

토종 개구리로 슈퍼 항생제 만든다

글_이봉진 서울대학교 약학대학 교수 lbj@nmr.snu.ac.kr



〈그림 1〉 옴개구리(위), 참개구리(좌), 청개구리(우)

세균 감염은 인간의 질병에서 가장 흔하고 치명적인 원인 중의 하나인데, 불행하게도 최근 항생제 남용으로 인해서 항생제 내성이 심각한 상황이다. 내성균이란 어떤 세균이 처음에는 특정 항생제로 치료되다가 시간이 지나면 더 이상 항생제가 듣지 않는 새로운 균의 형태로 변화되는 것을 말한다. 세계 각국에서는 이러한 항생제 내성의 심각성을 깨

닫고, 내성균을 죽일 수 있는 항생제를 개발하기 위해서 노력하고 있다. 특히 인위적으로 합성한 물질이 아닌, 자연계에 존재하는 항생 물질을 이용하여 개발하려는 시도가 많이 이루어지고 있는데, 개구리를 비롯한 양서류는 아주 유용한 자원이 된다.

개구리는 자연계에 존재하는 세균에 대항하기 위해 항생 물질을 이용한 자기 방

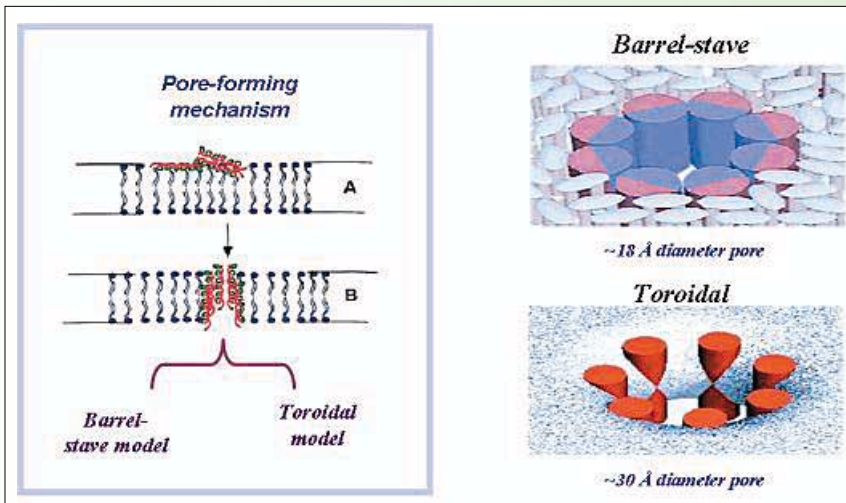
어 체계를 가지고 있다. 실제로, 한국과 일본에서는 민간요법으로 개구리의 피부를 말리고 갈아 참기름에 섞은 후, 상처 치료에 이용하기도 했고, 이탈리아에서는 입에 상처가 나면 작은 개구리를 잡아 입에 물고 있는 것으로 치료하는 등 흥미로운 사례도 다수 발견된 바 있다. 이러한 개구리로부터 유래한 항생물질은 항생제 개발에 중요한 타겟이 되고 있으며, 이미 미국과 이스라엘에는 다수의 개구리 연구소가 운영되고 있다.

‘에스쿠렌틴’ 등 항생 펩타이드 추출

이와 같은 노력의 일환으로 국내에서도, 국내산 청·참·옴개구리(그림 1)로부터 추출한 항생 펩타이드에 관한 연구가 진행되고 있다. 실제로, 국내 연구진들에 의해서 ‘개구린(Gaegurin, GGN, 옴개구리)’, ‘나이그로신(Nigrosin, 청개구리)’, ‘에스쿠렌틴(Esculentin-1, 참개구리)’ 등으로 명명된 항생 펩타이드들이 한국산 토종 개구리로부터 발견되었다. 개구리 항생 펩타이드들은 기존의 박테리아 뿐만 아니라, 곰팡이, 암 등에도 작용하는 광범위한 활성 효과를 보이면서, 인간의 정상 세포에는 무해하기 때문에 새로운 항생제 개발의 가능성을 높여주고 있다.

