

특집 : AIDS 연구의 최첨단(I)

HIV/AIDS의 기원과 진화 및 그 유전자 발현 조절 관련 치료제의 개발

송방호, 허노준, 김사열

경북대학교 생물교육과

전 세계에 AIDS (후천성 면역결핍증후군, acquired immune deficiency syndrome) 감염자는 현재 4,700만명에 이르고 있으며 그 가운데 1,400만명이 이미 희생자가 되었고, 작년 한해에만 250만명의 새로운 감염자가 생겨나 여러 가지 질환 중 희생자가 네 번째로 많은 질병이 되었다. AIDS는 HIV (Human immunodeficiency virus)에 의해 야기되는 면역계의 질병으로 만성적 신경성질환을 수반하여 유발되며 그 본체가 RNA이기 때문에 역전사효소(RT, reverse transcriptase)가 HIV의 증식에 필수적인 것이어서 이 RT의 기능을 특이적으로 저해하므로써 HIV genome의 숙주염색체에의 통합을 억제하는 방법이 그 방어대책의 중심이 되어왔으나, 최근 protease 저해제, 백신 개발에 의한 면역 항체요법, 생체내에서 HIV virus를 선택적으로 공격하는 미사일요법 등이 개발되고 있다. 본보에서는 HIV/AIDS란 무엇이며 HIV는 어떻게 전염되고 누가 어떻게 감염되며 어떻게 막을 수 있는가에 대한 기본 지식을 기술하고, 이에 대한 항 HIV제제 개발의 새로운 전략을 유전자 발현 조절측면에서 고찰하고자 한다.

HIV 및 AIDS란? 그 기본적인 개념

AIDS는 기회주의적 감염을 유발

AIDS는 HIV라는 바이러스에 의해 발생하는 면역계의 질환이다. 면역계는 질병에 의해 기능이 상실되면 인체를 보호하는 기능이 상실되어 암에 걸리게 되거나 때로는 죽음에 이르게 된다. AIDS는 생체의 방어능력을 약화시키기 때문에 기회주의적 감염(opportunistic infections)이라고도 불리는데 “AIDS에 걸려 죽었다”란 말은 아주 정확하다고는 할 수 없다. 왜냐하면 실제로 사람을 죽음에 이르게 하는 질병은 기회주의적 감염들에 의한 경우이며 AIDS는 이 감염의 원인이 되기 때문이다. 그러나, 1) AIDS는 예방 가능하고, 2) AIDS는 쉽게 감염되지 않으며, 3) 약간의 조심으로 예방될 수 있다. 라는 점이 중요하다.

HIV의 감염 및 그 방어 대책

HIV는 인체 외부에서는 생존할 수 없는 연약한 바이러스이므로 환자와 같이 접시나 식기를 쓰거나, 좌변기 시트에 앉거

나 하여도 감염되지는 않는다. 하지만 한번 HIV가 인체에 감염되면, 7-10년간에 걸쳐 “숨어” 있게 된다. 그렇기 때문에 아주 건강해 보이는 사람들이 자각하지도 못하면서 바이러스에 감염될 수도 있으며, 다른 이들에게 전파할 수도 있다. 아직 이 바이러스에 감염된 사람들의 몇 퍼센트가 AIDS로 진행하는지는 모르나, HIV에 감염된 많은 사람들이 바이러스와 함께 오랫동안 살고 있으며, 당뇨와 같이 다룰 수 있는 만성적인 질병이 될지도 모른다.

HIV는 피, 정액, 질 분비물, 모유등과 같은 체액을 통해서만 전염되거나 침, 눈물, 또는 땀을 통해서만 전염되지 않는다. 이는 점액층(mucous membranes, 직장, 질 벽, 또는 입과 목구멍의 내면) 또는 혈류와의 직접적 접촉을 통해 인체 내에 침입하나, 피부의 상처로 인하여 다른 사람의 체액이 혈류내에 침입하지 않는 한은 피부로는 침입하지 못한다. 또, 기침이나 재채기를 통해 공기중으로는 전염되지 않기 때문에 일상적 접촉으로는 절대적으로 감염되지 않는다.

HIV는 남자 동성애자(gay), 여자 동성애자(lesbian), 이성애자(heterosexual), 그리고 양성애자(bisexuals)들을 감염시켰다. 또 모든 인종, 국적, 나이의 사람들에서 골고루 감염되고 있으며, 미국에서는 남성동성연애자들이, 아프리카에서는 이성애자들이 압도적으로 우세하게 감염된다.

이 바이러스는 체액에 의해 전염되기 때문에, 라텍스(latex) 콘돔(고무)을 사용하면 감염을 막을 수 있다. 양가죽(lambskin)과 다른 “생체막(natural membrane)” 콘돔들은 라텍스만큼 좋지 않아 HIV가 투과할 수도 있다. Spermicidal(정자-죽이는) 윤활유 특히 nonoxynol-9을 함유한 제품들은, 콘돔과 같이 사용하면 훨씬 효과적이다. Oral섹스로도 HIV를 감염시킬 수 있으며 이때는 dental dam이나, 플라스틱 랩을 사용할 수도 있으나 절대로 이들을 재사용하지는 말아야 하며 이들 막에서 HIV가 투과할런지도 모른다. “높은 위험의 그룹(high-risk groups)”의 사람들 즉, 보호되지 않은 채, 즉 라텍스나 콘돔 없이 감염된 사람과 anal또는 vaginal섹스를 하는 그룹은 HIV에 걸리는 확률이 높으며 감염된 사람과 주사바늘을 같이 쓰거나 살균되지 않은 주사바늘로 어떤 물질을 주입하는 것은 가장 직접적인 감염원이 된다.

미국에서는 IV약물 사용자(IV drug user)와 주사바늘이나,

기구(works)나 요리 도구를 절대로 같이 써서는 안 되는 것으로 금지되어 있으며 깨끗한 주사바늘을 제공함으로써 약물 중독자가 HIV에 걸리는 것을 막고 있는 것이다. 미국에서의 수혈은 절대적으로 안전하다. 피를 뽑는 주사 바늘은 살균되었고 날개로 포장되었으며, 사용 후에는 파괴하도록 되어 있기 때문에 수혈과정에서 감염되기는 거의 불가능에 가깝다. 태아감염에서 바이러스는 출생 이전 또는 출생시, 또는 모유를 먹일 때 자식에게 전염될 수 있다. 신체를 건강한 상태로 유지하면 면역계가 강화되며, 다이어트, 휴식, 스트레스, 등은 건강에 영향을 미칠 수 있다.

HIV질병에 걸린 사람들은 죽음을 기다리는 사람들이 아니고 그 질병과 함께 살며 계속해서 사회에 공헌할 수 있다. 그들은 "희생자"가 아니고 다만 HIV 질병과 함께 하는 사람들로써 규정되고 있으며, HIV에 감염된 사람에게는 친구가 되어 주면서 HIV와 AIDS에 대한 진실을 전달하여야 하며, 감염자들에게 대한 차별에 대해 개인적, 또는 사회적으로 맞서 싸우도록 노력하여야 한다. 지역의 AIDS기구에서 자원 봉사하거나, 기부를 하도록 유도하여야 하며 모두 HIV의 전파를 정지시키는 데 그 역할을 담당하여야 한다. HIV환자의 경우 국내에서는 대한 에이즈 예방협회 또는 대한 에이즈 퇴치협회가 있으며 미국에서는 GMHC Hotline이 있어서 상담에 응하고 있다[25].

