

특집/백신과 예방접종 ④

새로운 백신(Vaccine)개발의 전망 —앞으로 어떤 백신이 등장할 것인가—

김 우 호

Vaccine 접종(인공적인 면역조작)의 목적은 동물에게 특이적인 면역응답(immune response)을 유기(誘起)시키는 것으로 병원체와 자연적으로 접촉하여도 그 동물은 질병(감염병)의 발생으로부터 방어가 되게 하는 것이다. 따라서 훌륭한 vaccine이란 그 제제가 면역원성(immunogenicity)은 있으나 명백한 임상증상 또는 정상상태에 역행하는 반응은 나타내지 않으면서 면역지속기간은 긴 것이라고 할 수 있다.

일찍이 Pasteur가 가금 cholera의 병원균인 *Pasteur-ella multocida*를 배양한 후 수주일간 방치하여 두었다가 닭에 접종하였던 바 증상을 나타내기는 하였으나 회복되었고 재차 이 닭에 병원성이 있는 같은 균종을 감염시켜도 발병하지 않음을 발견하고 이 약독화(弱毒化; attenuated)된 균을 vaccine이라고 칭한 이래 vaccine에 관한 연구개발은 별로 진전이 없었다. 그러나 분자생물학의 등장으로 vaccine의 연구를 지탱하는 면역학, 미생물학, 원충학 등이 분자수준에서 해명되게끔 됨으로써 vaccine의 연구개발도 현저하게 촉진되었다. 따라서 vaccine의 개념도 Pasteur가 칭하였던 것과는 크게 변화하게 되었으며, 오늘날에는 면역계를 인위적으로 제어(制御)하는

분자설계도 가능하게끔 되어가고 있다. 그리하여 면역학과 미생물학의 현상을 발판으로 하여 앞으로 등장하게 될 새로운 vaccine에 관해서 생각해보기로 한다.

1. 항원제시기구(抗原提示機構)의 새로운 개념

A. 외래성 항원 :

불활화 virus와 같은 외래성 항원의 항원제시기구는 macrophage(MΦ; 大食細胞), B세포와 같은 한정된 항원제세포(APC)내에서 amino산 16개 전후로 분해되어 MHC(主要組織適合遺傳子複合體) class II 분자와 결합하여 세포표면에 제시된다. 그리고 이 세포표면에 제시된 peptide와 class II MHC복합체를 CD4⁺ helper T세포(Th)의 TCR(T cell receptor)가 인식하여 항체산생응답이 유도된다(그림 1). 이 과정을 더 자세히 살펴보면 endocytosis에 의해서 APC에 취입된 외래성항원은 세포내에서의 endosome의 이동과정에서 pH가 서서히 강하하고 endosome내의 갖가지 protease가 그 기능을 발휘하여 class II MHC분자에 결합가능한 동인(動因)을 지닌 peptide로 한정분해된다. 이 동인은 peptide의 C 말단의 3~4개 amino산에 있으며, 이 부분이 class

* 파천연구소(대전 대덕연구단지내)

II MHC분자와 결합하여 그것으로 부터 N말단부위에 걸치는 구조에 대응하는 항체를 산생한다. 한편 소포체(細胞質網狀構造; endoplasmic reticulum)내에서 만들어진 class II MHC분자는 invariant쇄(Ii)에서 peptide결합부위를 덮어씌워진 채로 Golgi장치를 거쳐 peptide가 존재하는 endosome으로 운반된다.

이들 class II MHC함유소포체(class II-containing vesicle : CIIV)로 이동하고 그간에 Ii가 분해되어 peptide결합부위가 노출됨으로써 한정분해된 peptide와 결합하는 것으로 추정되고 있다.