기존의 항생제들은 박테리아의 내부로 들어가 그 속에 있는 성분을 파괴하는 방식으로 항생 효과를 나타냈다. 하지만, 이

Science and Technology File



〈그림 2〉 개구리 펩타이드의 항생 작용 기전

러한 항생제들의 경우, 박테리아가 약간의 구조적인 변화를 일으키거나, 항생제를 밖으로 퍼내는 시스템을 갖추게 되면 내성 때문에 더 이상 항생 효과를 기대할 수 없게 된다. 하지만, 개구리로부터 유래한 항생 펩타이드의 경우에는 균의 막을 외부로부터 공격해 박테리아의 생체막에 구멍을 뚫어서 균의 내부 물질을 표피 밖으로 배출시켜 항생 효과를 나타낸다.

‘채널 메커니즘’이라 불리는 개구리 항생 펩타이드의 작용 기전을 자세히 살펴보면, 먼저 항생 펩타이드 모노머가 나선형 구조로 박테리아의 세포막 표면에 결합한다. 세포막 표면에 결합한 최소 2분자 이상의 항생 펩타이드들이 자기들끼리 결합해서 박테리아 세포막에 작은 구멍을 뚫게 된다. 그리고 점점 더 많은 항생 펩타이드 분자들이 결합하여 구멍이 커지게 되면, 이온같은 박테리아 세포내의 물질이 밖으로 빠져나오고 외부 물질들이 세포 안으로 유입되면서, 박테리아 세포내의 조절 능력이 상실되고, 세포가 파괴되는 것이다.

채널 메커니즘은 구멍을 형성하는 항생

펩타이드의 수와 구멍의 직경에 따라 배럴 스테이브(Barrel-stave)와 토로이달 메커니즘(Toroidal mechanism)으로 분류될 수 있다(그림 2). 이와 같이 개구리 항생제는 균의 내부에서 작용하던 기존 항생제와는 전혀 다른 작용 기전을 가지기 때문에, 심각한 문제가 되던 항생제 내성균의 발생 자체를 봉쇄할 수 있을 것으로 기대된다. 실제로, 미국에서 약으로 개발되어 임상 3상을 마치고, FDA의 승인을 기다리고 있는 항생 펩타이드인 마가이닌(magainin)의 경우, 일반 항생제가 잘 듣지 않는 감염성 당뇨병 족부성 궤양에 효과를 보여 큰 기대를 모으고 있다.

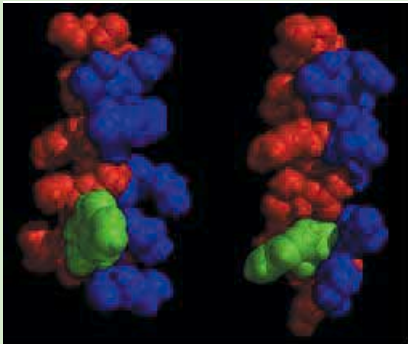
GGN₅ 유도체, 사람에게 무해

한국산 개구리인 옴개구리(학명: *Rana rugosa*)의 피부에서 분리된 항생 펩타이드인 개구린(GGN)은 원핵 세포에 대해서는 광범위한 항생 작용을 나타내는 반면에, 진핵 세포인 인간의 적혈구 세포에 대해서는 용혈 작용을 거의 나타내지 않는다. 개구린은 이미 6종류가 발견되어 각각 GGN₁부터 GGN₆라고 명명되었으며, 이 중 길이가 가장 긴 GGN₄가 37개의 아미노산, 가장 짧은 GGN₅가 24개의 아미노산으로 이루어졌다. 6개의 GGNs는 공통적으로 C-터미널 말단에 시스테인(Cysteine)이라는 아미노산을 두 개 가지고 있어서, 이 시스테인 잔기가 ‘다이설파이드 다리(S-S bond)’를 형성한다(그림 3).

