

AIDS DNA Vaccine

Young-Chul Sung

Division of Molecular and Life Sciences, Pohang University
of Science and Technology, Pohang, Korea

일반적으로 백신을 개발하기 위해서는 ① 감염균 자체에 대한 이해와 ② 감염균에 대한 면역반응의 특성 ③ 그리고 어떤 유형의 면역반응이 방어에 중요한가를 알아야 한다. 가장 최근의 B형 간염백신 개발에도 17년이 걸린 예에서 보듯이 대부분의 백신개발은 오랫동안 힘든 과정을 거쳐야 한다. AIDS의 경우는 높은 사망률(mortality) 때문에 Food and Drug Administration(FDA)에서 검토과정(review process)을 간략하게 하여 백신 실용화를 앞당기려고 하고 있다. 백신을 개발하려면 우선 적절한 동물에서 안전하다는 것이 증명되어야 하고 백신의 인체 임상실험(Human clinical trials)은 FDA에서 정한 guidelines에 따라서 3단계의 Human clinical trials을 수행해야 한다. 1단계 임상실험(phase I human trials)은 소수의 사람에게서 해로운 효과가 있는가를 평가하는 주로 안전성에 집중하고 2단계 임상실험(phase II human trials)은 조금 더 많은 사람을 상대로 백신의 안전성(safety), 투약정량(dosage), 면역원성(immunogenicity)을 평가하기 위한 것이며 3단계 임상실험(phase III trials)은 백신의 효능 테스트를 하는 것으로 통계학적 의미를 가질 수 있도록 다수의 지원자를 대상으로 (AIDS 백신 경우는 최소 그룹당 1,000명 이상) 수행한다. AIDS 백신을 개발하기 위해 전 세계적으로 산학연의 수많은 연구자들이 부단한 노력과 FDA에서의 테스트와 검토과정을 신속하게 하는 등의 노력에도 불구하고 AIDS가 발견된 지 20년이 다되었는데도 아직 언제 백신이 실용화 될 것인가에 대해 불확실하고 단지 한국과학기술평가원의 예측에 의하면 2010년 정도일 것으로 보고 있다. 그럼 다른 백신에 비해 왜 AIDS 백신이 어려운가? AIDS 백신을 성공적으로 개발하는데 장애가 되는 것 중 중요한 것 네 가지를 들면 다음과 같다. 첫째, 백신이 성공하려면 백신이 숙주를 병원균으로부터 보호해 줄 수 있는 특이면역반응을 유도해야 하는데 HIV의 경우 아직 어떤 유형의 면역반응이 방어 면역인지를 잘 모르고 있다. 백신에 의해 방어 면역에 관여하지 않는 유형의 면역반응이 유도되면 오히려 해로울 수가 있다. HIV의 어떤 subclass의 항체는 Fc receptors를 경유해 대식세포(Macrophage)에 HIV 감염을 증가