B. 내재성 항원 :

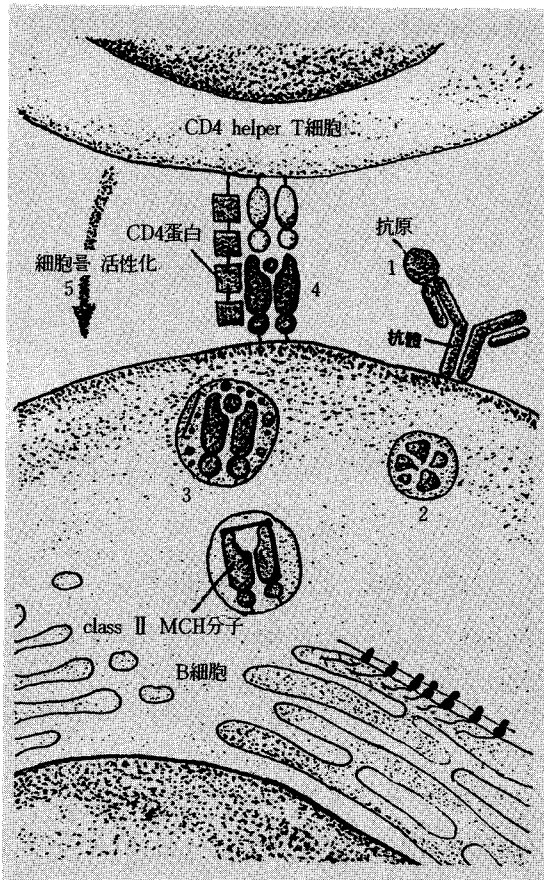


그림 1. 외재성항원의 제시기구.

B세포 표면의 항체는 B세포 receptor으로써 작동한다. 항체는 혈류중의 외재성항원을 발견하면 그것과 결합(1)하고, 세포내의 소포에 보낸다. 항원은 peptide로 분해된다(2). 소포체내에서 만들어진 class II MHC분자는 소포에 이행하여 peptide와 결합한다(3). MHC분자는 peptide를 세포표면까지 운반한다(4). CD4 helper T세포(Th)는 항원과 결합하며, B세포가 증식하여 항체를 생산하게끔 촉진한다(5)(액성면역).

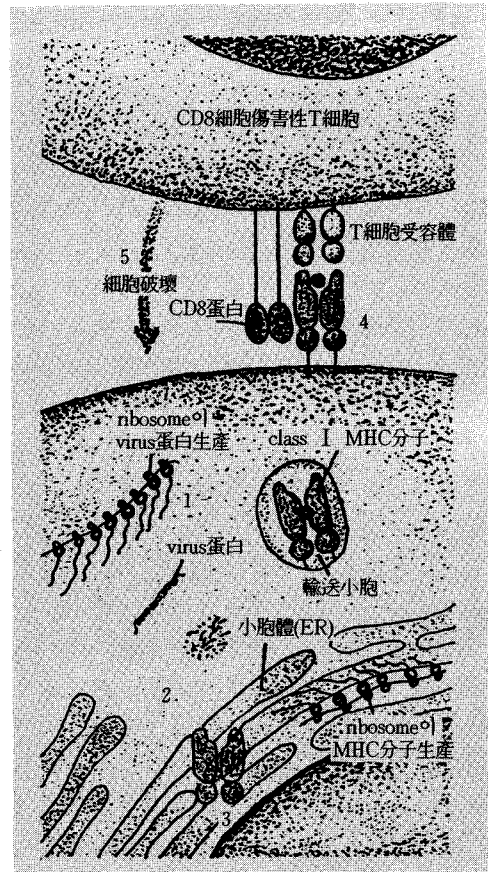


그림 2. 내재성항원의 제시기구.

감염세포에 의해서 virus단백질(1)은 peptide로 분해된다(2). Peptide는 소포체에 취입되며 그곳에서 class I MHC분자가 peptide의 주위에 형성된다(3). 각각의 복합체는 세포표면에 이행하며, CD8단백질을 발현하는 세포상형성 T세포(Tc)에 의해서 인식된다(4). 뒤이어 Tc세포는 감염세포를 파괴하는 화학물질을 분비한다(5)(세포성면역).

숙주의 세포내에서 증식하는 virus 등이 세포내에서 생산하는 단백질 즉, 내재성항원은 생체의 모든 유핵세포에 존재하는 class I MHC분자와 결합가능한 peptide로, 세포질의 protease계에 의해서 처리된다. MHC class I은 45kD의 α 쇄와, MHC와는 연쇄하지 않는 12kD의 β_2 microglobulin이 공유결합(共有結合)하여 세포막표면에 발현하는 단백질이다. 이중 α 쇄를 구성하는 $\alpha 1$, $\alpha 2$ domain이 만들어내는 입체구조의 구상구조(溝狀構造; groove)에 amino산 9개 전후의 peptide로 분해된 내재성 항원이 결합한다. 그리하여 이 MHC class I과 peptide의 복합체가 세포표면에 제시되어 이 복합체를 CD8⁺ 세포상해성 T세포(Tc)의 TCR가 인식하고 이 세포를 죽인다(그림 2).