HIV : 그 기원과 진화

HIV의 계통과 진화

HIV는 Retrovirus의 일종으로서 역전사효소의 높은 에너지를 때문에 숙주 genome에 비해 약 100만배 정도 초고속으로 진화한다[14]. 바이러스 계통간의 분자계통수에서 에이즈 바이러스는 retrovirus의 lentivirus아과에 속한다. 사람의 HIV와 원숭이의 SIV는 공통의 선조로부터 약 150-200년전에 나누어졌고, HIV는 다시 HIV-1과 HIV-2로 나누어진 것으로 추측된다.

사람 이외의 동물에서도 HIV와 아주 닮은 바이러스가 있다. HIV가 어떠한 종류며 AIDS 관련 바이러스와 어떠한 계통관계가 있는가를 알기 위하여 바이러스 유전자의 염기배열이나 아미노산 배열의 data를 분자진화학적 수법으로 해석하였던 바, HIV는 retrovirus 가운데 감염증의 진전이 늦은 lentivirus 아과, 암을 유발하는 oncovirus아과, fomyvirus로 알려진 spermavirus아과 가운데 lentivirus아과였음이 확인되었다[23]. Retrovirus는 *gag*, *pol*, *env* 등의 유전자가 있어서 각각 core단백질, 역전사효소, 외피단백질을 code하며, 바이러스의 복제효율이나 전사과정을 조절하는 제어유전자들도 있다[2]. Retrovirus는 숙주세포에 감염시 외피막을 벗어버리고 genome RNA, core단백질, 역전사효소등이 세포내에 들어간 후 게놈 RNA는 역전사효소에 의해서 DNA로 바뀌어져 이분체로 된 후 숙주 세포의 게놈 DNA에 삽입된다. 삽입된 바이

Table 1. HIV-1 염기치환속도[23]

유전자	염기치환속도(X10 ⁻³ /부위/년)	
	동위좌위	비동위좌위
<i>gag</i>	13.08(6.8-26.0)	3.92(0.5-12.3)
<i>env</i>	15.8693(5-30.5)	8.85(3.9-19.7)

러스의 게놈 DNA(Provirus)는 숙주세포의 단백질 합성계에 의해서 전사, 번역되어 바이러스 입자를 구축하는데 필요한 단백질과 바이러스 RNA genome을 합성하여 세포막 부근에서 새로운 자손 바이러스 입자들이 조립된 후 방출된다.

전 genome의 염기치환을 아미노산이 치환되지 않는 동의치환과 치환되는 비동의치환으로 나누어 속도를 계산하면 그 평균치가 각각 10.3×10^{-3} /부위/년과 3.9×10^{-3} /부위/년이 된다. 유전자 산물이 기능적 제약을 받고 있을 경우 동의치환이 비동의치환보다 그 속도가 더 빠르게 나타나는데 HIV-1의 *gag* 유전자와 *env*유전자 사이에서의 염기치환속도를 보면 동의좌위에서는 거의 유사하나, 비동의좌위에서는 *env*유전자쪽이 *gag*유전자보다도 높은 값을 나타냄을 알 수 있었다(Table 1). 이는 외피막 단백질의 아미노산배열이 더 쉽게 변화되었다는 의미로써 백신의 개발이 얼마나 어려운가를 짐작하게 한다. *env*유전자에 의해 코드되는 외피막 단백질가운데 계통간의 변이가 높은 빈도로 나타나는 V3 loop영역의 경우 그 치환속도를 추정하면 동의치환속도가 9.5×10^{-3} /부위/년, 비동의치환속도가 11.4×10^{-3} /부위/년으로써 V3 loop가 적응적인 진화를 하면서 항원결정기로서의 기능이 충분히 있음을 알 수 있다.

HIV의 계통관계

HIV가 다른 retrovirus들과 어떤 계통관계가 있는가를 *pol* 유전자의 아미노산배열 비교에서 해석한 결과 HIV의 각 계통은 하나의 그룹에 포함되며, retrovirus의 대부분은 oncovirus족과 lentivirus족으로 대별되는데 그 가운데 HIV는 oncovirus족 보다도 lentivirus족에 더 가깝다는 사실이 밝혀졌다.

HIV에는 genome구조가 조금 다른 HIV-1형과 HIV-2형이 있다. HIV-1은 구미를 비롯하여 거의 전세계적으로 또 HIV-2는 주로 서아프리카에 널리 분포한다. 또 HIV와 닮은 SIV(simian immunodeficiency virus)는 mandrill, sooty mangabey, African green monkey, rhesus macaques, chimpanzee 등에서 발견되어 각각 SIV_{mnd}, SIV_{sm}, SIV_{agm}, SIV_{mac}, SIV_{cpz} 등으로 불리워진다. 아프리카에서 HIV의 감염율이 높다는 HIV-2에 닮은 SIV가 존재함은 아프리카에서 HIV의 선조가 원숭이로부터 사람에게 감염한 것이 아닌가를 추측하겠끔 한다. HIV와 SIV의 분자계통수를 5영역 즉, 3' LTR, *gag*, *pol*, *env*, *nef* 등에서 작성하면, *gag*유전자의 염기배열 분석에서 HIV, SIV의 선조는 거의 동시기에 SIV_{mnd}, SIV_{agm} HIV-2/SIV_{sm}/SIV_{mac}, HIV-1/SIV_{cpz} 등의 4가지의 그룹으로 나

누어졌으며 그 시기는 약 150-200년 전으로 추정되었고, HIV-1과 SIV_{cpz}, HIV-2와 SIV_{sm}의 분지는 각각 약 30년전으로 추정되었다. HIV-1이 모두 병원성임에 비해 HIV-2와 SIV_{sm} 및 SIV_{mac}는 병원성 및 비병원성이 혼재하고 있다. 서 아프리카의 어떤 건강한 농부의 HIV-2가 지금까지 보고된 HIV-2 보다도 SIV_{sm}에 더 닮은 점에서 HIV-2, SIV_{sm}, SIV_{mac}는 다양성이 높은 하나의 그룹에 속하는 것으로 추정되었다. 또 야생의 스지이로만카베이의 서식지가 HIV-2의 전염지역이 일치하며, 이들의 약 10%가 SIV_{sm}에 감염해 있어 사람과의 접촉이 보고되어 있으며, 붉은털원숭이에는 병을 일으킨다는 점, 등에서 스지이로만카베이가 HIV를 사람에게 감염시키는 원인이 되었음을 추측하게 하였다. HIV의 직접적인 감염원에 대해서는 아프리카 야생원숭이의 SIV로 추측되나 그 확인과정에는 다소 반론도 있다.

HIV의 증식과 그 유전자의 발현기구

HIV의 증식과 AIDS의 병증

HIV 감염자에 있어서 면역학적 바이러스학적 연구는 주로 말초혈액이 대상이 되고 있으나 실제 림프구의 수가 전체 혈액의 2%에 지나지 않는 말초혈에 비해서 림프절에서는 훨씬 많은 CD4⁺세포가 있어 HIV 감염율이 높으며, 휴지기의 CD4⁺T세포 가운데 약 0.5%가 재조합이 안된 HIV DNA를 보유하며 그 1/10정도는 환상 DNA로써 역전사되지 않는다[17]. 한편 숙주세포의 DNA에 삽입된 바이러스는 0.05%정도로써 그 대부분은 결손 바이러스이며 실제로 증식 가능한 바이러스(replication-competent virus)는 그 1/10 즉 0.005%에 지나지 않는다. 이와 같이 적은 바이러스가 그 숙주세포에서 에이즈를 일으키는 것은 생각하기 어려우나 한번 가속화되기 시작하면 한 개의 감염세포에서 10²~10⁴ 정도의 바이러스가 생산된다. 바이러스가 극히 적다는 점에서 유효한 병용요법이 개발된다면 에이즈의 치료가 가능하게 될 것이다[19].

