

# 유전자 조작 Vector 이용 동물용 백신 개발 전망

권창희\* · 권병준\* · 강영배\* · 윤용덕\*\*

## 머 리 말

예방약 즉, 백신(Vaccine)은 인간이나 가축에 감염되어 병원성을 일으키는 제반의 미생물에 대응하여 그 병인체에 대한 면역반응(Immune response)을 사전에 유도함으로써 이러한 질병에 대한 방어력을 부여하는 물질이다.<sup>18</sup> 그러므로 백신은 인간이나 동물의 방역차원에서 가장 효과적이고도 값싼 예방수단(Prophylactic tool)이라고 하겠다.

이상적인 백신은 특정 병원체에 대하여 견고한 면역원성(Immunity) 및 안전성(Safety)이 요구되며 질병의 방역뿐만 아니라 질병의 전파를 감소시키는 수단으로서도 사용된다. 그러나 면역원성이나 안전성이 완전한 백신은 존재하지 않는 것이 현실이며 대부분의 경우 부작용(Side effects)인 효과 지속시간이 짧은 경우가 일반적인 사실이다.

이러한 측면에서 기존의 백신을 보완하고 효력을 증가시키기 위하여 유전자 조작, 즉 분자생물학적 기법을 응용한 새로운 백신의 개발이 시도되고 있다.<sup>9, 10, 17, 20, 21, 22</sup> 그러므로 본고는 현재 선진국에서 활발히 진행되고 있는 유전공학(Genetic engineering)기법을 이용한 유전자 조작 vector의 개발현황 및 그 전망을 정리하여 보고자 하였다.

## I. 백신의 종류 및 문제점

현재 사용되고 있는 예방약은 크게 두 가지 종류로 구분될 수 있다. 첫째는 사독백신(Inacti-

vated vaccine)으로서 병원체를 물리적 또는 화학적 처리를 하여 접종시에 생체내에서 증식할 수 없도록 하는 백신이다. 둘째는 생독백신(Live vaccine)으로서 생체 접종시 약독화된 병원체가 증식함으로써 기존의 병원체에 대한 면역효과를 유도하는 백신이다. 대략하여 기존의 사독 및 생독백신의 종류, 제조방법 그리고 사용시 발생될 수 있는 장단점 및 문제점을 요약하면 Table 1, 2와 같다.

## II. 유전자조작 Vector를 이용한 백신의 개발현황

현재까지 연구 또는 개발되고 있는 유전자 vector를 이용한 백신은 대부분 생독 백신으로 한 가지의 바이러스나 세균에 다른 면역원성 유전자(Immunogenic gene)를 삽입한 경우로서 일명 전달백신(Carrier vaccine)이라고 지칭할 수 있다. 이와같은 Carrier vaccine은 그 자체가 목적동물에서 병원성을 일으키지 않으며 생체내 증식시 외부유전자 즉, 우리가 목표로 하는 기존의 사독백신이나 병원성이 높아 생체내 백신으로 사용이 어려운 병인체의 면역원성을 갖는 일부의 유전자를 포함함으로써 사용시 백신의 기능을 할 수 있게된다.

현재 외부유전자를 삽입할 수 있는 vector로는 세균(Bacteria), 효모(Yeast)와 바이러스 등이 있으며 삽입 유전자는 간염(Hepatitis B), 인플루엔자(Influenza), 허피스바이러스(Herpes simplex virus), 광견병바이러스(Rabies virus), 구제역 바이러스(Foot and mouth disease virus)등의 항원 유전자가 연구되었다. 지금까지 외부 유전자를 삽입하여 실험되었던 carrier로서 가장 대표적

\* 가축위생연구소 해외전염병과\* · 병리과\*\*

**Table 1. 백신의 종류 및 제조방법**

I. 생독 백신(Live vaccine)	
A. 자연감염 숙주 동물에서 병원성이 적은 감독 세균이나 바이러스, 자연 감염시 병원성을 일으키는 병원체와 유사한 증상을 타 동물에서 일으키는 바이러스를 사용. 예 : 일본뇌염, 돼지콜레라, 돼지단독, 돼지전염성위장염, 우두(Vaccinia), 소아마비(Polio).	
II. 사독백신(Inactivated vaccine)	
A. 물리적 또는 화학적 처리를 통하여 병원체의 감염성을 제거. B. 면역원성을 갖는 단백질분(Subunit)을 인위적으로 추출, 제조 합성하거나 또는 발현시킨 성분만을 백신으로 사용. 예 : 파보바이러스, 소 설사병바이러스, 손 전염성비관지염 바이러스, 장티프스, 파라티프스.	

