

Hybrid *Vibrio cholerae* O1의 등장과 그 위험성

김 동 욱
국제백신연구소 세균연구실

콜레라의 역사

콜레라는 그람 음성균인 *Vibrio cholerae*에 의해 발생하는 급성 설사성 질환으로, 세계적으로 연간 12만명정도의 사망자가 발생하는 공중보건에 중요한 질환이다. 우리나라에서는 콜레라는 1종 법정 전염병으로 구분되며, 2002년 이후 연간 발생은 평균 10건 미만이며 대부분은 콜레라 endemic 지역을 여행하고 돌아온 사람들로 부터 발생한 경우이다(질병관리본부, www.cdc.go.kr). *V. cholerae*는 200여가지의 혈청형이 보고되었으며, 이들 중 콜레라를 일으키는 혈청형은 O1과 O139 두가지로써 나머지 다른 혈청형들은 장염, 복통을 일으키기는 하지만 유행성으로 발전하지는 않으므로 non-O1, non-O139로 구분하여 부르기도 한다. 콜레라는 세균성 질환으로는 드물게 pandemic으로 발전할 수 있으며, 서구사회에서는 1817년부터 근대 콜레라 pandemic의 역사가 기록되어 있다. 19세기 동안에는 6번의 콜레라 pandemic이 있었으며(6번째 pandemic은 1899년 시작되어 1923년 종료), 대부분 아시아, 유럽을 비롯, 아프리카, 남,북 아메리카까지 전파되었다. 1883년 Robert Koch가 콜레라가 *V. cholerae*에 의해 발생되는 것임을 밝혔으며, 이때는 *V. cholerae*가 아닌 comma-bacteria로 명명하였다. Koch의

발견 이전에는 특정 strain의 *V. cholerae*가 알려진 바는 없으나 5차, 6차 pandemic은 classical biotype에 의해 발생한 것으로 알려져 있다. 1961년에는 인도네시아에서 7차 콜레라 pandemic이 시작되어 인도와 중동을 거쳐 1970년대에는 아프리카, 1990년대에는 남아메리카 대륙까지 전파되었다(1, 2). 7차 pandemic은 이전에 발견되었던 classical biotype의 *V. cholerae*가 아닌 새로운 생화학적 형질을 가지는 El Tor biotype에 의해 발생되었으며, 이후 빠른 시간 안에 classical type의 *V. cholerae*들은 자취를 감추어 최근 20년간 classical strain은 세계적으로 거의 발견되지 않고 있다. El Tor biotype에 의한 7차 콜레라 pandemic은 현재도 진행형인데, 1992년 El Tor 균주로 부터 serogroup conversion이 일어나서 파생된 것으로 생각되는 O139 혈청형이 인도와 방글라데시에서 유행하기 시작하였다. 이들 O139 혈청형에 의한 콜레라를 특별히 8차 pandemic으로 구분하기도 하므로 현재는 7차와 8차 pandemic이 동시에 진행되고 있는 상황이다. 2000년 7차 pandemic의 대표균주인 El Tor type의 N16961 strain의 전체 염기서열이 보고되었으며 classical type의 strain O395의 전체 염기서열도 알려져 있다(3)

V. cholerae O1 serogroup의 biotype

V. cholerae O1은 크게 두 가지 혈청형으로 세분되어 Inaba, Ogawa의 혈청형이 있으며 드물게 Hikojima형도 발견된다. Inaba, Ogawa 두 가지 혈청형은 자연상태에서 서로 변환될 수 있으며, 실험실 조건에서도 Ogawa 혈청형을 Inaba 혈청형으로 변환시킬 수 있음이 보고되어 있다. 혈청형 이외에도 V. cholerae는 생화학적 성질의 차이에 따라 두가지 biotype으로 구분한다. Polymyxin B가 들어 있는 배지에서의 생존여부와 Voges-Proskauer test에서의 반응 등에 따라 classical biotype과 El Tor biotype으로 구분한다. Classical biotype은 Polymyxin B배지에서 감수성이며 V-P test에서 음성, El Tor biotype은 classical type과 반대의 결과를 보인다. 각 혈청형에는 두가지 biotype이 모두 나타난다. Classical biotype은 환경에서 살아남는 정도가 El Tor biotype에 비해 떨어지지만 실제 심한 증세의 병을 일으키는 빈도가 높으며, 이러한 차이는 classical biotype에서는 병원성에 관여하는 유전자들의 발현이 높은 반면 El Tor biotype에서는 metabolism에 필요한 유전자의 발현이 높은것과 연관되어 있을 것으로 생각된다(4). Cholera를 일으키는 주된 기작은 V. cholerae균이 생산하는 cholera toxin(CT)에 의한 것인데, CT는 다른 bacterial toxin과 같이 특정 receptor에 부착하는 binding subunit(B subunit, CTB)과 실제 숙주 세포내로 주입되는 active subunit(A subunit, CTA)로 이루어져 있다. CT를 생산하는 유전자는 V. cholerae가 애초부터 가졌던 것이 아니며,