세포내에서 산생된 내재성항원이 peptide로 분해되어 class I MHC와 복합체를 형성하기 까지의 과정에서 생산된 내재성항원은 LMP 2 및 LMP 7이라고 하는 다기능성의 protease에 의해서 분해되어 transporter인 TAP(transporter associated with antigen processing)에 의해서 세포질로 부터 소포체내강에 수송된다. 이때 내재성항원은 LMP 2 및 LMP 7에 의해서 amino산 9개 전후로 한정분해되며, 분해된 peptide에는 N말단 혹은 C말단부근에 class I MHC분자와 결합하는 peptide에 공통적인 amino산이 존재한다는 것이 시현됨으로써 이것을 MHC class I 결합동인으로 호칭하고 있다. 또한 이 peptide를 세포질로 부터 소포체내강으로 수송하는 TAP system에도 peptide 배열에 특이성이 있다는 것이 나타났으며 내재성항원의 proteasome에 의한 분해, TAP에 의한 수송의 수준에서 면역응답의 선택이 행해지고 있음을 나타낸다.

2. 미생물학의 진전현황

분자생물학의 등장으로 virus는 연이어 핵산의 염기배열이 밝혀졌으며, 감염방어에 관여하는 막단백질의 amino산 배열도 결정되게 되었다. 한편에서는 전술한 바와 같이 항원의 제시기구를 거쳐 산생되는

항체, 그것도 단일의 epitope(抗原決定基)에 대한 monoclon 항체(MAb)의 생산기술과 단백질의 합성기술이 서로 어울려, 갖가지 미생물에 대해서 감염방어에 관여하는 단백질의 B세포 epitope, T세포 epitope가 밝혀지고 있다.

또한 virus의 핵산에 대해서는 70년대 종반에 papillomavirus의 정제 DNA가 세포에 취입되어 복제된다는 것이 밝혀졌으며, 뒤이어 B형 간염virus(Hepadnaviridae)의 clone화된 DNA가 chimpanzee 원숭이에게 접종되면 간염을 야기시킨다는 것이 보고됨으로써 유전자인 DNA를 직접 접종하여 이 유전자를 coding하는 단백질을 산생시킴으로써 vaccine으로 이용될 가능성을 보여주고 있다(DNA vaccine 또는 핵산 vaccine).

3. 앞으로 등장하게 될 새로운 Vaccine

위에서 말한 바와 같이 면역학 및 미생물학의 진전현황으로 부터도 추측할 수 있듯이, 각종 미생물이나 원충에 대해서 밝혀진 B세포 epitope와 T세포 epitope를 여하히 효율 좋게 항원제시기구에 끌어들이느냐가 유효하고 안전한 vaccine을 개발하는데 있어 중요하다는 것을 알게 될 것이다.

A. 핵산 Vaccine 또는 DNA Vaccine

Polyomavirus의 DNA가 세포속에 취입되어 전사(轉寫)된다는 사실에 의거하여 유전자치료의 수단으로써 virus DNA의 일부 및 세균의 plasmid(本染色體外的 環狀遺傳子)를 개조시킨 것에 필요한 표적유전자를 삽입시켜 증식시킨 다음, 이것(recombinant plasmid DNA)들을 추출하여 근육내 또는 피내에 접종하는 기술이 진전되고 있다(핵산(DNA) vaccine에 대한 국제회의가 작년 5월 WHO 주관으로 Geneva에서 개최된 것을 필두로 금년들어 2월, 3월에 미국의 수도부근에서 DNA vaccine에 관한 주제를 포함시킨 국제학술대회가 개최된 바 있음). 이 기법은 유전자치료 뿐만아니라 vaccine으로도 유효한 기술로 기대되고 있다.

