

뇌졸중 신약 후보물질의 비임상 유효성 평가를 위한 바이오이미징 활용 현황 및 기준안

2018.10

제작: 서울아산병원 영상의학과/
식품의약품안전평가원/

국문표기: 본 보고서는 정부 (식품의약품안전처, 18182임상평402)의 용역연구개발사업의 지원을 받아 수행된 연구임.

영문표기: This work was supported by the grant of Ministry of Food and Drug Safety (18182MFDS402).

요 약

본 지침서는 바이오이미징을 활용하여 뇌혈관 질환 신약 후보물질들의 유효성 평가가 효율적이고 신뢰성 있게 이루어질 수 있게끔 하는 것을 목적으로 한다. 신약 개발 과정에서의 바이오이미징을 활용하는 국·내외적 최근 동향을 살펴보고 뇌혈관 질환(뇌졸중)의 임상/비임상에 활용되는 신약 후보 물질마커들을 소개하였다. 특히 뇌혈관 질환관련 치료후보물질을 평가하는 데 있어서 높은 재현성과 신뢰성 있는 비임상결과를 얻을 수 있도록 동물 모델 제작과정에서의 가이드라인을 제시하였고, 제작된 동물 모델에서 바이오이미징의 활용 및 분석에서의 유의사항들을 열거하였다. 국·내외적으로 동물 모델을 이용한 뇌혈관 질환 신약개발에 바이오이미징의 활용이 점차 활성화될 것으로 전망됨에 따라, 본 지침서가 주요 참고 자료로 활용되기를 기대한다.

목 차

< 요약 >

1. 뇌졸중 약물 유효성 평가를 위한 바이오이미징 기술의 소개
및 필요성 1
2. 뇌졸중 비임상 동물 모델 선택 기준 6
3. 뇌졸중 영상 바이오마커 활용 및 선택 시 유의 사항 14
4. 뇌졸중 약물 유효성 평가를 위한 바이오이미징 기술의 역할
및 전망 23
5. 참고문헌 25
6. Abbreviations 28

1. 뇌졸중 약물 유효성 평가를 위한 바이오이미징 기술의 소개 및 필요성

가. 뇌혈관 질환 치료를 위한 신경 보호제 개발 현황

- (1) 뇌혈관 질환 치료를 위한 재관류 유도술은 약물이나 시술에 따른 부작용에 의해 적용 범위 한계가 존재한다. 이러한 한계 극복을 위해 치료 후에도 뇌기능이 어느정도 보호되도록 신경 보호 약물의 필요성이 끊임없이 요구되어 왔다.
- (2) 신경 보호 약물 치료제의 종류: calcium channel blocker, calcium chelator, free radical scavenger, GABA agonist, glutamate antagonist 등이 있었고, 비록 획기적인 치료제 개발이 이루어지고 있지는 못한 실정이나 연구 단계의 SCI 논문 및 임상 시험의 수는 지속적으로 증가하고 있다.

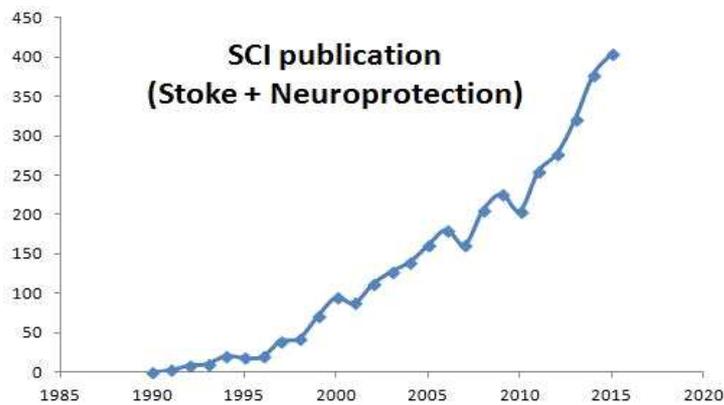


그림 1. 급성뇌경색 환자에서 기존의 재관류 유도 치료의 한계극복을 위한 Neuroprotective 치료 기술 개발 관련 SCI 논문 수가 기하급수적으로 증가함 (출처, pubmed; 검색어, stroke + neuroprotection).

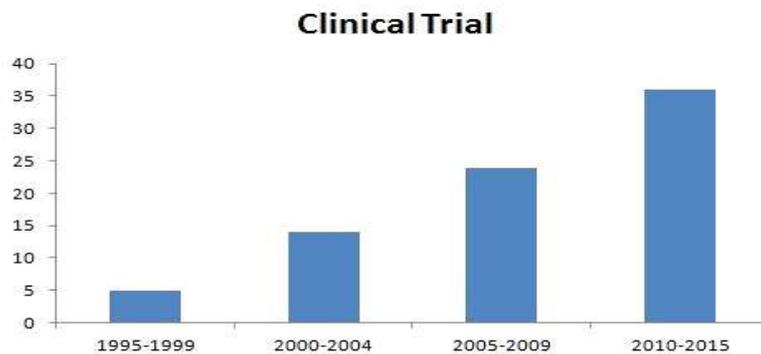


그림 2. Neuroprotective 치료제의 clinical trial 수가 급속히 증가함 (출처, pubmed; 검색어, stroke + neuroprotection + clinical trial).

나. 뇌혈관 질환의 임상/비임상 바이오이미징 관련 연구 현황

- (1) 해외에서는 뇌혈관 질환 진단/연구를 위하여 Stroke Treatment Academy Industry Roundtable(STAIR)의 주관아래 STIR(Stroke imaging research) 그룹이 조직되어 뇌혈관 질환에 대한 바이오이미징에 대한 임상/비임상 진단 표준을 제시하고 있다.



그림 3. Stroke Therapy Academic Industry Roundtable (STAIR): 뇌경색 관련 R&D의 성공확률, 효율성, 소요 시간의 최적화를 위한 협력연구 및 가이드라인의 제작을 목표로 하고 있음.

- (2) 바이오이미징 활용 뇌졸중 관련 임상 연구

(가) Stroke 관련 임상 연구는 상당 부분 여러 영상 기법들(CT, MRI, PET 등)에 의존하여 진행되어 왔으며, 관련 신약의 임상 단계에서 역시 진단 영상을 통하여 그 유효성 판단을 하고 있다. 그 예들로 MR CLEAN (Multicenter Randomized Clinical Trial of Endovascular Treatment for Acute Ischemic Stroke in the Netherlands), EXTEND-IA (Extending the time for Thrombolysis in Emergency Neurological Deficits-Intra-Arterial), ESCAPE (Endovascular Treatment for Small Core and Proximal Occlusion Ischemic Stroke), SWIFT PRIME (Solitaire With the Intention for Thrombectomy as Primary Endovascular Treatment), REVASCAT (Randomized Trial of Revascularization With Solitaire FR Device Versus Best Medical Therapy in the Treatment of Acute Stroke Due to Anterior Circulation Large Vessel Occlusion Presenting Within 8 Hours of Symptoms Onset), THERAPY (Assess the Penumbra System in the Treatment of Acute Stroke) 등 수많은 임상 연구가 진행되었으며, 이들을 통해 바이오이미징 활용 기준을 지속적으로 보완·발전시켜 나가고 있다.

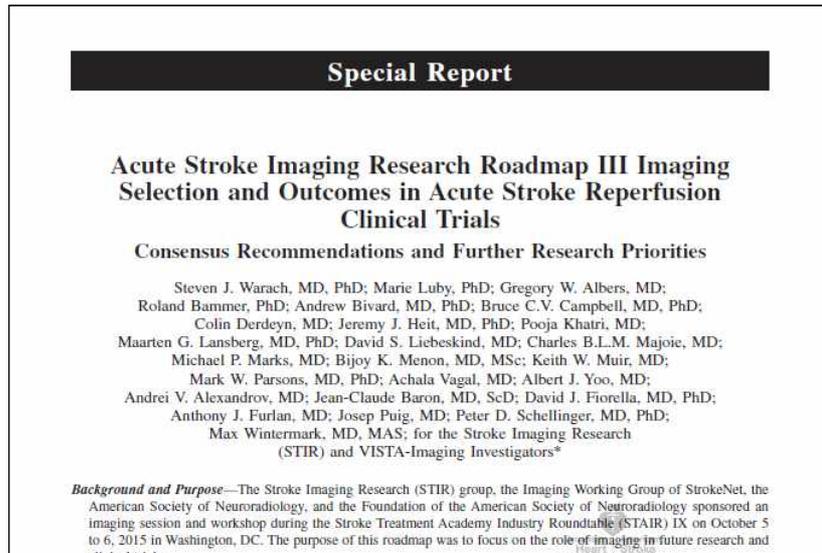


그림 4. STIR에서는 다양한 임상 연구 프로젝트를 수행하여 뇌혈관 질환 진단 영상에 대한 지침을 지속적으로 보완 발전시키고 있음.

(나) 뇌혈관 질환에 대한 이미징 연구들로 확보한 자료들은 신약개발에 활용됨은 물론이거니와 비 임상시험에서도 중요한 참고 자료로 활용되고 있다.

