



항균 펩타이드를 이용한 면역강화 사료의 개발



최윤재 교수
(서울대학교)

공동연구자
이흥구 박사(서울대학교)

항생제는 병원성 미생물 및 그밖의 유해한 세포의 발육 또는 기능을 억제하는 물질로써, 가축의 사료에 이러한 항생제를 첨가하여 급여하게 되면 장내에서 유해한 미생물의 증식과 발육을 억제하고 정상적인 균총을 유지함으로써 질병을 예방할 수 있으며, 과도한 장내 미생물의 증식에 의한 불필요한 영양소 손실을 막고 영양소의 소화와 흡수 촉진 및 사료 섭취량을 증진시키는 등의 효과를 얻을 수 있기 때문에, 축산업에서 가축의 생산성 향상 및 질병예방을 위하여 일정수준의 항생제가 첨가된 배합사료를 급여하는 것이 일반적이었다.

그러나 최근들어 현존하는 어떠한 항생제도 듣지 않는 내성균주의 출현의 가장 큰 원인 중 하나로 축산업에서의 항생제 남용문제가 거론됨에 따라, EU와 일본 등 축산 선진국을 중심으로 가축에 있어서 항생제 남용을 막기 위한 법령을 제정하여 항생물질에 대한 규제를 강화하고 있으며, 우리 정부 또한 인수공용 항생물질에 대한 내성의 심각성을 우려하여 치료목적이 아닌 성장촉진 및 질병예방 목적의 가축사료 중 항생제의 첨가를 점차적으로 금지하는 정책이 추진 중에 있다.

이러한 추세는 항생제가 지니고 있는 질병에 대한 예방 및 영양소 이용효율 증진의 탁월한 효과에 앞서 축산물의 안전성에 대한 국민적 열망과 사회적 기류에서 비롯된 당연한 현상이 아닐 수 없다.

따라서 안전한 축산물의 공급을 통한 국민건강 증진과 축산물에 대한 부정적인 인식 타파를 통한 소비 진작을 위해, 더 나아가서는 가축의 복지측면에서 내성이 없는 새로운 항생제 대체물질의 발굴 및 개발은 무엇보다도 시급한 과제라 할 수 있다.

본 논고에서는 기존의 항생제를 대체하여 내성을 야기하지 않고 질병 예방 및 저항성을 극대화하고 사료효율의 개선 및 생산성 향상을 가져올 수 있는 새로운 천연 면역조절 물질과 항균 펩타이드의 가축사료에 이용 및 그 가능성을 소개하고자 한다.

항균 펩타이드를 이용한 면역강화 사료의 개발

1. 면역조절제(면역 증강제)

면역조절제(immunoregulator)란 동물이나 인체에 침입한 병원균이나 종양과 체내 면역체제와의 상호관계를 변화시켜주는 물질을 총칭하는 것으로 immunoregulator 외에도 그 물질의 특성에 따라 immunoenhancer, immunostimulant, immunomodulator, immunorestorator와 같은 여러 유사어가 사용되어지고 있다.

면역조절제의 범위는 매우 광범위하며 그 용도, 생리적 활성 및 특성은 실험을 통하여 증명되어야 하지만 일반적으로 면역 조절제로 쓰이는 물질의 대부분은 박테리아, 효모 또는 식물 등에서 추출, 정제하거나 분자생물학적기법을 이용하여 만들어 진다.

일반적으로 면역조절제라 함은 장기이식과 같이 면역거부반응을 최소화하기 위해 면역력을 억제시키는 면역억제제를 포괄하고 있지만, 축산에서의 생산성 향상과 관련된 면역조절에 대한 관심은 특이적 또는 비특이적으로 면역력을 증강시킬 수 있는 물질이다.

특이적 면역현상을 향상시켜주는 대표적인 예로는 백신에 의한 특정 병원균 및 항원에 대해 특이적인 항체생산을 촉진하는 것을 들 수 있으며, 비특이적 면역현상의 증진이라 함은 총체적인 면역체계를 활성화시켜 외부 병원성균으로부터의 방어능력을 증진시키는 것을 의미한다.

