한 위원(희망자에 한함)

문의처 (우편번호) 서울특별시 마포구 마포대로 137 KPX빌딩 6층
전화번호 : 02-398-5082
이메일 : scrc@konect.or.kr

본 지침서/안내서는 보건복지부의 재원으로 국가임상시험지원재단 스마트임상시험신기술개발연구사업단의 지원을 받아 수행한 「첨단 바이오 분야 초기 임상시험 관련 기술 개발」(과제고유번호: RS-2023-KH141565)의 결과물로 제작되었음을 밝힙니다.