**Table 2. 생독 및 사독 백신의 장단점**

구 분	생독 백신(Live vaccine)	사독 백신(Inactivated vaccine)
장 점	-면역원성이 높다. -소화기 계통의 면역유도능이 있다. -백신 제조단가 및 생산비가 비교적 싸다.	-백신이 안전성이 높다. -타 병원체의 오염 가능성이 적다.
단 점	-병원성으로 인한 부작용의 발생 가능성이 있다. -타 동물에 대한 전염 가능성이 있다. -타 병원체의 오염 가능성이 있다. -병원성이 회복될 가능성이 있다.	-제조시 생독백신에 비하여 많은 양의 농축이 필요하다. -보존제가 필요하며 대부분 1회 이상의 추가접종이 요구된다. -화학반응시 잔존할 수 있는 화학제에 의한 부작용이 가능하다.

인 것 중 하나는 Vaccinia virus이며 이와 삼입 외부 유전자를 발현하는 vector로는 Aujeszky's disease virus와 Herpes virus, Adenovirus, Polio-virus등의 바이러스와 *Saccharomyces cerevisiae*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Shigella*, *Yersinia*균주, BCG 및 Mycobacteria 등의 세균이 사용되고 있다.<sup>1, 2, 4, 8, 21, 22</sup>

요약하여 정리하자면, Carrier vaccine은 생독 및 사독백신의 결점을 보완하기 위한 목적으로 연구되고 있다. 즉, 생독백신의 경우 필수적으로 약독화 해야한다. 그러나 약독화(attenuation)가 불가능한 경우, 즉, 생체내 또는 leprosy, hepatitis A and hepatitis B와 같이 인위적 배양이나 증식성이 없는 경우 해당 유전자를 안전성(safety)이 미비한 상태하에서 carrier에 삼입하여 면역원성 성분만을 발현시킬 수 있기 때문이다. 그 좋은 실례로 유럽지역에서 광견병의 항원부위인 당단백(glycoprotein G)를 삼입시킨 Vaccinia virus를 야생동물의 먹이에 첨가하여 살포한 결과 광견병의 발생빈도가 급속히 감소 되었다고 보

고 하였다.<sup>3</sup> 그러나 Carrier vaccine의 경우 생독 백신의 진보된 변형이므로 생독백신이 갖고있는 부작용이나 문제점이 대부분 공존할 수 있다. 그러므로 Carrier vaccine의 개발시 고려되어야 할 몇가지 주요 조건에 관하여 충분한 사전검토가 필요하며 이에 대한 사항들을 열거하고자 한다.

또한 Carrier vaccine은 현재 개발이 진행되거나 연구 중에 있는 상황에 비추어 이 Vaccine이 사용된 후 제기된 현실적 문제점들에 대한 보고는 생독 및 사독백신에 비하여 자료가 미비한 실정이다. 그러나 생독 Carrier vaccine이 나타낼 수 있는 몇가지 가능성들은 다음과 같다.

### 1. Carrier vaccine의 외부유전자 삼입시 Carrier virus의 변이

이러한 상황은 Carrier virus 자체가 갖고있는 세포나 생체내 병독성(Virulence), 세포적합성(Cell tropism)이 삼입된 외부유전자(Foreign gene)에 의하여 변화될 수 있다는 전제조건이 고려되어야 한다. 실제 Yersinia의 세포 감염성을 나