HIV에 감염된 대부분의 사람의 혈청 중에는 바이러스가 10⁷/ml 이상으로 되나, 개인차가 크며, 어떤 인자가 어떻게 하여 이를 결정하는 가는 잘 알려져 있지 않다. 일반적으로 CTL(cytotoxic T lymphocytes)을 중심으로 하는 면역반응이 일어나면 바이러스 양은 100~1000단위로 저하하여 6개월 이상이 되면 불안정한 시기를 거쳐서 혈청 RNA의 양이 안정화된다. 그 바이러스 양이 안정한 상태를 set-point라 하는데 어떻게 안정화되는가는 감수성이 있는 CD4세포와 macrophage 수, 숙주의 면역력, 바이러스의 tropism과 증식성 등에 의해서 결정되는 것으로 생각되나 소아에서는 HIV RNA가 때때로 아주 높은 레벨까지 상승해서 쉽게 저하하지 않고 set-point에 달하는데 1년 이상이 걸리는 경우도 있다. HIV 감염후 높은 레벨의 set-point RNA를 나타내는 환자는 낮은 레벨의 set-

point를 나타내는 감염자에 비해 CD4세포가 보다 빨리 감소되면서 에이즈로 진행하며 먼저 사망하게 된다. Set-point에 달한 후는 비교적 안정한 RNA양을 나타내나 서서히 증가하여 발병기가 되면 급상승하게 된다[22].

항HIV제로 AIDS를 치료하면 2주간 이내에 혈장중의 RNA 양은 1/100정도로 저하하여, 2.3~3.1년 정도면 몸에서 배제될 수 있다[19]. 혈액중의 비리온의 반감기가 6시간 이하이므로 보통의 HIV 감염자에서 나타나는 안정한 혈장 RNA양을 유지하기 위해서는 매일 10⁹~10¹⁰의 바이러스가 생산되는 셈이 된다. 항 HIV제 처리시 대다수의 감염세포에서 바이러스가 생산되는 기간은 평균 2일정도이나 감염세포는 평균 1.25일에 파괴된다. 새로운 표적세포에서 자손바이러스를 만드는데 2.5일이 걸리므로 감염자에서는 년 140회 이상 바이러스 증폭이 일어나는 셈이 된다. 항 바이러스제 처리시 반감기가 약 8일인 활성화 감염 CD4⁺T세포에서는 초기의 2주간에 급속하게 감소하고 반감기가 약 2주간인 감염 macrophage에서는 바이러스가 그보다 훨씬 천천히 저하하며(8~28일) 이들은 약 1%에 지나지 않는다. 그러나 CD45RO⁺란 메모리 세포의 마크를 가진 CD4세포의 replication competent provirus는 1.4 × 10⁶/body에 지나지 않는다. 더욱이 이들 세포의 반감기는 22주가 되는 경우가 있어 바이러스의 감소가 2 hit가 아니고 3 hit curve로 일어나기도 한다.

가장 감도가 좋은 방법을 전혀 치료를 하지 않는 군에서 사용하면 처음부터 약 8주 이내에 바이러스 양이 검출한계 이하로 떨어진다. 3자 병용요법으로 치료한 경우는 16개월 이상에 걸쳐서 이 상태를 유지할 수 있다. 주로 말초혈액에 비해 림프절이나 뇌의 바이러스에 대해서는 아직 조사되어 있지 않았는데 혈액-뇌관문을 넘기 어려운 약물이 많은 현상에서 뇌가 성역으로서 바이러스의 증식을 막기는 어려워 약제의 투여 중지 시 뇌의 바이러스가 증식되었다는 보고는 있다.

바이러스의 RNA레벨은 CD4⁺T세포수나 P24항원 등과 비교하여 예후 판정이 가장 좋은 마커이다. 어떤 경우에 바이러스의 증식의 정도를 나타내는 RNA레벨은 저하함에도 불구하고 면역력의 정도를 나타내는 CD4⁺T세포수는 증가하지 않는 경우도 있었다. 따라서 RNA레벨과 CD4⁺T세포수를 동시에 측정하는 것이 가장 중요하다. 극히 효과적으로 바이러스 RNA레벨을 검출한계 이하로 조절하고 있는 3자 병용의 경우에도 많은 CD4⁺T 세포수가 기대될 만큼 증가하지 않음은 면역반응을 나타내는 세포클론은 한번 상실되면 회복이 불가능함을 의미하는 것으로써 무증후 carrier의 조기 치료가 얼마나 중요한가를 의미한다. 결국 면역 시스템의 장애가 일어나기 전에(clone이 남아있을 때에) 치료를 개시하여야 한다는 의미로 어느 정도 부작용이 적고 지속적으로 사용가능한 약제로써 조기치료를 하여야 한다는 것이다.

HIV의 생활사와 증식 저해

HIV는 RNA genome이 DNA (provirus)로 변환되어 숙주의 염색체에 삽입된 provirus DNA는 숙주세포의 전사, 번역 장치를 이용하여 바이러스 단백질이 생산된 후 증폭된 virus RNA와 조립 성숙과정을 거쳐 방출된다[20]. 즉, pro-virus의 전사단계에서 세포의 전사인자인 NF- κ B, 바이러스의 Tat 단백질, 전사후의 과정에서 바이러스 유래의 Rev 단백질 등이 작용하여 바이러스 구조단백과 genome RNA를 합성하므로써 바이러스가 증식된다. RNA를 주형으로 2분쇄 provirus를 합성할 때 역전사효소의 RNase 활성에 의해서 마이너스쇄 DNA의 주형이 된 virus RNA를 분해하면서 plus쇄 DNA를 구성하므로 1 copy의 virus genome RNA에서 1 copy의 provirus DNA만이 만들어지게 되며[5], 또한 전구체 단백질의 processing과정에서도 유전정보량은 증가되지 않는다.

이와 같이 유전정보량의 증가는 항 HIV요법의 표적이 되고 있는 역전사나 단백질의 processing과정에서는 일어나지 않으나 전사의 과정에서는 가능하다. 세포의 유전자가 전사된 mRNA는 단백질 합성에 사용된 후 분해되어 버리지만 virus RNA가 재감염된 세포에서는 provirus에서의 전사과정에서 유전자의 증폭이 일어날 수 있으므로 이 전사의 전단계인 역전사과정을 선택적으로 저해하면 세포내에 잠복하는 provirus의 증식을 봉쇄하여 장기간 감염자로부터 발증되지 않도록 할 수 있을 것이다.

HIV pro-virus LTR에서의 NF- κ B에 의한 전사조절

HIV provirus의 mRNA전사량은 LTR(long terminal repeat)의 특이적 DNA배열에 결합되는 전사인자들에 의하여 결정된다. 이들 전사인자에는 숙주세포의 유도형 전사인자 NF- κ B, 바이러스 유래의 Tat 전사인자, 숙주세포 유래 시그날에 의해서 활성이 유도되는 인자 등이 있다. HIV가 장기간 잠복 감염하는 단구 macrophage계 배양세포에서는 NF- κ B가 필수적으로 간주된다. 또 바이러스유래의 전사인자는 mRNA전사 개시부위(cap부위)의 바로 하류의 TAR(Trans-Activation - Response region)영역에 결합하는 전사활성화 인자 Tat가 있어서 바이러스 유전자가 mRNA로 될 때 형성되는 안정한 stem-loop구조의 buldge부분에 결합되면 여기에 세포의 다른 복수의 인자가 결합하여 전사의 증폭이 일어난다. Loop부분에 결합하는 단백질이나 stem부분에 결합하는 단백질은 모두 세포유래의 것이다.

