



Fig. 2. Structure of protease inhibitors.

제로 3차 구조 분석을 통해 이와 같은 hydroxyl group이 protease의 active site에 있는 catalytic residue인 aspartyl group과 interaction함을 알 수 있었다. 그리고 대부분 억제제는 extended conformation을 지니면서 enzyme과 여러 위치에서 hydrogen bond를 이루고 있고, binding을 높이기 위해 active site에 있는 lipophilic core와 interaction할 수 있는 aromatic 또는 aliphatic groups를 도입하였다[4, 5]. 현재 HIV-1 환자에 쓰이는 protease inhibitor로는 Roche사의 Invirase(saquinavir mesylate), Abbott사의 Novir(ritonavir), Merck사의 Crixivan(indinavir sulfate) 그리고 Agouron사의 Viracept(nelfinavir mesylate)가 있으며, Vertex사의 Agenerase (amprenavir, VX-478)는 NDA 신청중이다(Fig. 2). 이와 같은 reversible inhibitor와 구별되는 형태의 inhibitor인 LB71350은 protease와 공유결합을 이루어서 protease를 억제한다. 이는 protease의 active site에 있는 aspartic residue가 inhibitor의 epoxide group을 nucleophilic하게 공격하면서 공유결합을 이루기 때문이다. 그리고 P2 position에 beta-methanesulfonylvaline을 도입시켜 항 HIV-1 효과를 증가 시켰다. 이외에도 KNI-272, DMP450등의 HIV-1 protease 억제제 연구가 계속 진행되고 있다. 약물을 개발하는 데는 억제제 효능성 뿐 아니라 얼마나 흡수가 잘 되는지, 또한 혈액 내에서 얼마나 안정한지, 혈액 내에 있는 단백질과는 얼마나 붙는지, 독성은 없는 지에 대해 연구해야 할 필요가 있다.

HIV-1 protease 억제제에 내성을 지닌 바이러스 출현

HIV-1이 replication할 때 작용하는 reverse transcriptase는 error-prone하여 genetic mutation을 일으키며, 또한 recombination

을 통해서도 genetic variation이 생긴다. 그리고 HIV-1에 감염된 사람의 경우 하루에 생성되는 바이러스양이 10^8 - 10^9 으로 매우 높기에 HIV-1의 유전자는 상당히 variation이 높다고 볼 수 있다. 따라서 protease inhibitor와 같은 항 HIV-1 약물을 투여할 경우 이에 내성을 지닌 바이러스가 생겨날 수가 있고 또한 환자 내에 이미 존재하는 내성 바이러스가 약물 존재 하에서 선택적으로 자랄 수도 있다. 실제로 protease 억제제에 내성을 지닌 바이러스를 분석해 보면 protease의 active site에 mutation이 생겨 inhibitor와의 binding을 감소시키는 경우가 있고, 또한 flap과 같이 nonactive site에도 mutation이 생겨 inhibitor binding에 영향을 주는 경우도 있다[6]. 이외에도 protease가 자르는 gag-pol의 부위가 바뀌어 protease에 의해 더 잘 잘리게 되는 경우도 알려져 있다. 그리고 protease의 여러 부위에서 mutation이 일어나 계속 축적되면서 보다 높은 내성을 지닌 바이러스가 생성된다[7, 8]. 내성연구는 초기에는 in vitro에서 많이 되었고, 환자에 약물을 투여하면서 in vivo에서도 활발히 진행되었는데, 이를 좀더 상세히 살펴보면 다음과 같다. 먼저 in vitro에서 바이러스를 배양하면서 protease 억제제의 농도를 서서히 올리면서 얻은 내성바이러스 또는 약물 치료를 받은 환자에서 분리한 내성바이러스의 protease 유전자를 PCR (polymerase chain reaction)의 방법으로 분리한다. 이어서 유전자를 분석하고, 특정위치의 아미노산 변화가 내성에 관여하는지를 알기 위해 HIV-1의 다른 유전자는 같고, protease의 특정위치에서만 바뀐 recombinant HIV-1을 만들어서 약물에 대한 내성을 조사하게 된다. Saquinavir에 내성을 지닌 바이러스의 경우를 살펴보면, 아미노산 48번 위치의 Gly이 Val으로 바뀐 경우(G48V)와 아미노산 90번 위치의 Leu이 Met으로 변화된 경우(L90M)가 많다. 아미노산 하나만 바뀌던 10배 가량 저항성이 높아지고 두 위치가 동시에 바뀌게 되면 100배 이상의 내성을 지니게 된다. Indinavir와 ritonavir에 내성을 지닌 바이러스를 분석해 보면 초기에는 V82A 또는 V82F로 바뀌게 되고, 이어서 indinavir의 경우에는 아미노산 46, 63, 82, 84번 등의 위치에서 mutation이 일어나 축적되면서 다른 protease 억제제에도 내성을 지니는 cross-resistance한 양상을 보인다. 그리고 ritonavir 처리 시에는 아미노산 82번이 바뀐 뒤에 54, 36, 71, 20, 84, 46번 등의 아미노산이 바뀌면서 ritonavir에 내성을 지니게 되고 또한 nelfinavir에도 cross-resistant해진다. Nelfinavir에 대해 내성을 지닌 바이러스는 아미노산 46번과 84번이 바뀌었고, VX-478의 경우는 46, 47, 50번 위치가 내성에 중요하다고 알려져 있다(Table 1). 따라서 각각의 protease 억제제에 대해 내성을 지닌 바이러스 연구는 임상에 많은 도움을 준다. 현재의 연구 경향은 cross-resistance를 피하기 위해 HIV-1에 감염된 사람이 어떤 억제제에 보다 민감하게 반응할 것인지를 미리 살펴본 뒤에 어떤 억제제를 투여할 것인지를 결정하는 추세이다. 이를 위해 감염