TK 유전자 발현을 위한 Transfer Vector 작성

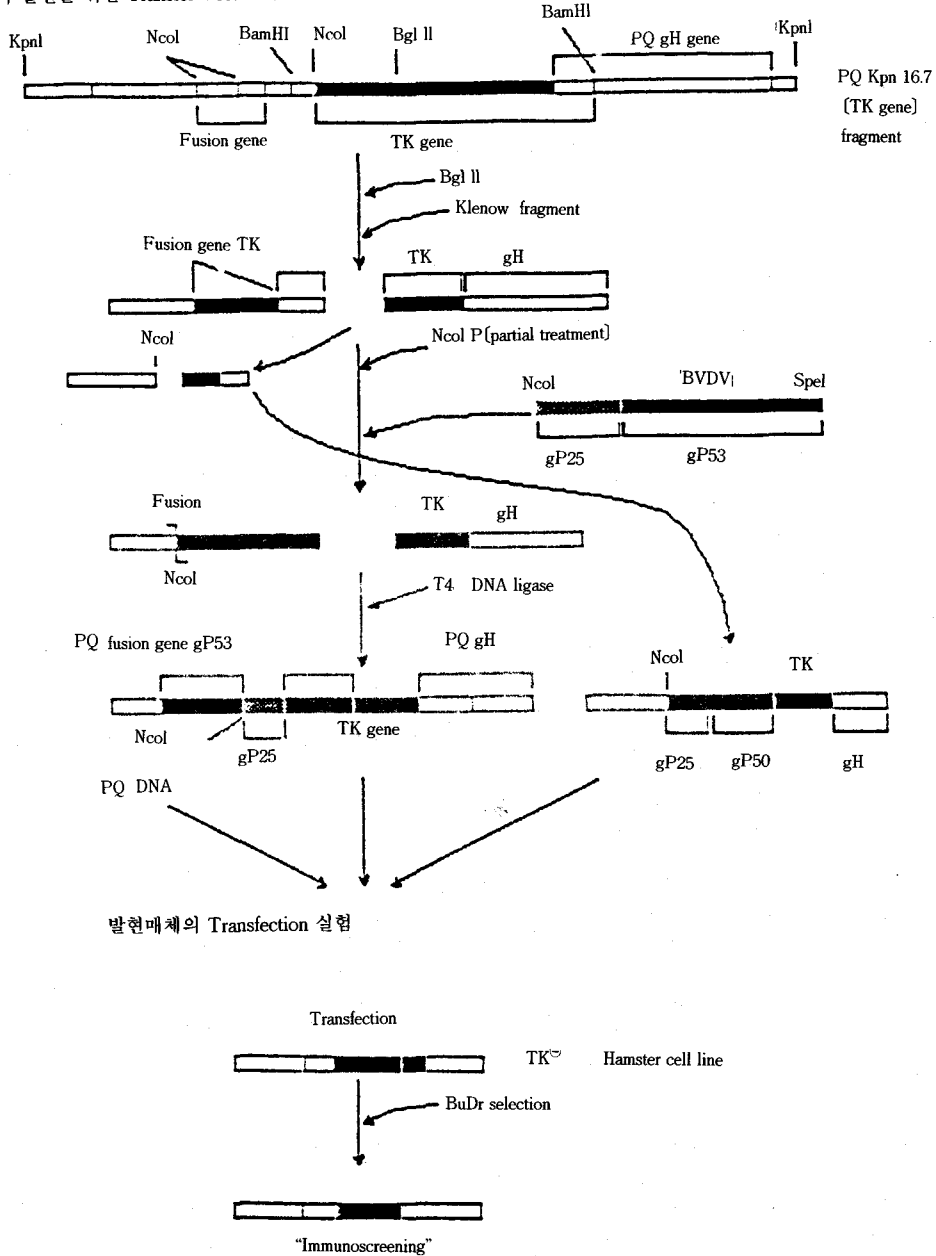


그림 1. Carrier vaccine 작성을 위한 외부유전자 발현매체 선발 및 유전자 조작과정.

