

동물감염병의 방제에 기대되는 신세대 vaccine(DNA vaccine, transgenic plant vaccine 및 mucosal vaccine)의 연구동향과 장래성

김 우 호

Jenner 및 Pasteur 시대 이래 vaccine 접종은 각종 감염병의 예방을 위해 가장 비용효과적(cost-effective)인 수단임이 입증되고 있다. 협조적인 면역조작 program 이 이 세상에서 천연두(smallpox)의 박멸과 미주에서의 polio(소아마비)의 실제적인 박멸을 초래하였다. 여러 종류의 감염병이 면역조작에 의해서 세계적인 발생을 극적으로 감소시키는데 공헌한 것이다. 그러나 아직도 많은 다른 감염병들은 제대로 방어되지 못하고 있다. 또한 몇몇 인수공통전염병(zoonoses)과 더불어 근래 축산물유래의 병원체가 사람의 보건을 위협하는 예가 각국에서 발생하여 문제시 되고 있다.

전통적으로 vaccine 연구는 주로 근육내 또는 피하경로로 비경구적(parenteral) 면역조작을 통해서 진성성의 액성면역을 유발시키는데 집중되었다(가축에 대해서는 경구용(oral) vaccine이 비교적 많이 개발되었음). 근래 DNA vaccine이나 peptide vaccine 등 생물공학(biotechnology)기법으로 만들어진 vaccine의 실용화 실험이 AIDS(後天性免疫缺乏症候群), malaria, 결핵 등의 난치성(難治性) 감염병의 예방을 위해서 활발히 진행되고 있다. 물론 가축이나 반려동물(伴侶動物)의 감염병 예방을 위한 이들 biotech vaccine의 응용도 기대된다. 병원체의 유전자가 계속 cloning 되고 또한 면역기구의 분자생물학적 해석이 진전됨에 따라 computer의 해석화상(解析畫像)을 보면서 vaccine의 분자구조를 design 하는 것도 가능하게 되었다. 다음 세기

초에는 야채나 목초에 항원유전자를 발현시킨 형질전환(transgenic) 식물(植物)을 원료로 하는 「먹는 biotech vaccine」도 등장하게 될 것이다. 염가이며 안전한 biotech vaccine이 축산의 장래성을 좌우하는 중요한 기술이 될 것은 확실하며, 이것에 부응하기 위해서 지난 8월 12~16일에 걸쳐 수의과학연구소에서는 「생물공학기술을 이용한 가축질병 방제전략⁹¹」이라는 과제로 금년도 유전공학 국제연찬회가 개최된 바 있다.

Vaccine(예방접종제)은 19세기말에 그 기술이 확립된 매우 안전하고 간편한 생체방어증강법이라고 할 수 있다. Vaccine은 인구밀집도시에서 폭발적으로 발생하는 전염병이나 미개지역에 잠입하는 감염성 풍토병(風土病)으로부터의 공포를 대폭 경감시켰으며, 또한 가축이나 가금의 급성전염병에 대해서도 극적인 예방효과를 발휘함으로써 축산물의 생산에 크게 공헌하고 있다. 물론 금세기 중반부터 공업적 규모로 생산이 시작된 항생물질(antibiotics)도 vaccine으로는 대응할 수 없는 많은 세균성 질병의 방제에 크게 공헌한 것이 사실이다. 그러나 급성전염병의 쇠퇴에 대신하여 축산분야에서는 소 유방염(bovine mastitis), 폐염(pneumonia), 장염(enteritis)을 대표로 하는 내재성 기회감염(opportunistic infection)이 새로운 소모요인으로 등장하게 되었다. 의당 이들에 대한 감염병 예방방책의 정석인 vaccine이 응용되기는 하였으나 대부분은 전세기형의 고전적인 vaccine이었으며, 결정적인 방제기술이 되지 못한다는 것을 알게 되었다.

우병(牛病)에 한해서 보더라도 그 피해가 큰 황색포

* 파천연구소

도구균성 유방염, *Salmonella*증, Johne병, neospora 원충병, piroplasma병, 백혈병 등에 대해서는 아직도 안전하고 유효한 vaccine의 실용화가 이루어지지 못하고 있다. 궁여지책으로 피해가 큰 세균감염병에 대해서는 대량의 항생물질이 예방 및 치료목적으로 사용되어 왔으나 이것은 작금의 의료현장에서 커다란 문제로 되고 있는 초내성(超耐性) 병원균의 출현의 유인이 되기도 하였다. 이와 같은 배경으로 미루어 안전성 확보를 위한 위해요소 중점관리 system인 HACCP(Hazard Analysis and Critical Control Point) 제도^{92,93}의 도입에 따른 축산식품의 미생물 오염방지에 대한 관리의 강화 목소리가 높아지는 와중(渦中)에서 보다 광범위한 감염병의 방제를 추진하기 위해서는 재조합 DNA 기법을 응용한 신세대 vaccine의 개발연구의 필요성이 수의계에 고조되고 있다고 보겠다. 신세대 vaccine¹이라고 하면 유전자재조합 vector vaccine, 유전자재조합 subunit vaccine, 유전자결손 vaccine 등이 포함되는 유전자재조합(recombinant) vaccine과 peptide(epitope) vaccine도 그 범주에 속하겠으나 본고에서는 우선 면역의 주역인 lymph구에 의한 vaccine 항원의 인식기구를 논하고, 가장 새로운 신세대 vaccine이라고 할 수 있는 DNA(核酸) vaccine 및 transgenic plant(形質轉換 植物) vaccine과 mucosal(粘膜) vaccine에 관해서만 그 연구동향과 장래성을 살펴보고자 한다.

I 신세대 vaccine의 개발목표

기존의 vaccine은 그 성상의 차이에 따라 크게 2가지 group으로 나누어진다. 즉, 생(live) vaccine과 불활화(inactivated) vaccine이 그것들이다. 전통적으로 생 vaccine은 그 병원성(pathogenicity)은 약화 또는 상실되어 있으나 면역원성(immunogenicity; antigenicity)은 유지되고 있는 virus나 세균 등의 병원체를 이용하여 왔다. 근래 진전되고 있는 재조합DNA 기술을 이용하여 virus나 세균을 발현(expression) vector로 하여 감염방어에 기능하는 항원을 발현시키는 vaccine(recombinant vaccine)이나 독력(virulence)에 관여하는 유전자를 삭제(deleted) virus vaccine 등도 이 범주에 포함된다. 생 vaccine은 방어항원을 숙주세포내에서 발현함으로써 MHC(主要組織適合性複合體) class I 분자를 매개

로 한 항원제시를 이루어 액성면역(HuI) 뿐만 아니라 세포성 면역(CMI)도 유도할 수 있다. 한편 불활화 vaccine에는 병원체 전체를 불활화한 것, 감염방어에 작동하는 항원을 병원체로부터 분리정제한 것(subunit vaccine), 재조합 DNA 기법을 이용하여 생산한 것(peptide; epitope vaccine) 등이 있으며, MHC class I 분자를 매개로 하는 항원제시를 이루는 것이 거의 불가능하며, 주로 액성면역을 유도할 뿐이다.

다음에 새로운 vaccine의 개발목표의 몇가지를 열거해 본다. 가축의 주요 소모성 질병인 폐염, 설사, 유방염을 예로 들 필요도 없이 대부분의 병원체는 호흡기, 소화기, 비뇨·생식기 등의 점막을 통해서 감염한다. 이와같은 점막에의 병원체의 정착이나 침입에 대해서는 주사용 vaccine에 의한 혈중항체(血中抗體)를 상승시켜도 면역에 의한 예방이 매우 어렵다. 따라서 감염의 장(場)이 되는 점막을 덮는 비즙(鼻汁), 기관점액(氣管粘液), 유즙(乳汁) 중의 항체를 효과적으로 상승시키는 점막 vaccine (mucosal vaccine; oral vaccine)의 개발이 필요한 것이다.²⁻⁵

한편 지속성 감염(persistent infection)을 일으키는 herpesvirus나 *Salmonella*균, Johne 병균과 같은 세포내 기생 병원체에 대해서는 항체만으로는 감염·발병방지가 어렵기 때문에 세포성 면역을 효과적으로 유도하게끔 하는 vaccine 제조를 설계하지 않으면 안된다. 즉, vaccine 설계에 있어서는 개개 병원체에 대한 방어면역의 주체가 세포성 면역인가, 액성면역인가 또는 전신면역인가, 점막(국소)면역인가를 밝히는 것이 중요 point가 된다. 근년 vaccine에 의해서 유도되는 면역의 특성은 소나 돼지에서도 interleukin(IL)이나 interferon (IFN) 등의 cytokine의 유전자발현 profile로서 판정될 수 있게끔 되었다. 예컨대 IL-2와 γ -IFN이 높게 발현되면 세포성 면역의 성립의 IL-4, IL-10이 높게 발현되면 액성면역성립의 지표가 되는 것이다.

가축(동물)에 대한 vaccine은 우선 경제성 문제로 그 제조비용이 저렴한 vaccine이 요구되며, 또한 유효성 지속기간이 긴 vaccine, 여러 종류의 병원체에 대응하는 혼합다가(混合多價) vaccine의 개발도 목표로 된다. 더구나 동물복지의 면에서는 vaccine 접종에 수반하는 보정(保定)이 용이하며 아픔이 적은 투여방법이 바람직한 것이다. 또한 축산물의 안전(잔류)성의 관점에서

는 독성의 잔류를 최소화 하는 조제법을 선택하지 않으면 안될 것이다. 고전적인 vaccine 으로서는 무리한, 위에서와 같은 요구성능에 도저히 부응할 수 없는 가능성을 DNA vaccine이나 유전자재조합 vaccine, peptide vaccine 등의 신세대 vaccine은 지니고 있는 것이다.