Table 1. Protease inhibitors: genotype resistance profiles.

| Drug | Key mutation | Additional mutations |
|------------|--------------|--|
| Saquinavir | L90M | F48V |
| Ritonavir | V82A/F/T | 154V, A71V, M36I, K20NR, M46I, I84V, L33F, L90M |
| Indinavir | V82A/F/T | M46I/L, L101/V/R, K20M/R/I/L, L24I, I54V, L63P, I64V, V71V/T, I84V, L90M |
| Nelfinavir | D30N | N88D, V77I, M46I, M36I, V71T/V |
| VX-478 | 150V | 147V, M46I/L |

된 사람에서 HIV-1의 protease 유전자 및 형질분석을 하여 어떤 약물을 어떤 순서로 투여하는 것이 좋은 지를 시도하고 있다.

HAART (highly active antiretroviral therapy) 및 문제점

한 종류의 protease 억제제를 subtherapeutic 농도로 HIV-1에 감염된 환자에 투여하면 내성을 지닌 바이러스가 빠른 시간 내에 출현한다. 따라서 한 가지 약물 대신에 여러 약물을 동시에 투여하는 HAART 치료법이 현재 쓰이고 있다[9, 10]. 2 종류의 RT 억제제와 한 종류의 protease 억제제를 동시에 투여하거나 아니면 2 종류의 protease 억제제와 1 종류의 protease 억제제를 투여하면 50%의 환자의 경우 24주 후에 바이러스의 증식을 99% 까지 억제시킬 수 있다. 그러면 장기간 약물을 투여하면 바이러스를 완전히 없앨 수 있을까? 이에 대한 답은 현재 부정적이다. 왜냐하면 활성화된 CD4 T 임파구는 반감기가 짧기에 HIV-1에 감염된 활성화된 CD4 T 임파구는 HAART시에 없어지고 따라서 새로운 감염이 더 이상 없다면 이론상 2 개월 뒤에는 바이러스가 완전히 사라져야 된다. 그러나 바이러스는 resting memory CD4 임파구에 잠복하고 HAART를 1-2 년간 하여도 남아있는 것으로 알려져 있다. 이와 같은 세포는 체내에 10^4 - 10^6 정도 되는데, 반감기가 3-4개월 된다고 가정하였을 때, 1 개 이하로 떨어지는 데는 5-7년, 길게는 10년 이상 걸린다는 계산이 나온다. 하지만 3 가지 종류의 약물이 갖는 부작용 및 투여방법의 복잡성으로 인해 장기간 약물을 투여하기란 상당히 힘들다. 그래서 latently-infected cells를 IL-2, IL-6, TNF-alpha, CD3 mAb 등을 이용하여 활성화시키는 안이 제안되었다[11]. 최근에는 HAART를 하였을 때, 체내의 면역기능이 증가한다는 긍정적인 보고도 있다. 따라서 앞으로는 바이러스를 지니고 있는 latently-infected cell을 어떻게 없앨 수 있는지의 연구가 HAART를 이용한 바이러스의 퇴치의 성공조건이 될 것이다.