한편 전사개시 반응의 방아쇠역할은 TATA box에 결합된 TATA결합단백 (TBP)이 관여한다. 이 box의 상류에 NF- κ B 등의 전사활성화인자가 결합하면 TBP의 TATA box에의 결합이 촉진되어, 전사량은 증가한다. 이때 보조활성화인자 (coactivator)인 p300/CBP이 NF- κ B에 결합하면 p300/CBP associated factor (P/CAF)가 추가 결합되어 복합체를 형성하

므로써 근방의 histone이 acetyl화 된다. 그 결과 nucleosome 구조의 변화를 유도하여 TBP등의 기초전사인자의 결합을 촉진하게 된다. 또한 co-activator는 TBP-TAFs(TBP-associated factors)복합체에 결합되어 안정화된 전사개시복합체를 형성하게 된다. TBP의 결합에 이어 숙주의 기초전사인자 TFIIB와 TFIIA가 결합하고 이어서 TFIIB는 TFIIF와 결합한다. TFIIF는 RNA polymeraseII와 결합하므로 TATAbox의 근방에 RNA polymerase가 결과적으로 도입되어 TFIIE와 TFIIH가 결합하게 되고 따라서 전사반응이 개시된다. 또 CHUK의 dominant negative 변이체가 TNF나 IL-1에서의 NF- κ B활성화 신호를 저해하면 CHUK는 I κ B α 와 직접 결합하게 되고, NIK존재하에서 CHUK에 의한 I κ B α 의 인산화가 cascade기구조로 촉진된다. 한편 NF- κ B, I κ B복합체에 serine kinase가 결합하여 p65 subunit의 인산화와 함께 NF- κ B를 I κ B로부터 유리시킨다[12].

또 산화환원반응이 signal을 전달하고 있음이 확인되었는데 TNF나 IL-1 receptor에서의 signal전달에 따르는 NF- κ B의 활성화가 항 산화제의 투여에 의해 저해된다. 항산화제로써 중화된 활성산소가 NF- κ B의 활성화와 작용과 thioredoxin(Trx)을 유도하므로 signal전달계에 mediator로써 존재한다고 생각된다. NF- κ B는 thioredoxin에 의해서 환원된 DNA와 결합하여 redox제어를 유발한다. Redox제어의 활성단은 Cys로써 NF- κ B와 Trx는 cys 잔기로 접근하며 1가 금속이온에 의해 산화됨으로써 그 DNA와의 결합이 저해된다.

이와같이 NF- κ B는 여러 가지 인산화 효소와 활성산소 및 Trx가 관여하는데 이 과정의 어느단계에서든 저해하면 잠복 감염하고 있는 HIV provirus증식을 억제할 수 있을 것이다.

HIV mRNA의 Tat 에 의한 전사개시 및 연장

Tat는 14kDa의 단백질으로써 HIV provirus의 전사를 선택적으로 증가시키는 작용을 갖고 있는 강력한 전사 활성화인자이다. 이 Tat가 존재시에는 RNA polymerase carboxy terminal domain(CTD)에 인산화가 일어나게 하여 그 활성을 증강시키며 부재시에는 RNA 합성효소가 도중에 이탈하게하여 RNA 합성이 중단된다. HIV의 mRNA의 5' 말단부위에 있는 TAR에는 Tat의 전사활성화에 필수적인 여러 가지 인자가 결합된다. 이들 인자로써는 CAK(cyclin-dependent kinase activating kinase), TAK(Tat-associated kinase), cdk7 등이 있다. CAK는 cak가 cyclin H, mat1과 결합된 복합체이며 Tat와 TAK결합의 가교역할을 하는 Tat/SF1도 분리되어 있다. 어느 경우든 인산화는 RNA polymeraseII의 CTD에서 일어나며 인산화에 의하여 RNA polymerase의 processibility가 증가한다. Tat 혹은 그 결합세포인자 TFIIB 혹은 TAFs은 전사의 개시 혹은 신장과정에서 결합인자를 연속적으로 교체하면서 강력한 전사 활성능을 가지게 된다.

HIV구조단백의 Rev에 의한 번역

NF- κ B와 Tat 및 세포의 전사기구와의 상호작용에 의해 막대한 량의 virus 유전자발현이 가능하며, 이어서 Rev의 작용에 의해 virus 구조단백질이 번역되면 genome RNA가 공급되어 virus입자가 형성된다. Full size의 virus mRNA가 splicing이 된 후 얻어진 여러 가지의 virus mRNA는 선택적인 안정화와 핵에서 세포질로의 이동을 거쳐 번역된다. HIV provirus에서의 전사, 즉 전구체 mRNA가 splicing된 후에는 intron이 제거되었으므로 Tat, Rev, Nef 단백질은 합성되나, virus 입자를 구성하는 구조단백은 코드되지 못한다. 구조단백의 유전정보는 Rev의 존재하에서 아미노산 배열로 번역된다. Rev는 virus RNA와 결합한 후 Rab 및 hRIP 세포인자와 결합하며, Rab/hRIP는 핵공을 형성하는 nucleoporin 단백질과 구조적 유사성에 의해 상호간에 결합함으로써 virus mRNA가 선택적으로 핵에서 세포질로 이동된다. 그 결과 splicing되지 않는 중간단계의 gag, pol, env 등을 만드는 mRNA가 세포질로 이송되어 구조 단백을 만들게 된다[21]. 동일방법으로 genome RNA(full size의 전구체 mRNA)가 부가되어 virus 입자가 완성된다.

HIV의 receptor/coreceptor

어떤 종의 chemokine receptor는 HIV의 세포감염에 있어서 제2의 receptor로 작용하는 것으로 알려져 있다. Coreceptor의 발견은 바이러스의 세포침입기구의 해명 뿐만아니라 HIV감염병증의 해석 새로운 감염동물 모델의 제작, 새로운 감염제의 표적 등의 관점에서 주목된다.

바이러스의 숙주세포에의 침입의 제1단계는 1986년에 표적 세포 표면의 특정분자(receptor)에의 결합을 유도하는 CD4 단백을 매개로한 흡착현상에 의한 것임이 밝혀졌다. 몇가지의 실험결과 HIV의 세포내 침입성립에는 CD4 이외에도 타의 factor(cofactor) 혹은 제2의 receptor/coreceptor가 관여하는 것으로 생각되어 추적하였던 바, HIV-1의 coreceptor가 chemokine receptor임이 1996년에 밝혀졌다.

HIV의 receptor는 CD4 단백질

HIV는 세포막에의 흡착, 융합, 침입, 탈각 등의 과정을 거치는 HIV의 생활사에서 가장 초기의 세포흡착반응에 관여하는 세포측 인자가 CD4분자이다. CD4는 면역 글로부린 super-family의 하나로써 세포표면에서 발현되며 분자량 55kD의 당 단백질이고 세포외로 4개의 면역 글로부린형 domain을 갖는다. CD4는 T세포 및 macrophage에서 발현되는데 T세포상의 CD4는 classII 조직적합항원상의 β -domain에 결합해서 T세포 receptor에 의한 항원인식을 높이는 기능을 갖고 있다[15].

CD4는 HIV-1의 receptor임이 1)항CD4 monoclonal항체는 생물산업

HIV-1의 세포감염, 합포체형성, 바이러스 입자의 림프구에의 결합 저지, 2)HIV-1의 외피 당단백 gp120이나 CD4항원은 항체에 의해서 같이 침전된다는 점, 3)CD4가 발현되지 않는 사람의 세포에 CD4 cDNA를 도입 발현시킴으로써 HIV-1감염이 가능하다는 점, 등의 실험에서 입증되었다. 그러나 CD4만 으로서는 HIV가 세포침입은 원활하게 이루어지지 않았다. 사람 CD4 cDNA를 마우스, 쥐의 세포주나 사람의 CD4-의 astroglioma유래의 U87세포주에 도입 발현시키면 발현한 CD4에의 바이러스의 흡착은 관찰되나 바이러스 입자와 세포막의 융합, 바이러스의 세포질내에의 침입은 인정되지 않았다[7]. 그러나 이 세포를 다른 CD4-의 사람의 세포와 융합시킨 경우에는 바이러스의 침입이 일어났기에 이 바이러스의 세포내 침입에는 CD4이외의 receptor가 필요한 것으로 추측되었다.