II. 면역세포에 의한 vaccine 항원의 인식 (면역응답)^{6, 92, 93}

Vaccine 항원에 의한 방어면역은 어떻게 유도되는 것일까? 병원체에 대한 특이적인 면역유도는 macrophage(M ϕ)나 수상(樹狀)세포(dendritic cell; DC) 등의 항원제시세포(antigen-presenting cell; APC)와 T세포, B세포라고 불리우는 lymph구가 거머쥐고 있다. 우선 항원특이 T세포의 유도기구(誘導機構)를 기술하면 T세포의 활성화에는 APC에 의한 항원처리와 그것에 뒤이어 일어나는 MHC 분자에 결합한 상태에서의 항원의 제시가 필요하다. MHC 분자는 개체별의 인식 marker 단백질으로써, class I 분자와 class II 분자의 2종류로 나누어지며 class I 분자는 모든 세포에, class II 분자는 항원제시능을 갖는 B세포 및 M ϕ 에 발현한다

(그림 1).

T세포 중에서 B세포로부터 항체산생세포(형질세포)로의 분화(分化)와 M ϕ 의 활성화를 촉진하는 cytokine을 생성하는 helper T세포(Th)의 활성화에는 APC의 MHC class II 분자를 매개로 하는 항원제시가 필요하다. Class II 분자는 조면소포체(rough ER)에 있어서 α chain(鎖)과 β chain이 형성되나 항원결합부위는 invariant chain(inv)이 결합하고 있다. 이것이 조면소포체로부터 Golgi체로 이동하여 당쇄(糖鎖)가 부가(附加)된 후 endosome내로 이행(移行)하면 단백질분해효소인 cathepsin에 의해서 inv가 분해되어 항원과의 결합이 가능하게 된다. 한편 세포밖으로부터 endosome내로 취입된 vaccine 항원(또는 세포밖으로부터의 virus 및 세균의 항원)은 peptide 단편으로 분해된 후 class II 분자에 결합한 다음 막(膜)표면으로 이동하여 T세포에 제시된다. Th세포(CD4⁺ helper T세포)는 T세포 수용체(TCR)로 이것을 catch함으로써 활성화 자극이 T세포의 핵에 전달되게 되면 갖가지 cytokine을 분비하게 된다(그림 2). 양 세포의 결합은 T세포의 CD4 분자와 APC의 class II 분자의 결합에 의해서 보강(補強)된다.

한편 생 vaccine중의 미생물이 세포내에서 증식한

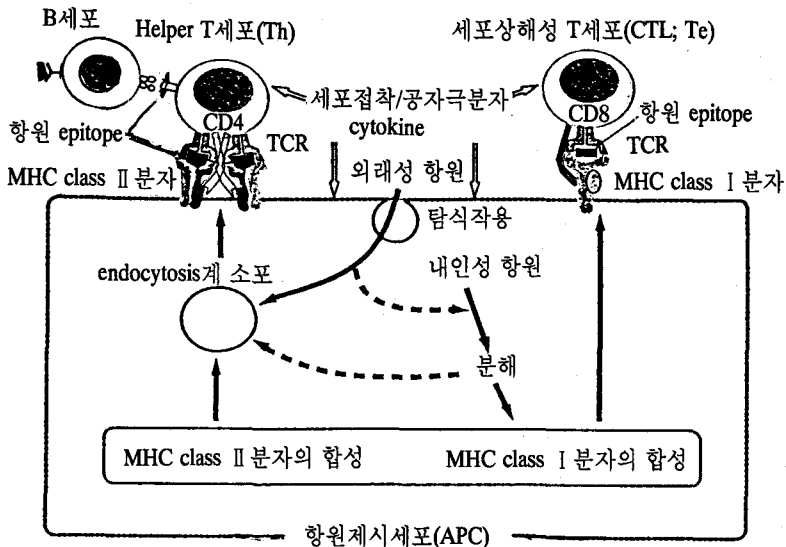


그림 1. 항원의 인식과 면역응답.

Vaccine 등의 항원은 APC에 의해서 처리되어 MHC class I 분자 또는 class II 분자와 더불어 제시되며, 뒤이어 TCR에 의해서 인식됨.

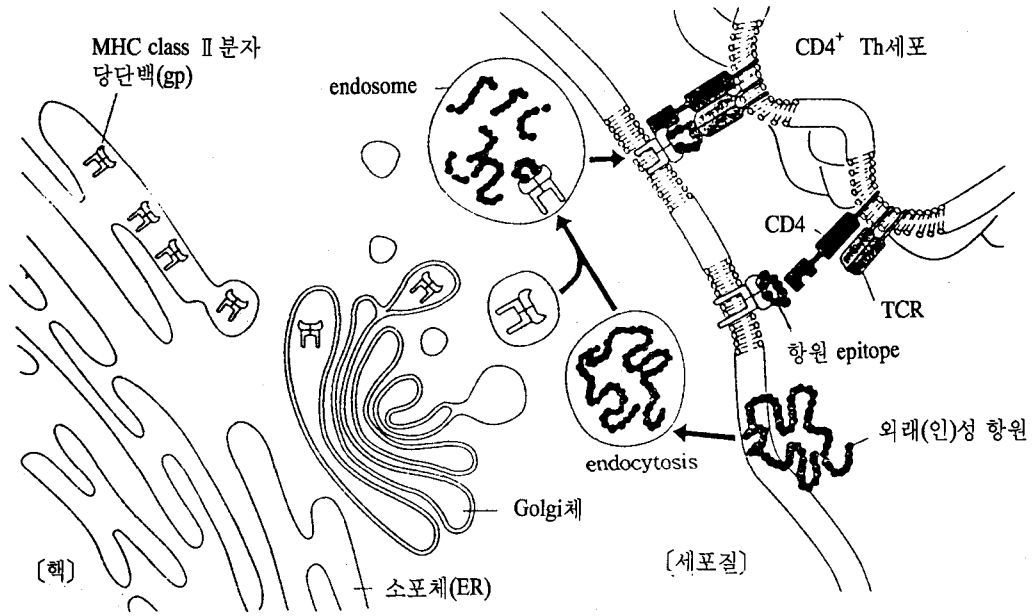


그림 2. MHC class II 분자를 매개로 하는 항원제시의 경로.

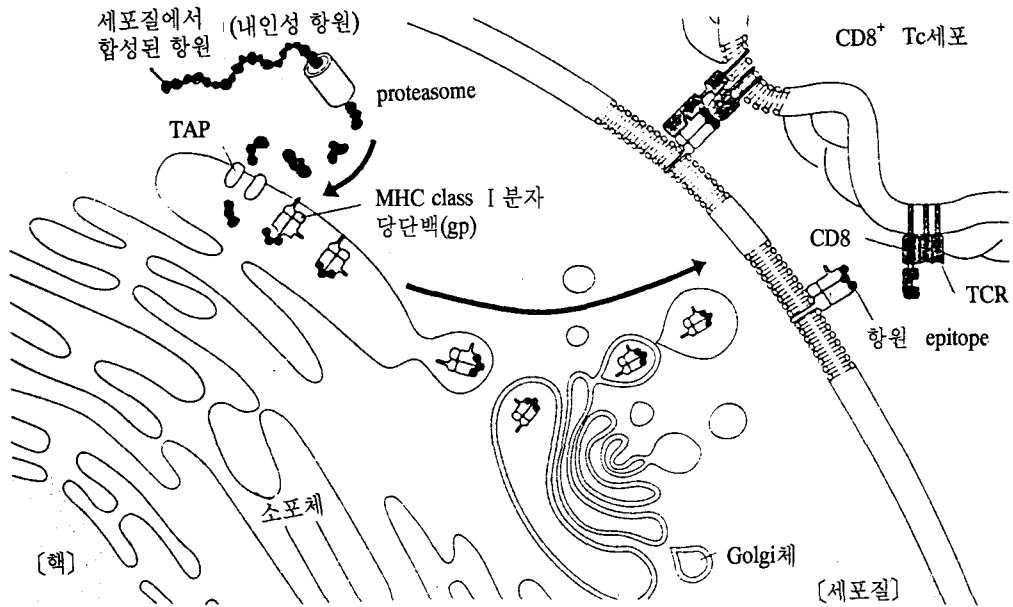


그림 3. MHC class I 분자를 매개로 하는 항원제시의 경로.

경우(숙주세포내에서 증식한 virus나 일부 세균)에는 MHC class I 분자에 의한 항원제시가 야기된다. 이것은 병원체가 감염한 세포를 공격하는 세포상해성 T세포(CTL; Tc; killer T)의 유도에 필수적이다. 세포질내에서 산생된 vaccine 항원(단백에 당이나 지질이 결합)은 세포질내 단백질분해효소인 proteasome에 의해서 oligopeptide로 단편화(斷片化)되며, 뒤이어 조면소포체 표면의 항원 receptor인 항원처리 peptide 수송단백(TAP)을 통과하여 내부로 운반된다. 항원 oligopeptide는 말단의 특이결합배열을 매개로 하여 MHC class I 분자(α chain과 β 2 microglobulin chain으로 구성)에 결합한 후 Golgi 체에 수송되어 세포막상에 항원 epitope와 MHC class I 분자와의 복합체로서 출현하게 되며, 뒤이어 CTL(Tc)의 TCR에 의해서 인식되는 것이다(그림 3). 이와같이 활성화된 CTL(Tc)은 virus 감염세포를 파괴함으로써 감염방어에 이바지한다.

다음, 항체산생세포의 성숙과정에서의 B세포와 T세포의 공동작용을 살펴본다. B세포는 표면 IgM receptor로 항원을 잡아 endosome내에서 MHC class II 분자와 결합한 다음 세포막 표면에 제시된다. 뒤이어 T세포가 TCR를 개재(介在)로 하여 B세포에 결합하면 다시 T세포의 CD40L 분자를 개재로 하여 B세포를 활성화하여 증식시킨다. 또한 T세포로부터 산생된 IL-2나 IL-4, IL-5, IL-6 등의 cytokine의 자극에 의해서 B세포의 Ig 유전자의 class switch가 야기되어 IgG나 IgA 항체가 산생되게 된다.