(3) 바이오이미징 활용 뇌졸중 관련 비 임상 연구

(가) 뇌졸중의 비 임상 연구는 다른 여타 질환들과 마찬가지로 in vitro 또는 in vivo 실험을 통해서 진행되고 있다. in vitro 에서는 주로 신약 후보물질의 생화학물질 특성, 독성 혹은 효능 연구가 이루어지고 있고, 세포 실험 측면에서는 뇌졸중 발병 기전에 대한 연구들이 이루어지고 있다. 동물 모델 실험 측면에서 신약 후보물질의 유효성에 대한 것은 사실상 설치류 모델을 이용한 실험으로 많이 이루어지고 있는데, 뇌 중심부에 허혈이 유발된 모델들이 이미 여러 종에서 확립되어 왔으며 일반적으로 랫드와 마우스를 이용하여 실험을 하고 있다(약물 개발 가이드라인은 먼저 설치류에서 효능을 확립한 후 개, 비인간 영장류로 점차 확대하는 것으로 권고하고 있음).

(나) 뇌혈관 질환의 MRI를 이용한 바이오이미징 실험은 뇌혈관 질환을 지닌 동물의 뇌 병변 부위의 시간별 변화를 측정하여 유효성 평가를 하고 있으며, 실험 종료 시점에서는 TTC(triphenyltetrazolium chloride) 염색이나 여러 바이오 마커들에 대한 조직 염색 등을 통하여 약의 효능을 확인하는 방식으로 이루어지고 있다.

(다) 바이오이미징을 활용한 뇌졸중 연구는 대뇌동맥의 영구적 또는 일시적으로 폐색으로 뇌졸중을 유발한 후 약을 투여하고 뇌동맥의 cerebral blood flow의 측정하여 뇌동맥 혈류의 회복됨을 평가하거나, 뇌의 전반부와 중심부에 손상을 입은 질환 부위의 병변의 변화(penumbra의 변화) 등을 관찰하는 것을 위주로 한다.

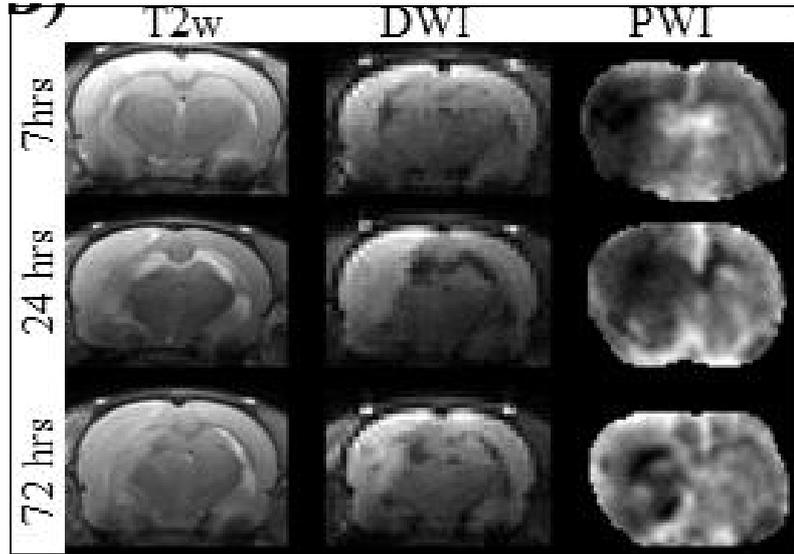


그림 5 MRI를 이용하여 시간에 따른 (7, 24, 72 시간) 영상바이오마커들 (T2w, DWI, PWI) 에 의한 영상 변화.

(라) 그러나 바이오이미징을 활용한 뇌졸중 연구는 고가 장비의 활용에 따른 비용 부담의 문제, 바이오이미징을 정확하게 활용하기 위한 실험동물 모델 선택의 문제, 유효성 평가 지표와 가이드라인의 부재 등의 문제로 인하여 실제 신약 후보물질 개발을 위해 반드시 필요하다는 인식이 국내에서는 아직 많이 부족한 실정이다.

다. 뇌혈관 질환 신약개발에서의 비 임상 바이오이미징 연구의 필요성

(1) 아래는 STAIR 보고서에 언급된 비 임상 시험의 문제와 그에 대한 대책의 논의 사항들이다.

- (가) 동물모델의 부적격성: 대부분의 뇌경색 환자가 고령이고, 고혈압/당뇨/고지질증 등의 기저 질환이 있는데 반해, 비임상시험에서는 젊고 건강한 설치류를 인위적으로 질환 모델로 만든 후 뇌경색 치료효과를 평가함.
- (나) Dose-response 결과의 부재: 임상에서의 치료 약제 투여량을 결정하는 비임상시험을 통한 dose-response 자료의 부재로 적절한 양이 투여되지 않을 가능성이 높음.
- (다) Therapeutic window: 뇌경색증상 발현 시간에 따른 치료제 효능의 다양성이 있음에도, 동물실험에서는 혈관 폐색 초기에 재관류와 신경 보호 치료제 투여를 시도해, 임상적 현실과 동떨어짐.
- (라) Physiological monitoring: 뇌경색-관류여부의 정확한 모니터링이 필요함.
- (마) Reproducibility: 동물실험 결과의 재현성 제시가 필요함.

(2) STAIR 보고서에 나타난 사항들 중 therapeutic window의 설정, physiological monitoring 부분에서 제기된 문제들은 바이오이미징이 아닌 다른 실험 기법들로 해결이 쉽지 않다. 결국 STIR는 위의 6개 항목 중 적어도 2개 부문에 걸친 문제를 바이오이미징이 해결할 수 있다고 판단하는 것이다.

- (가) STAIR는 이와 관련하여 최적화된 치료 효능 평가 기술의 도입을 권고하고 있다. Therapeutic window: Multiple endpoint 측정의 중요성 - 치료제 투여 직후, 중기, 지연기 - 에서의 치료 효능 평가가 필요한데 이는 장기간 추적 관찰이 가능한 바이오이미징을 활용하여 해결할 수 있다. Physiological monitoring: 역시 마찬가지로 바이오이미징은 실험동물을 관찰하는데 있어 비 침습성이라는 장점이 있기 때문에 뇌경색-관류의 physiological monitoring이 실시간으로 가능하다고 할 수 있다.

2. 뇌졸중 비 임상 동물 모델 선택 기준

가. 뇌혈관 질환 실험 동물 모델 선택의 기준

- (1) 현재 광범위한 설치류 국소 뇌 허혈 모델이 비임상 약물 개발에 이용 가능하다. 그리고 가장 적절한 모델의 선택은 연구 중인 약물의 종류와 인지된 작용 기전에 따라 달라진다. 예를 들어, 색전증 모델은 새로운 혈전 용해제를, 일시적 국소 허혈의 모델은 free radical scavengers 및 항염증제를, 최초의 glutamate antagonist는 영구적 국소 허혈 모델에서 연구하였다. 그러나 인간 뇌졸중의 이질성을 감안할 때, 약물은 임상 시험으로의 번역을 위해 고려되기 전에 다른 모델 및 종의 범위에서 비임상 효능을 입증해야 한다는 점을 고려해야 한다.

나. 뇌혈관 질환 동물 모델 생성 방법

- (1) 중대뇌동맥 폐색(MCAO; Middle cerebral artery occlusion)

(가) 중간 대뇌 동맥(MCA; Middle cerebral artery)은 인간의 폐색/허혈성 뇌졸중에서 가장 흔히 영향을 받는 혈관이며, 설치류 뇌졸중 모델에서 가장 일반적으로 폐색 대상이 되는 동맥이다. 특히 MCAO 모델의 경우 cerebral blood flow의 회복 정도를 파악하는 관류 영상 실험 기법이 매우 잘 적용될 수 있기에 바이오이미징이 적용될 수 있는 좋은 뇌혈관 질환 동물 모델이라고 할 수 있다. MCAO(Middle cerebral artery occlusion) 모델을 여러 방법으로 생성하는데, 각 모델링 방법의 장단점은 아래와 같다. (표1 참조)

표 1. 상이한 국소성 허혈 모델의 장점 및 단점

허혈 모델	장점	단점
전기응집에 의해 영구적으로 폐색된 MCA	- 달성 가능한 결과 측정에서 우수한 재현성. 교합 부위의 색선에 의해 시각적으로 MCAO가 성공했음을 확인 가능함. 24-48h가 최대가 됨. 낮은 사망률.	- 기술적으로 까다로운 두개골 절제술 필요. - 트랜스에 적합하지 않은 모델