HIV의 coreceptor는 CXCR4

HIV의 세포에의 흡착, 융합, 침입 등에 관여하는 receptor는 galactosylcelebroside, LFA-1, Fc receptor와 보체 receptor, CD26 등이 있다. 세포막 당질인 galactosylcelebroside는 CD4 정도의 친화성을 갖고 gp120에 결합한다. Galactosylcelebroside는 신경세포나 astrocyte, 일부의 대장암유래 세포주에서 발현되는 점에서 HIV가 *in vivo*에서 일부의 중추신경계세포에의 기능저해와 관계가 있음을 시사한다.

gp120의 V3 loop에는 중화항체의 주요결정영역이 존재하며, 또 HIV의 표적세포와의 친화성이나, tropism을 결정하는 중요한 영역이 있으므로 이 영역과 상호관계가 있는 세포측에 cofactor가 있음을 유추할 수 있다. V3 loop는 고도로 쉽게 변이가 일어나는 곳으로 중앙부의 GPGRAFqoduf, N말단, C말단의 Cys 잔기부근의 1차구조는 많은 HIV의 1차구조에서 보존되어 있다.

Berger 등에 의해 발견된 제2의 receptor, CXCR-4는 1659bp의 cDNA에 의해 코드되는 352개의 아미노산으로 구성된 단백질으로써 G단백과 공역하여 세포막을 7회 관통하는 receptor family에 속하는 것으로 동정되었다. 초기에는 세포 융합(fusion)의 의미를 부여하여 fusin이라 명명하였으나 그 후 이물질은 SDF-1/PBSF와 동일물질임이 알려졌다. SDF-1이 CXC chemokine인 점에서 fusin은 CXCR-4로 불리워지게 되었고 이것이 coreceptor로 작용함은 CXCR-4 cDNA를 발현시킴으로써 Env에 의한 세포융합, HIV감염이 가능하다는 점, CXCR-4항체나 SDF-1이 Env를 개입한 세포융합이나 HIV감염을 저지함에 의해 확인되었다. CXCR-4의 발견에 이어 MIP-1 α , MIP-1 β , CCR-5, CCR-2b, CCR-3, STRL33(Bonzo), Bob, US28 등이 HIV의 coreceptor로 알려지게 되었다.

Receptor/coreceptor를 매개로 한 HIV의 세포내 침입기구

HIV의 세포흡착, 융합, 침입 등에는 CD4, coreceptor

CCR5, CXCR4, HIV gp120 등의 상호작용이 필요함이 알려졌으나 명확하지 않는 부분은 아직 많이 남아 있다. HIV-1의 감염이 CCR5, CXCR4의 ligand에 의해 저지된다거나, CCR5 ligand의 결합이 가용형 CD4와 gp120의 상호작용에 의해서 저지된다는 점 등이다. 또 gp120이 CD4에 결합함으로써 CCR5 ligand의 receptor에의 결합이 항진된다거나, 항CD4 항체 혹은 항gp120 항체에 의해서 CD4, gp120, CXCR4 등의 단백질이 동시에 침전된다는 점이다. V3 loop나 CD4 결합에 의해 유도되는 epitope를 함유한 여러 가지 gp120의 부위에 대한 중화항체는 gp120과 CD4의 결합에 영향을 나타내지 않고 gp120과 CCR5의 결합을 저지한다. 만들어진 여러 가지의 gp120변형바이러스를 사용한 실험결과 V3영역이 CCR5를 개재한 HIV감염에 주요하다[6]. CCR-2b와 CCR5의 chimera receptor를 제작하여 HIV감염에 필요한 CCR5의 부위를 해석하였던 바 CCR5의 세포외의 복수의 부위와 HIV의 상호작용이 감염에 필요하였다[3]. 또한 제작한 receptor중에는 chemokine(ligand)결합 후의 세포내 signal 전달능은 없으나 HIV감염이 가능한 변이 receptor도 존재하였다. 이상의 실험결과 HIV의 gp120이 세포막에서 CD4와 결합하면 gp120의 V3영역의 입체구조 변화가 일어나 V3 loop가 노출된다. 이 V3 loop와 CCR5 혹은 CXCR4가 복수로 세포의 부분에서 결합이 일어나 gp120과 CD4 coreceptor의 복합체가 형성되므로써 HIV입자가 세포막에 흡착된다. 이어서 gp120과 회합한 gp41이 세포막을 통과하여 세포막과 바이러스입자막의 융합이 일어나 바이러스가 세포내에 침입하게 된다[16].

Receptor/coreceptor의 병증

바이러스의 숙주역은 장기 세포 친화성(tropism)에 의해 바이러스와 숙주의 상호작용에 의해서 결정된다. 그 가운데 바이러스의 세포에의 흡착 침입과정은 세포친화성 숙주역을 결정하는 가장 중요한 요인 가운데 하나이다. HIV도 예외는 아니다. 극히 은밀한 숙주역(HIV는 사람과 침팬지에만 감염한다)을 가지고 바이러스주에 따라서 다른 세포친화성을 나타낸다. HIV중에는 말초혈단핵구와 macrophage에 강한 친화성을 나타내나 세포 합포체 형성능이 결손된 형(M-tropic, NS형), 말초혈단핵구나 장기간 연구실에 유지시킨 T세포주에 의해 강한 친화성을 나타내어 합포체 형성능이 높은 형(T-tropic, SI형), 양쪽에 친화성을 나타내는 dual-tropic형 등이 존재한다. 감염 초기에는 M-tropic, NSI형 HIV가 우위로 되나, 병이 진행함에 따라서 T-tropic, SI형이 우위로 된다. HIV의 tropism은 gp120의 V1, V2, V3영역 특히 V3 loop의 구조에 의해서 규정된다. 이에 대응하는 숙주측 인자가 불명하나 복수의 다른 coreceptor의 발견에 의해서 HIV의 tropism은 coreceptor가 어떻게 사용되는가에 따라 이해가 가능하게 되었다. 즉, M-tropic HIV는 CCR5를, T-tropic HIV는 CXCR4를 사용하여

세포에 흡착 침입하는 것으로 생각된다. 말초혈활성화 T세포에는 M-tropic HIV도 T-tropic HIV도 감염 가능하게 된 것이 알려져 있으나 coreceptor로서는 CCR5도 CXCR4도 발견되고 있으며 림프절의 수상세포(dendritic cell)도 CCR5, CXCR4 양쪽의 receptor를 발현하고 있음이 알려져 있다.

HIV에 노출되어 있음에도 불구하고 감염하지 않는 사람들 중에는 대립유전자의 양측 CCR5유전자에 이상이 있음이 발견되었다. 즉 CCR5 대립유전자의 한쪽에 32염기대 결손이 인정된 사람은 백인 10~20%에 달하나 드물게 존재하는 양측 유전자 이상에는 CCR5가 정상으로 발현하지 않기 때문에 HIV감염에 저항성을 나타낸다. 한편 유전자만의 이상이 인정되는 경우 HIV감염에 대한 저항성이라든가 감염후의 병의 진행에 미치는 영향에 관해서는 보고가 일정하지 않다. HLA class 1 및 2 에서 heterozygosity가 높으면 높을수록 AIDS의 진행이 늦었으며 이때 AIDS-associated 대립유전자 B*35 및 Cw*04의 어느 한쪽 또는 양쪽의 결손 빈도가 높은 코카사스인 환자의 경우 HIV-1 감염시 28-40%가 생존을 연장하였으며 병의 진행이 지연된 결과를 얻게 되었다[1].

