



촉매(酵素)항체와 항腫瘍 Prodrug의活性化 (Catalytic antibodies (abzymes) and anti-tumor activation of prodrugs)

1. 촉매(酵素)항체 (Catalytic antibodies; CAbs, Abzymes)(1)

항체(Ab)들은 유용한 化學反應을 惹起할 수 있다. 촉매항체(CAbs, abzymes)들은, 흔히 원하는 반응의 轉移狀態(transition state; TS) 또는 그 中間體(intermediate)에 類似하게끔 design된 hapten分子로 免疫操作됨으로써 產生된다. 이와 같이 產生되는 CAb들은 monoclonal Ab(mAbs)의 한 type으로서 標의分子를 破裂시켜 永久的으로 不活化시키며, 生體內에서 循環하는 동안 지속적인 촉매過程에서 다른 同一한 표적을 밝혀내어 破裂시킨다. 즉, 보통의 Ab와는 달리 CAb(abzyme)는 細菌이나 virus와 같은 광범위한 外來 病原體들을 認識하고 侵入者의 존재에 대해서 免疫系에 경보를 발하면 CAb들은 化學反應을 위한 TS를 인식하며, 또한 酵素(enzyme)와 유사하게 化學반응을 촉매할 수 있다. 표준 CAb가 한번 標的에 結合하여, 그 표적을 一時的으로 不活化하는 동안 單一의 CAb는 生體內에서 그 壽命을 다할 때까지 약 10萬個 이상의 疾病增進蛋白(disease-promoting proteins)를 崩壞시킬 수 있다는 것이다.

Ab들은 免疫系(immune system)의 認識武器(recognition arm)이다. 예컨대, 그들은 動物의 細菌이나 virus에 感染되었을 때 生成된다. 각 Ab는 마치 자물쇠(lock)에 열쇠(key)가 들어맞는 것처럼 그들 자체의 特異한 標的인 抗原(antigen; Ag)에 結合한다. 그 生體는 侵入者의 어떤 分子形狀(molecular figure)에 정확히 相補的인 結合部位(binding site)를 지니는 Ab들을 產生한다. 따라서, 그 Ab들은 다만 해당 침입자(病原體 등)를 인식하고 결합할 수 있으며, 그것들이 外來異物임을 확인한다. 전에는 Ab들이 침입자들을 확인하고 결합하기만 하고, 그들의 파괴는 면역계의 다른 因子들에 의해서 행해지는 것으로 인식되었었다. 그러나 근래의 연구에 의하면, 모든 자연Ab들은 短命의 中間產物인 ozone(O₃)으로 그 결합물질(Ag-Ab 結合體)의 酸化의 分解를 촉발할 수 있다는 것이다. 자연Ab들은 그들의 結合能과는 별도의 反應特性을 지니고 있다는 발견은 면역계에서의 그들의 役割規範의 變化로 인식되고 있다. Ab(G-type; IgG)는 또한 동물의 免疫操作過程에서 分子狀으로 注射되었을 때 大量으로 產生된다. 면역조작에 이용되는 低分子(small molecules)를 hapten이라고 한다. 흔히 高分子(巨大分子)가 면역조작에 의해서 유효하게 Ab들을 產生하므로, 低分子인 hapten은 실제적 면역조작에 앞서 擔體蛋白(carrier protein)이라고 하는 커다란 단백질에 附着시켜야 한다. Hapten-carrier protein 結合體로 면역조작된 후 產生된 Ab들은 hapten에 相補的이며, 특이적으로 그것에 결합한다.

흔히 Ab분자는 단순하게 결합하는 것으로, 化學反應을 촉매하지 않는다. 반면, 生體內的 自然酵素는 생체분자에 결합한 다음 뒤이어 새로운 生成物의 變換을 觸媒한다. 그러나, CAb들은 화학 반응을 촉매할 수 있는 결합pocket을 지니는 Ab들의 산생을 유도하도록 특이하게 design된 hapten분자로, 동물이 면역조작되었을 때 산생되는 것이다. 예컨대, 단순한 경우, Ab結合pocket 내의 결합력은 TS 및 그 中間體의 安定化에 적극 協力함으로써 반응의 energy障壁을 낮추며 그 比率를 增加시킨다. 이것은, Ab들이 3次元的形狀(three dimensional geometry) 및 荷電分布(charge distribution)의 양쪽에 의해서 TS 또는 그 中間體에 대해 相補的인 결합부위를 지닐 때 發生할 수 있다. 이 相補性은 TS樣 形狀(構造) 및 荷電分布를 채택하게끔 基質(substrate)을 鼓舞함으로써 觸媒作用(catalysis)으로 引導된다. 원하는 반응에 대한 energy障壁을 낮출뿐만 아니라, 원치않는 生成物을 유도하는 다른 形狀 및 荷電分布도 防止될 수 있어 反應選擇性을 증가시킨다.