<p>intraluminal filament에 의해 폐색된 MCA</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 비교적 쉽고 높은 재현성이 있음. - 영구적인 뇌경색 유도에 적합함. - 두개골을 보존하면서 수술적인 방법을 통한 모델링 방법 	<ul style="list-style-type: none"> - MCAO의 정도를 확인할 수 없음. 동물 개체적인 특성 (혈관크기 등)과 필라멘트 크기등에 따라서 재현성에 영향을 미침. - 필라멘트 형태에 따라 뇌출혈의 가능성이 존재 - 혈액응고에 의한 뇌경색에 대한 연구에 부적합하며 뇌경색 후 24시간 이상에서 생존율이 크게 낮아짐.
<p>endothelin-1 에 의해 폐색된 MCA (국소 또는 intraparenchymal)</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 높은 재현성을 지님. - MCAO 부위를 직접 확인하여 제작가능 - 실질적인 뇌내에 뇌경색을 유발됨. 	<ul style="list-style-type: none"> - endothelin-1 의 점성도등에 따라서 뇌경색 동물모델의 중증정도를 제어하기 힘들. - 혈액응고에 의한 뇌경색에 대한 연구에 부적합
<p>클립과 같은 기계적인 방법을 통한 MCA 폐색</p>	<ul style="list-style-type: none"> - MCAO정도를 직접 확인할 수 있음. - 영구적인 뇌경색 모델 제작에 적합함. 	<ul style="list-style-type: none"> - 두개골을 직접 열어 수술해야하므로 상당한 기술적인 숙련도를 요구함.
<p>자가 이식된 응고혈액에 의하여 MCA 폐색</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 임상 상황에 가장 비슷한 동물 모델 - 응고혈액에 의한 뇌경색연구에 적합 	<ul style="list-style-type: none"> - 다른 모델링방법보다 재현성이 떨어짐. - 뇌경색의 위치와 그 중증정도를 조절하기 힘들 - 부서진 응고혈액에 의하여 의도하지 않은 뇌경색이 유도될 수 있음.
<p>외부에서 주입된 응고혈액에 의한 MCA 폐색</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 뇌피질등의 뇌경색 유발에 적합하고 재현성이 높음. - 뇌경색 위치 및 중증등을 확인가능함. - 혈액응고에 의한 뇌경색연구에 적합함 - 자가 이식에 의한 방법에 비하여 생존율이 떨어짐. 	<ul style="list-style-type: none"> - 두개골 절개가 필요함. - 부서진 응고혈액에 의하여 의도하지 않은 뇌경색이 유도될 수 있음.
<p>광화학적인 방법에 의한 뇌경색</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 대뇌피질등의 뇌경색 유발에 적합하고 재현성이 높음. - 두개골 절개 후에 혈관내에 혈액 응고를 유발시킴 - 응고혈액에 의한 뇌경색연구에 적합 	<ul style="list-style-type: none"> - 광화학적인 방법에 의하여 혈관 손상을 가져올 수 있으며 이로 인하여 임상상황과는 다른 뇌경색 진행을 보일 수 있음.

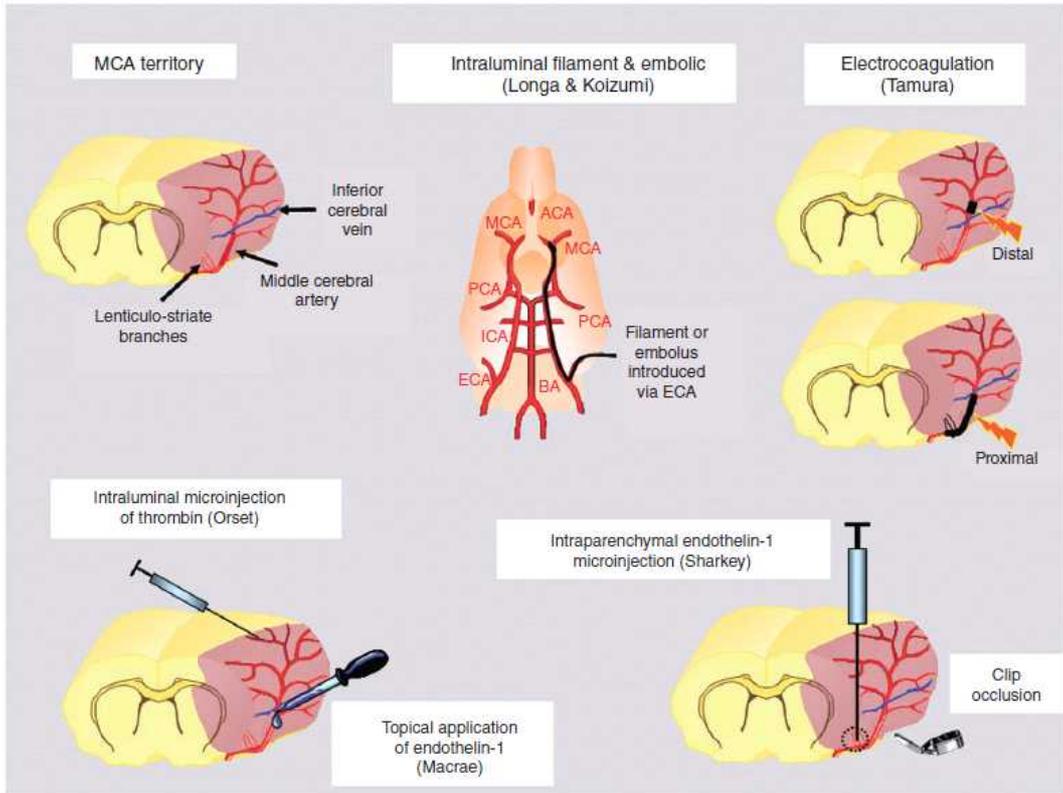


그림 6. 수술 및 제작 방법에 따른 뇌혈관 질환 동물 모델의 종류

① 전기 응고 또는 폐색 장치의 적용에 의한 MCA 폐색 모델

이 카테고리의 모든 모델은 MCA를 노출시키기 위해 뇌경막 절제술과 경막의 단면을 필요로 하는데 두개골 절제술을 필요로 하는 모델은 사망률이 낮거나 없거나 관련이 있다. 그 이유는 두개 절제술은 허혈을 유발하여 두개 내압의 증가를 유발하기 때문이다. 이것은 특히 큰 뇌졸중이 며칠 동안 진행되어 연구되는 경우 중요한 이점이 될 수 있다. 부종과 뇌의 부종은 경색 크기와 관련이 있으며, 24-48 h의 뇌졸중 후 큰 MCA 뇌졸중과 관련된 뇌량의 증가는 두개골이 손상되지 않은 경우 심각한 사망률을 초래한다. 외과적 노출 후, MCA는 미세한 지혈제 포셉의 팁을 통과하는 전류를 사용하여 혈액을 응고시킴으로써 영구적으로 폐쇄하고 동맥 폐색 부위를 절단하여 완전한 폐색을 확인한다. 모델은 고양이, 소형 돼지와 같은 큰 종에서 진행하였을 때 성공적이었으며 상처의 무균 상태와 주의 깊은 뇌졸중 치료를 유지하는 것이 허혈 손상을 증가시키고 수술과 관련된 감염을 피하기 위해 특히 중요하다.

② Intraluminal filament에 의한 MCA 폐색 모델

Intraluminal 필라멘트(또는 봉합사) 방법은 현재 랫드 및 마우스에서 국소

허혈의 가장 널리 사용되는 모델이며 영구 및 일시적 허혈을 유도하는 데 사용된다. 유연한 모노 필라멘트인 폐색 장치가 내 경동맥에 직접 도입 또는 외경동맥을 통해 도입되는데 MCA의 기원을 차단할 때까지 전두 절제술을 시행할 필요가 없다. 이 모델의 장점은 ischaemia의 기간과 craniectomy 모델보다 숙달하기가 기술적으로 더 쉬운 부분에 있다. 단점은 주로 재현성 및 사망률의 어려움과 관련이 있고 재현성을 개선하기 위한 수정에는 필라멘트 구조, 코팅 및 팁 디자인이 포함되며 최근 검토에서 다루어지고 있다. 필라멘트 지름은 설치류에서 정의된 체중 범위와 조심스럽게 일치하여 MCA의 기원을 적절히 차단하는 경향이 있다.

③ Embolic MCA 폐색 모델

Embolic 모델은 두 가지 주요 범주로 나눌 수 있다: (i) 혈전 또는 인공 색전증의 도입으로 유발된 색전술; (ii) 국소화된 화학적으로 개시된 혈전 색전증.

동물로부터 추출된 혈액을 특정 크기 및 조성물의 생체 외(ex vivo)에서 (예를 들어 24 시간 후에) 내부 경동맥을 따라 삽입된 캐놀라를 통해 혈관 내로 도입함(intraluminal filament 삽입과 유사). Embolic 모델의 장점은 임상 관련성을 포함, 필요한 수술이 간단하고 두개골절제가 필요하지 않다. 또한 혈전이 제 위치에 정확하게 위치할 때 대뇌피질 및 하부 구조를 포함하는 큰 경색이 유발될 수 있으며 행동적 결손을 유발할 수 있다. 혈전은 rt-PA와 같은 혈전 용해제 투여를 통해 막혀있던 부분을 뚫어줌으로 재관류를 유도할 수 있다. 여기서 전임상 관련 문헌의 메타 분석 자료에서는 임상 문헌과 유사점을 보여주는데, 설치류에서 뇌졸중 발생 후 3-4시간 내에 rt-PA가 투여되면 경색량이 감소하는 것을 알 수 있었다. 뇌졸중 2-4시간 내에 투여된 rt-PA(10mg/kg)는 설치류에서 혈전 용해 및 재관류에 용이하여 경색 크기와 신경학적 결손을 감소시키고 생존률을 높였다. 그럼에도 불구하고 엠볼릭 모델의 사망률은 일반적으로 다른 모델보다 높은 것이 단점이다(랫드의 경우 약 30%).

