

HIV-1 RT (reverse transcriptase) 저해제에 대한 내성 발현 기전

선경 인더스트리 연구소
임 광진

reverse transcription은 AIDS를 일으킨다고 알려진 바이러스인 HIV-1의 번식에는 필수적이거나 인체 세포에는 필수적이지 아니기에 이 단계를 표적으로하는 AIDS 치료제가 우선적으로 개발되었다. 그 단계에 필요한 효소가 바이러스에 의해 만들어진 RT이며 이 효소의 작용을 저해하는 nucleoside 유도체들인 AZT, DDC, DDI 등이 현재 AIDS 환자의 치료에 사용되고 있다. 이들 nucleoside 유도체들은 세포안으로 들어가 triphosphate 형태로 변화된 후 dNTP와 상경적으로 경쟁하며 합성 중인 바이러스의 DNA에 들어가 DNA의 합성을 정지시켜 바이러스의 증식을 억제한다. 그러나, 이들 nucleoside 유도체 들은 치료용량에서 심한 독성을 나타낼 뿐만 아니라 장기 투여시 내성을 나타내는 바이러스가 생겨나 AIDS의 치료를 불가능하게 하고있다.

최근에 nonnucleoside RT 저해제라 불리는 새로운 AIDS 치료제 들인 nevirapine, TIBO 유도체, pyridinone 유도체, HEPT 등이 합성되어져 임상시험 중에 있다. 이들 약물은 nucleoside 유도체와는 달리 HIV-1 RT에만 선택적으로 작용하므로 치료용량에서 심한 독성을 나타내지 않을 것으로 생각되며 효능 또한 매우 높다. 이러한 장점을 가지고있는 새로운 약물 들에 대해서도 바이러스가 내성을 나타낼 가능성이 있는지를 알아보기 위해서

nevirapine과 TIBO R82150을 사용해 시험해보았다.

1. Nevirapine에 내성을 나타내는 HIV-1의 내성발현 기전

H-9 세포를 nevirapine 존재하에 HIV-1으로 일정시간 감염시킨 후 7일간 세포 배양을 했다. 7일 후 생성되는 바이러스로 위의 방법을 반복하여 이 약에 내성을 나타내는 바이러스가 생겨날 때까지 세포를 계대하였다. 약에 내성을 나타내는 바이러스는 7일 만에 나타났으며 이 바이러스는 MT-2 세포와 HeLa-CD4 세포 감염시 nevirapine에 대한 IC50가 대조 바이러스 보다 100 배 이상 증가를 하였고, 다른 종류의 nonnucleoside RT 저해제인 TIBO R82150과 HEPT에 대해서도 교차내성을 보였다. 내성을 나타낸 바이러스에서 추출한 RT 효소의 활성은 대조군의 IC50 값의 3배의 nevirapine 농도에서도 활성의 감소를 보이지않아 이약물이 RT에 작용하여 바이러스의 증식을 억제한다는 것을 시사했다. 내성이 나타나는 기전을 분자생물학적으로 설명하기 위해 내성을 나타내는 바이러스로부터 얻어진 RNA를 PCR 방법을 이용하여 HIV-1 RT를 증폭한 후 DNA sequencing을 해본 결과 RT 효소의 181번째 아미노산 cystein이 tyrosine으로 변이되었음을 찾아냈다.

2. TIBO R82150에 내성을 나타내는 HIV-1의 내성발현 기전

Nevirapine에서와 같은 방법을 사용한 결과 이약에 내성을 나타내는 바이러스는 7일 후부터 나타나기 시작하여 5주 후에는 최고의 내성을 나타내는 바이러스가 생성되었다. TIBO에 대해 내성을 나타내는 바이러스는 nevirapine과 HEPT에도 교차내성을 보였으며 내성을 나타내는 바이러스에서 추출된 RT도 TIBO

에 대해 내성을 보여 이약물도 RT에 작용하여 저해작용을 나타내고있음을 했다. 내성이 나타나는 이유는 100번째 아미노산인 leucine이 isoleucine으로 변이되었기 때문이었음이 분자생물학적 방법에 의해 발견되었고, 이를 입증하기 위해서 isoleucine 변이를 가진 RT DNA를 합성하여 대조 바이러스에 넣어주어 새로운 바이러스를 만든 후 TIBO, nevirapine, HEPT로 시험해본 결과 이들 약물에 대해서 교차내성을 나타내어 100번째 아미노산에서의 변이가 실제로 내성이 발현되는 기전임을 보였다.

3. Nucleoside 유도체와 PFA에 복합내성을 나타내는 재조합 RT의 내성발현 기전

위 실험중에 만들어진 재조합 RT들을 nucleoside 유도체들인 AZTTP, ddATP, ddCTP, D4TTP와 pyrophosphate 유도체인 PFA로 시험해본 결과 이 모든 약물에 대해 복합내성을 나타내는 재조합 RT가 하나 발견되었다. 그 RT DNA의 sequencing은 90번째의 아미노산인 valine이 alanine으로 변이되었음을 보여주었다. 이 90번 위치의 아미노산이 RT 효소가 nucleoside 유도체 또는 PFA와 상호작용시 어떠한 역할을 하는지 알아보기위해 그 아미노산인 valine을 유사한 종류의 아미노산인 leucine, threonine, glycine으로 치환시킨 재조합 RT를 만들어 nucleoside 유도체와 PFA에 대한 IC50를 측정해보았다. 치환된 아미노산의 소수성이 감소하거나 그 크기가 작아지면 그것을 함유하고있는 재조합 RT는 nucleoside 유도체와 PFA에 대한 내성이 증가함을 보였으며 이것은 90번 위치의 아미노산이 dNTP의 pyrophosphate 기와 RT의 결합에 관여하고 있음을 시사하고있다.