TS에 相補的인 結合pocket을 지니는 Ab의 作製는 參된 TS 및 대부분의 反應中間體가 不安定하다는 사실 때문에 복잡한 것이다. 따라서 參된 TS 혹은 中間體는 分離되거나 또는 免疫操作을 위한 hapten으로 사용될 수 없으며, 代身 TS類似體(analog) (TSA)分子가 사용된다. TSA분자는 형상구조 및 하전분포의 점에서 원하는 반응을 위한 TS(혹은 中間體)에 단순하게 類似하므로 安定的인 분자이다. TSA분자는 진정한 반응을 행하는 TS 혹은 中間體에 매우 유사하다는 점에서 유도된 Ab들에게나 그 TS 혹은 中間體에 상보적일 것이며, 그리하여 당해 반응의 觸媒性을 促進시키게끔 유도된다.

CAb들은 免疫操作過程 동안 그들을 사용하는데 이용된 TSA hapten에 대해서 매우 確固히 결합한다. TSA hapten은 다만 결합하기만 하고 CAb들과는 반응하지 않는다. 예컨대, 유사체ester분자는 반응하는 基質의 일종인 것이다. 이와 같은 이유로, TSA hapten은 Ab結合pocket에서 결합에 의해서 촉매반응이 妨害될 수 있으며, 따라서 어떤 基質分子도 결합 및 반응으로부터 沮止된다. TSA hapten에 의한 이 沮止作用은 CAb들에서는 언제나 觀察될 수 있으며, CAb들에서 관찰되는 觸媒反應을 초래하는 첫 證據標準으로 사용되고 있다.

Ab들에 의한 觸媒의 重要樣相은, 酵素(enzyme)와 달리 원하는 반응선택성이 적절히 design된 hapten을 사용한 Ab內에 program될 수 있다는 점이다. CAb들은 거이 항상 高度의 基質選擇性을 示顯한다. 더구나, CAb는 다른 生成物이 Ab의 不在下에서도 정상적으로 관찰되는 반응을 위해 單一生成物을 산출하기에 충분한 位置選擇性(regioselectivity)을 지닐 수 있다. 또한 hapten의 獨自型(single-handed version) (다만 왼쪽, 또는 오른쪽의 한가지 형), 그리고 같은 쪽의 基質에 의해서만 결과적으로 招來된 CAb들을 위한 기질로서 作動할 수 있다. 뒤이은 결과는 高度의 立體選擇性(stereoselectivity)이 Ab-觸媒反應에서 관찰될 수 있다는 점이다.

사실, CAb들은 새로운 분자group을 형성한다. 그들은 酵素의 觸媒特性을 지니는 막대한 Ab들의 多樣性を 兼備하고 있다. 두 type의 蛋白質은 완전히 相異한 機能을 갖는다. 즉, 酵素들은 그 자신을 消耗시키는 일 없이 化學反應工程을 촉진시키지만, Ab들은 生物體에 대해서 異物인 분자를 밝혀내어 결합하는 能力을 통해서 그것들을 識別한다. 이들 2종류의 분자는, 한가지 共通點이 있다. 즉, 그들이 效能적으로 되기 위해서는 그들의 標의 分子에 結合한다는 점이다. 효소들은 pocket속에 파묻혀 있는 結合開裂部(binding cleft)를 지니며, 반응partner는 반응과정 동안에 그곳에 닿을 내리고 있는 것이다. Ab들은 또한 면역반응을 위해 그들을 標識하고자 생물체에 대해서 異物的인 분자와 결합하는 특이적인 結合形態를 지닌다. 免疫系가 수많은 侵入者들을 敗退시키기 위해 1億個나 되는 상이한 Ab들의 巨大編成部隊를 急派할 수 있는 동안, 생물체에서의 상이한 生化學的反應의 數는 오히려 적당한 수준에 머물고 있다. 사실, 어떤 반응을 촉매하는 데에는 다만 數千의 효소가 있을 뿐이다. 이것은 다분히 생물학적으로 중요하지 않은 반응에 대해서는 효소가 존재하지 않는다는 것을 의미하는 것일 것이다. 그러나, CAb들은 근본적으로 이 事態를 變化시킬 수 있다.