다. 전임상 뇌졸중 연구의 일반적인 지침 사항

- (1) 연구 수행 전 전체적인 실험 디자인이 최적화 되어있는지 STAIR 최신 기준을 확인할 필요가 있다. 특히, 연구를 수행하기 전 최신 버전의 STAIR 기준을 재검토 하는 것이 바람직하다. 실험 디자인에 관련된 정보를 습득하고 유의할 부분을 검토하면 실험

디자인을 개선하는데 도움이 된다.

(2) 연구에 적합한 뇌졸중 모델 선정

(가) 뇌졸중 모델은 크게 국소 뇌 허혈과 전뇌 허혈로 나눌 수 있음. 전뇌 허혈의 경우 심정지 또는 심한 전신 저혈압 후 뇌 허혈의 임상적 상태를 모방하며 국소 뇌 허혈은 일반적인 뇌졸중의 하위 유형으로, 가장 많이 사용되는 국소 허혈 모델은 Intraluminal filament 모델과 Tamura 모델이다.

(나) 모델 선택의 기준: 설치류의 국소 뇌 허혈 모델은 비임상 약물 개발에 이용 가능하며 가장 적절한 모델의 선택은 연구 중인 약물의 종류와 인지된 작용 기전에 따라 달라질 수 있다.

(3) 예상되는 경색의 크기 및 수술 절차와 같은 매개변수 결정

(가) 허혈성 경색의 변화는 경색 크기 측정에 영향을 줄 수 있는 다양한 시공간적 병리학적 과정을 포함하는데 자연적인 시간 흐름에 따른 경색의 변화 연구는 초기와 후기 시점에 따라 경색 크기에 차이가 있다.

(나) 뇌부종의 경우 급성 뇌졸중 2~3일 후에 더 심해지는데 부종은 뇌 조직의 부피와 직접 측정된 경색 부피를 현저하게 증가시킬 수 있다. 반면에 경색이 1주일동안 진행되면 부종, 조직 손실 등의 이유로 수축이 일어난다.

(다) 따라서 서로 다른 타임 포인트에서 경색 양을 비교할 때 뇌부종 및 경색 수축을 조정해야 하고 이러한 상황에서는 부종이나 수축에 대한 교정된 경색량이 더 적합하다.

(4) 마취제 사용 결정

(가) 일반적으로 사용되는 마취제는 뇌의 허혈성 상해에 대한 신경 보호 효과를 가지고 있다. 흔히 사용되는 마취제에는 isoflurane, seboflurane, desflurane, halothane, xenon, propofol, ketamine, lidocaine 등이다.

(5) 흡입 가스의 성분 결정

(가) 호흡 가스의 성분 및 농도는 기도 확보 시 정상 범위 내에서 동맥혈 가스를 유지하는데 필수적이다. 산소와 아산화질소는 전통적으로 설치류 뇌졸중 모델에서 30%:70%(O₂:N₂O)의 혼합물로 사용된다.

- (나) 산소농도 및 호흡기 공기 내의 압력은 저산소증과 고산소증을 피하기 위해 안정적인 수준으로 제어되어야 하난. 따라서 30%:70%(O₂:N₂)의 혼합물을 인공호흡기 테스트에 사용하고 인공호흡기 매개 변수를 개별적으로 조정할 수 있다. 그러나 N₂를 N₂O로 대체하면 유도 및 회복 시간이 느려질 수 있다.
- (다) 마취에 의해 호흡 기능이 억제될 수 있기 때문에 혈액 가스를 정상 범위 내로 유지하기 위해서는 기관 내 삽관 및 인공호흡이 필요할 수 있다.

(6) 삽관 및 인공호흡의 필요성과 설정 결정

- (가) 수술이 (1시간 이상) 오래 지속되고 허혈이 뇌 기능에 영향을 줄 때 삽관이 필요할 수 있다. 30%:70%(O₂:N₂ 또는 N₂O)의 혼합물을 비임상 뇌졸중 연구에 이용하고 인공호흡기 매개 변수(1회 호흡량, 기도 압력, 호흡 속도, 흡기/호흡 시간 등)에 따라 조정이 결합된다.
- (나) 인공호흡의 중요성은 호흡 기능에 대한 수술 또는 마취 과정에서 예상되는 영향에 의해 결정되어야 한다. 위의 과정에서 일어날 수 있는 호흡 기능 장애로 인한 혼란은 기계를 통한 인공호흡 장치를 사용하여 최소화 할 수 있다. 삽관 절차 자체와 인공호흡 과정의 제어는 기술적인 부분이 요구되며 숙련된 상태에서도 조직 손상을 유발할 수 있다. 따라서 실험 결과 호흡 부전을 일으키지 않은 경우 삽관 및 인공호흡이 필요하지 않을 수도 있다. 특정 MCAO 모델이 호흡 문제를 일으키지 않는 경우에는 불필요하게 사용할 필요는 없다.

(7) 동맥 혈압, 혈액 가스, 혈당에 대한 모니터링 설정

- (가) 혈압 변동이 뇌졸중 결과에 영향을 주기 때문에 실험 중 혈압을 모니터링 해야 한다. 혈압은 비침습적 및 침습적 방법으로 모니터링이 가능한데 최소한의 혈압 변동을 유발하고 신경학적 평가가 필요한 실험에는 비침습적인 방법을, 지속적인 혈압 모니터링이 필요한 실험에는 침습적인 방법을 사용할 필요가 있다.
- (나) 뇌졸중 모델에서 혈압은 마취 깊이와 체온 변화로 인해 변동될 수 있다. 또한 허혈 기간 동안 정상적인 뇌 관류 압력을 유지하고자 시도할 때 전신 반응으로 인해 혈압이 상승할 수 있다. 혈압의 변화는 국소 뇌 혈류 및 뇌졸중 결과에 영향을 미치기 때문에, 혈압의 변동이 예상되는 실험을 수행할 경우 혈압을 모니터링 해야 한다.
- (다) 혈액 샘플링은 동맥혈 가스의 주기적인 측정에 필요하며 측정 빈도는 동물의

- 크기를 기준으로 정해야 한다.
- (라) 뇌 손상이 심한 모델의 경우 허혈 전, 중, 후에 혈당치를 모니터링 해야 한다.
고혈당은 수술 전 동물을 밤새 단식시킴으로서 예방할 수 있고 수술 후에는 동물의 식욕, 음식 섭취량, 체중을 모니터링하고 필요 시 복강 내 주사에 의한 포도당 보충 투여 등의 적절한 주의를 기울여 저혈당을 예방할 수 있다.
- (8) 온도 모니터링 및 유지 설정
- (가) 정상적인 범위 내에서의 동물의 체온 조절은 저체온증, 고열 등을 예방하여 수술, 마취 후 허혈과 예기치 못한 감염 등을 방어하는데 효과적이다.
- (9) 대뇌 영역 별 혈류 모니터링 설정
- (10) 수술 후 관리를 위한 프로토콜 결정
- (11) 경색 크기를 측정하는 방법이나 횡수 결정
- (가) 경색 크기나 변화하는 것을 측정하는 것은 시간이 많이 걸리고 방법에 따라 다르다.
- (나) 조직병리학 염색으로는 H&E(hematoxylin&eosin) 염색이 있으며 뇌 조직 절편에 직접적으로 약물을 가해 정상 부위와 경색 부위를 직접적으로 염색하는 TTC(2,3,5-triphenyltetrazolium chloride) 염색이 있다.
- (12) 기능적 결손 평가를 위한 적절한 검사와 시기 결정
- (가) 뇌졸중 실험 후 기능 평가하는데 있어서 자연적으로 회복되는 경우는 평가에서 고려해야 하는데 그 이유는 같은 그룹 내 개체들을 평가하는 것이 맞으나 6-12시간 후에는 기능 회복이 가속화되기 때문이다.
- (나) 참고로 혈관 폐색 후 2-6시간 사이에 기능 평가를 하는 것이 가장 최적의 결과를 얻을 수 있다.
- (13) 계획한 연구를 파일럿 형태로 수행해보고 이후 연구의 최적화를 위해 설정 및 결정된 사항 조정
- (가) 예비 실험은 본 실험 전에 미리 수행하여 모델링 성공률, 사망률, 결과 변화 및 표본 크기를 제시하며 이를 통해 본 실험에서 세부적인 부분을 미리 수정해야 한다.
- (나) 봉합사의 크기와 코팅 길이, 혈관에 삽입되는 길이 등 실험에 관련된 내용은 문헌을 참고할 수 있으나 이러한 매개 변수가 본인의 실험에 적합하지 않을 수 있다.
따라서 예비 실험을 통하여 이와 같은 매개 변수를 확인해야 한다.