이와같이 독립적으로 복제, 전사되는 plasmid DNA는 그 속에 필요한 유전자를 삽입해두면 근육 내에서 전사되며(생체내에서 복제되지 않음) 필요한 단백질이 산생되어 항원제시기구를 거쳐 세포상해성 T세포(Tc)를 유도함과 동시에 CD4⁺ helper T세포(Th)도 자극하여 특이적인 항체도 산생시킨다는 것이다. 이것을 핵산 또는 DNA vaccine이라고 하며, 종래의 약독화 vaccine 혹은 subunit vaccine에 유사한 것으로써 과분한 유전자를 제거하고 있어 더욱 안전성이 높은 vaccine이라고 할 수 있다. 더구나 가장 효과적인 DNA 면역조작법은 gene gun(바늘이 없는 遺傳子銃)을 사용하여 표적 DNA가 coating된 gold bead(金粒子)를 표피(表皮)속으로 사입(射入)시키는 방법인 것이다. 또한 이 DNA vaccine의 이점은 보존성이 우수하다는 것과 장기간에 걸쳐 DNA의 전사가 있는 것으로 미루어 면역의 지속도 장기간에 걸치는 것으로 생각되고 있다.

그러나 DNA vaccine의 실제사용에 있어 세포내에 도입된 DNA가 숙주유전자의 일부 예컨대, 암유전자(oncogene)에 작용하여 세포를 암화(癌化)시키거나, 항DNA항체를 형성시켜 SEL(全身性紅斑性狼瘡)과 같은 자기면역병을 발생시키거나 또는 외래항원의 지속적 발현에 의한 면역관용(immune tolerance)과 같은 부적절한 결과를 초래할 가능성 등의 문제점이 해결되지 않으면 안될 것이다. 어쩌면 DNA vaccine의 개발과 실제사용은 사람쪽 보다도 동물(수의)쪽이 더 수월하게 이루어질 가능성이 있다고 보겠다.

B. Peptide vaccine ;

전술한 항원제시기구를 효과적으로 이용하여 연구가 진전되고 있는 것중 새로운 항원기술의 한가지가 합성 peptide vaccine이라고 할 수 있다. 이것은 항원제시기구 중에서 MHC에 결합하는 부위 즉, agretope(MHC 분자에 대한 結合部位)의 amino산 배열에 일정한 motif가 존재한다는 것을 이용하여 이 agretope속에 필요로 하는 epitope(抗原決定基, TCR에 대한 결합부위)를 끼워넣어서 항원제시의 효율을

높인다는 것이다. 이 cassette vaccine에 대해서는 비둘기의 cytochrome C상에 존재하는 agretope에 influenza virus의 항원제시의 효율을 높인다는 소위 cassette설에 근거한 vaccine이라고 할 수 있다(그림 3).

이 cassette vaccine에 대해서는 비둘기의 cytochrome C상에 존재하는 agretope에 influenza virus의 HA상의 epitope를 결합시킨 hybrid peptide가 A^b mouse의 Th세포를 자극하여 항체산생을 유도한다는 것이다. 이와같은 MHC에 결합하는 motif를 이용한 vaccine의 연구에서는 allotype(種族內抗原)의 상이함에 따라 그 motif도 다르게 된다는 커다란 장애가 있으며 또한 항원제시기구로 까지 이 vaccine을 전달하는 system의 개발도 필요하게 된다. 여하간에 이와같은 다양성을 갖는 MHC의 agretope와의 결합양식 등을 명백히 함으로써 peptide vaccine의 개발연구도 크게 진전될 것으로 기대된다.

C. Super항원 Hybrid분자를 결합시킨 Vaccine :

APC의 항원제시기구를 거쳐 세포표면에 MHC-항원 peptide 복합체의 형태로 제시되어 TCR에 인식되는 소위 MHC구속성(restricted)의 통상의 항원과는 상이한 superantigen(super抗原)이라는 것이 있다. 다시 말하여 super항원은 외래항원에 대한 통상적이며 주의깊게 조절된 응답을 야기하는 항원이 아니라 T세포의 대규모의 활성화를 일으켜 면역계를 bypass로 피하는 분자들인 것이다(그림 4). 예컨대, 황색포도구균(*Staphylococcus aureus*)이나 용혈성연쇄구균(hemolytic streptococci)이 산생하는 독소단백질 혹은 mouse 유암virus(MMV)의 LTR(long terminal repeat)중에 coding 되어 있는 단백질이 MHC의 구속성을 받는 일없이 MHC class II 분자의 groove(홈)의 외측과 TCR의 β 쇄의 V영역(可變領域)에 결합하여 T세포를 활성화하는 것이 바로 super항원이다. 이와같은 성질을 갖는 super항원과 virus감염세포표면에 출현하는 virus항원에 특이적인 monoclonal 항체(MAb)를 결합시켜 hybrid(雜種)분자를 작성함으로써 감염세포에 MAb가 결합하면 한쪽의 super항