일반적으로 사료에 첨가하는 면역 증강제는 후자의 비특이적 면역현상을 증진시켜주는 물질이라 할 수 있다.

이러한 비특이적 면역증강을 위해 사료첨가제로 이용되어지고 있는 것으로는 다당류(polysaccharides), δ -Aminovulnic acid, 렉틴(Lectin) 등이 있다.

1-1. 면역증강 복합다당류(Immunostimulating polysaccharides)

면역증강 복합다당류는 최근에 연구가 활발히 이루어지고 있는 면역 조절제 중 하나로 열에 안정한 수용성 물질로 급여시 독성이 나타나지 않는다는 장점을 지니고 있다.

이들은 주로 곰팡이, 이끼, 버섯, 또는 다양한 고등식물로부터 분리할 수 있다. 이러한 면역증강 복합다당류는 다양하고 복잡한 구조에서 기인하는 면역학적 기능 및 항질병 기능이 있는 것으로 알려져 있다.

이들의 면역증강과 관련된 기작은 직접항원으로 작용하여 면역시스템을 활성화시키거나, 병원성 세균의 특정기관에서의 군락을 형성하는 것을 방해함으로써 병원성을 억제하는 것으로 추정된다.

① 만난 올리고당(Mannan oligosaccharides; MOS)

MOS는 효모의 세포벽에서 추출한 α -1,6, α -1,2, α -1,3 linkage로 연결된 올리고당으로 salmonella, E.coli 또는 *Vivrio*와 같은 유해 미생물의 세포벽에 있는 렉틴과 결합해 미생물이 장상피세포막과 결합하는 기회를 줄여 장내 미생물의 집락화(colonization)를 억제하여 병원균을 제거함으로써 유해미생물의 감염을 막거나 줄여 줄 수 있다. 또한 동물체내에서 이들 수용체가 거식세포(macrophage)에 존재하는 것으로 알려져 있으며, 이들의 당단백질 형태인 mannoprotein은 이러한 거식세포의 비특이적 활성화를 통해서 병원균의 침입시에는 항체를 생산하는 B 세포의 활성을 유도할 수 있는 것으로 알려져 있다.

가축에 있어서 이들의 효과가 검증된바 있는데 1997~2000년 사이 여러 연구자들에 의해 급여사료 중 0.1~0.4%의 MOS 첨가가 이유자돈의 성장률, 사료섭취량 및 사료효율의 개선효과가 있음이 보고되었고, 여러 품종의 가금의 실험에서도 생산성 향상에 효과가 있음이 확인됨으로써 가축 면역강화사료 개발에 있어서 중요한 후보 면역 조절제라 사료된다.

② β -glucan

β -glucan은 보리, 귀리 등의 곡류, 효모 그리고 곰팡이(*Candida* spp., *Aspergillus* spp.)등의 세포벽 구성성분을 이루고 있는 다당류의 일종이다.

일반적으로 다당류나 복합다당류의 면역촉진효과는 triple helix conformation이라는 특이적인 구조에 의한 것으로 β -glucan이 바로 이러한 구조를 가지고 있다. 이미 1950년대에 zymosan이라는 단순과쇄형태의 효모(*Saccharomyces cerevisiae*) 균체의 면역증강 효과가 알려져 있었는데, 그 후 zymosan의 주된 비특이적 면역효과가 β -glucan에 기인하는 것이 밝혀져 최근에는 이를 분리, 정제하여 이용하고 있다.

거식세포(macrophage)와 중성구(neutrophil)에 β -glucan의 수용체가 존재하며 이들의 결합은 TNF- α 와 IL-1의 분비를 유도한다는 사실이 밝혀졌다. β -glucan 수용체는 고유의 수용체를 갖는 경우와 CD3(보체(complement) 수용체)를 공유한다는 가설 등이 있으며 후자가 가장 유력하게 받아들여진다. 현재 가축에 있어서도 이들의 효과가 입증되고 있으며 일부제품으로 출시되어 가축사료에 첨가되어지고 있다.