(다) 뇌졸중 모델링의 경우 섬세한 수술 기술을 필요로 한다. 따라서 본 실험에 앞서 미리 기술을 습득하고 능숙해지는데 일정 기간이 필요하며 이 과정을 통해 본 실험에서 불필요한 동물의 희생 등을 줄일 수 있다.

(14) 연구의 ‘우수 실험실 실무(Good Laboratory Practice)’ 표준 준수 여부 평가

(가) 전임상 뇌졸중 임상 시험의 시행은 실험적 편향을 최소화 할 수 있도록 높은 기준으로 수행되어야 함. 일부 저널은 전임상 시험을 출판하기 위한 “우수 실험실 실무(Good Laboratory Practice)” 표준을 설정했으며 표준을 충족하는 연구만이 저널에 게시 될 수 있다.

(나) 전임상 뇌졸중 시험은 최소한 다음 항목을 포함하는 명확한 방법론으로 수행되어야 한다.

- ① 사용 된 동물에 대한 자세한 정보
- ② 표본 크기 계산
- ③ 포함 및 제외 기준
- ④ 무작위
- ⑤ 할당 은닉
- ⑥ 분석에서 제외된 동물의 보고
- ⑦ 블라인드 평가
- ⑧ 잠재적인 이해충돌 및 연구 자금 지원 보고

3. 뇌졸중 영상 바이오마커 활용 및 선택 시 유의사항

가. 뇌혈관 질환 신약 개발을 위한 신약 후보 물질마커의 종류

표 2. 비 임상 연구에 사용되는 MRI 신약 후보 물질 마커

MRI technique	Potential use in preclinical stroke research
MR Angiography	Occlusion/patency status of the targeted blood vessel
Perfusion-weighted imaging PWI	Serial CBF maps reveal severity and location of ischaemia, and any spontaneous or induced reperfusion or drug-induced changes in CBF
Diffusion-weighted imaging DWI	Serial DWI and ADC maps reveal acute and evolving brain injury, brain swelling
PWI/DWI mismatch	Serial assessment of penumbra and its incorporation into ischaemic core over time.
Functional MRI (fMRI) combined with a stimulus such as forepaw stimulation	Serial fMRI studies combined with a specific stimulus will reveal ischaemia-induced loss of function in response to the stimulus, any compensatory changes or subsequent return of function
Contrast-enhanced T1-weighted imaging	Blood-brain barrier breakdown
T1, T2 and T2*-weighted imaging	Brain haemorrhage
Diffusion tensor imaging - DTI	White matter damage
T2-weighted imaging	Infarct, brain swelling

* 다양한 MRI 기법들에 의한 영상 바이오마커를 통하여 동물 모델의 뇌병변의 여러 기전에 대한 평가를 할 수 있으며, 이를 통하여 뇌혈관질환 신약의 유효성을 평가할 수 있을 것으로 기대되고 있다.

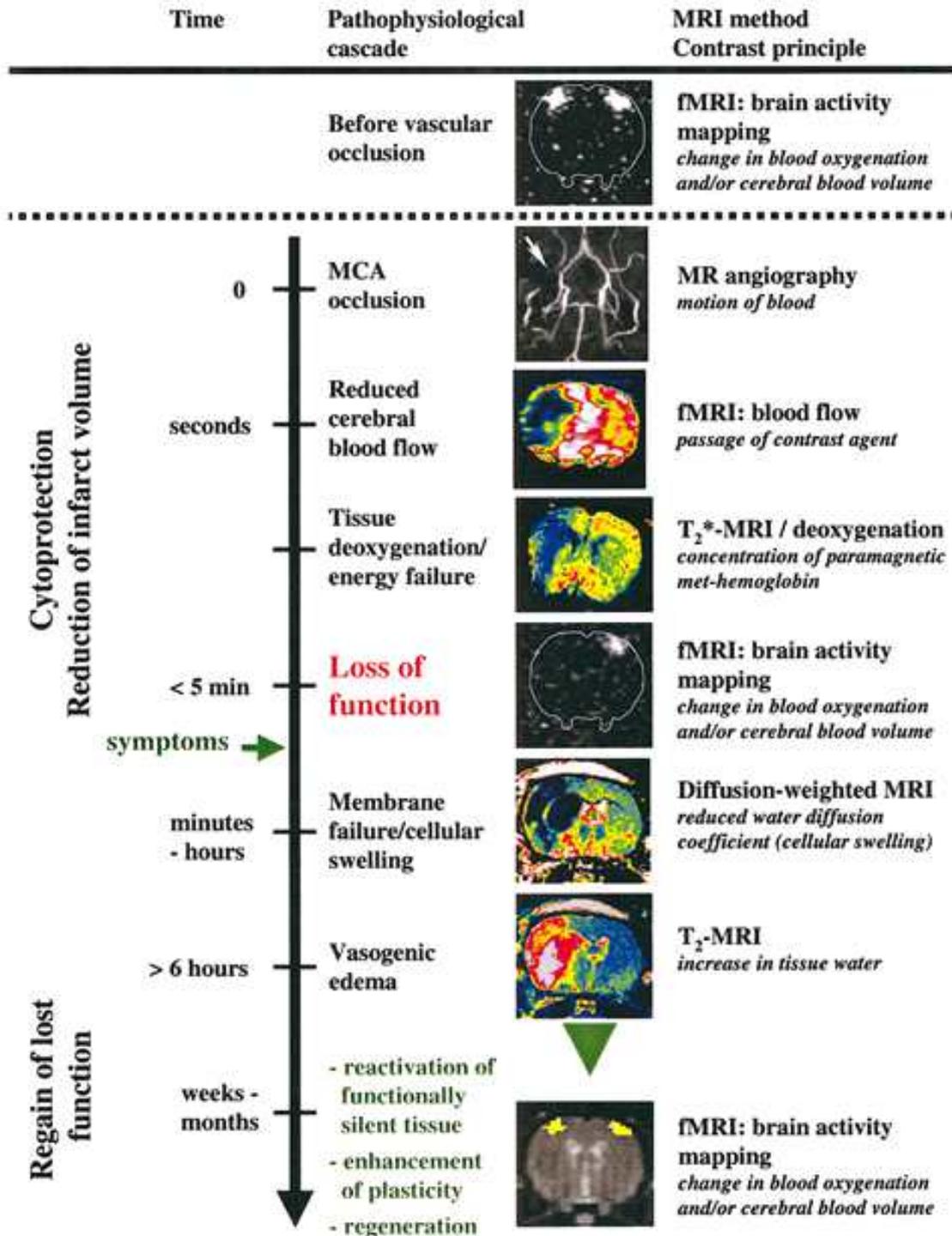


그림 7. Stroke이 일어난 후 MRI 영상바이오마커 획득에 따른 뇌병변의 기능을 확인할 수 있다. (Beckmann N et al. 2001;265:85-100)

나. 뇌혈관 질환 신약개발을 위한 신약 후보 물질마커를 활용의 예

- (1) 지난 30년간 뇌혈관 질환 관련 약물 유효성 평가에 MRI 신약 후보 물질마커를 이용한 동물 시험이 지속되어 왔다. 아래는 그 사례들을 표로 정리한 것이다. (표 4)

표 4. MRI 신약 후보 물질마커를 이용한 뇌혈관 질환 치료약물의 유효성평가 사례

Author	Journal	Year	Model	Drug / Injection	MRI Tech	신약 후보물질마커 이외.
Wang S et al.	Magn Reson Imaging CNS	2017	MCAO	HPI201 / i.p.	T2WI, ADC, DWI	TTC, IHC
Mohammed N et al.	Neurol Disord Drug Targets	2017	hypoxic-ischemic	Cannabidiol	T2WI	
Hamming AM et al.	Stroke	2017	cerebral ischemia after subarachnoid hemorrhage	valproate-KCl / pretreatment	T2WI	Nissl (neural death), survival
Gupta S et al.	Exp Neurol	2017	MCAO	lercanidipine / i.p.	DWI, T2WI	rCBF, TTC, 행동평가, SOD kit다수, caspase-3 Serum
Suda S et al.	Brain Res	2015	Hyperglycemia by STZ	Valproic acid (VPA)	CBF, ADC	glucose level, IHC, 행동평가
Fitzgerald RT et al.	Magn Reson Imaging	2015	pMCAO	DDFPe	DWI	
Durand A et al.	Cereb dis	2014	eMCAO	TAFI	T2WI, DWI, PWL_ASL	CBF
Ferrazzano P et al.	Front Biosci	2011	MCAO	HOE642 exchangerisoforn1	T2, ADC,	TTC, IHC
Chauveau F et al.	Curr Neurovasc Res	2011	MCAO	docosahexaenoic acid (DHA)	MRA, DWI, PWI, T2WI	
Legos JJ	Exp	2008	pMCAO	SB234551	PWI,	TTC