Vaccine 접종이나 병원체의 감염후에 세포성 면역 또는 액성면역의 어느쪽이 유도되는가는 Th세포의 Th1, Th2 subset의 어느 쪽이 우선적으로 활성화되는가에 의해서 결정된다. 활성화 Th1세포가 산생하는 IL-2 및 γ -IFN은 Tc세포의 활성화 작용과 Th2세포억제작용, M ϕ 나 NK세포의 활성화 작용을 지니기 때문에 강한 세포성 면역을 유도한다. 한편 Th2세포가 활성화 되면 IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 등의 cytokine 산생이 유도되며, B세포를 자극하여 항체산생(形質細胞로의 分化)의 방향으로 향하게 한다(액성면역). 이와 같은 2가지 면역응답의 방향성(方向性)을 control 하는 것은 M ϕ 로부터 산생되는 IL-12로 알려져 있다.

한편 항원이 피부 또는 점막의 상피를 통해서 생체 내에 들어올 경우에는 국소에서의 특별한 세포조직의

작동이 중요하다. 그들은 각각 피부부속 lymph 조직(skin-associated lymphoid tissue; SALT), 점막부속 lymph 조직(mucosa-associated lymphoid tissue; MALT)이라고 칭한다(MALT에 대해서는 뒤의「점막 vaccine」항에서 기술됨). DNA vaccine의 접종과 관련되는 SALT는 lymph구, Langerhans 세포, M ϕ , keratinocyte, 호중구, 비만세포(mast cell), 내피세포 등으로 이루어지며, CD1⁺, Ia⁺로서 IL-1을 만드는 Langerhans 세포가 APC로 작동한다. Ia의 발현이 유도되어 IL-1을 산생하는 것으로 알려진 keratinocyte도 항원제시에 일역을 담당한다. 피부로부터 들어오는 항원을 포획(捕捉)한 Langerhans 세포는 피부국소의 T세포에게 항원제시를 함과 아울러 lymph관으로 부터 lymph절로 들어가 그곳에서도 T세포에게 항원을 제시한다.

III. 신세대 vaccine

A. DNA vaccine⁷⁻¹¹ :

1990년 Wolff 등¹²은 나상의(naked) plasmid DNA(pDNA)를 mouse의 근육내에 주사함으로써 도입된 유전자의 발현을 mouse 개체에서 야기시킬 수 있다는 놀라운 사실을 발견하였다. 이것은 동물개체로의 유전자 도입에는 virus vector나 다른 어떤 carrier가 필요하다고 생각하였던 종래의 정설을 번복시킴과 아울러 DNA vaccine(또는 핵산 vaccine)이라는 새로운 기술의 가능성을 제시한 것이다. 소위 DNA vaccine은 그 기법의 단순명쾌함에 있어 항원단백을 중심으로 한 불활화 vaccine이나 약독화한(attenuated) 병원체를 사용하는 생 vaccine에 의존하고 있던 종래의 vaccine 개발에 혁명적인 기법을 초래했다고 할 수 있다.

종래 감염병의 명칭을 따서 호칭하던 vaccine과는 달리 DNA vaccine은 DNA에 대한 vaccine이라는 의미가 아니고 pDNA vector로부터의 유전자 발현(gene expression)을 이용한 vaccine이라는 뜻이다. 따라서 DNA-mediated(DNA媒介) 또는 nucleic acid(核酸) vaccine 그리고 그 조작을 genetic immunization(遺傳的 免疫操作)이라고 호칭하는 것이 더 적절할지도 모른다. 흔히 유전자를 동물개체에 효율 좋게 도입하여 발현시키기 위해서는 virus vector나 liposome 등의 carrier가 필요한 것이다. 그러나 virus나 세균 등의 병원체에

대한 감염방어에 작동하는 면역응답을 유도하는데 필요한 병원체의 항원을 coding 하는 유전자의 발현에는 pDNA vector를 접종하는 것만으로도 충분하다는 것이 알려짐으로써 DNA vaccine이 탄생하게 된 것이다. 최근에는 면역응답을 유도하는 것 뿐만 아니라 자기면역병(autoimmune disease) 상태에 대해서 면역억제적으로 작용하는 DNA vaccine의 개발도 진행되고 있다. 따라서 DNA vaccine이란 생체방어에 기능하는 항원유전자나 면역응답을 제어하는 숙주의 유전자를 전사(轉寫) promoter의 제어하에 숙주세포내에서 발현하게끔 작성한 pDNA vector 그 자체를 동물개체에 접종하는 vaccine이라고 말할 수 있다.

Dixon은 DNA매개 면역조작을 "제3의 vaccine 혁명"이라고 한 잡지에 인용하였다.¹³ 다시말해서 DNA vaccine 접종이란 발현될 항원유전자를 지니는 나상(裸狀)의 pDNA를 주사 또는 유전자총(gene gun system)을 사용하는 입자격발(particle bombardment)의 단순한 방법에 의해서 생체의 조직(근육 또는 피부)속으로 직접 도입하는 것을 말한다.¹⁴⁻¹⁹ 그와 같은 pDNA vector는 진핵생물체(숙주)에서 발현되어야 할 요소(항원유전자, promoter 등)를 포함하며, 따라서 항원단백질을 원위치(*in situ*)에서 발현하게 하는 것이다. 이 관점에서 숙주의 생합성기구가 단백질 합성에 이용되

는 것으로 미루어 DNA vaccine 접종은 virus의 감염에 유사하다고 볼 수 있다(많은 종류의 virus의 intact genome은 인위적으로 접종되면 감염성이 있을 수 있음).

DNA vaccine의 원리를 다시 간단히 설명하면 vaccine 항원을 coding하는 DNA의 발현 vector로 사용하는 plasmid는 동물세포의 세포질내에서 전사 promoter (예: CMV의 조기발현단백에 대한 전사개시유전자인 immediate early gene I promoter enhancer region)를 함유하고 있으며, 이것에 vaccine 항원단백의 구조유전자를 결합시킨 형태로 cloning 되는 것이다.²⁰ 이 plasmid를 도입한 대장균 등을 대량 증식시켜 plasmid DNA를 증폭시킨다. 다음 대장균 등으로부터 추출·정제한 plasmid(pDNA)를 DNA vaccine의 원료로 사용하는 것이다.^{21,22} 이 재조합 plasmid DNA(pDNA)를 동물세포에 접종하면 세포질내에서 전사 promoter에 의한 vaccine 항원유전자의 발현(mRNA로부터 peptide로 번역)이 일어난다. 즉, 항원단백이 산생되는 것이다. 뒤이어 vaccine 항원이 MHC 분자와 더불어 세포표면에 제시되어(그림 4) T세포나 B세포의 면역응답을 유도하게 되는 것이다.²³

가축에 대한 응용에는 아직 그리 많지 않으나 소의 herpesvirus 1 (IBRV)의 DNA vaccine을 주사한 소의 혈청과 콧물에서 중화항체의 산생이 유도되어 강독주에

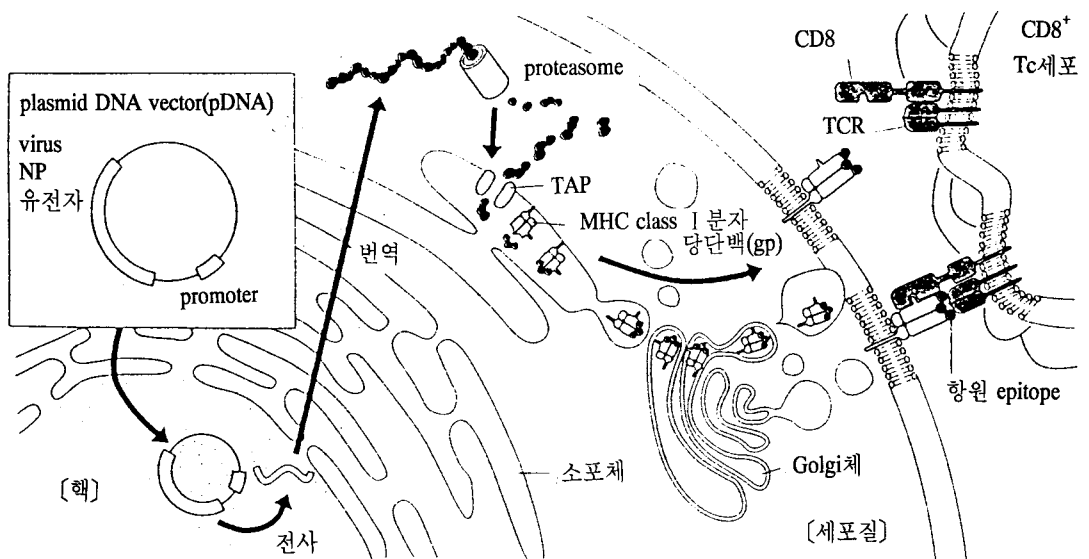


그림 4. DNA vaccine의 항원제시 경로.

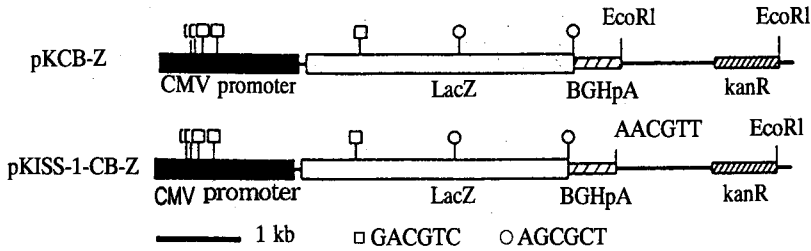


그림 5. DNA vaccine에 사용한 plasmid DNA(pDNA)의 구조모식도(Sato *et al.*).
 CMV: cytomegalovirus, BGHpA: bovine growth hormone poly A tail.