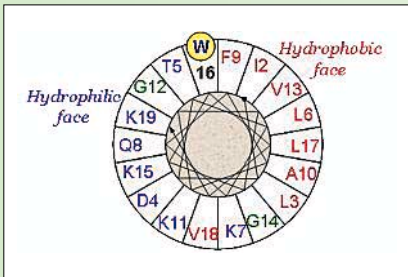
그런데 항생 펩타이드가 약으로 개발되어 상용화되기 위해서는 항생제의 크기(아미노산의 개수)가 매우 중요하다. 일단 크기가 크면 아무리 효과가 좋더라도 인간의 몸속에서 소화, 흡수가 잘 되지 않아 경구 투여제로의 개발이 힘들고, 생산 단가도 매우 높아지게 된다. 펩타이드의 크기가 절반으로 작아지면 생산 단가는 4분의 1 이하로 감소한다고 한다. 위에서 언급한 마가이닌의 경우도 22개의 아미노

Peptide	Amino Acid Sequence																																				
Family I	1	10	20	30																																	
GGN 1	S	L	F	S	L	I	K	A	G	A	K	F	L	G	K	N	L	L	K	Q	G	---	A	C	Y	A	A	C	K	A	S	K	Q	C			
GGN 2	G	I	M	S	I	V	K	D	V	A	K	N	A	A	K	E	A	A	K	G	A	---	L	S	T	L	S	C	K	L	A	K	T	C			
GGN 3	G	I	M	S	I	V	K	D	V	A	K	T	A	A	K	E	A	A	K	G	A	---	L	S	T	L	S	C	K	L	A	K	T	C			
GGN 4	G	I	L	D	T	L	K	Q	F	A	K	G	V	G	K	D	V	V	K	G	A	A	Q	G	V	L	S	T	V	S	C	K	L	A	K	T	C
Family II																																					
GGN 5	F	L	G	A	L	F	K	V	A	S	K	V	L	P	S	V	K	C	A	I	T	K	K	C													
GGN 6	F	L	P	L	L	A	G	L	A	A	N	F	L	P	T	I	I	C	F	I	S	Y	K	C													

〈그림 3〉 한국산 개구리 *Rana rugosa*에서 유래된 항생 펩타이드, 개구린(GGNs)의 아미노산 서열



〈그림 4〉 트립토판으로 치환하여 항생 활성이 회복된 개구리 항생 펩타이드의 3차원 구조



〈그림 5〉 16번 잔기를 트립토판으로 치환한 GGN₄ 유도체

산으로 이루어져 있기 때문에, 경구 투여 제제가 아닌 연고제로만 개발되었다.

따라서 개구린을 항생제로 개발하기 위해서는 크기를 줄이는 작업이 필수적이다. GGNs 중 길이가 가장 긴 GGN₄를 이용한 실험에서, 전체 37개의 아미노산 중 C-터미널 말단에서부터 아미노산을 하나씩 제거했을 경우, 14개 잔기를 제거한 23개 아미노산으로 이루어진 GGN₄ 유도체(GGN₄-N₂₃)에서 항생 활성이 모두 사라졌다. 이렇게 비활성화된 GGN₄ 유도체의 4번과 16번 잔기를 트립토판이라는 아미노산으로 치환했더니, 이전의 항생 능력을 회복했다.

트립토판은 길이가 짧아지면서 박테리아의 세포막에 흡착하는 힘이 줄어든 항생 펩타이드가 표피에 효과적으로 결합, 고정하게 도와주고, 그 구조를 안정시키

는 역할을 한다. 이렇게 얻은 결과를 이론적 바탕으로 하여, 길이가 가장 짧은 GGN₅에 적용했다. 전체 24개의 아미노산 잔기 중에서 항생 활성을 나타내는 최소 잔기는 13개로 나타났고, 여기서 2개의 아미노산을 더 제거한 11개 아미노산의 GGN₅ 유도체(GGN₅-N₁₁)는 전혀 항생 활성이 없었다.