et al.	Neurol					DWI	
Tanaka Y et al	Brain Res	2007	eMCAO	rAN II (recombinant annexin 2) / i.v.		ADC, CBF	H&E
Sood R et al.	J Magn Reson Imaging	2007	MCAO	PG (propylene glycol)		T2WI, DWI, T2map, Ki-map	
Haberg A et al.	Neurochem Int	2007	MCAO	U-101033E		DWI, ADC	NMR, HPLC,
Zhang ZJ et al.	Brain Res	2006	MCAO	baicalin, jasminoidin		ADC	TTC, IHC
Lam TI et al.	Diabetes	2005	streptozotoci n to induce DKA	Bumetanide		ADC	k-flox
Bartnik BL et al.	Exp Neurol J Cereb	2005	MCAO	APTRA-AM		ADC	IHC
Bardutzky J et al.	Blood Flow	2005	MCAO	Dimethyl sulfoxide		ADC, CBF	TTC
Tatlisumak T et al.	Metab Curr Vasc Pharmacol J Cereb	2004	MCAO	r-tPA		DWI, PWI	TTC
Veldhuis WB et al.	Blood Flow Metab	2003	MCAO	Interferon-bet a		DWI, T2WI, CBF	H&E, IHC, WB
Niessen F et al.	Stroke	2003	eMCAO	rtPA		PWI, ADC, T2map	
Niessen F et al.	Stroke	2002	eMCAO	rtPA		PWI, ADC	
Tatlisumak T et al.	J Neurol Sci	2000	MCAO	LOE 908 MS / i.v.		DWI	
Bui JD et al.	Neuroscien ce	1999	N-methyl-D -aspartate excitotoxicit y	MK-801 (dizocilpine maleate)		ADC	
Tatlisumak T et al.	Stroke	1998	MCAO	A-127722		PWI, ADC	
Takano K	Neurology	1998	eMCAO	prourokinase/		DWI,	

et al. Belayev L et al.	Stroke J Cereb	1998	MCAO	i.v. human serum albumin	CBF DWI, ADC	IHC
Zhang Z et al.	Blood Flow Metab J Cereb	1997	eMCAO	rt-PA	DWI, PWI	TTC, CBF, IF
Yenari MA et al.	Blood Flow Metab	1997	eMCAO	rt-PA, hirulog	DWI (ADC), rCBV, BPD	
Gill R et al.	NMR Biomed J Cereb	1996	pMCAO	MK-801	DWI	
Busch E et al.	Blood Flow Metab	1996	MCAO	MK-801	DWI	EEG
Minematsu K et al.	Neurology	1993	pMCAO	CNS 1102	DWI	

- (2) DWI(ADC)는 조직의 물분자의 확산 정도에 따른 신호의 차이를 감지하는 비침습적인 영상 기법이다. MRI 신호를 내는 양성자의 확산 정도는 주변 환경에 따라 달라지는데 세포내-세포외, 신경섬유사이, Cerebrospinal Fluid(CSF)등 조직 상태에 따라 신호의 강도가 달라진다. 이를 영상화한 것을 DWI라 하고 여기에서 ADC를 구할 수 있으며, White matter 방향성에 따른 영상을 구해낼 수 있는데 이를 Diffusion tensor imaging(DTI)이라 한다.
- (3) 뇌졸중이 일어났을 때, 초기에 뇌병변(Infarct)을 영상화할 수 있는 기법으로써 임상에서 널리 쓰이고 있는 방법이다.
- (4) T2w 영상은 양성자의 Spin-Spin relaxation을 최대한 MRI 영상에 반영하는 영상 기법이다. CSF와 같이 free water가 많은 조직에서는 spin-spin relaxation time이 길기 때문에 고신호로 나오지만 white/gray matter에서는 저신호로 나오게 된다.
- (5) 뇌졸중이 일어났을 때, 혈류 공급이 중단됨에 따라서 vasogenic edema가 발생하여 세포내에 free water의 비율이 증가하게 되는데 이때, T2w 영상으로써 그 정도를 파악할 수 있는 것으로 알려져 있다.
- (6) PWI는 조영제를 사용하는 Dynamic susceptibility contrast(DSC)와 Dynamic contrast enhancement(DCE) 기법이 있으며, RF Pulse를 이용하는 Arterial Spin Labeling(ASL)

방법이 있는데, 조직내에 혈액이 잘 순화되고 있는지를 보여주는 영상 기법이다.

- (7) 뇌졸중이 일어났을 때, 혈액이 중단됨에 따라서 뇌병변에서는 신호가 매우 낮게 나오게 되는데 임상에서는 촉박한 시간 안에 영상 획득을 위하여 DSC 방법을 주로 얻고 있다. 그러나, 비교적 조직의 상태와 기능을 확인 목적으로 하는 동물 모델에서는 DCE나 ASL 방법도 사용되고 있다.
- (8) MRI 신약 후보물질마커로써 T2w, DWI(ADC)를 뇌경색 병변의 크기와 중증정도를 시간에 따라 판단하는데 가장 많이 이용되어 왔으며, 동물의 행동 검사 및 병리검사와 병행하여 약물의 효력을 판정하였다.

다. 뇌혈관 질환 신약 개발에 신약 후보 물질마커 활용 시 유의사항

(1) 프로토콜

- (가) 영상 획득 프로토콜로써 각 신약 후보 물질마커를 사용하여 뇌혈관 질환에 의한 뇌병변을 시각화/정량화 할 수 있어야하며 이를 위하여 병변을 최대한 구분할 수 있는 영상 프로토콜의 최적화가 필요하다.
- (나) 개체간 영상 품질의 균질성을 위하여 영상 획득 장비의 표준화 및 정도관리/품질표준을 확립해야 한다.
- (다) 현재까지 뇌혈관 질환의 비 임상시험에서의 프로토콜에 대한 표준화는 이루어지지 않고 있다. 각 시험기관에 따라 신약 후보 물질마커의 획득 장비의 특성을 감안하여 뇌혈관 질환에 대한 재현성 확인을 위한 테스트는 필수적이다.

(2) 영상 분석

- (가) 신약 후보 물질마커의 분석을 위한 소프트웨어는 각 장비공급업체에서 공급하는 프로그램을 비롯하여 ImageJ-TM 과 같은 프리웨어까지 다양하게 선택할 수 있다. 다만, 소프트웨어를 통한 분석 시에는 동일한 기준으로 분석자의 주관이 최대한 들어가지 않도록 해야 한다.
- (나) 대체로 뇌혈관 질환에 의한 뇌병변의 기준은 정상적인 뇌에서의 신호 강도가 50% 혹은 70%의 변화가 관측될 때를 기준으로 하여 뇌병변을 판정하는 추세이다. 단, 모든 개체에서 동일한 기준으로 뇌병변에 크기를 판정해야 한다.
- (다) 최근 Artificial Intelligence(AI)를 이용하여 분석하는 방법이 소개되고 있는데 이때에는 반드시 어떠한 알고리즘을 가진 소프트웨어이며 어떤 프로토콜로 분석하였는지에 대한 설명을 반드시 밝혀야 한다.

(3) 병리

(가) 최종 end-point에서는 병리적인 확인이 필요함. infarct core 부분과

가장자리부분(Penumbra)에서의 뇌조직의 괴사정도를 염색하여 최종적인 뇌경색에 의한 병변을 확인할 필요가 있다.

(나) 뇌경색 병변을 확인하기 위하여 tetraphenyltetrazolium chloride(TTC) 이나

Hematoxylin and eosin(H&E) staining등을 통하여 조직 괴사부위 및 세포의 생존 등에 관한 확인절차가 필요하다.