대한 감염방어능의 상승이 확인되고 있으며²⁴⁻²⁶, 닭의 Newcastle병 virus(NDV)의 F단백(fusion protein)에 대한 DNA vaccine도 lipofectin(plasmid의 세포내취입 촉진제)과의 주사에 의해서 닭에서의 방어면역이 유도되고 있다.²⁷ 또한 광견병(rabies) virus의 G단백유전자²⁹⁻³⁰ 그리고 그것에 γ -IFN 유전자를 결합시킨 DNA vaccine³¹과 고양이 AIDS병인인 FIV 구조유전자의 DNA vaccine도 보고되고 있다.³² A형 influenzavirus의 HA 또는 NP 유전자에 대한 DNA vaccine의 연구 보고³³⁻³⁷는 가장 많으며, 말의 influenzavirus HA에 대한 DNA vaccine의 보고도 있다.³⁸ 또한 rotavirus group A의 VP4, VP6 또는 VP7에 대한 DNA vaccine³⁹도 보고되고 있음으로 동물의 rotavirus 감염증에 의한 설사의 예방 vaccine으로도 응용될 수 있을 것이다.

원충의 일종인 *Cryptosporidium parvum*의 sporozoite의 표면항원단백에 대한 DNA vaccine을 양에 접종한 보고가 있다.¹⁸ 생리적 식염수에 부유시킨 100~1,000 μ g의 DNA vaccine을 유두(乳頭)피부 또는 후지(後肢)피부내에 gene gun으로 격발분사시킨 결과, 2주 후에는 높은 수준의 항체가 산생되어 10주간에 걸쳐 지속되었으며, 이 vaccine의 유방접종에에서는 sporozoite mRNA의 유방 lymph절에서의 발현이 있게 되어 초유(初乳)중에도 높은 수준의 항체가 산생되었다고 한다.

Internet의 'The DNA Vaccine Web'¹¹중 'Infectious Disease Models'항(<http://www.genweb.com/Dnavax/Tables/infectious.html>)을 보면 18종의 병원체에 대한 많은 연구자들의 이름이 나열되어 있으며 그 후에도 많은 연구논문이 보고되고 있다. 미국의 FDA는 이미 1996년 10월에 "Points to Consider on Plasmid DNA Vaccines

for Preventive Infectious Disease Indications"를 발표하였으며 WHO는 EC, 미국 FDA 및 NIAID와 공동으로 1996년 2월 '감염병 예방을 위한 핵산 vaccine의 국제적 회합'에 뒤이어 'Control and Standardization of Nucleic Acid Vaccines'제하의 workshop을 개최하였으며⁴⁰ 'Guidelines for Assuring the Quality of DNA Vaccines'라는 지침서의 조성을 토의한 바 있다.

DNA vaccine의 특징 : DNA vaccine은 숙주세포 내에 도입된 후 virus 등과 같이 세포내에서 증식하는 병원체와 마찬가지로 세포내에서 항원을 발현하고 MHC class I 분자를 매개로 한 항원제시에 의해서 고도의 세포성 면역의 유도가 있게 된다(그림 4 참조). 동시에 장기간에 걸친 액성면역도 유도될 수 있으므로 DNA vaccine은 생 vaccine과 마찬가지로 방어면역을 부여할 수 있다. 매우 인상적인 것은 nanogram(ng; 10⁻⁹gm) 수준의 DNA-발현단백질이 면역응답을 유도할 수 있다는 점이다.²⁸ 단일 dose의 DNA로 발생된 면역응답이라 할지라도 상당한 장수성(長壽性)이 있으며, 장기지속적으로 CTL(Tc) 응답 및 항체응답을 유발할 잠재력을 지닌다는 것이다.^{12,42-44} 또한 생 vaccine의 커다란 결점인 병원성의 복귀(復歸)나 열(熱)안정성이 낮은 것과 같은 문제는 DNA vaccine에는 없다는 것이다. DNA vaccine은 부여된 방어면역의 특성뿐만 아니라 그 제조방법의 단순성 및 제조비용의 저렴(低廉) 등 발전도상국에서의 vaccine의 필요성이나 수요의 크기를 고려하면 종래의 vaccine에는 없는 커다란 특성을 지니고 있다고 할 수 있다. 또한 DNA vaccine은 생 vaccine과는 달리 동일 또는 유사한 항원성을 갖는 vaccine의 여러번(複數回)에 걸친 접종이 가능하다. 보통 항원성이 유사한 병원체로 이루어진 생

vaccine을 복수회에 걸쳐 접종하면 초회(初回)접종 때에 획득한 면역에 의해서 그 이후의 면역의 부여가 효과적으로 이루어지지 못한다. 그러나 접종에 사용되는 DNA vaccine 재료는 병원체에 유래하는 항원을 지니고 있지 않기 때문에 복수회의 접종이 가능한 것이다. 이 특성은 어미로부터의 이행항체(maternal antibody)를 보유하는 새끼에 대한 면역을 고려할 때 특히 중요하다. 이와 같은 성상들을 고려하면 DNA vaccine이 이상적인 vaccine의 특징을 구비하고 있다는 것을 알 수 있다.

동물의 model system에 의한 연구로 미루어 사람집단이나 동물군에서의 감염병 예방의 장래성에 있어 DNA vaccine의 명확한 가능성에는 의심의 여지가 없어 보인다. DNA vaccine에는 몇몇 명백한 이점이 있다. 즉, 그것은 불활화 병원체, 세포단위 이하의 분획(예: subunit) 혹은 재조합 단백질 vaccine에 비해 제조가 용이하며, 각각 상이한 항원을 coding 하는 상이한 plasmid들은 동일한 방법으로 조제될 수 있다. DNA는 매우 안정하며(RNA는 매우 불안정) 극도의 온도에 대해서 저항적이다. 따라서 DNA vaccine의 저장, 수송 및 배포가 용이할 것이다. Vaccine의 생산 및 배포의 상용측(商用側) 고려점에 더하여 vaccine의 연구 및 개발분야에서도 마찬가지로 매력있는 이점이 있을 것이다. 분자면역학적 관점으로 보아도 그것은 현재 plasmid DNA에서 수행되는 단순한 조작으로 항원단백의 배열을 수식(修飾)하거나 혹은 이종(異種) epitope를 부가하는 것이 가능할 것이다. 따라서 plasmid DNA의 직접주사후 단백질의 변화된 면역원성의 직접적인 검정(檢定)이 뒤이어질 수 있을 것이다. 그러므로 이 단순화된 방법론은 항원에 대한 단백질과 면역응답간의 구조-기능적 상관관계를 이해하는 능력을 크게 촉진할 것으로 믿어진다.

DNA vaccine의 효과를 제어하는 염기배열의 의의: DNA vaccine에서는 MHC class I 분자를 매개로 하는 CTL(Tc)이 유도되는 것 외에 MHC class II 분자를 매개로 하는 CD4⁺ helper T세포(Th)도 활성화 된다. DNA vaccine으로 유도되는 항원특이적 CD4⁺ helper T세포는 항상 Th1 type이며, pDNA에 함유되는 CpG motif를 지닌 immunostimulatory sequence(ISS)가 면역유도에 필요하다는 것이 여러 연구자들에 의해서

보고되고 있다.⁴⁵⁻⁴⁹

종래 DNA는 생명의 설계도로서 SLE(全身性紅斑性狼瘡) 등 일부의 자기면역병을 제외하고는 DNA 자체에 면역원성이 없다고 생각되어 왔다. 그러나 미생물 DNA의 일부 염기배열이 포유류의 면역계를 직접 활성화시켜 NK(natural killer) 세포와 갖가지 cytokine을 유도할 수 있다는 것이 Tokunaga 등⁵⁰과 Yamamoto 등⁵¹의 일련의 연구로 밝혀져 ISS로 주목받게끔 되었다. 그들은 BCG의 항종양(抗腫瘍) 활성의 연구과정에서 DNA 성분에 항종양활성 및 면역부활작용이 있다는 것을 발견하였다. 면역활성화에는 미생물 DNA에 포함되는 비methyl화 CpG motif(5'-CG-3')가 관계하고 있으며 그 면역부활작용은 C(cytosine)의 methyl화에 의해서 상실된다는 것이다. 미생물 DNA에서 이 배열은 기대되는 빈도(16염기에 대해서 1의 비율)로 출현하고 있으나 포유류 DNA에서는 그 빈도가 낮거나(CpG suppression) 또는 C가 methyl화 되어 있기 때문에 자기(self)에 대한 면역을 활성화 하는 일은 없는 것으로 생각되고 있다.⁴⁸

Yamamoto 등⁵¹은 CpG motif를 중심에 갖는 6-base pair의 palindrome sequence가 면역활성화에 필요하며 5'-GACGTC-3', 5'-AGCGCT-3', 5'-AACGTT-3'의 3가지 palindrome 배열이 강하며 α/β -IFN, γ -IFN 산생 및 NK 세포활성을 유도한다는 것을 증명하였다. 그 후 CpG motif를 지닌 미생물 DNA는 직접 B세포를 활성화 한다는 것⁴⁹, lymph구로부터 IL-6, IL-12, γ -IFN 산생을 유도한다는 것⁴⁵, mouse비(脾) 세포유래의 부차세포로부터 IL-12와 TFN α 를 유도한다는 것⁴⁵이 보고되고 있다.

DNA vaccine으로 사용되는 pDNA는 세균유래의 vector로써 pDNA에는 ISS가 존재한다. Sato 등⁴⁷은 pDNA중에 존재하는 ISS가 면역유도에 필요하며 ISS를 결여한 pDNA를 면역조작에 사용할 경우에는 별로 면적이 유도되지 않는다는 것을 증명하고 있다. 이들이 실험에 사용한 plasmid의 모식도는 그림 5와 같다. pKCB-Z는 CMV의 promoter와 소의 성장 hormone 유전자(BHG) poly A부가 signal(pA)을 지닌 plasmid인 pKCB에 β -galactosidase(β -gal)을 coding 하는 LacZ를 삽입한 pDNA이다. 이 pDNA에는 Yamamoto 등⁵¹이 발견한 ISS의 한가지인 5'-AACGTT-3'의 배열이 존재

하지 않는다. 그들은 이 pDNA의 BGHPA에 인접(隣接)하는 *EcoRI* site에 ISS를 삽입하여 pKISS-1-CB-Z를 작성하고, 이들 pDNA의 면역유도를 비교검토하고 있다. 더욱이 ISS의 수를 증가시킴으로써 면역응답은 더욱 증강되는 것이 관찰됨으로써 DNA vaccine에 의한 면역의 유도에는 ISS가 중요하다는 것을 나타내었다.