HIV 감염자에는 citomegaro virus(CMV)에 의한 감염이 때때로 나타나 이것이 HIV감염증과 어떤 연관이 있을것으로 추측되었다. CMV genome의 어떤 부분에서 code되는 chemokine receptor과 상동성이 있는 US28단백이 HIV-1감염에 있어서 coreceptor로서의 기능이 있음이 *in vitro*에서 증명되었다. *in vivo*에 있어서 US28의 발현 가능 HIV-1 감염병태에 있어서 역할의 검토는 금후의 주요한 과제중의 하나이나 2가지의 다른 병원성 바이러스가 협력하여 숙주에 침입한다라는 것은 아주 새로운 세포의 감염현상으로서 흥미 깊은 현상이다.

새로운 미사일 재제의 개발

미사일 재제는 VSV(Vesicular stomatitis virus)에 HIV의 생체내 공격 target인 T cell의 receptor CD4와 coreceptor CXCR4(chemokine receptors) 유전자를 삽입하여 제작한 재조합체 VSV를 생체내에 주입하면 HIV-1 infected cell이 VSV를 CD4 T-cell인양 착각하여 선택적으로 공격하게 되므로 상대적으로 CD4 T-cell에 대한 직접적인 공격을 회색하여 화를 면하게 된다는 원리이다. 왜냐하면 재조합체 VSV가 HIV의 target세포인 항체생산세포 CD4 T-cell과 같은 receptor를 보유하고 있기 때문이다. 그러나 실제 이 방법에서도 VSV의 막구조 및 성분양상에서 CD4 T-cell과는 다르기 때문에 선택적 공격성이 많이 회색되어 낮은 공격효과를 나타내었기에 향후 이에 대한 개선책이 요구되고 있다.

본 연구진에서는 현재 재조합체 VSV와 같은 공격용 virus를 제작을 위한 적합한 virus의 선정, CD4 및 CXCR4유전자와의 재조합체 virus 제작을 시도하여 이를 HIV 감염 환자에게 투여함으로써 HIV virus를 생체내에서 직접 공격하여 선택

적으로 파괴하는 재조합체 virus의 개발을 시도하고 있다.

에이즈 치료제의 개발

에이즈는 다제 병용요법이 효율적

HIV 감염증과 같이 서서히 진행되는 감염증에 대해서 항바이러스제를 사용한 화학요법이나 치료법은 급진전하고 있다. 에이즈는 치료가능한 만성감염성질환이라고 정의를 내린다. 그러나 에이즈에 대한 다제병용요법은 아직 확립되어 있지 않고 구미에서의 여러 가지 치료경험에서 얻어진 가이드라인도 아직 불완전한 상태이다. 치료는 면역응답능이 비가역적인 변화를 거쳐서 진행되므로 단제투여는 금기 꼭 다제병용을 하여야 한다는 점, 치료에는 CD4 세포수와 유행종의 바이러스 양을 지표로 하면서 바이러스의 증식을 검증한계 이하로까지 억제하면 가장 효과적인 치료법을 개발할 수 있다[11]. 치료가 성공하지 못한 경우나 약제내성의 효과가 상실될 경우에는 적절하게 다른 요법으로 변경하여야 한다. 그러나 다제내성 HIV-1주의 출현이나 HIV-1이 새로운 class의 항바이러스성 protease저해제에 대해서도 급속하게 내성을 발현한다라는 사실, 다제병용시의 부작용, 연명하더라도 충분한 면역응답능의 개선이 이루어지지 않는다는 점 등의 문제가 지적되고 있다. 또한 다제병용요법에서 폭증하는 의료비는 감염자 개인과 사회의 경제부담을 가속화시킨다.

역전사효소저해제의 종류와 그 응용

NRTI(nucleoside reverse transcriptase inhibitor)에는 3'-Azido-2', 3'-dideoxythymidine(AZT, zidovudine), 2', 3'-dideoxyinosine 등이 있다. 어느 뉴클레오시드계 역전사효소 저해제도 임상적으로 부작용이 있음으로 단제로써 사용하는 경우는 내성 HIV-1이 비교적 조기에 출현하기 때문에 처음 치료에 있어서는 다제병용요법이 빈번히 사용되어 왔다[9].

현재 개발중인 NRTI로서는 9-(2-phosphonyl-methoxyethyl)-adenine(PMEA, adefovir)와 그 pro-drug (bis-POM-PMEA), 내산성으로서 HIV-1이 내성을 발현하기 어려운 2'-β-fluoro-2', 3'-dideoxyadenosine (F-ddA), 중추신경계에의 투과율이 양호한 159U89 등이 있다. F-ddA는 미국립암연구소에서 실시 중인 제1상 임상치료에서 양호한 항바이러스 활성이 인정되었

으며, in vitro에서는 다제내성 HIV-1에 대해서도 양호한 항바이러스 활성을 발휘하였다 (Table 2). 1592U89는 단독투여나 바이러스 복제수를 1.5~2 log 감소시켰다. HIV-1은 in vitro에서 1592U89에 노출되면 RT에 M184V, K65R, L74V, Y115F등의 아미노산 치환을 일으키나 1592U89는 M184V 치환 HIV-1에 의한 병증에서도 양호한 항HIV활성을 나타내며 부작용도 비교적 약하였다.

미국에서는 두 종류의 NNRTI(non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor)가 처방약으로 사용되고 있다. NEVIRPINE(NVP)는 극히 높은 항바이러스 활성을 시험관내에서 발휘하나 단독으로 투여하면 수주간에서 수백배 높은 내성을 나타내는 HIV-1변이주가 나타나 그 임상효과는 단기간에 소실한다. 그러나 NVP는 AZT와 DDI와의 병용에서 처음 치료환자에 투여하면 양호한 성적을 나타내어 1996년 9월 비뉴클레오시드계 역전사효소 저해제로서 최초의 항HIV-1제제로서 인가되었다. 본제는 여러 가지 약제의 대사에 투여하는 cytochrome p450-3A4의 발현을 항진시켜 특히 protease 저해제의 최고혈중농도나 AUC(area under curve)를 감소시키기 때문에 protease저해제와의 병용은 장려되지 않고 있다. 가장 빈도가 높은 부작용은 발진으로서 복약중지를 하여야 하는 경우도 있다. 미국에서는 또 하나의 NNRTI, delavirdine(U-90152T)가 NRTI와의 병용투여를 조건으로 인가되어 있다. NNRTI 한가지 약제와 NNRT 두가지 약제의 조합이 치료개시의 제1선택요법으로서 유용성을 나타내는가 그렇지 않는가는 구미에서 전개되는 임상치료효과의 결과를 지켜보아야 한다.

다제병용요법의 실시시기

HIV-1의 복제수가 검출한계이하로 된 환자에서 다시 HIV-1이 검출된 경우 특히 2000~5000copy/ml이상인 된다면, CD4세포수의 감소나 임상증상의 악화가 다시 나타나는 경우, 또는 약의 부작용이 강하든가 복용하기 어려운 등의 어려운 문제점이 나타날 때에는 단제투여의 경우와는 다른 여러가지 다제병용요법으로 변경하여야 한다[8]. 일단 개시한 다제병용요법을 가급적 변경하지 않도록 유의해야 한다. 치료개시시 HIV-1복제수가 높은 경우는 2-4주까지 현저하게 감소하나 그 후 서서히 저하하여 최대효과가 얻어질 때까지 3-6개월이 걸리므로 항바이러스제의 종류가 한정되어 있는 현재 치료의 변

Table 2. 다제내성(MDR) HIV-1 clone의 F-ddA 등의 역전사효소저해제에 대한 감수성[11]

아미노산치환	HIV-1 clone에 대한 IC50(μM)				조환형역전사효소에 대한 IC50(μM)		
	F-ddA	AZT	ddI	PMEA	F-ddATP	AZTTP	ddATP
야생HIV-1주	5.8(1×)	0.013(1×)	1.5(1×)	1.4(1×)	76(1×)	0.023(1×)	4.3(1×)
Q151M	5.0(0.9×)	0.17(13.1×)	2.7(1.8×)	N.D.	115(1.5×)	0.19(8.3×)	11(2.6×)
F77L/F116Y/Q151M	18(3.1×)	0.71(54.6×)	11(7.3×)	1.9(1.4×)	178(2.3×)	0.88(38.3×)	37(8.6×)
A62V/V75I/F77L/ F116Y/Q151M	14(2.4×)	2.1(162×)	20(13.3×)	1.4(1.0×)	204(2.7×)	1.5(65.2×)	38(8.8×)

경에는 충분한 배려가 필요하다.