아울러 β -glucan이 다량함유된 상황버섯 균사체는 어린가축의 면역력 증가를 위하여 자돈 사료내 첨가시 성장성적의 개선효과 및 폐사율 감소효과가 있음이 확인되고 있다.

항균 펩타이드를 이용한 면역강화 사료의 개발

③ Pachyman

*Poria cocos*로부터 분리되어진 선상구조의 β -1,3-glucan이다. 일반적으로 triple helix 구조를 갖는 경우에 면역현상을 유도한다는 보고를 참고한다면 이 구조가 단순구조이므로 면역현상을 유도가 미약할 가능성이 있다고 볼 수 있다.

④ Schizophyllan

Sizofiran 또는 sizofilan이라고도 불리우며 β -1,3-glucan과 β -1,6-glucoside로 구성되어있고 fungus *Schizophyllum commune*에서 얻어진다. 분자량은 4300kDa 정도이다.

⑤ Letinan

Letinan은 β -1,3-glucan과 β -1,6-glucopyranoside로 구성되어지며, 이들은 버섯 (*Letinus edodes*)에서 추출되어졌다. 분자량은 400-800 kDa으로 찬물이나 formic acid에 녹지않으며 동물실험에서 독성이나 부작용이 나타나지 않았다.

1-2. δ -Aminovulnic acid

δ -Aminovulnic acid는 Heme, 박테리오클로로필(Bacteriochlorophyll)등 테트라피콜(Tetrapyrrole) 화합물들의 생합성 전구물질로 체내 heme 단백질의 대사총량(pool) 조절에 매우 중요한 역할을 하고 있다. 이러한 Heme 단백질(hemoglobin, cytochrom)은 체내 근육 조직 및 면역조직의 대사활성화 및 세포성장예 중요한 역할을 하고 있어 가축사료내 첨가급여시 대사를 증가는 물론 면역능력 개선을 통한 생산성 개선이 효과가 있음이 실험을 통하여 확인되었다.

1-3. 렉틴(Lectin)

렉틴은 혈구세포 및 림프구(lymphocyte), 섬유아세포(fibroblast), spermatozoid, 세균(bacteria), 진균(fungi) 등의 세포를 응집시키며, 탄수화물과 결합하는(divalent or polyvalent) 단백질 또는 당 단백질이다. 렉틴은 1888년 Stilmark가 castor bean에서 처음으로 발견하였으며, 현재 세균 (bacteria), 조류(algae), 효모(yeast), 곰팡이(fungi), 고등식물, 무척추동물(invertebrates) 및 척추동물 조직(vertebrate tissue)에 이르기까지 넓은 범위의 다양한 생물체에서 발견되고 있다.

이러한 렉틴은 적혈구 세포 및 여러 가지 세포들을 응집시키는 성질과 암세포(cancer cell)를 응집시키는 능력을 가지고 있으며, 세포분화촉진인자(mitogenic factor)로서 림프구를 자극한다는 점에서 면역 증강작용이 탁월함이 여러 연구를 통하여 연구되었고 젖소에 있어서 사료중 첨가시 분만전후 질병저항성 증강 및 유방염 방지에 효과가 실험을 통하여 입증된바 보다 광범위한 연구를 통하여 이들의 효과를 검증한다면 훌륭한 면역강화 사료로 이용가치가 높다고 사료된다.

2. 항균 펩타이드(Antimicrobial peptides)

항생제와 그 기능적인 면에서 유사하고 면역 증강에 효과가 밝혀진 물질로 최근 관심이 대두되고 있는 것으로는 항균 펩타이드를 들 수 있다.

항균 펩타이드는 미생물, 식물, 곤충, 양서류, 포유류의 외부로부터의 미생물 침입에 대하여 비특이적인 면역 방어 체계의 일종으로, 현재 전세계 연구자들에 의하여 약 300종 이상의 항균 펩타이드가 보고되고 있다.