이와같이 DNA vaccine의 접종에서는 pDNA가 coding 하는 단백질이 발현됨과 동시에 pDNA에 들어있는 ISS가 면역담당세포로부터 갖가지 cytokine을 유도하여 발현단백에 대한 면역응답을 증가시키는 것으로 생각되고 있다. 더욱이 ISS에서 유도되는 IL-12에 의해서 발현단백에서 활성화된 naive(未經驗) CD4⁺ T 세포는 Th1세포로 분화되는 것으로 추정되고 있다.

DNA vaccine의 금후의 과제 : DNA vaccine이 이와 같이 이상적인 특징을 구비한 vaccine이기는 하나 실용화를 위해서는 해결되어야 할 몇가지 문제점을 남기고 있다. 특히 그 안전성에 관한 문제가 금후의 커다란 과제가 될 것이다.⁵³⁻⁵⁵ DNA vaccine은 다른 vaccine에 비교하여 장기간 지속되는 면역을 부여한다는 것이 밝혀지고 있으나 그 이점의 이면(裏面)에는 장기간에 걸친 지속면역의 결과 염증(炎症)반응, 면역관용(immunological tolerance)이나 자기면역반응(autoimmune reaction) 등이 야기될 잠재적 가능성이 남겨져 있다. 다행히 현재까지의 실험결과로서는 그와 같은 불리한 점들을 시사하는 관찰은 별로 얻어지지 않고 있다. 이와같은 가능성들이 완전히 부정되어야 할 것이며, 또한 항원발현을 적절히 조절하는 방법이 고안(考案)되어야 한다는 것 등이 금후의 연구과제일 것이다. DNA vaccine의 접종에 수반하여 생길 수 있는 pDNA에 대한 면역응답의 유무에도 주의를 기울여야 할 것이다. 또한 접종한 pDNA(vector)가 숙주의 염색체 DNA에 integrate(融合)될 가능성에 대해서도 검토할 필요가 있으며, 그 결과로써 야기되는 세포의 암화(癌化) 등의 위험성의 평가도 이루어져야 할 것이다. 이들 과제에 더하여 DNA vaccine의 효과를 더욱 높이는 연구 즉, 방어항원의 발현을 제어하는 plasmid vector의 개량이나 접종경로 및 접종방법의 개량 등의 연구도 이루어져야 할 것이다(근육내주사량에 비해 1/500 이하의 pDNA량으로도 같은 정도의 면역을 유도한다는 유전자총은 현재로서는 너무 고가이며, 금입자에

coating 하여 격발하는 pDNA량도 한계성이 있음).

B. 형질전환 식물(transgenic plant) vaccine :

식물육종에 형질전환(形質轉換)식물기술을 이용하여 vaccine 항원은 물론 동물 hormone이나 항체(Ab)의 유전자 등을 식물에 도입하여 대량 발현시킬 수 있게 되었다.^{58,60} 이것에는 3가지 접근방법이 있다. 즉, 토양세균으로서 식물에 기생하는 *Agrobacterium* 균종이 지니는 Ti(tumor inducing) plasmid를 vector를 이용하거나 단자엽(單子葉, monocot) 및 쌍자엽(雙子葉, dicot) 식물에 감염하는 *Clavibacter* 균(전에는 식물병원성의 *Corynebacterium* 균종으로 분류)의 genome속에 항원유전자를 삽입하여 재조합 *Clavibacter* 균종을 만드는 것이다.⁶¹ 또한 각종 식물 virus를 vector로 사용하여 항원유전자를 발현시키는 방법이 있다. 즉, 각종 식물 virus(cowpea mosaic virus, CPMV; tobacco mosaic virus, TMV; alfalfa mosaic virus, AMV 등)를 vector로 하여 항원유전자를 그 표면에 발현시키거나 또는 식물체에 발현시키는 것이다. 면역학적으로 중요한 epitope를 지니게끔 TMV나 AMV를 재조합식물 virus로 유전자 조작을 시행하는 것이다. 다른 한가지는 특정식물에 직접 유전자를 도입하여 형질전환식물(transgenic plant)을 만드는 것이다.

첫 번째 방법에 관해서 개략적으로 기술하면 Ti plasmid의 특정영역(T-DNA)은 양단에 삽입배열(LB, RB라고 하는 25 염기쌍(bp)의 반복배열을 지니며 자유로이 다른 유전자에 융합이 가능함)을 지니고 있으므로 이 속에 외래유전자를 삽입하여 vector plasmid를 작성한다.⁵⁶⁻⁶⁰ 일반적으로 사용되는 것은 shuttle vector 기능(대장균과 *Agrobacterium*의 양쪽에서 복제가 가능)을 갖는 발현 vector이다. 이 vector는 LB, RB의 반복배열 사이에 끼이는 cloning site를 지니며, 더하여 식물과 세균에서의 내성(耐性)의 선택 marker와 세균 중에서의 복제기점배열이 연결되어 있다. 이 vector의 cloning site에 vaccine 항원유전자와 식물 virus의 promoter를 연결시킨 발현 plasmid를 작성하여 대장균에 취입시킨다. 다음, 접합전달(接合傳達)에 의해서 대장균중의 shuttle vector를 vi helper plasmid(T-DNA를 결실한 Ti plasmid)를 지니는 *Agrobacterium*에 이입(移入)시킨다. vi helper plasmid는 전이(轉移)촉진단백을 산생하여 재조합 shuttle vector중의 promoter+vaccine

유전자 부분을 식물세포의 염색체 유전자에 효과적으로 전이시키는 것이다(그림 6).

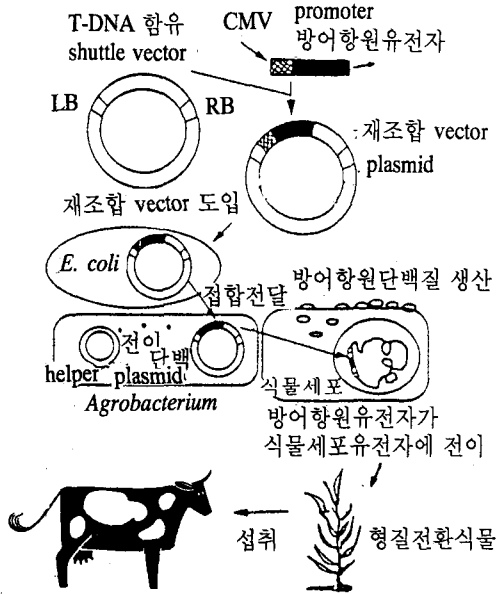


그림 6. *Agrobacterium*의 Ti plasmid를 이용한 shuttle vector에 의한 transgenic plant vaccine 작성의 모식도.

두 번째 방법의 초창기 예로는 구제역 virus(FMDV)의 VP1 epitope 유전자를 식물 virus인 CPMV에 삽입시켜 그 chimera virus 입자의 표면에 항원단백을 발현시켰으며 cowpea(大角豆) 식물도 감염케 하였다.⁶² 그러나 그 삽입배열이 계대배양 동안에 상동(相同)제조합 과정에 의해서 신속히 상실되어 버리는 폐단이 있었으므로 다시 유전적으로 안정한 chimera virus를 작성하여 실험한 보고에도 있다.⁶⁴ 또한 mink 장염 virus(MEV)의 VP2 capsid 단백 epitope 유전자를 CPMV에 삽입시킨 chimera virus particle(CVP)들을 cowpea에서 증식시켜 이것들을 mink에 주사하여 방어효과를 얻었다고 한다.⁶³ 이와 같은 식물 CVP의 잠재적 이용성은 3가지 상이한 Parvovirus과의 MEV, 개 parvovirus 및 고양이 panleukopenia virus의 epitope vaccine이 mink, 개, 고양이에서 각각 사용될 수 있다는 것이다. 또 다른 예로서는 CPMV의 표면에 HIV-1의 gp41를 발현시켜 이것들을 mouse에 접종함으로써 HIV-1 특이적 중화항체 및 ELISA 항체의 유도를 자극하였다고 보고하고 있다.⁶⁵ 또한 재조합 TMV 표면에 malaria 원충의

epitope를 발현시킨 보고도 있다.⁶⁶

중화항체 산생을 자극하는 광견병(rabies) virus glycoprotein(gp)의 한 선상(linear) epitope 유전자⁶⁷를 TMV의 coat protein(外殼蛋白) 유전자의 C-terminus속에 삽입하여 작성한 재조합 TMV로의 면역학적 연구는 현재 진행중에 있다고 한다.⁶¹ *Clavibacter*균의 genome 속에 광견병 virus의 nucleoprotein(np) 유전자를 삽입함으로써 이 np를 발현하는 재조합 *Clavibacter*균을 순화시켜 mouse에게 비경구적으로 면역조작시켰던 바 광견병 virus np에 대한 항체응답을 자극하였다는 것이다.⁶¹ 현재 이 재조합 *Clavibacter*균을 식물체에 감염시키는데 사용되고 있다고 한다.