에이즈 치료제 3TC의 개발

에이즈에 대한 항HIV제제는 주로 역전사효소나 protease 등 HIV유래의 효소나 기능을 표적으로 하여 개발되어 왔다. 그 결과 AZT나 3TC 등의 역전사효소 저해제나, saquinavir, indinavir 등의 protease저해제가 개발되어 이를 병용함으로써 병의 진행을 막을 수 있었다. AZT(Zidovudine, Retrovir, 3-azido-3-deoxythymidine)는 항 바이러스 활성은 좋았으나 강한 세포독성이 수반되었다. 여기에 3TC [Lamivudine, (2'-R-cis)-2'-deoxy-3'-thiacytidine]를 AZT와 병용할 경우 항 바이러스 활성은 상승, 세포독성은 감소시키는 현저한 효과가 있었다(European Patent 9294006944). 또 protease 저해제인 indinavir를 병용 투여하였을 경우 20,000-1,000,000 RNA copies/ml of plasma까지 세포내 HIV virus가 저하하여 1년이 상 유지됨이 90%이상의 환자에서 보고되었다. 3TC는 영국의 Glaxo회사에서 새로이 제품화되어 기존의 약제와의 복합처방에 의한 탁월한 치료상승효과가 인정되고 있으나[13] 값이 비싸서 그 생산과정에서 20여 단계의 화학합성 공정이 소요되므로 효소에 의한 염가의 생산공정 개발이 절실히 요구된다.

효소 cytidine deaminase 에 의한 3TC의 생산

본 연구진에서는 단기적으로는 항 HIV제제인 3TC의 생산 공정에서 극한 내열성 *cdd gene*의 재조합체에 의한 cytidine deaminase(CDase)를 증폭생산 처리함으로써 기존의 *E. coli*의 CDase를 사용한 방법보다 저렴하게 3TC를 생산하고자 하였다. HIV복제 저해능은 주로 핵산합성과정의 인산디에스테르결합이 방해되므로서 야기된다. 이때 리보스 3위치의 탄소 다신에 유황으로 치환하여 인산디에스테르결합이 일어날 수 없도록 하므로써 HIV의 복제가 차단되도록 한 것이 3TC이다.

이 3TC를 생산한 Glaxo회사는 합성공정에서 얻어진 3TC의 (-),(-)혼합이성체로부터 독성이 강한 (+)이성체는 제거하고 약효가 높은 (-)이성체만의 분리를 위해 *E. coli*의 CDase를 사용하였다[10]. 본 연구에서는 이 단계에서 *E. coli*가 아닌 극한내열성균 *Methanococcus kandleri*(생육적온 100 C) 또는 *Bacillus caldolyticus*(75 C)의 CDase를 이용하므로써 그 정제과정의 단순성에 의해 3TC 생산비의 현저한 절감을 야기하고자 하였던 것이다. 3TC 전구체, 즉 (+),(-) 광학 이성체의 혼합물에 극한 내열성의 CDase를 처리함으로써 (+),(-)전구체로부터 (+)이성체만의 선택적인 deamination을 시도하였던 바 (-)이성체 즉, 3TC를 수율이 상당히 높게 얻을 수 있었다. 유전자 재조합체에 의한 극한 내열성 cytidine deaminase의 생산, 상세한 deamination조건 설정 및 deamination수율의 향상, 고순도의 (-)3TC제품의 생산 등이 현재 수행중에 있다.

특히 본 물질의 생산에 중요한 역할을 나타내는 CDase의

코딩유전자 *cdd*는 본 연구자가 Copenhagen대학부설 분자생물학연구소에서 *B. subtilis*로부터 chromosomal mapping과 cloning, sequencing을 발표한 이래[18], 내열성균 *B. stearothermophilus*, 장내세균 *E. coli*, 및 *S. typhimurium* 등의 균으로부터 동일한 *cdd* 유전자를 분리하여 그 효소학적 성질을 검토하였다. 그 후 *E. coli*의 *cdd* 유전자가 cloning, sequencing되었으며, 급기야는 결정화에 따른 3차 구조까지 발표되었다[24]. *E. coli*, *S. typhimurium*, *B. subtilis*, *B. stearothermophilus* 등의 CDase는 각각 33kDa, 27kDa, 14kDa 및 14kDa 이었으며, Stokes radius 및 sucrose density gradient centrifugation으로 측정된 native 상태의 분자량은 62kDa, 60kDa, 58kDa 및 58kDa. 등으로 나타났음을 볼때 enteric bacteria의 CDase는 dimer, Bacillus에서는 tetramer로 구성되어 있음을 알 수 있었다. 기원이 다른 각 균주의 *cdd gene*의 sequence homology는 *B. subtilis*와 *B. stearothermophilus*에서 약 70%를 나타내었다.

결 언

HIV/AIDS의 기원과 진화 및 그 유전자 발현 조절 측면에서 관련 치료제의 개발에 대하여 고찰하여 보았다, HIV 연구의 전개는 사회적 요청이나 연구에 흥미도에 있어서 절대적이라 할 수 있으며 하나의 현상이 밝혀지면 이를 바탕으로 속속 새로운 사실들이 밝혀져서 가까운 장래에 그 치료법이 개발될 것으로 전망된다. 특히 HIV 체내 동태가 보다 선명하게 이해되었다는 점, HIV-1의 second receptor가 발견되었다는 점, HIV 요법의 진보 등의 큰 진전과 아울러 이들 변이된 바이러스의 폭발적인 증식을 가능하게 하는 기구를 정리하고 그 극복방안을 치료의 표적 측면에서 논하여 보았다. 특히 HIV-1 감염증의 임상형태는 최근의 항바이러스제에 의한 화학요법과 치료법의 급속한 진보에 의해서 현저하게 변모하고 있다. 실제 치료에 있어서 화학요법을 감염의 어느 시기에 개시하면 최대의 효과가 얻어지는가? 적절한 병용요법을 부여함으로써 내성 발현을 저지할 수 있는가? 등의 문제가 클로즈업 되고 있다.

에이즈 치료과정에서 내성 바이러스의 출현, 고가의 치료비, 부작용 등 해결해야 할 문제들이 적지않다. AIDS의 병태는 HIV와 면역응답의 사령관적인 역할을 하는 CD4세포의 수에ダイ나믹한 전범으로 조절하여야 함이 확인되었다. HIV 생산량과 CD4 세포의 생산량은 어느 평형상태에서의 상호간의 전술의 차이에 기인한다고도 할 수 있다. 감염자 체내에서는 1일 당 10^{10} 개의 HIV입자가 새롭게 바뀌어 지고 있다. 체내에서의 전체량은 약 0.24×10^{10} 개이므로 하루에 4회전하는 정도로 대량의 HIV가 생산되고 있는 셈이 된다. 이에 대응하여 CD4 세포의 증식도 촉진되고 있으며 세포주기의 회전은 HIV의 CD4 세포에의 감염을 촉진하고 CD4 세포의 turnover가 촉진되는

상황에서는 바이러스 감염도 촉진된다. 그 결과 에이즈는 정상 상태라 하더라도 수년 혹은 10년 정도 경과하면서 병증이 진행하게 된다. HIV의 폭발적인 증식에 따라 준종(quasispecies), 즉 다양성이 풍부한 바이러스 집단이 체내에 축적하므로써 약제 내성 바이러스가 발생하게 되는데 이러한 요인들이 약치나 면역학적인 예방이나 치료 방법을 어렵게 하고 있다. HIV 증식의 분자기구를 명확하게 하여 이를 억제하는 수단을 새로이 개발하는 의의가 여기에 있다.