표 5. MRI 신약 후보 물질마커(T2w, DWI)를 사용하여 뇌혈관 질환 연구에 사용된 프로토콜

Parameter	T ₂ -Weighted Imaging			Diffusion-Weighted Imaging		
	Total Reported, n/N (%)	Reported per Animal Species, Species: n/N (%)	Details per Animal Species, Range (median)	Total Reported, n/N (%)	Reported per Animal Species, Species: n/N (%)	Details per Animal Species, Range (Median)
Type of sequence	29/45 (64)	Rat: 19/34 (56) Mouse: 9/10 (90) Baboon: 1/1 (100)	- (-) - (-) - (-)	12/23 (52)	Rat: 11/22 (50) Mouse: 1/1 (100) ...	- (-) - (-) ...
Scan duration, min	7/45 (16)	Rat: 5/34 (15) Mouse: 2/10 (20) Baboon: 0/1 (0)	1.1-9 (7.5) 5 (5) N/G (N/G)	2/23 (9)	Rat: 2/22 (9) Mouse: 0/1 (0) ...	7-15 (11) N/G (N/G) ...
Echo time, ms	43/45 (96)	Rat: 32/34 (94) Mouse: 10/10 (100) Baboon: 1/1 (100)	30-120 (60)* 30-120 (66) 105 (105)	17/23 (74)	Rat: 16/22 (73) Mouse: 1/1 (100) ...	33-100 (40) 30 (30) ...
Repetition time, ms	43/45 (96)	Rat: 32/34 (94) Mouse: 10/10 (100) Baboon: 1/1 (100)	1750-8000 (3000) 1000-3000 (2550) 3000 (3000)	18/23 (78)	Rat: 17/22 (77) Mouse: 1/1 (100) ...	1000-4000 (3000) 1000-1000 (1000) ...
No. of slices	27/45 (60)	Rat: 18/34 (53) Mouse: 9/10 (90) Baboon: 0/1 (0)	6-35 (14)* 5-25 (13) N/G (N/G)	12/23 (52)	Rat: 11/22 (50) Mouse: 1/1 (100) ...	4-13 (8)* 5 (5) ...
Slice thickness, mm	44/45 (98)	Rat: 33/34 (97) Mouse: 10/10 (100) Baboon: 1/1 (100)	0.35-3 (1.5) 0.5-1 (1) 3 (3)	19/23 (83)	Rat: 18/22 (82) Mouse: 1/1 (100) ...	1-2 (1.5) 0.5 (0.5) ...
Field of view, † mm×mm	38/45 (84)	Rat: 30/34 (88) Mouse: 7/10 (70) Baboon: 1/1 (100)	22×22-120×120 (30×30) 25.6×12.8-20×20 (20×20) 200×150 (200×150)	17/23 (74)	Rat: 16/22 (73) Mouse: 1/1 (100) ...	22×22-80×80 (30×30) 22×16 (22×16) ...
Matrix size, † pixels×pixels	34/45 (76)	Rat: 28/34 (82) Mouse: 5/10 (50) Baboon: 1/1 (100)	64×64-512×512 (256×256) 128×64-256×256 (256×128) 256×192 (256×192)	17/23 (74)	Rat: 16/22 (73) Mouse: 1/1 (100) ...	64×64-256×256 (128×128) 128×64 (128×64) ...
No. of signal averages, NSA	12/45 (27)	Rat: 9/34 (26) Mouse: 2/10 (20) Baboon: 1/1 (100)	2-8 (4) 8-16 (12) 1 (1)	4/23 (17)	Rat: 4/22 (18) Mouse: 0/1 (0) ...	2-4 (3) N/G (N/G) ...
Echo train length for FSE ‡	5/14 (36)	Rat: 3/8 (38) Mouse: 1/5 (20) Baboon: 1/1 (100)	8-16 (7) 8 (8) 10 (10)	1/1 (100)	Mouse: 1/1 (100)	8 (8)
Inversion time, TI, ms, for FLAIR ‡	0/1 (0)	Rat: 0/1 (0)	N/G (N/G)	N/A	N/A	N/A
Diffusion sensitivity, b-factor, s/mm ²	N/A	N/A	N/A	18/23 (78)	Rat: 17/22 (77) Mouse: 1/1 (100)	20-1898 (1000)* 70-1224 (647)*
Diffusion gradient strength, G, mT/m	N/A	N/A	N/A	6/23 (26)	Rat: 5/22 (23) Mouse: 1/1 (100)	0-152 (80)* 120 (120)
Diffusion gradient duration, δ, ms	N/A	N/A	N/A	8/23 (35)	Rat: 7/22 (32) Mouse: 1/1 (100)	3.15-10 (10) 5 (5)
Diffusion gradient separation, Δ, ms	N/A	N/A	N/A	6/23 (26)	Rat: 5/22 (23) Mouse: 1/1 (100)	13-50 (24.7) 17.5 (17.5)

(4) 신뢰성

- (가) 그룹 간 통계적인 유의성을 판단하기 위하여 각 그룹간의 개체는 충분해야 한다. 또한 시간에 따른 병변 크기 및 중증 정도의 비교를 볼 수 있도록 동일한 기준에 의한 분석 및 통계처리를 해야 한다.
- (나) 신약 후보물질마커의 신뢰성을 위하여 동일한 개체 및 팬텀에서 반복 촬영을 통한 Quality Control을 진행해야 한다. 동일 대상체/동일 프로토콜에서 영상의 균일성을 파악해야 한다.
- (다) 실험 결과의 신뢰성/재현성을 높이기 위하여 신약 후보물질마커에 의한 분석뿐만 아니라 동물 행동검사와 병리검사를 병행할 필요가 있다.
- (라) QIBA(Quantitative Imaging Biomarkers Alliance)에서는 진단 영상(CT, MRI, PET/SPECT, Ultrasound등)의 재현성/신뢰성을 향상시키고 다기관 영상분석을 위하여 최소한의 장비의 요구치와 프로토콜의 권고사항을 계속 배포하고 있다. 따라서 비임상 동물 모델의 실험 데이터 역시 표준화를 진행할 필요가 있다.



그림 8. 북미 영상의학회 (Radiology Society of North America, RSNA)에서는 진단영상 표준화를 위하여 QIBA를 조직하고 각 영상 modality들에 대한 가이드언스를 발표하고 있다.

4. 뇌졸중 약물 유효성 평가를 위한 바이오이미징 기술의 역할 및 전망

가. 신약 개발 패러다임 변화에 따른 바이오이미징의 역할

(1) 새로운 뇌혈관 질환 후보 물질에 대한 평가 도구의 필요성

(가) 신약개발의 패러다임이 Niche buster형으로 전환됨에 따라 비임상 및 초기임상 시험에서의 정확한 효능, 독성 평가의 필요성이 강조되고 있다.

(나) 그러나 현재와 미래의 주요 개발 항목으로 주목받고 있는 신약(합성신약, 바이오신약, 유전자 기반)의 약동력학 및 효능 평가에 있어 전통적인 방법은 다소 제한적이다.

(다) 이를 극복하기 위한 방안으로써 신약개발 전 단계에서의 PK/PD 모델링, 바이오마커(biomarker) 및 대리 표지자(surrogate endpoint) 발굴이 거론되고 있다.

(라) 특히, 뇌혈관 질환의 경우 임상시험에서의 시간/비용 절약이 필요하고, 또 약물의 효력 검증을 위한 정확하고 객관적인 비임상결과가 요구되고 있다. 그리고 여기에 바이오이미징이 가장 적합하다는 점이 부각되고 있다.

The image shows the cover and table of contents of the FDA DDT Guidance. The cover on the left is titled "Guidance for Industry and FDA Staff Qualification Process for Drug Development Tools" and is dated January 2014. The table of contents on the right lists sections from I to VII, including Introduction, Background, Drug Development Tools (Biomarkers, Clinical Outcome Assessment, Animal Models), Qualification-Prerequisites, and Procedures for Public Recommendations, Correspondence, and Documents. It also includes seven appendices detailing qualification processes for Biomarkers, Clinical Outcome Assessment, and Animal Models.

TABLE OF CONTENTS	
I. INTRODUCTION	1
II. BACKGROUND AND GENERAL CONCEPTS	2
III. DRUG DEVELOPMENT TOOLS	3
A. Biomarkers	3
B. Clinical Outcome Assessment	3
C. Animal Models	3
IV. QUALIFICATION-PREREQUISITES	6
V. PROCEDURES FOR MAKING RECOMMENDATIONS PUBLIC	10
VII. PROCEDURES FOR SUBMITTING CORRESPONDENCE AND DOCUMENTS	10
APPENDIX 1: Qualification Process	11
APPENDIX 2: Biomarkers - Additional Considerations	14
APPENDIX 3: Letter of Intent to Propose Biomarker Qualification	24
APPENDIX 4: Biomarker Qualification Initial Briefing Package	27
APPENDIX 5: Letter of Intent to Propose COA Qualification	27
APPENDIX 6: COA Qualification Initial Briefing Package	28
APPENDIX 7: Animal Models - Additional Considerations	31

그림 9. 바이오 마커 중요성을 강조한 FDA의 신약 개발 방법 가이드라인 (FDA DDT Guidance, 2015)

나. 바이오마커 개발 노력

(1) 미국 FDA에서 2004년 공표한 문서인 신약 개발 과정을 개선시키기 위한 최상의 경로

계획(Critical Path Initiative, CPI, US Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Innovation or Stagnation www.fda.gov/oc/initiatives/critical-path/whitepaper.html)에서는 비임상 및 임상 상황에서 신약개발의 안전성과 효율성을 평가하기 위한 바이오마커의 개발을 역점 사업으로 진행시키려고 했다. 물론 이 사업 중 개발해야하는 분야의 하나로 바이오이미징이 포함되었다.

- (2) FDA에서는 2015년 drug development tool (Guidance for Industry and FDA Staff Qualification Process for Drug Development Tools, <http://www.fda.gov/downloads/drugs/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm230597.pdf>) 가이드를 통해 신약개발 에서의 바이오마커의 중요성을 재차 강조하였다.
- (3) 다양한 유형의 바이오마커 중에서도 개체 및 피험자 수 최소화 등 뇌혈관 질환관련 신약개발을 위한 여러 장점을 갖고 있는 바이오이미징이 핵심적인 기술로 떠오른 상태이다.