V. cholerae의 chromosome에 integration될 수 있는 CTX ϕ 라고 불리는 filamentous phage에서 비롯된 것이다. CTX ϕ 는 f1 phage와 비슷한 구조를 가지는 phage인데 phage의 assembly, packing에 관여하는 *cep*, *zot* 등의 유전자와 CT를 만드는 *ctxAB* 유전자를 가지고 있다(그림 1). *ctxAB* 유전자는 phage 자체의 생존과는 관계없는 유전자인데, *ctxAB* 유전자를 가지고 있지 않던 CTX ϕ 가 *ctxAB* 유전자를 획득하여 V. cholerae에 infection되고 chromosome에 integration되어 병원성을 가진 V. cholerae로 발전되는 것으로 알려져 있다. Epidemic이나 pandemic으로 전파되는 O1, O139 혈청형의 균주들만 *ctxAB* 유전자를 가지지만, 실제로 환경에서 분리되는 non-O1, nonO139 V. cholerae들 중 *ctxAB*나 기타 병원성에 관여하는 유전자 등을 획득한 경우가 있어 새로운 혈청형이 유행성 cholera균으로 발전할 수 있는 가능성이 경고되고 있다.

CTX ϕ 는 크게 classical, El Tor, O139 phage 세가지로 구분되고 드물게 환경에서 발견되는 environmental CTX ϕ 도 있다. 이들 CTX ϕ 들은 대부분의 유전자는 동일하지만 phage repressor로 알려진 *rstR* 유전자의 염기서열은 서로 완전히 다르며, *ctxB* 유전자도 classical type과 El Tor type에서 두개의 amino acid가 다르다(그림 1).

Hybrid V. cholerae O1 strains

6차 pandemic을 일으킨 V. cholerae는 classical CTX ϕ 를 가진 O1혈청형의 classical biotype이었지만 7차

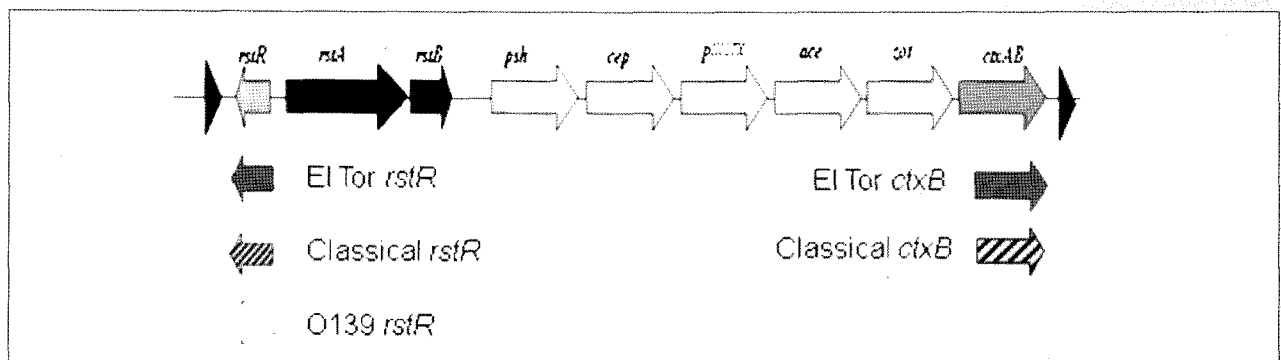


그림 1. V. cholerae CTX ϕ 의 genetic structure.

pandemic은 El Tor CTX ϕ 를 가지는 El Tor biotype에 의해 진행되고 있다. 그런데, 2000년을 전후하여 Bangladesh에서 El Tor biotype과 classical biotype의 형질을 동시에 나타내는 *V. cholerae*들이 발견되기 시작하였으며, 최근에 이 지역에서 분리되는 *V. cholerae*들은 classical type의 CTB를 만들어내는 El Tor biotype의 *V. cholerae*가 주류를 이루는 것으로 보고되고 있다(5). 이 Bangladesh의 El Tor 균주의 CTX ϕ 는 *rstR* 유전자가 El Tor biotype인데

ctxB 유전자는 classical type을 가지고 있다(그림 2). 이렇게 classical type의 CTB를 만드는 El Tor type은 7차 pandemic이 진행중이던 1993년 US Gulf Coast strain에서도 발견되었지만 이는 세계 다른 지역에서 분리되는 7차 pandemic의 주된 원인균은 아니었다. 한편, 국제백신연구소에서는 2004년부터 아프리카의 모잠비크에서 콜레라 백신 임상연구를 진행하고 있었는데, 이 지역의 콜레라 환자로부터 분리된 *V. cholerae* 균주들을 분리 조사한 결과 이들