타내는 유전자를 *E. coli*에 삽입시 비 세포침투성인 *E. coli* 주가 *Yersinia*의 gene에 의하여 세포내 침투능력을 나타낸 경우가 있으며 이와같은 상황은 Carrier vaccine 그 자체에 의한 세포친화성의 변이를 일으킨 경우라 할 수 있겠다<sup>23</sup>. 또 다른 경우는 Newcastle disease virus의 경우 당단

백질성분(H protein)의 미소한 변형 역시 생체내 병원성(Pathogenicity), 병독성(Virulence)에 큰 차이를 나타내는 것으로 알려져 있다. 그러므로 이러한 외부 유전자를 사용하게 될 때 생체반응에서 나타날 수 있는 세포병원성, 세포친화성 및 변이정도에 대한 충분한 검토가 고려되어야

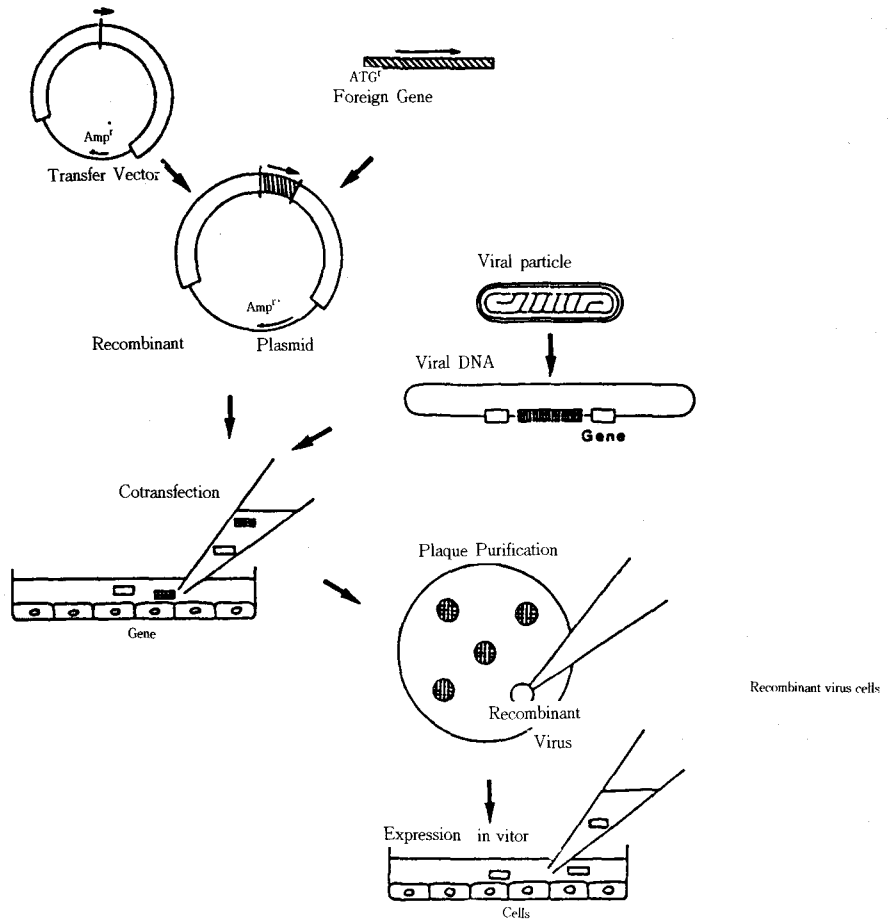


그림 2 Carrier vector내 외부유전자 삽입 및 발현을 위한 제조합 바이러스 작성 실험과정.

한다<sup>5</sup>. 실제 오제스키병의 당단백유전자(Glycoprotein gene)을 Vaccinia virus에 삽입한 경우 실험동물인 mice에서 병원성이 증가된 실험의 경우에도 보고되어 있으며 외부유전자의 삽입에 의한 세포내 적합정도(Cell tropism)의 차이 역시 신중하게 고려되어야 할 과제이다.<sup>11</sup>