원이 T세포와 결합하게 되어 병원체감염세포를 보다 효과적으로 파괴한다. 이 경우 감염세포를 종양(암)세포로 바꾸어 놓는다면 종양의 치료법으로도 유효하게 될 것이다. 이와같이 상이한 기능을 지는 분자를 결합시킨 vaccine의 연구도 외국에서 진전되어 가고 있다. Super항원은 또한 apoptosis(개체발생단계에서 유전적으로 program된 어떤 세포의 사멸)를 야기하는 것이 가능하다.

D. 세포내면역-antisense 핵산법 :

생체의 면역기구를 이용하여 미생물(병원체)의 증식을 억제하는 종래의 방어방법과는 전연 상이한 방법 즉, 세포내면역이라고 할 수 있는 antisense법(antisense藥劑; code blocker)이 virus의 감염방제법으로서 뿐만아니라 유전자치료, 암치료법의 응용으로써 그 연구가 진전되고 있다.

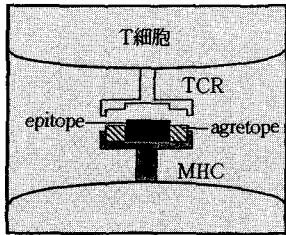
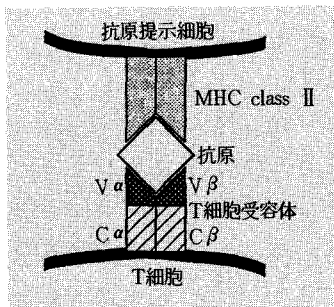


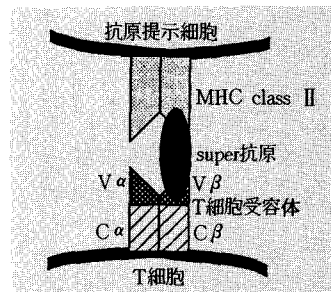
그림 3. Cassette설에 의한 vaccine의 원리.

Antisense핵산의 기본개념은 1970년대 후반에 출현하여 원핵세포(prokaryote)를 사용한 유전자의 발현 및 복제의 연구에 응용되어 왔다. Antisense핵산법의 원리(그림 5)는 세포내에서 증식하는 virus의 DNA가 전사되는 영역 혹은 RNA가 번역되는 영역(sense領域)에 결합시키는 분자로써 DNA 혹은 그 유도체(antisense분자)를 이용함으로써 virus의 세포내에서의 증식(복제)를 저지(沮止)하고자 하는 것이다. Antisense RNA조절의 특히 흥미로운 응용은 virus산생의 상보적(相補的) mRNA매개에 의한 저지이다. micRNA(mRNA-interfering complementary RNA)-면역계와 같은 system은 virus RNA에 대한 micRNA를 산생하기 위한 세포의 능력으로 특성화하여 virus message의 번역을 간섭하는 것이다. Virus의 세포내에서의 증식을 억제하는 인자로서는 antisense핵산 외에 DNA결합단백 혹은 virus단백의 transdominant mutant 등이 알려져 있다. 이와같은 방법을 세포내면역조작(intracellular immunization)이라고 하는데 1988년 Baltimore에 의해서 명명된 개념으로써 사람에게 있어서는 주로 HIV감염에 대한 유전자치료법, 수의학영역에서는 유전자치료보다도 항병성품종의 개발을 목적으로 하는 분자유종법의 응용에 기대를 걸었다.

그러나 이 방법에 있어서는 antisense분자를 작성하는 데에는 대상유전자의 염기배열(base sequence)이 특이적이며, nuclease에 대해서 내성(耐性)적이



항원제시의 정상기구
(다만 적은 수의 항원특이적 T세포 clone이 반응함)



Super항원의 정상적 항원제시기구의 회피(short-circuit)
(많은 T세포 clone(전체집단의 약 20%)이 활성화됨)

그림 4. Super항원의 작용기구(가설).