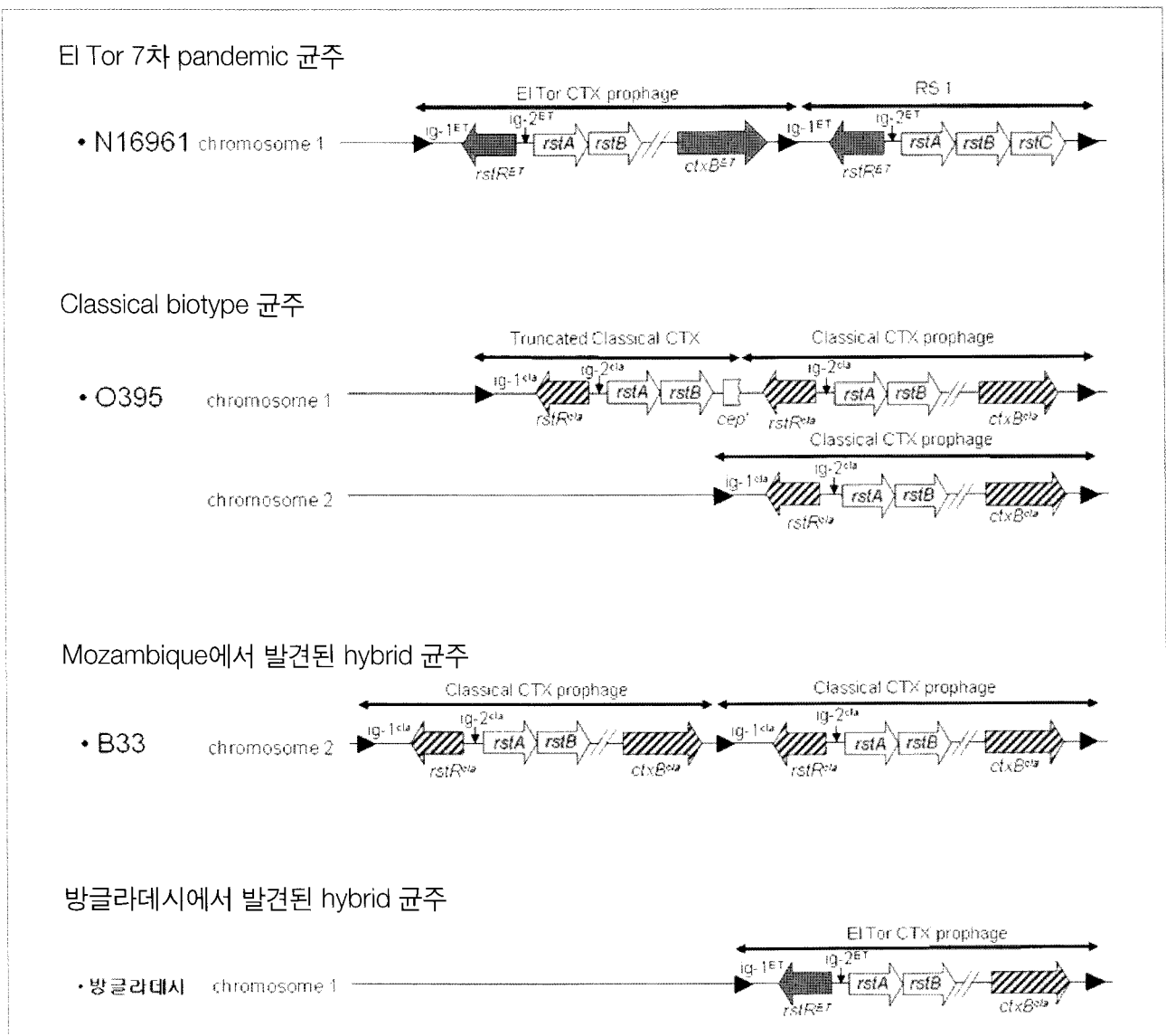


그림 2. El Tor, classical, hybrid *V. cholerae* 균주의 CTX ϕ 의 구조. (CTX ϕ 의 *psh-zot* 유전자 부분은 생략됨)