세 번째는 유전자 조작기술에 의한 형질전환식물의 또다른 이용법으로서 최근에 형질전환 tomato를 광견병 virus의 G단백을 발현시켜 vaccine으로 사용한 예이다.⁶⁸ 동결건조시킨 형질전환 tomato를 반복하여 먹인 mouse는 분변 pellet에서 광견병 virus의 gp-특이적인 항체응답의 유도를 이루었다고 한다. 또한 대장균의 이열성 독소(LT-B) 유전자를 직접 도입한 담배잎이나 감자식물의 지하경(地下莖; 감자)에서 LT-B 단백을 산생시키는데 성공한 예이다.⁶⁹ 이것을 건조시켜 먹인 mouse에서는 장관즙액(腸管汁液)이나 혈청중에 LT-B 항체가 상승한 것으로 미루어 먹이는(oral; edible) vaccine의 가축으로의 응용도 현실성을 띄게 될 것으로 보인다. 연쇄구균 표면단백항원에 대한 monoclonal 항체(MAb)성 IgA 항체의 H, L, J chain과 분비성분(SC)의 peptide 유전자를 각각 발현시킨 담배식물을 교배시켜 완전한 분비형 Ig단백(S-IgA)을 산생시킨 실험도 성공하고 있다.⁷⁰ Thanavala 등⁷¹은 형질전환담배잎에서 추출·순화된 재조합 HBsAg(사람의 B형 간염 virus 표면항원)를 mouse에 면역조작하였을 때 현행의 상용(商用) 효모유래 재조합 HBsAg와 동등하게 면역응답을 유도하였음을 보고하고 있다. 이 항원이 형질전환식물에서 발현되었을 때 HBsAg의 B 및 T세포 epitope가 모두 보존되었다는 것이다. 또한 Mason 등⁷²은 형질전환된 담배 및 감자에서 Norwalk virus(사람에게 급성위장염을 일으키는 calicivirus의 일종)의 capsid 단백질의 발현과 그것의 mouse로의 경구적 면역원성을 확인·보고하고 있다. 이것은 먹이(edible)는 vaccine⁶¹의 경제적인 전달방법으로 식물의 식물기관

을 이용할 수 있음을 시사하고 있다. 그들은 또한 형질전환된 담배잎 추출물에서 HBsAg의 존재를 밝힘으로써 식물에서의 외래유전자의 전사 혹은 번역에 있어 고유의 한계가 없음을 추정케 하고 있다. 형질전환 식물에서 얻어진 HBsAg가 사람의 혈청유래 및 재조합효모유래의 HBsAg와 항원적 및 물리적 성상이 유사하므로 형질전환식물이 장차 희망적인 저비용의 동물용 vaccine 생산 system이 될 수 있을 것으로 기대된다. 따라서 이와 같은 방법으로 장래에는 송아지용의 대장균 vaccine 항원 뿐만 아니라 우형(牛型)의 대장균 항체를 발현시킨 대두(大豆)의 분말을 송아지의 설사 방지용 인공유에 응용하는 것도 가능할 것으로 보인다.

C. Mucosal(粘膜) vaccine^{2~4} :

점막 lymph 조직 : 생체의 표면을 덮고 있는 피부 외에 외계와 접하고 있는 다른 한가지는 소화관이나 호흡기, 비노생식기 등을 구성하고 있는 점막계 조직이다. 이것을 일반점막면역계(common mucosal immune system; CMIS)라고 한다.^{2~4} 그 중에서도 장관부속 lymph 조직(gut-associated lymphoid tissue; GALT)이 가장 많이 연구되어 있으며, 기관부속 lymph 조직(bronchus-associated lymphoid tissue; BALT) 등과 더불어 MALT(mucosa-associated lymphoid tissue)에 속한다(그림 7). 사람의 경우 점막의 면적은 4~500m² 정도(피부면적의 200배)에 이르며 점막계 조직중에서도 소화기는 약 80%의 면적을 점유한다. 영양분을 흡수하는 소화기계는 매일 막대한 수의 이물질과 접촉하며 불필요한 것과 유해한 물질을 배설한다. 매일 섭취하는 음식물중에는 영양소 외에 많은 미생물도 존재하며, 이들은 장내에서 증식하여 소위 '균총(microflora)을 형성한다. 이들 장내 균총을 형성하는 미생물은 100~300 종류에 이르며, 약 100조개나 되어 그 중량이 약 1kg에 달한다는 것이다. 이와 같이 무수한 수의 미생물과 접촉하는 장관은 이들 미생물과의 공존상태에서 유해한 미생물의 침입이나 그들이 산생하는 독소 그리고 외부로부터 침입되는 유해물질을 배제하기 위해서 극히 중요한 면역기구를 구비하고 있다. 장관의 점막면역은 감염 등에 대한 제1선의 방어의 필요성으로 생겨난 가장 원시적이며 또한 생명유지에 있어 극히 중요한 역할을 담당하는 기구(機構)라고 생각된다.

분비형(secretory) IgA(S-IgA)에 의한 면역 : S-IgA가 매개하는 면역는 점막면역(전에는 국소면역이라고 하였음)으로써 다른 계통면역과는 구별된다. Poly Ig receptor(pIgR; =SC)와 더불어 점막표면에 분비되는 IgA 즉, S-IgA는 세균이나 virus와 결합하여 그들이 점막상피에 정착(接着)하는 것을 방해하며 또한 그 증식을 억제한다. 이 S-IgA-점막상피의 조합으로 이루어지는 면역는 점막으로 침입하는 많은 병원체에 대한 방어기전으로써 특히 중요하다.

면역의 작동에는 혈액간세포(lymph球: B 및 T lymph球, NK細胞 등; 骨髓球: 大食細胞(M ϕ), 樹狀細胞(DC), 好中球, 好酸球, 好鹽基球, 巨核球, 赤血球, 血小板 등)이외에도 많은 세포가 직접 또는 간접적으로 관계하고 있다. 예컨대 간실질(肝實質)세포는 면역의 effector(實效) 활성화에 중요한 작동을 하는 보체단백을 만들어 낸다. 피부나 점막의 상피세포도 체내로의 이물질의 침입을 저지하는 작용에 의해서 생체방어기구를 지탱한다. 점막 및 피부에 부속하는 선(gland)세포로부터는 갖가지 화학물질(酸 등)이나 효소(水解酵素 등)가 분비된다. 이들은 한편으로는 소화관의 활동에 필요불가결한 것임과 동시에 또다른 한편으로는 점막 및 피부로 침입하는 병원체로부터 생체를 방어하는 것이 된다.

MALT를 구성하는 점막상피세포층에는 γ T세포와 α β T세포를 중심으로 하는 상피세포간 lymph구(intraepithelial lymphocyte; IEL)가 존재하며 점막면역기구에 있어서 effector 세포로써 중요한 역할을 행하고 있다. 현재 각종 T세포에 의한 Th1형, Th2 cytokine 산생능력 또는 cytokine 수용체의 발현기구에 대해서 분자수준의 해석이 이루어지고 있다. Lymph절과 같이 고도의 짜임새 있는 구조를 갖지 않는 MALT에서 lymph구는 모여서 갖가지 lymph 조직을 구성한다. Lymph구가 최초로 나타나는 원시적 최후동물에서는 혈관밖으로 나온 lymph구가 결합조직에 무질서하게 집합한 조직으로 보인다. 더욱 진화한 lymph 조직이 lymph 여포로써 사람을 포함한 동물의 장관이나 기관의 점막 고유층(lamina propria)이나 점막하층에 많이 보인다. 1차 여포와 2차 여포가 있으며 2차 여포는 B lymph구, 아구(blast), 형질세포로 이루어지는 배중심(germinal center)을 지닌다. 2차 여포는 출생전에는 보이지 않

는다.

여포(follicle)가 다수 모여서 생긴 조직으로서 편도(tonsil)나 Peyer판(Peyer's patch; PP)이 있다. 편도는 소화관의 입쪽의 입구를 ring상으로 둘러싸는 결합상의 lymph 조직이나 표면은 상피세포로 이루어져 있으며 기저부(基底部)는 결합조직 피막(被膜)으로 덮혀 있고, 상피와 피막간의 결합조직과 lymph구로 이루어진다. 편도는 lymph 모세관으로 둘러싸여 있으며, 편도층의 lymph액이나 세포는 이곳으로부터 lymph절에 들어간다. Peyer판은 회장(回腸)에 보이는 여포집단(성숙기에는 >200개이나 연령과 더불어 점차 감소됨)이며, 여포를 덮는 상피에 항원의 흡수·운반을 행

하는 특수한 세포가 있으며 이것을 M(microfold)세포라고 한다. 충수(appendix)의 고유점막에도 다수의 lymph 여포를 지니는 lymph 조직이 있다. 이들 장관이나 기도의 lymph 조직은 점막면역에 중요한 역할을 행하는 것이다(그림 7 참조).

이와 같이 MALT의 항원에 대한 면역응답은 주로 IgA를 산생하는 B lymph구의 응답이다. 국소에서 특정의 항원에 대해서 IgA를 산생하는 것을 방향짓게 된 B lymph구는 lymph관을 통하여 소속 lymph절로 들어가 그곳에서 성숙한 항체를 분비하게 된다. 그후 lymph절을 나와 흉관(胸管)으로부터 혈관으로 이동하며, 그곳에서 재차 각 부위의 MALT에 들어가 고유점

MALT (mucosa-associated lymphoid tissue)

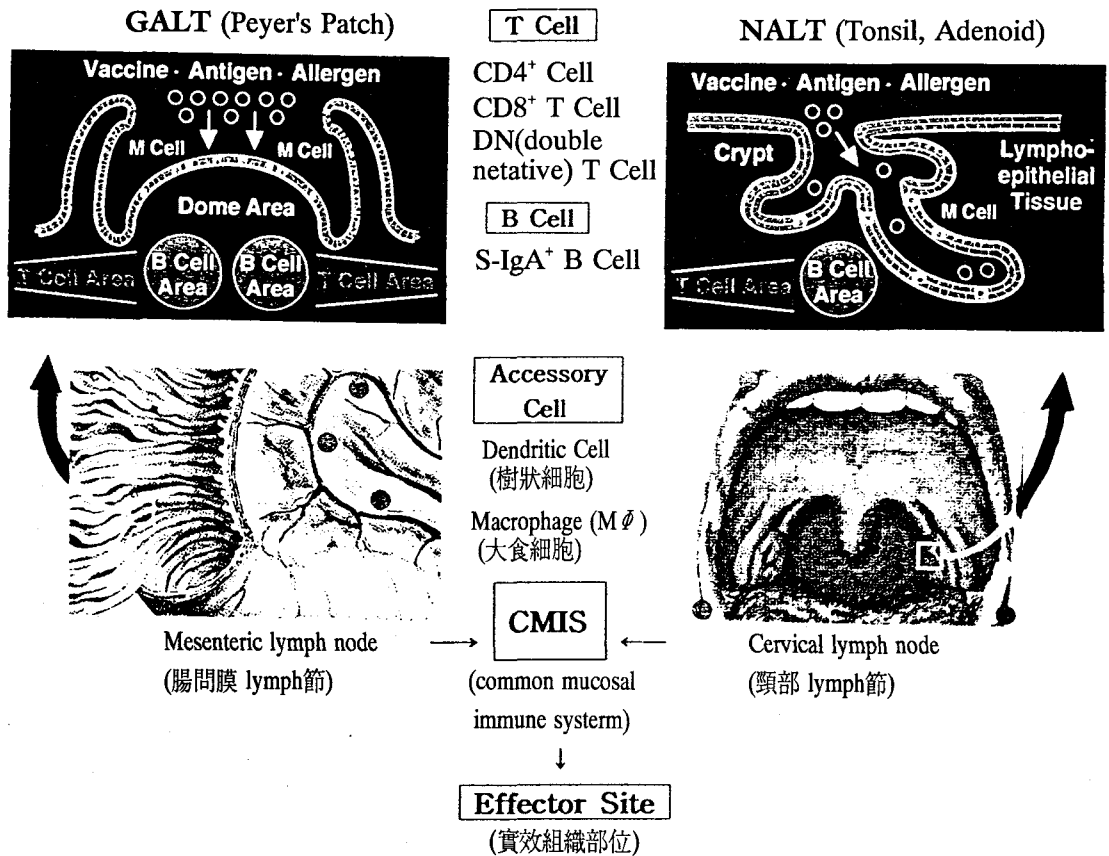


그림 7. MALT(GALT, BALT)와 점막면역의 유도.