시켜 준다는 보고가 있다. 한 예로 홍역(measles)의 경우 백신에 의해 유도된 면역반응의 어떤 유형은 오히려 바이러스 감염을 증가시켜 해롭다는 보고가 있다. 둘째, HIV는 계속해서 돌연변이를 일으킬 수 있어 표면의 당단백질(glycoprotein)을 바꾸어 숙주의 면역반응을 피해갈 수 있다. 이러한 HIV genome의 돌연변이 속도는 인간의 DNA에서 일어나는 것보다 수백만배 빠르다. 특히 돌연변이 속도가 높는데 그 속도는 효과적인 백신을 만들기 어렵다는 독감바이러스(influenza) 보다도 65배 정도 빠르다. 모든 AIDS 환자들은 서로 다른 HIV genome을 가지고 있을 뿐 아니라 심지어 한 환자 가 다양한 종류의 HIV genome을 동시에 가지고 있고(quasispecies), 또한 시간이 지나면서 한 환자 내에서도 HIV genome의 염기서열이 달라진다. 이러한 HIV DNA 염기서열의 다양성은 오류빈발(error-prone) 효소인 역전사효소(reverse transcriptase:RT)에 의해 일어나는데 HIV genome이 한번 복제하는데 대략 5~10개의 errors(substitutions, additions, and deletions)가 HIV genome에서 일어날 정도이다. 따라서 한가지 HIV genome을 가지고 백신을 개발하면 다른 genome을 가진 즉 백신 strain과 항원적으로 다른 HIV에 대해서는 효과가 없거나 약할 것이라는 문제점이 있어 해결책으로 여러 개의 서로 다른 HIV genome을 포함하는 cocktail 방법으로 백신개발이 이루어 져야 할 것이다. 셋째, HIV는 주로 free virus보다는 HIV가 감염된 세포(HIV-infected cell) 상태로 전염되는 것으로 알려졌는데 virus-infected cell에 대한 방어면역을 유도하기가 일반적으로 훨씬 어렵다는 문제점이 있다. 넷째, AIDS 백신을 개발하기에 필요한 적절한 동물모델이 없다는 것이다. HIV의 지속적 감염에 대한 자연적 동물모델로는 침팬지(chimpanzee)와 돼지꼬리 원숭이(pigtailed macaque)가 있는데 이들의 수가 현재 위험수준이라는 것과 HIV 감염에 의해 인간에게서 일어나는 면역결핍이 침팬지에서는 일어나지 않기 때문에 즉 HIV 감염에 의한 면역학적, 병리학적 현상이 사람과 틀리기 때문에 숙주의 면역 반응을 이용하는 백신개발의 적절한 모델이 될 수 없다는 점이다. HIV가 사람에게 감염후 나타나는 바이러스학, 면역학, 병리학 적 현상과 유사한 경우는 Simian Immunodeficiency Virus(SIV)가 짧은꼬리 원숭이(macaque)에 감염했을 때이다. 따라서 AIDS 백신을 개발하기 위해선 SIV-macaque 동물 모델을 이용하는 것이 가장 좋지만 SIV가 HIV와 염기서열의 차이가 있다는 것이 단점이다. 따라서 SIV/macaque 모델과 HIV/침팬지 모델을 모두 사용해야 한다는 어려운점이 있다. 이와 같은 어려움을 극복하고 안전하고 효과적인 AIDS 백신을 개발하기 위해 여러 유형의 백신이 디자인되었고, 현재 진행중인 것으로는 불활성 전체 바이러스 (inactivated whole virus), 생(生)재조합 바이러스(live recombinant viruses), 약독화 바이러스

(attenuated viruses), 소단위(subunit), 합성펩타이드(synthetic peptides), 항이디오타입항체(anti-idiotypic antibody) 그리고 DNA 백신 등이 있다.

DNA 백신이란 항원을 합성할 수 있는 DNA를 직접 근육주사나, 피하주사로 주입하여 생체 내에서 항원을 만들게 하고 만들어진 항원에 대한 면역반응이 유도되게 함으로써 암이나 질병(감염성)등을 예방 및 치료 할 수 있는 백신으로 최근에 개발된 백신 방법이다. HIV 유전자를 발현할 수 있는 naked DNA를 직접 생체 내로 주입하면 일부의 DNA가 세포 내로 들어가 전사, 번역과정을 거쳐 HIV 단백질인 항원을 생산하게 된다. 즉 DNA를 받아들인 세포가 백신공장 역할을 하게 되는 것이다. 이렇게 생산된 HIV 항원에 대한 특이 B-cell 및 T-cell 면역세포가 활성화되고 활성화된 HIV 항원 특이 살상세포가 HIV에 감염된 세포를 파괴할 수 있다. 이러한 DNA 백신은 기존의 백신과 비교하여 여러 가지 장점을 가지고 있다. ① 제조 및 투여가 값싸고 간단하며 ② 항원이 오랫동안 생산되어 유도된 면역이 오랫동안 지속될 수 있고 ③ 기존의 백신에 비해 정성적으로 다른 면역반응을 유도한다. 즉 T_H1 과, CTL이 주로 유도되고 ④ 유전자 재조합 기술의 도입으로 항원 조작이 쉽다는 유리한 점이 있고 ⑤ 저장에 편리하다는 장점과 ⑥ 감염성이 있는 병원균을 직접 쓰지 않기 때문에 상대적으로 안전하다는 장점이 있다. 이러한 장점 때문에 DNA 백신은 1993년 influenza virus 백신에 대해 Merck사에서 처음 소개하였지만 수 년 내로 다양한 종류의 바이러스, 박테리아, malaria와 같은 감염성 질병뿐 아니라 알러지나 암과 같은 질병에까지도 적용하여 동물모델에서 연구가 진행되고 있다.