최근 수년간 HIV감염증의 임상 예는 항바이러스제에 의한 화학요법과 감염증에 대한 치료법의 급속한 진보에 따라 현저하게 변모하였다. 그러나 실제 치료의 분야에서 적절한 다제 병용요법은 가장 효과적이다. 현행 에이즈의 화학요법에서 3제 병용도 일시적인 것으로서 장래에는 protease 2제에 NRTI 2제 혹은 NRTI 1제와 NNRTI 1제, 제 4제를 사용한 다제 병용이 도입될런지도 모른다. 여하튼 HIV의 내성발현과 한정된 항바이러스 활성 등의 한계를 생각하면 다수의 역전사효소 저해제, protease저해제, 제3, 제4의 새로운 class의 항바이러스제의 개발이 수행되어야만 에이즈의 완전한 치료가 가능할 것이다.

참고문헌

- Carrington, M., G. W. Nelson, M. P. Martin, T. Kissner, D. Vlahov, J. J. Goedert, R. Kaslow, S. Buchbinder, K. Hoots, and S. J. O'Brien. 1999. HLA and HIV-1: heterozygote advantage and B*35-Cw*04 disadvantage. *Science* **283**: 1748-1752.
- Delwart, E. L., H. Pan, A. Neumann, and M. Markowitz. 1998. Rapid, transient change at the env locus of plasma human immunodeficiency virus type 1 populations during the emergence of protease inhibitor resistance. *J. Virol.* **72**: 2416-2421.
- Doranz, B. J., Z.-H. Lu, J. Pucker, T.-Y. Zhang, M. Sharron, Y.-H. Cen, Z.-X. Wang, H.-H. Guo, J.-G. Du, M. A. Accavitti, R. W. Doms, and S. C. Peiper, 1997. Two distinct CCR5 domains can mediate coreceptor usage by human immunodeficiency virus type 1. *J. Virol.* **71**: 6305-6314.
- Gohda, K., K.-I. Oka, K.-I. Tomita, and T. Hakoshima. 1994. Crystal structure of RNase T1 complexed with the product nucleotide 3'-GMP. *J. Biol. Chem.* **269**: 17531-17536.
- Han, G. W., M. L. Kopka, D. Cascio, K. Grzeskowiak, and R. E. Dickerson. 1997. Structure of a DNA analog of the primer for HIV-1 RT second strand synthesis. *J. Mol. Biol.* **269**: 811-826.
- Hill, C. M., H. Deng, D. Unutmaz, V. N. Kewalramani, L. Bastiani, M. K. Gorny, S. Zolla-pazner, and D. R. Littman. 1997. Envelope glycoproteins from human immunodeficiency virus types 1 and 2 simian immunodeficiency virus can use human CCR5 as a coreceptor for viral entry and make direct CD4-dependent interactions with this chemokine receptor. *J. Virol.* **71**: 6296-6304.
- Ho, D. D., A. U. Neumann, A. S. Perelson, W. Chen, J. M. Leonard, and M. Markowitz. 1995. Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature* **373**: 123-126.
- Lafeuillade, A., C. Poggi, C. Tamalet, N. Profizi, C. Tourres, and O. Costes. 1997. Effects of a combination of zidovudine, didanosine, and lamivudine on primary human immunodeficiency virus type 1 infection. *J. Infectious Diseases* **175**: 1051-1055.
- Larder, B. A., S. D. Kamp, and P. R. Harrigan. 1995. Potential mechanism for sustained antiretroviral efficacy of AZT-3TC combination therapy. *Science* **269**: 696-699.
- Mahmoudian, M., B. S. Baines, C. S. Drake, R. S. Hale, P. Jones, J. E. Piercey, D. S. Montgomery, I. J. Purvis, R. Storer, M. J. Dawson, and G. C. Lawrence. 1993. Enzymatic production of optically pure(2' R-cis)-2'-deoxy-3'-thiacytidine (3TC, Lamivudine): a potent anti-HIV agent. *Enzyme Microbiol. Technol.* **15**: 749-755.
- Mitsuya, H. 1997. Recent advance and challenges in the therapy of AIDS. *Experimental Medicine* **15**: 2295-2301.
- Okamoto, T. 1997. Regulation of HIV gene expression by Tat, Rev and NF- κ B. *Experimental Medicine* **15**: 2265-2272.
- Piras, G., M. Makino, and M. Baba. 1997. Sho-saiko-to, a traditional kampo medicine, enhances the anti-HIV-1 activity of lamivudine(3TC) *in vitro*. *Microbiol. Immunol.* **41**: 835-839.
- Rezende, L. F., K. Curr, T. Ueno, H. Mitsuya, and V. R. Prasad. 1998. The impact of multidideoxynucleoside resistance-conferring mutations in human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase on polymerase fidelity and error specificity. *J. Virol.* **72**: 2890-2895.
- Siliciano, R. F. 1995. CD4-positive T cell responses to HIV-1 infection. In Karn J. (ed.), HIV I. IRL Press, Oxford UK. pp. 221-227.
- Uchiyama, T. 1997. HIV receptor/coreceptor. *Experimental Medicine* **15**: 2273-2277.
- Schnell, M. J., J. E. Johnson, L. Buonocore, and J. K. Rose. 1997. Construction of a novel virus that targets HIV-1 infected cells and controls HIV-1 infection. *Cell* **90**: 849-857.
- Song, B.-H., and J. Neuhard. 1989. Chromosomal location, cloning and nucleotide sequence of the *Bacillus subtilis* cdd gene encoding cytidine/deoxycytidine deaminase. *Mol. Gen. Genet.*, **216**: 462-468
- Wei, X., S. K. Ghosh, M. E. Taylor, V. A. Johnson, E. A. Emini, P. Deutsch, J. D. Lifson, S. Bonhoeffer, M. A. Nowak, B. H. Hahn, M. S. Saag, and G. M. Shaw. 1995. Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1

- infection. *Nature* **373**: 117-122.
20. Wu, X., H. Liu, H. Xiao, J. A. Conway, E. Hunter, and J. C. Kappes. 1997. Functional RT and IN incorporated into HIV-1 particles independently of the Gag/Pol precursor protein. *EMBO J.* **16**: 5113-5122.
 21. Wyatt, R, and J. Sodroski. 1998. The HIV-1 envelope glycoproteins: fusogens, antigens, and immunogens, *Science* **280**: 1884-1888.
 22. Yamamoto, N. 1997. Recent development of HIV researches. *Experimental Medicine* **15**: 2262-2263.
 23. Yamaguchi, Y., K. Ikeo, and T. Kojobori. 1997. Origin and evolution of HIV. In Abe (ed.), *Advanced Research of AIDS*. pp. 19-27, Yodosha Co., Toyochō.
 24. Yang, C., D. Carlow, R. Wolfenden, and S. A. Short. 1992. Cloning and nucleotide sequence of the *Escherichia coli* cytidine deaminase (*cdd*) gene. *Biochemistry* **31**: 4168-4174.
 25. ACTIS and ATIS. 1998. HIV/AIDS treatment information service: database search.