## 2. 유전물질의 교환에 따른 바이러스의 변이(Mutation)

제조합 carrier virus가 병원성 미생물과 생체내 동시에 감염시 일어날 수 있는 유전물질의 교환 역시 carrier vaccine 사용시 신중히 검토 되어야 할 문제이다. 이와같은 현상은 생명체의 유전작용인 genetic recombination의 결과로서 heterologous genetic information이 carrier와 wild-type v-

arinat와의 교환시 일어날 수 있는 가능성을 고려 하여야 한다.<sup>6,7,15,16</sup>

그 좋은 실례로서 Aujeszky's disease virus의 경우 외부 유전자를 삽입시킨 경우에도 돼지에서 병원성을 나타내었으며 herpes virus나 Pox virus의 경우 삽입 유전자가 있는 경우 없을때 보다도 유전물질의 교환 빈도가 더 높은 것으로 보고되어 있다.<sup>6,7,19</sup>

물론 이 반대의 경우도 역시 가능할 수 있다. 즉, 외부에서 도입된 유전자가 wild-type의 병원성 병인체와 유전물질의 교환을 바탕으로 병원성이 감소된 바이러스로 유도될 수 있다.

## 3. Carrier vaccine내 삽입 유전물질의 안정성(Stability)과 전파

Carrier vaccine이 생체내에서 유전물질을 교환할 수 있다는 가정하에서 Carrier vaccine의 사용시 환경내 전파나 이에 의한 변형 역시 충분히 고려되어야 할 사항이다. 이러한 조건을 결정할 수 있는 요소는 삽입되는 외부유전자 및 Carrier vector의 생물학적 성상에 기인되는 것으로서 숙주 특이성(Host range)과 밀접한 연관을 갖게 된다. 실제 Vaccinia virus의 경우 사람, 소 등에서 증식할 수 있어 넓은 숙주범위를 나타내므로 숙주범위가 좁은 Adenovirus, Avipox, Carpripox, Suipxsvirus등의 다른 Poxvirus를 Carrier vector로 사용하여 한정된 동물에서만 사용하려는 연구가 진행되고 있다.<sup>20</sup>

### III. 국내에서의 Carrier vector를 이용한 동물용 백신 개발 연구

Carrier vector를 이용한 백신은 기존의 재래식 제조공정에 유용 유전물질의 조작을 통해 기존의 예방효과를 높이기 위한 차세대 백신으로서 연구되고 있는 추세이다. 우리나라의 경우 지난 90년도부터 유용 유전자를 크로닝 한 다음 이를 발현시키고 발현 항원의 면역원성 및 항원성을 연구하는 Subunit백신을 추진하기 위한 연구가 활발히 진행되고 있다.<sup>13</sup> 그 실례로서 Kweon 등은 돼지 로타바이러스와 소 로타바이러스를 이용하여 돼지 로타바이러스내 소 로타바이러스가 삽입된 재조합 돼지 로타바이러스의 작성을 보고한 바 있으며 실험동물에 접종시 소 로타바이러스에 대응하는 면역반응을 보고한 바 있다.<sup>12</sup> 이와같은 경우 돼지 로타바이러스를 Carrier로 사용한 경우라 할 수 있다.

또한 Carrier vaccine 개발을 위한 기초연구로서 40% 이상의 항체양성반응을 나타내는 것으로 알려진 전염성비기관지염(Infectious bovine rhinotracheitis)바이러스 및 소 전염성 설사병(Bovine viral diarrhea) 바이러스에 대한 유용 유전자를 크로닝하여 소 전염성비기관지염 바이러스에 소 설사병 방어단백질을 합성하는 유전자를 삽입한 IBR-BVDV carrier 백신을 개발하려는 연구가 진행되고 있다<sup>14</sup>(그림 1, 그림 2 참조). 그러나 이와같은 Carrier vaccine의 실용화에는 전술한 바와 같이 제반 문제들을 충분히 감안하여

실제 응용되어야 하기 때문에 앞으로도 수년간의 실험연구가 수행되어야 할 것으로 사료된다.

### 맺는 말

Carrier vaccine의 개발은 질병의 효율적인 예방과 방역을 위하여 장래 활발히 연구되어야 할 분야임은 주지의 사실이다. 그러나 이와함께 수행되어야 할 앞으로의 전망 및 연구대상은 다음과 같다.

유전공학을 이용한 백신 즉, Carrier vaccine은 기존의 vaccine을 보완할 수 있는 효과적인 백신으로서 사용할 때에는 다음의 제반사항들이 충분히 검토되어야 한다.