DNA 백신이 중화 항체를 유도할 수 있을 뿐아니라 Th-1 like T helper cell(T_H1) response와 $CD8^+$ CTL을 특이하게 잘 유도할 수 있어 최근 AIDS 백신의 좋은 후보 백신으로 각광을 받고 있다. $CD8^+$ CTL 면역 반응이 바이러스 감염을 방어하는데 중요한 면역반응일 것이라는 증거로 다음과 같은 연구결과들이 있다. ① in vitro에서 CTL은 HIV가 새로운 virion을 만들기전에 감염된 세포를 죽이고 HIV 감염을 억제할 수 있는 chemokines을 방출할 수 있어 in vivo에서도 HIV 감염이 완전히 확립(establish) 되기전에 소수의 감염된 세포들을 초기에 제거할 수 있을 것이다. ② HIV에 노출은 되었지만 감염되지 않은 매춘여성들, HIV에 감염된 엄마로부터 태어났지만 감염이 안된 어린아이, 그리고 HIV에 오염된 피에 직업적으로 노출되었지만 seronegative health care workers들에서 HIV-특이 CTL 면역반응이 검출된다는 것 ③ SIV-macaque 모델에서 $CD8^+$ CTL에 의해 acute와 chronic viremias 둘 다를 억제한다는(suppression) 연구결과들이 있다. 그러나 macaque 동물모델에선 CTL이 유도되었으나 방어면역으로 작용하지 못한 경우가 있는데

이는 아마도 CTL의 세기(strength)가 방어를 할 정도로 충분히 유도되지 않는데서 기인된 것 같다. 따라서 CTL epitopes들 중 immunodominant epitope에 대한 CTL이 유도되어야 하고, 더욱 중요한 것은 하나의 epitope 보다 multiple epitopes에 대한 broader CTL 면역 반응을 유도하는 것이 성공적인 AIDS 백신 개발에 필수적이다. 특히 바이러스 복제과정에서 늦게 발현되는 구조 단백질(gag, pol, env)보다 감염초기에 발현되는 조절 단백질들(tat, rev, nef 등)을 백신에 포함시켜 이들에 대한 CTL을 유도하는 것이 백신의 효능을 증진시키는데 도움이 될 것이다. 또한 CD4⁺ T cell response가 HIV 감염을 막거나 억제 하는데 중요할 것이라는 증거가 있는데, ① chronic으로 HIV에 감염된 사람에서 viremia의 억제는 강한 gag-specific CD4⁺ T cell 면역반응과 비례한다는 연구결과가 있고 ② 몇몇보고에서 HIV에 노출은 되었는 데 항체음성인 사람들이 강한 CD4⁺ T cell response가 있다는 결과들이 있어서, 이것은 CD4⁺ T cells가 CTL의 effector 기능을 유지하는데 필요한 “help” 을 공급할 뿐 아니라 CTL 유도에 필요한 충분한 costimulatory signals를 제공하는 dendritic cells도 CD4⁺ T cells에 의해 도움을 받아야 한다는 이론적 근거로 미루어 쉽게 이해가 된다. 그러나 HIV는 활성화된 CD4⁺ T cell에서 복제하기 때문에 백신에 의해 CD4⁺ T cell이 활성화되면 바이러스의 복제를 촉진시켜 오히려 백신의 효능을 낮출 수 있다. 따라서 백신에 의해 CD4⁺ T cell의 면역반응을 촉진 시키는 것은 CD4⁺ T cell에 의해 CD8⁺ CTL 반응을 최대로 올리면서도 바이러스 복제를 최소한으로 증가시킬 수 있는 방법을 찾아야한다. 이런점에서 CD8⁺ CTL 뿐만 아니라 CTL 유도에 필요한 Th1 response를 잘 유도할 수 있는 DNA 백신은 AIDS 백신으로서 성공 가능성이 가장 높은 백신이 될 것이다.

참고문헌

- Abimiku. et al, Nature Med. 1:321 (1995)
- Bolognesi. et al, Sci. Am. Sci and Med. (Mar/Apr):44 (1995)
- Cao, Y. et al, New. Engl. J. Med. 332:201 (1995)
- Clerici, M. et al, Immunol. Today. 15:575 (1994)
- Danicl, M. et al, Science 258:1938 (1992)
- Ho, D. et al, Nature 373:123 (1995)
- Nowak M. et al, J. virol. 71:7518 (1999)

Ostrowski, N. et al, AIDS. Res. Hum. Retroviruses 13:473 (1997)
Pantaleo G. et al, Annu. Rev. immunol. 13:487 (1995)
and Nature 362:355 (1993)
Rosenberg, E. et al, Science 278:1447 (1997)
Schmitz, J. E. et al, Science 283:857 (1999)
Wagner, L. et al, Nature 391:908 (1998)
Wei, X. et al, Nature 373:117 (1995)
Yang, O. et al, J. Virol. 71:3120 (1997)