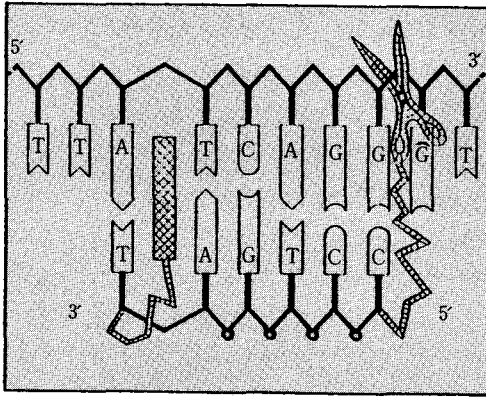


그림 5. 수정된 antisense RNA 및 DNA(oligodeoxynucleotide)의 모식도.

중간짜기제제 (intercalating agent) [그물모양의 box]는 핵산가닥의 잡종형성을 안정화시킴. 가위모양 그림은 표적배열의 불가역(不可逆)적 수정을 야기시키는 개열제제(開裂製劑)를 나타냄. 인산-당 골격은 핵산 분해효소(nuclease)에 저항하는 oligonucleotide를 만들게끔 수정됨.

고 또한 무독(無毒)해야 하는 등 갖가지 조건이 충족되지 않으면 안된다. 그리고 세포내의 일정부위에 전달하는 system의 개발도 필수적인 과제이다.

E. 기타:

근년에 이르러 경구(經口)용 vaccine의 개발을 위한 경구면역조작과 그와 관련한 일반점막면역계(common mucosal immune system; CMIS)의 연구도 외국에서는 활발히 진행되고 있다. 소화관을 중심으로 한 점막면역은 지금까지 잘 알지 못하였던 새로운 연구영역인 것이다. 즉, 점막면역은 면역학의 새로운 세계라고 할 수 있다. 사실 많은 감염병원체는 갖가지 기관의 표면을 덮는 점막(전체 피부면적의 200배 이상이라고 함)을 통해서 생체내로 침입한다. 따라서 CMIS는 감염방어에 중요한 역할을 담당하는 것으로(제 1차적 방어), 점막에서 분비된 S-IgA는 점막의 고유층(lamina propria; LP)의 B세포에 의해서 J chain을 함유하는 dimer(2量體)로 합성되며 상피세포를 거쳐 분비될 때 SC(secretory component;

分泌成分)와 결합한 2량체가 되는 것이다.

점막면역계(CMIS)의 특징의 한가지는 면역조절 기능을 지니는 것으로 경구적으로 투여된 항원은 국소적인 면역응답을 야기하나 산생된 S-IgA(분비형 IgA 항체)는 전신의 점막계에 분포하게 되다. 즉, 병원체가 침입하면 특이적인 S-IgA산생전구세포로 분화되어 침입국소 뿐만아니라 혈류를 따라 전신의 점막부위에 파종(播種)되어 전구 B세포는 형질세포(plasma cell)로 분화되어 S-IgA를 산생하게 되는 것이다.

사람의 경우 신생아에서는 점막면역기구가 성숙할 때까지 주로 모유속의 S-IgA가 장관점막상피세포의 미용모(微絨毛)표면을 점막과 더불어 덮여있어서 수동면역의 형태로 항원특이적인 점막장벽(mucosal barrier)을 형성하여 항원의 흡수(침입)를 제어하는 것이다. 또한 lactoferrin이 결합하여 강력한 항균작용을 발휘한다. 신생아의 경우 초유중에는 12mg/ml의 S-IgA, 60mg/ml의 lactoferrin을 함유하고 있으며, 모유중의 IgG는 소화되는 일없이 혈중으로 수송되어 신생아의 전신면역기구에 있어서 수동면역기능을 수행한다.

현재 경구용 재조합 생vaccine (recombinant live vaccine)을 위한 carrier로서는 약독화 Salmonella균, BCG 및 adenovirus vector 등 그리고 복제되지 않는 항원전달계(nonreplicating antigen delivery system)로서는 cholera toxin(CT)과 CT B subunit, microcapsule, liposome, ISCOM 및 lectin분자 등이 이용되어 연구가 진행되고 있다.