결 론

HIV-1의 증식을 억제시킬 수 있는 약물이 개발되어서 현재

생물산업

는 HAART와 같이 여러 약물을 병용 투여하여 환자 체내의 바이러스 양을 상당히 낮출 수 가 있다. 그리고 이와 더불어 면역성을 회복시키기 위한 방법 연구가 많이 진행되고 있다. 하지만 HAART를 하여도 바이러스가 완전히 사라지는 것은 아니므로 현재로서는 이 요법을 장기간 받을 필요가 있다. 그리고 체내에 존재하는 latently-infected cells를 어떻게 하면 제거시킬 수 있는지에 대한 해결책이 요구되고 있다. 이와 더불어 HAART를 받는 환자의 30-50%에서 내성을 지닌 바이러스가 생겨나는데, 이와 같은 바이러스는 기존의 다른 약물에 대해서도 저항성을 지니고 있다. 따라서 새로운 치료제가 요구되고 있고, 이를 위해 기존의 약물과 다른 형태의 protease 억제제가 개발되고 있으며, 한편으로는 integrase, co-receptor 등과 같이 바이러스의 다른 target의 기능을 억제하는 약물 또한 연구 및 개발 중에 있다. 하지만 기존의 HAART같은 방식은 상당히 비용이 많이 들기에 전세계 HIV-1 감염환자의 70%가 살고있는 아프리카와 같이 저개발국가에 혜택이 돌아가기 위해서는 백신연구 또한 필수적이라 생각된다.

참고문헌

1. AIDS epidemic update: December 1998, UNAIDS, WHO. (<http://www.unaids.org/highband/fact/index.html>)
2. Coffin, J. M., *Fields Virology*, Fields, B., D. M. Knipe, P. M. Howley, Eds. (Lippincott-Raven, Philadelphia, PA, ed. 3, 1996), pp. 1767-1848.
3. Emerman, M. and M. H. Malim. 1998. HIV-1 regulatory/accessory genes: keys to unraveling viral and host cell biology. *Science* **280**: 1880-1884.
4. Pillay, D., M. Bryant, D. Getman, D. D. Richman. 1995. HIV-1 protease inhibitors: their development, mechanism of action and clinical potential. *Reviews in Medical Virology* **5**: 23-33.
5. Deeks, S. G., M. Smith, M. Holodniy, and J. O. Kahn. 1997. HIV-1 protease inhibitors. A review for clinicians. *J. A. M. A.* **277**: 145-153.
6. Erickson, J. W., and S. K. Burt. 1996. Structural mechanisms of HIV drug resistance. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **36**: 545-571.
7. Hammer, S. M. 1996. Advances in antiretroviral therapy and viral load monitoring. *AIDS* **10**(suppl 3):S1-S11.
8. Moyle, G. J. 1996. Use of viral resistance patterns to antiretroviral drugs in optimising selection of drug combinations and sequences. *Drugs* **52**: 168-185.
9. Bartlett, J. G. and R. D. Moore. 1998. Improving HIV therapy. *Sci. Am.* **279**:64-67, 69, 71-73. Perrin, L. and A. Telenti. 1998. HIV treatment failure: testing for HIV resistance in clinical practice. *Science* **280**: 1871-1873.
10. Ho, D. D. 1998. Toward HIV eradication or remission: the tasks ahead. *Science* **280**: 1866-1867.