은 classical type의 toxin을 생산하고 있으면서 *rstR* 유전자도 classical 형인 완전한 classical type CTX ϕ 인 것으로 조사되었다(6). 더욱이 이 균주는 특이하게도 classical type의 CTX ϕ 를 tandem repeat으로 가지고 있는 것으로 조사되었다(그림 2). 최근, 하노이를 중심으로한 베트남의 북부지방에서의 콜레라 outbreak도 이러한 hybrid strain에 의해 발생한 것으로 생각되며 이들 임상분리 균주들의 유전형 분석이 진행 중이다. 즉, 현재까지 발견된 hybrid *V. cholerae*는 두가지 종류이며, *ctxB* 유전자만 classical type으로 치환된 El Tor CTX ϕ 가 El Tor type의 *V. cholerae* strain에 integration되어 있는 형태와, 완전한 classical type의 CTX ϕ 가 El Tor type의 *V. cholerae* genome에 integration되어 있는 형태가 그것이다. 또한, 분리된 hybrid 균주들은 PFGE(pulsed-field gel electrophoresis), MLST(Multilocus Sequence Typing) 등의 유전형 분석에 따르면 7차 pandemic을 일으킨 El Tor strain과 매우 유사하여, 이들 strain에서 파생된 것으로 예상된다. 이러한 El Tor type의 hybrid *V. cholerae*들이 어떻게 classical type의 CTX ϕ 를 획득 하였는지, 혹은 El Tor type의 CTX ϕ 가 어떻게 *ctxB* 유전자만 classical type을 가지게 되었는지를 밝히는 것이 중요한 과제라 하겠다.

Hybrid *V. cholerae*의 잠재적 위험성

최근 cholera endemic 지역에서 발견되는 *V. cholerae* strain들은 대부분이 classical toxin을 생산하는 El Tor 균주이며 이들이 일으키는 콜레라의 증상은 El Tor type의 toxin을 생산하는 El Tor strain에 비해 심한 것으로 보고되고 있으며 또한, 전체적인 cholera의 발병 건수도 증가하고 있는 것으로 보고되고 있다. 즉, El Tor type은 인체밖의 환경에서도 잘 살아남고 carrier 비율도 높으며 심한 증상을 일으키는 빈도가 낮았던데 비해 hybrid *V. cholerae*들은 환경에서도 잘 살아남고 감염율도 높으며 심한 증상의 빈도도 증가하고 있지 않은가 하는 의심을 갖게 한다.

국제백신연구소의 세균연구실에서는 이러한 hybrid strain들이 어떻게, 어디서 유래되었는지에 대한 연구와 더불어 실제 hybrid *V. cholerae*들이 기존의 El Tor strain과 classical type의 병원균으로써의 장점들만 갖추게 되었는지에 대한 연구를 진행하고 있다. 새로 분리되는 hybrid *V. cholerae* 균주들을 여러 나라에서 수집하고 이들의 유전형을 분석하는 molecular epidemiology 연구를 통해 이들의 연관관계를 밝히며 기존의 방글라데시등에서 이미 보고되었던 균주들과의 비교작업도 진행 중이다. 또한 proteomics와 transcriptome(transcriptional profiling)의 연구를 통해 hybrid strain과 El Tor, classical strain들의 gene expression의 차이를 조사하여 각 균주들의 병원성의 차이를 밝히고자 한다. 기존의 El Tor 균주에 유전자 조작을 통해 인위적으로 hybrid strain을 만들어 이들도 임상분리된 hybrid 균주와 같은 특징을 나타내는지도 조사하고자 한다.

참고 문헌

1. Kaper, J. B., Morris, J. G., Jr., & Levine, M. M. (1995) *Clin Microbiol Rev* **8**, 48-86.
2. Faruque, S. M., Albert, M. J., & Mekalanos, J. J. (1998) *Microbiol Mol Biol Rev* **62**, 1301-1314.
3. Heidelberg, J. F., Eisen, J. A., Nelson, W. C., Clayton, R. A., Gwinn, M. L., Dodson, R. J., Haft, D. H., Hickey, E. K., Peterson, J. D., Umayam, L., et al. (2000) *Nature* **406**, 477-483.
4. Beyhan, S., Tischler, A. D., Camilli, A., & Yildiz, F. H. (2006) *Infect Immun* **74**, 3633-3642.
5. Nair, G. B., Qadri, F., Holmgren, J., Svennerholm, A. M., Safa, A., Bhuiyan, N. A., Ahmad, Q. S., Faruque, S. M., Faruque, A. S., Takeda, Y., et al. (2006) *J Clin Microbiol* **44**, 4211-4213.
6. Lee, J. H., Han, K. H., Choi, S. Y., Lucas, M. E., Mondlane, C., Ansaruzzaman, M., Nair, G. B., Sack, D. A., von Seidlein, L., Clemens, J. D., et al. (2006) *J Med Microbiol* **55**, 165-170.