또한 경구용(oral) vaccine의 연구에 있어서는 식이(食餌)항원에 의한 면역을 조절하는데 관여하는 oral tolerance(經口免疫寛容; 경구적으로 투여된 항원에 대해서 특이적으로 T세포의 기능 및 항체의 산생이 억제되는 현상)의 분야도 앞으로 개척해야 할 새로운 과제인 것이다.

1970년대에 분자 cloning기법의 출현으로 이종(異種)원천으로 부터의 유전자의 발현을 위한 virus의 조작능력이 발전되었다. 처음에는 papovavirus(예: SV40) 및 papillomavirus(예: 소乳頭腫 virus)가 외래

유전자 발현의 cassette로 연구되었으나 그후 DNA virus인 poxvirus, adenovirus, herpesvirus 및 곤충의 baculovirus 등과 RNA virus인 retrovirus 등이 재조합 vaccine vector로 개발되었다. 그중에서도 유전자 재조합 생vaccine(recombinant live vaccine; vector依存 vaccine) vector의 연구로는 poxvirus 특히 vaccinia(種痘疹) virus와 조류(鳥類) poxvirus가 가장 많이 연구되고 있다. 최근에는 Paoletti 등에 의해서 2가지의 고도로 약독화된 poxvirus vector가 개발되었는데 그 한가지는 한 vaccinia virus주에서 virulence(毒力) 및 숙주역에 연관된 18개의 내재성 ORF를 삭제한 "NYVAC"이며, 다른 한가지는 canarypoxvirus vector인 "ALVAC"이다. "ALVAC"은 그 virus복제가 조류에만 한정되고 있으나 "ALVAC" 재조합체는 포유류에 접종되었을 때에도 삽입된 외래유전자가 발현되고 방어면역의 유발된다는 매우 유리한 점

을 지니고 있는 것이다. 그러나 이들 vaccine vector는 아직 실용화되지 못하고 있다.

4. 결 언

금후 등장할 새로운 vaccine에는 사람에게 있어서 특히 예방이나 치료법의 해결이 어려운 후천성 면역 결핍증후군(AIDS)이나 암 등에 관한 것이 많이 연구되고 있으나 우리들이 대상으로 하는 가축이나 애완동물에 대해서는 vaccine의 경제성의 문제로 그 연구가 그리 진전되지 못하고 있다. 그러나 지금까지의 vaccine의 연구 및 개발이 다분히 경험주의적이었던 것이 분자생물학의 진전에 따라 분자수준으로 감염방어에 관한 문제를 이해하게끔 됨으로써 보다 과학적이며 합리적인 방법으로 전개되어 갈 것으로 기대된다.

참 고 문 헌

1. Roitt IM, Delves PJ : Encyclopedia of Immunology, Vol. 1~3. Academic Press, NY. 1992.
2. Ogra PL, et al : Handbook of Mucosal Immunology, Academic Press, NY. 1994.
3. O'Hagan DT : Novel Delivery Systems for Oral Vaccines. CRC Press, Boca Raton. 1994.
4. IBC USA Conferences : Proc. "Vaccine : Technologies & Applications". Feb. 13~15, 1995. Bethesda, MD.
5. IBC USA Conferences : Proc. "Gene Therapy & Nucleic Acid Vaccination Strategies". Feb 16~17, 1995. Bethesda, MD.
6. CHI : Proc. 3rd Annual "Vaccines : New Technologies & Applications". March 20~22, Alexandria, Virginia.
7. Vaccine, Vol. 12, No. 16, 1994, "Nucleic Acid Vaccine" (Conference Report by WHO at May 17~18, 1994). Geneva, Switzerland.
8. Chicz R, Urban GR : Immunology Today. 15 : 155~160, 1994.
9. Cohen SJ, Hogan EM : Scientific American. 271 : 50~55, 1994.
10. Monaco JJ : Immunology Today. 13 : 173~179, 1992.
11. Naruse H, et al : Vaccine 12 : 776~782, 1994.
12. Neefjes JJ, Ploegh LH : Immunology Today. 13 : 179~184, 1992.
13. Schodel F, et al : Vaccine 12 : 1491~1492, 1994.
14. Steward MW & Howar CR : Immunology Today. 8 : 51~58, 1987.
15. 金字鎬 : 經口免疫操作과 一般粘膜免疫系. 대한수의사회지. 제30권 제12호. 1994년. p710~728.