막층에 정착한다. 그곳에서 같은 항원의 자극을 받아 항체를 합성·분비한다. 분비된 항체는 한쪽에서 lymph관을 통하여 흉관으로부터 혈관으로 들어가는 것과 다른 쪽에서 점막상피세포의 PIgR(=SC)와 결합하여, 이 세포에 포착(捕捉)되어 세포내를 통하여 반대쪽의 관강(管腔)내의 PIgR와 더불어 분비된다. PIgR 즉, SC와 결합된 IgA(S-IgA)는 소화효소에 대해서 저항성을 지니며 점막으로 침입하는 병원체의 방어에 중요한 역할을 담당한다.

경구면역관용(oral tolerance) : 흔히 '경구면역관용'^{73,94}으로 인용된 현상은 동물에게 항원물질을 먹이거나 흡입시키면 동일항원을 전신적 경로(全身的經路)로 재노출(흔히 주사)시켰을 때 면역응답의 유발능력이 무반응적이거나 혹은 감소된다는 사실이 특성인 것이다. 이 영향은 특히 T세포매개 면역응답에 대해서 보고되어 있고(관용의 순서는 Th1 > Th2 > B세포의 순이라고 함) 이것은 중요한 자연적 생리구이며, 따라서 우리들은 많은 식품단백질 및 다른 항원 들의 섭취에 대해서 지연형 염증성 면역반응의 발생을 피할 수 있는 것이다.

예컨대 mouse의 먹이에 milk allergen의 일종인 casein을 투여한다. 1~2주 정도 사육한 후 복강내로 같은 casein을 주사하여도 casein에 대응하는 항체나 casein에 특이적으로 응답하는 T세포는 장기간 출현하지 않는다. 다시 말해서 사전에 경구적으로 항원이 투여되면 그 항원에 대해서 면역응답이 나타나지 않는다. 대조적으로 casein이 함유되지 않은 사료를 먹일 경우에는 casein을 복강내로 주사하면(면역조작) casein에 대한 현저한 항체산생과 casein 특이적인 T세포가 출현하게 된다. 이와같이 경구면역관용현상의 유도는 조건에 따라 변화하는 것이다. 항원의 특성, 항원의 투여량, 동물의 계통, 동물의 성숙상태, 장내 균총(腸內菌叢) 등이 그와 같은 조건이 된다.

점막 vaccine^{2~5} : 점막을 통한 미생물감염병에 대한 예방대책에 있어서는 점막면에서의 확실한 면역의 유도가 과제로 등장한다. 이것을 위해서는 vaccine의 경점막투여법(GALT를 위해서는 경구(oral)투여, NALT를 위해서는 경비(nasal)투여, 그 외에 분무(spray), 점안(點眼), 질내(腔內)⁷¹ 및 직장내 투여방법으로도 시행할 수 있음)이 유효하다. 현재 vaccine 연구의 큰 목

적의 한가지는 면역원으로써 재조합단백질 혹은 peptide가 함유된 경구 또는 경비적으로 활성적인 vaccine을 개발하는 것이다. 그와 같은 vaccine은 명백히 경구면역관용(oral tolerance)의 유발을 극복할 수 있어야 성공할 수 있다. 이에 관련된 원리의 이해는 적절한 vector의 design에 도움이 될 것이다. 경구용 vaccine의 성공은 그 항원이 살아있거나 죽은 것이거나 간에 입자상이어야 할 것이며, 장관에서 항원단백질을 취입하거나 또는 면역계내에서 APC에 의해서 제시됨으로써 면역이 촉진될 수 있는 adjuvant를 함유해야 할 것이다. 더구나 경구용(oral) vaccine의 경우는 적절한 delivery(傳達) system의 개발이 중요하다.

이와같은 조건을 충족시킬 수 있는 몇가지 접근방법이 개발되고 있다. 즉, 외래(항원) 유전자를 위한 vector로써 *Salmonella* 균의 약독화 변이주, adenovirus (이상은 증상의 발현없이 장에서 증식됨) 등의 사용과 그리고 점막용 adjuvant로써 cholera toxin(CT)의 B subunit의 이용이 그것들이다.^{75,76} 이들 vector가 성공적이기는 하나 여러번의 면역조작을 제한하기 때문에 그들 자체가 능동적인 면역응답을 유발하지 않는 비항원적인 vector라야 하는 것이다. Polyglycoside micro-sphere상에 coating 된 단백질이 이 문제에 답을 줄 수 있는 한가지³이기는 하지만 이 제제는 adjuvant능이 없으며, 재료의 비용도 저렴하지 않을 것이다. Quil A(saponin)를 함유하는 ISCOM속에 항원단백질을 도입한 것이 경구면역관용의 유발을 극복하고 장관점막과 전신면역계의 양쪽에 1차적인 면역응답을 유도하였다고 한다.⁷⁷⁻⁷⁹ 이들 미소한 입자(30~40nm)의 효능은 부분적으로 장관에서의 항원의 취입을 증가시키는 것으로 다분히 장관의 거칠은 환경에서의 ISCOM의 비교적적인 안정성 때문이거나 혹은 상피세포를 통과하는 항원단백의 이송(移送)을 강화하는 Quil A의 detergent 성상 때문일 것이다. 더구나 Quil A 그 자체는 APC 활성을 촉진할 수 있는 경구적으로 활성적인 adjuvant인 것이다.⁸⁰ ISCOM으로의 성공은 경구면역관용의 지속적 연구가 다른 경구적으로 활성적인 vaccine의 개발을 허용할 것이라는 믿음을 고무시키는 것이다.

Vaccine delivery system으로 고안된 다른 한가지는 서방성(徐放性)의 microcapsule이다. 갖가지 고분자 소

재가 microcapsule의 제조에 이용되고 있다.^{3,81-83} 이미 임상에서 그 안전성이 확인된 poly(lactide-coglycolide) (PLG) microparticle은 4 μ m 부근 크기의 미소입자가 가장 높은 혈중IgG를 유도하였으며 15 μ m 전후의 미소입자에서는 S-IgA의 산생이 확인되는 등 미립자의 크기로 상이한 항체응답이 유도되었다고 Tabata 등은 보고하고 있다.^{79,80} 그러나 이 물질은 너무 고가이므로 동물 vaccine의 이용에는 어려움이 따를 것이다. 급후에는 회장(回腸)의 Peyer 판까지 미립자를 분산시키지 않고 도달시키는 방법과 Peyer 판을 특이적으로 인식하는 어떤 특정물질을 미립자에 coating시켜 Peyer 판으로의 취입을 효과적으로 상승시키는 기술 등의 개발이 과제로 등장하게 될 것이다. 물론 염가의 microcapsule 구성물질을 찾아내는 것도 중요하다.

최근의 진전은 능동적 점막면역조작의 개발에 대한 형질전환식물에서 S-IgA를 산생시켜 수동적 면역에 방법을 응용하는 예일 것이다.^{69,70} 또한 점막경로의 DNA vaccine의 투여연구가 보고되고 있다. Influenza-virus의 HA(비강내⁸⁴) 및 HIV-1 gp160(질내⁸⁷)을 coding하는 DNA vaccine, pDNA 함유 PLG microcapsule⁸⁵ 및 liposome⁸⁶의 점막면역조작도 보고되고 있다.

경구용 vaccine의 장점을 요약하면 주사접종에 비해 고통없이 투여가 가능하며 전신면역(혈중IgG)과 점막면역(S-IgA)의 유도를 촉진하여 2중의 방어태세를 이

룰 수 있다는 것이다. 앞으로의 과제로서는 소화효소에 의한 분해나 위장에서의 확산을 방지하고 효율 좋게 Peyer판에 도달시키는 system의 개발과 경구면역을 유발하지 않는 vaccine 항원량의 설정, 점막용 adjuvant의 개발과 1회~수회의 투여만으로도 지속적으로 항체를 산생시키는 방법을 확립해야 할 것이다.

현재 사람용으로 입증된 기존의 생 virus vaccine은 Sabin polio(소아마비) 및 adenovirus 감염증에 대한 것이 포함되나 influenza(독감), 광견병, 간염, RSV 감염증, rotavirus 감염증, CMV 감염증 등에 대한 것들이 개발중에 있다.^{88,89} 한편 동물 vaccine에서는 오래전부터 이용되고 있는 닭의 ND 생 virus(B1, LaSota주 등) 음수 vaccine이 대표적이며 그 외에 많은 종류의 생 virus vaccine들이 점막 즉, 경구용(음수) 또는 경비용(점비 혹은 spray) 방법으로 투여되고 있다. 돼지에 대한 TGE + rotavirus 혼합생 vaccine도 음수투여가 가능하게 되었다.