첫째, 외부 삽입 유전자에 의한 Carrier vaccine이 carrier 자체의 병원성(Pathogenicity)과 숙주세포내적합성(Host cell tropism)에 영향을 주지않는 측면에서의 Carrier vaccine의 안전성(safety)이 충분히 검증되어야 한다.

둘째, Carrier vector를 이용하여 변형된 Carrier vaccine을 사용시 환경오염이나 사용동물 외의 전파가 없어야 한다. 즉, 사용목적 동물내에서만 증식이 가능하면서 면역효과를 유도할 수 있는 방향으로 사용하기 위한 연구가 진행되어야 한다.

이상의 조건을 고려할 때 vector의 선정은 숙주범위가 좁고, 삽입유전자의 안정성(stability) 및 외부 삽입유전자 발현에 의한 병원성의 감소 및 세포접합성(Cell tropism)등에 대한 연구가 병행되어야 할 것이다. 그러나 이상과 같은 현실적 제반문제들을 감안 하더라도 유전자 조작을 통한 Carrier vaccine의 개발은 질병예방을 위한 새로운 차원의 수단으로서 인식되어야 하며 장래 우리 나라에서도 이에 대한 적극적인 연구와 지원이 고려되어야 할 것이다.

### 참고 문헌

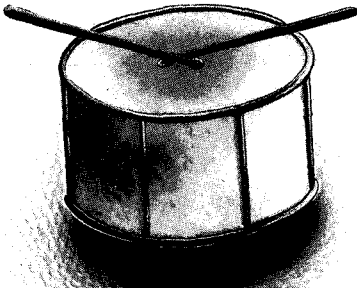
1. AcheterbergM, Adriaanse H and Tomassen J. 1987 Use of outer membrane protein phoe as a carrier for the transport of a foreign antigenic determinant to the cell surface of Escherichia K12. Gene, 59 ; 145~150.