항균 펩타이드는 구조적으로 서열 내에 양전하를 갖는 아미노산을 많이 포함하며 Gram 양성균, Gram 음성균과 곰팡이, 암세포에 이르기까지 폭넓은 항균활성을 나타내는 물질로서 이들 펩타이드가 세포막에 결합하면 세포막에 ion channel을 형성하여 미생물의 에너지 생성을 저해하거나, 세포막에 큰 구멍을 만들게 되어 결과적으로 세포가 죽게 된다. 이와 같이 짧은 시간 내에 비특이적이면서 효과적인 물리적 방법으로 세포막을 파괴하는 작용기작을 가지고 있어, 미생물의 세포벽이나 세포내 고분자 합성을 저해하는 기존의 항생제들과는 달리 미생물들이 항균 펩타이드에 대한 내성을 갖게 되기는 매우 어려우며, 현재까지도 항균 펩타이드에 의해서는 내성이 생기지 않는 것으로 보고되어 왔다.

따라서 심각한 문제로 대두되고 있는 기존 항생제에 대한 내성 문제를 해결할 차세대 항생물질로서 큰 잠재력을 가지고 있다. 또한 단백질에 비하여 크기가 작아서 화학합성이나 combinatorial chemistry 등의 방법에 의하여 아미노산 서열에 여러 가지 변이를 쉽게 줄 수 있기 때문에 원래의 펩타이드보다 우수하고 다양한 활성을 가진 펩타이드의 개발이 가능하므로 무독성, 내열성, 무잔류성, 안전성을 가지는 항생제 대체물질로 큰 주목을 받고 있다. 그 종류를 요약하면 다음과 같다.

항균 펩타이드를 이용한 면역강화 사료의 개발

2-1 항균 펩타이드의 종류

1) 마가이닌(Magainin)

- ① Magainin은 양서류인, *Xenopus laevis*의 피부로부터 합성 분비
- ② Magainin-1,-2의 두가지 형태가 존재하며 23개의 아미노산으로 구성
- ③ 항균성(antibacterial), 항진균성(antifungal), 항암성(tumoricidal activity)을 나타냄 - 포유동물의 세포(mammalian cell) 자체에는 독성(toxicity)을 보이지 않으면서 효과가 우수함

2) 프로테그린(Protegrin)

- ① Protegrin은 돼지의 백혈구(leukocyte cell)에서 분비
- ② Protegrin-1,-2,-3,-4,-5의 다섯종류가 존재
- ③ 16-18개의 아미노산으로 구성
- ④ 광범위한 항균작용과 에이즈(AIDS) 바이러스에 대한 항균효과를 나타냄

3) 인돌리시딘 (Indolicidin)

- ① 소의 중성구(neutrophils)의 세포내 과립에서 분비
- ② 13개의 아미노산으로 이루어져 있음
- ③ Gram 음성 및 Gram 양성 세균에 대한 광범위한 항균활성

4) 디펜신(Defensin)

- ① 디펜신은 일반적으로 곤충에서 유래한 항균펩타이드
- ② 40개의 아미노산으로 이루어져 있음
- ③ Gram 음성 세균에 높은 항균활성을 보임

5) 박테리오신(Bacteriocin)

- ① 미생물이 생산하는 천연 항균성 단백질로 주로 유산균에서 생성되며, 대표적인 것으로는 Nisin이 있음
- ② 최근 치즈, 발효유, 주류, 통조림 산업에서의 생물학적 보존제로 사용이 급증
- ③ 고온에서 활성유지, 광범위한 pH에서의 안정성 무독, 무색, 무취

6) 락토페린(Lactoferrin)

- ① Lactose, mannose 등의 당쇄가 결합한 분자량 약 80,000의 초유내 다량 존재하는 당단백질로 두개의 영역(N-lobe와 C-lobe)으로 구성
- ② Transferrin 보다 철(Fe)과 더 강력한 결합력 가짐
- ③ 락토페린은 백혈구에서 주로 분비되며 눈물샘, 침샘, 전립선 등에서도 소량 만들어짐

7) 락토페리신(Lactoferricin)