다. 뇌혈관 질환 신약 개발에서의 바이오이미징 활용의 전망

- (1) 신약 개발에서의 바이오이미징 활용 동향
 - (가) 신약 개발 혹은 진단, 치료분야에서의 영상 바이오마커의 사용은 빠르고 정확한 약효 및 안전성평가를 가능하게 함으로써 환자 혹은 전 국민적 차원의 이익을 가져올 것이다.
 - (나) 새로운 항암제 개발을 위한 혈액 분석 결과 및 채취한 조직 분석들로는 국소적인 정보만 제공할 뿐 전체적인 인체 관련 정보에 대해서는 파악하기 어렵다. 이에 인체 내 신약 분포 등 신약에 대한 인체 전반에 걸친 정보를 제공할 수 있는 영상 기술의 활용은 필수적이라고 볼 수밖에 없다.
 - (다) 또한, 비 임상 단계에서의 바이오이미징은 해당 질환모델의 적합여부를 판단하는데 도움을 줌으로써 효율적인 안전성 평가를 가능하게 할 것이다.
- (2) 뇌혈관 질환 바이오이미징 그룹의 구축 및 프로젝트 진행
 - (가) 선진국의 신약 개발을 주도하는 연구기관(세계 제약사, 바이오 테크 등)에서는 영상 장비 및 전문 인력이 갖춰진 바이오이미지 센터를 구축하여 빠르게 증가하는 신약 개발 비용과 기간 단축에 이바지하고 있으며, 현재 응용성숙 단계이다.

(나) 글로벌 제약사는 신약 개발기간의 단축, 인체 내에서의 약물 분포와 활성 관찰, 질병의 주요원인 규명 등 신약개발 전 단계의 효율성을 증대시키는 바이오이미징의 연구를 활성화시키기 위해 박차를 가하고 있으며, 점차 바이오이미징을 신약 개발에 필수적인 기술로 활용하게 될 것이다.

5. 참고문헌

- 1) Abraini JH, David HN, Nicole O, MacKenzie ET, Buisson A, Lemaire M. Neuroprotection by nitrous oxide and xenon and its relation to minimum alveolar concentration. *Anesthesiology* 2004;101:260 - 261.
- 2) Beckmann N, Kneuer R, Gremlich H-U, Karmouty-Quintana H, Ble F-X, Muller M. In vivo mouse imaging and spectroscopy in drug discovery. *NMR Biomed* 2007;20:154-185
- 3) Busch E, Krüger K, Hossmann KA. Improved model of thromboembolic stroke and rt-PA induced reperfusion in the rat. *Brain Res.* 1997;778(1):16-24
- 4) Durukan A, Tatlisumak T. Acute ischemic stroke: overview of major experimental rodent models, pathophysiology, and therapy of focal cerebral ischemia. *Pharmacol Biochem Behav.* 2007;87(1):179-97
- 5) Fisher M. Recommendations from the STAIR V meeting on acute stroke trials, technology and outcomes. *Stroke.* 2007 Feb;38(2):245-8
- 6) Fisher M. Recommendations for Advancing Development of Acute Stroke Therapies: Stroke Therapy Academic Industry Roundtable 3. *Stroke* 2003;34:1539 - 1546
- 7) Fisher M. Stroke Therapy Academic Industry Roundtable, I. V. Enhancing the Development and Approval of Acute Stroke Therapies: Stroke Therapy Academic Industry Roundtable. *Stroke* 2005;36:1808 - 1813
- 8) Fisher M, Feuerstein G, Howells DW, Hurn PD, Kent TA, Savitz SI, Lo EH. Update of the stroke therapy academic industry roundtable preclinical recommendations. *Stroke* 2009;40:2244 - 2250
- 9) Fisher M, Hanley DF, Howard G, Jauch EC, Warach S. Recommendations From the STAIR V Meeting on Acute Stroke Trials, Technology and Outcomes. *Stroke* 2007;38:245 - 248
- 10) Garcia JH, Yoshida Y, Chen H, Li Y, Zhang ZG, Lian J, Chen S, Chopp M. Progression from ischemic injury to infarct following middle cerebral artery occlusion in the rat. *Am J Pathol* 1993;142:623 - 635
- 11) Haelewyn B, Yvon A, Hanouz JL, MacKenzie ET, Ducouret P, Gerard JL, Roussel S. Desflurane affords greater protection than halothane against focal cerebral ischaemia in the rat. *Br J Anaesth* 2003;91:390 - 396
- 12) Kawaguchi M, Drummond JC, Cole DJ, Kelly PJ, Spurlock MP, Patel PM. Effect of isoflurane on neuronal apoptosis in rats subjected to focal cerebral ischemia. *Anesth Analg* 2004;98:798 - 805
- 13) Koizumi J, Yoshida Y, Nakazawa T, Ooneda G. Experimental studies of ischemic brain edema, I: a new experimental model of cerebral embolism in rats in which recirculation can be introduced in the ischemic area. *Jpn J Stroke* 1986;8:1 - 8
- 14) Leach MJ, Swan JH, Eisenthal D, Dopson M, Nobbs M. BW619C89, a glutamate release inhibitor, protects against focal cerebral ischemic damage. *Stroke* 1993;24:1063 -

- 15) Liu S, Zhen G, Meloni BP, Campbell K, Winn HR. RODENT STROKE MODEL GUIDELINES FOR PRECLINICAL STROKE TRIALS (1ST EDITION) *J Exp Stroke Transl Med.* 2009 January 1; 2(2): 2 - 27
- 16) Macrae IM. Preclinical stroke research—advantages and disadvantages of the most common rodent models of focal ischaemia *Br J Pharmacol.* 2011 Oct;164(4):1062–78
- 17) Milidonis X, Marshall I, Macleod MR, Sena ES. Magnetic resonance imaging in experimental stroke and comparison with histology Systematic review and meta-analysis. *Stroke* 2015;46:843–851
- 18) Perel P, Roberts I, Sena E, Wheble P, Briscoe C, Sandercock P, Macleod M, Mignini LE, Jayaram P, Khan KS. Comparison of treatment effects between animal experiments and clinical trials: systematic review. *BMJ.* 2007 Jan 27;334(7586):197
- 19) Reglodi D, Tamas A, Lengvari I. Examination of sensorimotor performance following middle cerebral artery occlusion in rats. *Brain Res Bull* 2003;59:459 - 466
- 20) Tamura A, Graham DI, McCulloch J, Teasdale GM. Focal cerebral ischaemia in the rat: 1. Description of technique and early neuropathological consequences following middle cerebral artery occlusion. *J Cereb Blood Flow Metab* 1981a;1:53 - 60
- 21) Warach SJ, Luby M, Albers GW, Bammer R, Bivard A, Campbell BCV, Derdeyn C, Heit JJ, Khatri P, Lansberg MG, Liebeskind DS, Majoie CBLM, Marks MP, Menon BK, Muir KW, Parsons MW, Vagal A, Yoo AJ, Alexandrov AV, Baron J-C, Fiorella DJ, Furan AJ, Puig J, Schellinger PD, Wintermark M, STIR and VISTA-Imaging Investigators. Aute stroke imaging research roadmap III imaging selection and outcomes in acute stroke reperfusion clinical trials: Consensus recommendations and further research priorities. *Stroke* 2016;47:1389–1398
- 22) Xiong L, Zheng Y, Wu M, Hou L, Zhu Z, Zhang X, Lu Z. Preconditioning with isoflurane produces dose-dependent neuroprotection via activation of adenosine triphosphate-regulated potassium channels after focal cerebral ischemia in rats. *Anesth Analg* 2003;96:233 - 237
- 23) 바이오이미징 활용 신약개발 현황 보고서 2017 (서울아산병원 신약개발 융합 바이오이미징 센터)

6. Abbreviations

ADC	Apparent diffusion coefficient
AI	Artificial Intelligence
ASL	Arterial spin labeling
CBF	Cerebral blood flow
CT	Computed tomography
DDT	Drug development tools
DWI	Diffusion weighted imaging
DTI	Diffusion tensor imaging
EEG	Electroencephalography
eMCAO	Embolic middle cerebral artery occlusion
ESCAPE	Endovascular treatment for small core and proximal occlusion ischemic stroke
EXTEND-IA	Extending the time for thrombolysis in emergency neurological deficits-intra-arterial
FDA	Food and drug administration
fMRI	Functional magnetic resonance imaging
H&E	Hematoxylin & eosin
IHC	Immunohistochemistry
MCA	Middle cerebral artery
MCAO	Middle cerebral artery occlusion
MRA	Magnetic resonance angiography
MR CLEAN	Multicenter randomized clinical trial of endovascular treatment for acute ischemic stroke in the Netherlands
MRI	Magnetic resonance imaging
PET	Positron emission tomography
PK/PD	Pharmacokinetics/pharmacodynamics
pMCAO	Permanent middle cerebral artery occlusion
PWI	Perfusion weighted imaging
QIBA	Quantitative Imaging Biomarkers Alliance
rCBF	Relative cerebral blood flow
REVASCAT	Randomized trial of revascularization with solitaire FR device versus best medical therapy in the treatment of acute stroke due to anterior circulation large vessel occlusion presenting within 8 hours of symptoms onset
RSNA	Radiology Society of North America
rt-PA	Recombinant tissue plasminogen activator
SCI	Scientific citation index
STAIR	Stroke treatment academy industry roundtable
STIR	Stroke imaging research
SWIFT PRIME	Solitaire with the intention for thrombectomy as primary endovascular treatment
THERAPY	Assess the penumbra system in the treatment of acute stroke
TTC	Triphenyltetrazolium chloride
T2w	T2 weighted imaging