수많은 세균종과 그 산물로의 점막면역조작이 100년 이상에 걸쳐 사람과 동물에서 개발되고 있다. 사람의 점막면역조작에 사용된 세균종은 약 17종 정도 되나 *Salmonella* 균, *Cholera* 균, *Shigella* 균, *H. influenzae*, *Strept. mutans* 등이 주로 연구되고 있다.⁹⁰ 현재 닭의 원충성 감염병인 coccidium증에 대한 음수 vaccine도 개발되고 있다.

참 고 문 헌

1. Ertl, H.C. & Xiang, Z.: J. Immunol. 156:3579-3582, 1996.
2. Mucosal Vaccine: EC COST/STD Initiative Report. Expert Panel VI. Vaccine 14:644-664, 1996.
3. Novel Delivery System for Oral Vaccines. Ed. O'Hagan, D.T. CRC Press, Boca Raton, 1994.
4. Handbook of Mucosal Immunology. Eds. Orga, P.L. *et al*, Academic Press, NY, 1994.
5. Staats, H.F, *et al*. Curr. Opin. Immunol. 6:572-583, 1994.
6. McDonnell, W.M. & Askari, F. K.: N. Engl. J. Med. 334:42-45, 1995.
7. Vaccine 12(16): Spec. Conf. Issue WHO Meet. Nucleic Acid Vac. 17-18 May, 1994, WHO, Geneva. p. 1491-1567.
8. IBC: Gene Ther. & Nucleic Acid Vac. Strate. 16-17 Feb., 1995. Bethesda, MD.
9. Ann. NY Acad. Sci.: DNA Vaccines: A New Appr. Vccinat. NY Acad. Sci. Vol. 772, 1995. pp. 249.
10. Vaccine 15(8): Spec. Conf. Issue Intl. Meet. Nucleic Acid Vac. Prevent. Inf. Dis. 5-7 Feb. 1996, NIAID, Bethesda, MD. p. 785-938.
11. Internet: The DNA Vaccine Web. (<http://www.genweb.com/Dnavax/main.html>)
12. Wolff, J.A. *et al*. Science 247:1465-1468, 1990.
13. Dixon, B : Bio/Technol. 13:420, 1995.
14. Danko, I. & Wolff, J.A.: Vaccine 12:1499-1502, 1994.
15. Davis, H.L. *et al*. Vaccine 12:1503-1509, 1994.
16. Fynan, E.F. *et al*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:11478-11482, 1993.
17. Haynes, J.R. *et al*. AIDS Res. Hum. Retroviruses 10:S43-S45, 1994.
18. Jenkins, M. *et al*. Vaccine 13:1659-1664, 1995.
19. Davis, H.L. *et al*. Vaccine 14:910-915, 1996.
20. Ulmer, J.B. *et al*. Science 259:1745-1749, 1993.
21. Lowrie, D.B. *et al*. Vaccine 12:

- 1537-1540, 1994. **22.** Montgomery, D.L. *et al.* DNA & Cell Biol. 12:777-783, 1993. **23.** Wang, B. *et al.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:4156-4160, 1993. **24.** Cox, G.M.B. *et al.* J. Virol. 67:5664-5667, 1993. **25.** Babiuk, L.A. *et al.* Ann. NY Acad. Sci. 772:47-63, 1995. **26.** Lewis, P.J. *et al.* Vaccine 15:857-860, 1997. **27.** Sakaguchi, M. *et al.*: Vaccine 14:742-752, 1996. **28.** Pertmer, T.M. *et al.* Vaccine 13:1427-1430, 1995. **29.** Xiang, Z.Q. *et al.* Virol. 199:132-140, 1994. **30.** Ray, N.B. *et al.* Vaccine 15:892-895, 1997. **31.** Xiang, Z.Q. *et al.* Vaccine 15:896-898, 1997. **32.** Cuisinier, A.M. *et al.* Vaccine 15:1085-1094, 1997. **33.** Robinson, H.L. : Vaccine 11:957-960, 1993. **34.** Webster, R.G. *et al.* Vaccine 12:1495-1498, 1994. **35.** Ulmer, J.B. *et al.* Vaccine 12:1541-1544, 1994. **36.** Fu, T.-M. *et al.* J. Virol. 71:2715-2721, 1997. **37.** Donnelly, J.J. *et al.*: Vaccine 15:865-868, 1997. **38.** Olsen, C.W. *et al.* Vaccine 15:1149-1156, 1997. **39.** Chen, S.C. *et al.* Vaccine 15:899-902, 1997. **40.** Meeting Reprt: Vaccine 15:931-933, 1997. **41.** Tang, D.L. *et al.* Nature 356:152-154, 1992. **42.** Michel, M.-L. *et al.* 92:5307-5311, 1995. **43.** Raz, E. *et al.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:9519-9523, 1994. **44.** Robinson, H.L. *et al.* In " Vaccines 95", Eds. Brown, F. *et al.*, CSH Press, NY, 1995. p. 69-75. **45.** Klinman, D.M. *et al.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:2879-2883, 1996. **46.** Raz, E. *et al.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:5141-5145, 1996. **47.** Sato, Y. *et al.* Science 273:352-354, 1996. **48.** Pisetsky, D.S. : J. Immunol. 156:421-425, 1996. **49.** Kreig, A.M.: Trends Microbiol. 4:73-77, 1996. **50.** Tokunaga, T. *et al.* J. Natl. Cancer Inst. 72:955-959, 1984. **51.** Yamamoto, S. *et al.*: J. Immunol. 148:4072-4076, 1992. **52.** Kreig, A.M. *et al.* Nature 374:546-548, 1995. **53.** Robertson, J.C.: Vaccine 12:1526-1528, 1994. **54.** Hilleman, M.R.: Ann. NY Acad. Sci. 772:1-14, 1995. **55.** Siegrist, C.-A.: Vaccine 15:798-800, 1997. **56.** Nester, E.W. *et al.* Ann. Rev. Microbiol. 35:531-536, 1981. **57.** Bevan, M.W. *et al.* Ann. Rev. Genet. 16:357-361, 1982. **58.** Zham, P. *et al.* Mol. Gen. Genet. 194:188-194, 1984. **59.** Koncz, C. *et al.* Mol. Gen. Genet. 204:383-396, 1986. **60.** Brasiliero, A.C.M. *et al.* Genet. Mol. Biol. 17:441-452, 1991. **61.** Fu, Z.F. Vaccine 15 Supplw. :S20-S24, 1997. **62.** Usha, R. *et al.* Virol. 197:366-374, 1993. **63.** Dalsgaard, K. *et al.* Nature Biotechnol. 15:248-252, 1997. **64.** Porta, C. *et al.* Virol. 202:949-955, 1994. **65.** McLain, L. *et al.* Vaccine 14:799-810, 1996. **66.** Turpen, T.H. *et al.* Bio/Technol. 13:53-57, 1995. **67.** Dietzchold, B. *et al.* J. Virol. 64:3804-3809, 1990. **68.** McGarvey P.B. *et al.* Bio/Technol. 13:1484-1487, 1995. **69.** Haq, T.A. *et al.* Science 268:714-716, 1995. **70.** Ma, J.K.-C. *et al.* Science 268:716-719, 1995. **71.** Thanavala, Y. *et al.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92:3358-3361, 1995. **72.** Mason, H.S. *et al.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:11745-11749, 1992. **73.** Ann. NY Acad. Sci. Vol. 778: Oral Tolerance: Mechanisms and Applications. Ed. Weiner, H.L., NY Acad. Sci., NY. 1995. pp. 453. **74.** Lehner, T. *et al.* J. Virol. 68:1624-1632, 1994. **75.** McGhee, J.R. *et al.* Vaccine 10:75-88, 1992. **76.** Hornquist, E. *et al.* In "Novel Delivery Systems for Oral Vaccines" (Ed. O'Hagan, D.T.) p. 157-173, 1994. **77.** Mowat, A.McI. & Donachie, A.M.: Immunol. Today 12:383-385, 1991. **78.** Mowat, A.McI. *et al.*: Immunol. 72:317-322, 1991. **79.** Mowat, A.McI. & Maloy, K.J.: In "Novel Delivery Systems for Oral Vaccines" (Ed. O'Hagan, D.T.), 1994. p. 207-224. **80.** Chavali, S.R. & Campbell, J.B.: Immunobiol. 174:347-359, 1987. **81.** Michalek, S.M. *et al.* In "Textbook of Mucosal Immunology" (Eds. Orga, P.L. *et al.*), 1994. p.373-390. **82.** Tabata, Y. & Langer, R. Pharm. Res. 10:391-403, 1993. **83.** Tabata, Y. *et al.* Vaccine 14:1677-1682, 1996. **84.** Ban, E.M. *et al.* Vaccine 15:811-813, 1997. **85.** Jones, D.H. *et al.* Vaccine 15:814-817, 1997. **86.** Klavinskis, L. S. *et al.* Vaccine 15:818-820, 1997. **87.** Wang, B. *et al.* Vaccine 15:821-825, 1997. **88.** McGhee, J.R. & Mestecky, J.: Inf. Dis. Clin. North Am. 4:315-341, 1990. **89.** Gilligan, C.A. & Li Wan Po. A.: Int. J. Pharm. 73: 1-24, 1991. **90.** Mestecky, J. & McGhee, J.R. eds. "New Strategies for Oral Immunization". Proc. Intl. Symp. Curr. Top. Microbiol. Immunol. 146. **91.** 1997년도 유전공학 국제연찬회: '생물공학기술을 이용한 가축질병 방제전략', 1997. 8. 12-16. 농촌진흥청, 수의과학연구소. pp. 178. **92.** 김우호 : 대한수의사회지 31권 5호: 305-311, 1995. **93.** 김우호 : 대한수의사회지 32권11호: 674-682, 1996. **94.** 김우호 : 대한수의사회지 32권 1호: 43-51, 1996. **95.** 홍중해 : 양돈진흥 97년 1월호: 84-90, 1997. **96.** 홍중해 : 양돈진흥 97년 7월호: 102-108. 1997.