- ① 산성의 조건에서 락토페린을 펩신으로 처리할 경우 분리되는 약 700여개의 아미노산으로 구성된 항균 펩타이드
- ③ 병원성 유해미생물의 성장을 억제(대장균과 식중독 대표균인 살모넬라의 감소 효과)하며 락토페린보다 약 100배 강한 항균활성 보임.
- ④ 포유동물의 유즙, 눈물, 침, 점막액, 정액 등에서 항균, 항생작용

3. 생물공학 기법에 의한 항균 펩타이드의 생산과 효과

전술한 바와 같이 항균 펩타이드는 그 탁월한 효과와 내성을 유발하지 않는 장점으로 인해 기존의 항생제를 대체할 차세대 항생물질로서의 큰 잠재력을 지니고 있다.

그러나 이러한 항균 펩타이드는 생체내에서 소량이 합성되고 대부분 그 분자량이 매우 작기 때문에 생체로부터 직접 분리, 정제하여 이용하는 데에는 많은 노력과 비용이 소요되게 된다.

항균 펩타이드를 산업적으로 이용하는 데 있어서 걸림돌이 되는 이러한 문제를 해결하기 위해 최근에는 유전자 재조합 기술 및 생물공학 기술을 응용하여 항균 펩타이드를 보다 저렴한 비용으로 손쉽게 대량 생산하려는 연구가 활발히 진행되고 있다.

즉, 항균 펩타이드를 생산하는 유전자를 외래 단백질을 대량 생산할 수 있는 숙주세포인 유산균 및 효모 등에 전이하여 발현시킨 후 이를 정제하여 이용하거나 이러한 항균 펩타이드를 분비하는 재조합 균주를 생균제로서 사료내에 첨가하여 이용하는 방법 등이 모색되고 있는 것이다.

필자의 연구실에서 실험한 결과에 의하면 lactoferricin, protegrin-1, indolicidin 및

항균 펩타이드를 이용한 면역강화 사료의 개발

magainin 등의 항균 펩타이드를 생산하는 유전자를 효모(*Pichia pastoris*) 세포에 형질전환시켜 이들 항균펩타이드의 발현정도 및 항균시험을 한 결과, 기존의 항생제에 못지않은 항균활성이 재조합 lactoferricin 및 indolicidin에서 확인된 바 있다.

그렇지만 이러한 연구는 아직까지 그 초기단계로 이들의 생산량을 극대화시키고 항균활성에 대한 다각적인 분석 및 안전성 확보 등을 위해서는 보다 심도 깊은 연구가 요구된다.

결론

생활수준의 질적인 향상을 추구하는 소위 웰빙(well being) 시대를 맞이하여 현재 우리 축산업은 가축의 생산성 향상과 더불어 축산물의 안전성 확보라는 두 마리의 토끼를 잡아야 할 현실에 놓여있다.

이러한 측면에서 기존의 항생제의 내성 문제를 해결하면서 그 효과에 견줄만한 대체물질로 부각되고 있는 천연 면역 증강제 및 항균 펩타이드는 분명 문제해결의 돌파구가 될 수 있을 것으로 생각된다.

그렇지만 이들이 유용한 대체물질 일지라도 경제동물인 가축의 사료첨가제로 이용하기 위해서는 기존의 항생제와 견주어 생산비가 지나치게 고가일 경우 그 이용에는 한계가 있을 수밖에 없다.

최근 각광을 받고 있는 유전공학 및 생물공학 기술은 생명현상의 기전을 산업적으로 응용하여 이러한 유용한 생물자원을 보다 저비용으로 대량생산할 수 있는 열쇠를 제공하고 있다.

물론 유전자 조작과 관련된 여러 부작용 등의 문제로 말미암아 생명공학 기술을 응용하여 생산된 축산물의 이용에 대한 타당성 검증은 아직 숙제로 남아 있지만, 우리 축산 분야에서도 문제해결을 위한 새로운 전략으로써 이러한 첨단 기법을 적극적으로 수용하는 능동적인 자세가 절실히 요구된다. ㉔