GGN₄ 유도체 실험 결과를 바탕으로 각각의 아미노산들을 트립토판으로 치환한 11개의 유도체를 합성했다. 그 결과 11개 아미노산의 GGN₅의 4번과 8번 아미노산을 트립토판으로 치환한 GGN₅ 유도체에서 모든 항생 활성이 드라마틱하게 회복되었다. 또한 인간 세포에는 거의 활성(독성)을 나타내지 않아 항생제 개발을 위한 훌륭한 타겟이 될 수 있다.

펩타이드 크기 줄여 경구용 항생제 개발

항생 펩타이드가 항생 활성을 나타낼 수 있는 구조적인 특징을 규명하기 위해서, 핵자기 공명법(NMR)을 이용하여 개발된 항생 펩타이드의 3차원 구조를 규명하였다(그림4). 항생 펩타이드는 안정한 α-헬릭스 구조를 취하고 있었으며, 트립토판 잔기를 기준으로, 물에 잘 녹는 친수성 아미노산과 물에 녹지 않는 소수성 아미노산들이 대칭적으로 균형을 이루고 있었다. 이를 ‘양친매성’이라고 하는데, 〈그림 5〉에 잘 표현되고 있다.

〈그림 5〉는 16번 잔기를 트립토판으로 치환하여 항생 활성이 회복된, 23개 아미노산으로 구성된 GGN₄ 유도체의 아미노산 배열을 나타낸 그림인데, α-헬릭스의 위쪽에서 내려다 본 모습도이다.

4번 잔기와 8번 잔기를 트립토판으로 치환한 GGN₅-N₁₁ 역시 동일한 양친매성

을 나타냈다. 이러한 양친매성은 개구린 이 항생 작용을 나타내는 데에 필수적인 성질이다.

박테리아 세포막은 일반적으로 물에 잘 녹지 않는 성질(hydrophobic)을 띠고 있다. 따라서, 소수성 아미노산만이 세포막과 결합할 수 있는데 개구린의 소수성 아미노산으로 구성된 지역이 세포막과 결합할 수 있게 된다. 먼저 소수성 잔기들이 박테리아 세포막과 결합하여 무리를 이루게 되면, 반대편의 친수성 잔기들로 구성된 지역이 세포막을 관통하는 구멍을 형성하는 것이다. NMR를 이용해서 항생 펩타이드의 3차 구조를 규명함으로써, 항생 펩타이드의 항생 작용과 양친매성이라는 구조적인 특징이 깊은 관련이 있음을 알 수 있다.

지금까지 항생 펩타이드는 항생 활성의 우수성이 입증됐음에도 불구하고, 크기의 제약으로 인한 경구제의 불가능, 높은 생산 단가 등으로 인해 항생제로 개발되지 못하고 있는 실정이었다. 하지만, 펩타이드 엔지니어링을 통해 항생 효과는 그대로면서, 크기는 절반 이하의 항생 펩타이드를 개발함으로써 연고제는 물론 경구용 항생제 개발을 가능하게 해 주었다. 또한 트립토판 잔기의 도입으로 인한 항생 효과가 회복된다는 이론은 다른 약물성 펩타이드에도 적용할 수 있어서, 효과적으로 약물 크기를 축소하여 새로운 약물 개발을 가능하게 해 줄 것이다. ④



글쓴이는 서울대학교 약학대학 졸업 후, 동대학원 석사 학위, 일본 오사카대학교 단백질연구소에서 박사학위를 받은 후, 일본 단백질 공학 연구소 선임 연구원을 거쳤고, 생체막 단백질 국가지정연구소 운영 책임자, 벤처기업 Promeditech 대표이사를 겸임하고 있다.