2. Artois M, Charton KM, Tolson ND, Casey GA, Knowles M B and Campbell JB. 1990. Vaccinia recombinant virus expressing the rabies virus glycoprotein : Safety and efficacy in Canadian wildlife. Canadian J of Vet Res, 54 ; 504~507.
3. Brochier B, Kieny MP, Costy F, Oppens P, Bau-  
duin B, Lecocq JP, Languet B, Chappuis G, De-  
smette P, Afiademanyo K, Libois R and pastoret  
P-P. 1991. Large scale eradication fo rabies using  
recombinat vaccinia-rabies vaccine. Nature, 351 ;  
520~522.
4. Chatfield Sn, Strugnell RA and Dougan G. 1989.  
Live Salmonella as vaccines and carriers of forei-  
gn antigenic determinants. Vaccine, 7 ; 497~498.
5. Chopin PW and Scheid A. 1980. The role of  
viral glycoproteins in adsorption, penetration and  
pathogenicity of viruses. Review of infectious dis-  
eases, 2 ; 40~61.
6. Fathi Z, Dyster LM, Seto J, Condit RC and  
Niles EG. 1991. Intragenic and intergenic recom-  
bination between temperature-sensitive mutants of  
vaccinia virus. J of Gen Virol. 72 ; 2733~2737.
7. Henderson LM, Katz JB, Erickson GA and  
Mayfield JE. 1990. *In vivo* and *in vitro* genetic re-  
combination between conventional and gendeleted  
vaccine strains of pseudorabies virsu. Am of Vet  
Res, 51 ; 1656~1662.
8. Kaplan C, 1989. Vaccinia virus : a suitable vehicle  
for recombinant vaccines? Arch of Virol,  
106 ; 127~139.
9. Kit S. 1990. Genetically engineered vaccines for  
control of Aujeszky's disease(pseudorabies). Vacci-  
ne, 8 ; 420~422.
10. Kit S, Kit M, Dimarri RD, Little SP and Gale  
C. 1991. Modified-live infectious bovine rhinot-  
racheitis virus vaccine expressing monomer and  
dimer forms of foot and mouth disease capsid pro-  
tein epitopes on surface of hybrid virus particels.  
Arch of Virol, 120 ; 1~17.
11. Kost TA, Jones EV, Smith KM, Reed AP, Brown  
AL and Miller TJ. 1989. Biological evaluation of  
glycoproteins mapping to two distinct mRNAs with-  
in the Bam HI fragment 7 of pseudorabies virsu  
: Expression of the coding regions by vaccinia vi-  
rs. Virol. 171 ; 365~376.
12. Chan-Hee Kweon, Jong-Myoung Lee, Chung-Ho  
Chang, Seong-Wan Son, Bong-Kyun Park, Youn-  
g-Jin Kee, Jae-Chin Rhee and Keun-Sik park.  
1992. Reassortemtn of porcine rotavirus with bovi-  
ne rotavirus. Res Rep RDA(V), 34(2) : 27~31.
13. Chan-Hee Kweon, Soo-Hwan An, Jae-young Song,  
Byoung-Han Kim, Jae-Jin Lee, Young-jin Kee,  
Young-Soon Lee and Susumu Maeda. 1992. Ex-  
pression of neutralizing proteins of pseudorabies  
virus using recombinant baculovirus. J of Kor Soc  
of Virol, 22 ; 45~51.
14. chang-Hee Kweon, Young-Jin Kee, Byung-Joon  
Kwon and Soo-Hwan An. 1993. Cloning and map  
location of thymidine kinase(TK) gene of Korean  
isolate bovine herpesvirus PQ strain. J of Kor  
Soc of Virol, In Press.
15. Mengeling WL. 1991. Virus reactivation in pigs  
latently infected with a thymidine kinase negative  
strain of pseudorabies virus. Arch of Virol,  
120 ; 57~70.
16. MidthunK, Greenberg HB, Hoshino Y, Kapikian  
AZ, Wyatt RG and Chanock RM. 1985. Reassort-  
ment rotaviruses as potential live rotavirus vaccine  
candidates. J of Virol, 53 ; 944~954.
17. Moss B. 1991. Vaccinia virsu : A tool for research  
and vaccine development. Science, 252 ; 1662~  
1667.
18. Oehen S, Hengartner H and Zinkernagel RM.  
1991. Vaccination for disease. Science, 251 ; 195  
~198.
19. Parks RJ and Evans DH. 1991. Enhanced recom-  
bination associated with the presence of insertion  
and deletion mutations in poxvirus infected cells.  
Virol, 184 ; 299~309.
20. Perkus ME, Limbach K and Paoletti E. 1989. Cl-  
oning and expression of foreign genes in vaccinia  
virus, using a host range selection system. J of V-  
irol, 63 ; 3829~3836.
21. Stover CK, Dela Cruz VF, Fuerust, Burlein JE,  
Benson LA, Bansal GP, Yound JF, Lee MH, H-  
atfull GF, Snapper SB, Barletta RG, Jacobs WR  
and bloom BR. 1991. New use of BCG for reco-  
mbinat vaccines. Nature, 351 ; 456~460.
22. Van Zijim, Wensvoort G, De Kluyver E, Hulst M,  
Van de Gulden H, Gielkens A, Berns A and Mor-  
rmann R, 1991. Live attenuated pseudorabies virus  
expressing envelope glycoprotein E1 of hog choler-  
a virus protects swine against both pseudorabies a-  
nd hog cholera. J of Virol, 65 ; 2761~2765.

23. Young VB, Falkow S and Schoolnik GK. 1992. The invasion protein of *Yersinia enterocolitica*. Internalization of invasion-bearing bacteria by eukar-

yotic cells is associated with reorganization of the cytoskeleton. *J of Cell Biol*, 116 ; 197~207.

*“Veterinarian Oath”*



“인생의 활력을 찾는 수의사”

장엄한 행진곡  
“콰이강의 다리”가  
가슴을 두드립니다

그리고 나는 말합니다.  
“나는 동물을 고통으로부터 해방시키는 수의사  
임으로 안티펜을 처방한다”고.....



수의사의 권위와 품위를 존중하는  
주식 과학축산  
수신지부담 080-023-2361  
전화서비스