1986년, Dr. Lerner 및 Dr. Schultz의 두 연구group은, 효소(enzymes)들과 마찬가지로 Ab들도 그들이 결합하는 분자에서 구조적인 변화를 일으킨다는 사실을 밝혀내었다(2, 3). 결과적으로, 化學反應 전후로 분자구조 보다도 더 많은 energy를 소유하며, 또한 더 반응적인 形狀的 中間體(conformational intermediates)가 있다는 것을 알게 되었다. 그러나, 酵素 들 및 Ab들의 反應間의 근본적 차이점은, Ab에 비해서 효소는 高energy 活性化構造를 더 安定化시킨다는 사실에 놓여 있다는 점이다. 그리하여, 만약 어떤 高energy TS를 특이적으로 인식하고 결합하는 Ab가 산생될 수 있다면, 이 Ab는 결합energy를 이용하여 적절한 반응을 촉매할 수 있을 것이라는 假說을 豫測할 수 있었다.

이들 두 연구group의 업적은, 다만 안정된 TS가 제공하는 機能만이 Ab를 통한 촉매작용을 安定化시킬 수 있음을 示顯한 것이다. 이 過程에 영향을 미치는 결정적인 關鍵이 발견된 것이다.

특히 有機化學 뿐만 아니라 醫學 및 生物工學 分野와 마찬가지로 分子生物學의 研究에 있어서, CAb들은 化學反應의 方向과 反應性, 그리고 그 效能을 精確히 制御하는 중요한 역할을 行함으로써 큰 意義를 지니게 되었다.

CAb들의 創製는 면역학분야에서 가장 중요한 발전의 과정이라고 볼 수 있다. 사실, 위의 두 연구group의 업적은 觸媒作用의 性狀에 근본적인 새로운 識見을 附與하였으며, 화학적반응성을 制御하기 위한 강력하고 새로운 接近方法을 제공한 바 分子의 多樣性의 개척, 특히 免疫系의 擬態(mimicry)에 집중되는 새로운 분야를 촉매하였다고 볼 수 있다. CAb는 효소 및 Ab의 特性뿐만 아니라 化學 및 生物學을 再統合하게 만든 것이다.

한 예로, HIV(AIDS病原體)에 대한 CAb(abzyme)의 作動能力을 들어보자. Plangue 등(4)은 HIV의 gp120 CD4結合部位의 超抗原의領域(superantigenic region)을 崩壞시키는 CAb들을 作製하였다. 이 영역은 細胞性免疫의 關鍵細胞인 T lymph球의 接着部位로서 변하지 않는 HIV(human immunodeficiency virus)의 外殼蛋白(protein coat)의 일종이다. 한번 危險에 처하게 되면, 患者는 virus蛋白外殼의 可變性이 자주 일어나는 부분에 대한 Ab들을 産生하게 된다. 이들 Ab들은 virus의 外殼蛋白成分을 신속히 變化시키는 능력 때문에 無效하게 된다. gp120단백은 HIV가 세포에 接着하여 侵入하는데 필요하기 때문에 변하지 않으며, HIV變異株 전체 集團에 걸쳐 攻撃받기 쉽다.

CAb(abzyme)는 結合부위에 結合할 뿐만아니라 HIV粒子를 不活化시키며, 그 結合부위를 파괴할 다음 다른 virus입자들에게 接着-侵入한다. 그리하여, 單一의 CAb는 數千의 HIV粒子들을 파괴할 수 있다. 사람의 AIDS處置를 위한 臨床試驗이 進行되고 있다고 하며, 多분히 豫防vaccine 및 'microbicide' *로의 進전이 기대되고 있다.

* Microbicide라는 용어는 2009년 9월 USAID(미국국제개발처)가 미 의회에 제출한 'USAID microbiocide연구개발전략'에 근거한 것으로, 이 용어는 통상적으로 살균제로 해석되지만, USG HIV/AIDS Initiative 즉, USG Plan에서는 HIV virus치료제와 先導物質(殺菌劑를 포함)을 개발하는 것 외에 이들 醫藥品을 포함하여 HIV감염을 방지하고 그 擴散을 방지하기 위한 복합처방 및 다양한 사용방법 모두를 포함한다고 함.

2. 抗體(Ab)-prodrug技法에 의한 腫瘍細胞(癌)의 標的化破壞

1975년 monoclonal Ab(MAb)技法의 개발과 뒤이은 질병과의 투쟁에서 Ab工學技術의 출현 이래 藥理學的 R&D는 크게 進전되었다고 볼 수 있다. 근래 USDA는 臨床試驗의 성공결과에 따라 사람의 非Hodgkin性 lymph腫(lymphoma) 및 乳房癌(breast cancer)을 치료하기 위한 Ab치료법을 承認하였다.

지금까지의 癌處置에 대한 전형적인 접근방법은 外科手術과 有關한 放射線治療法과 化學療法이 主였다. 抗癌劑의 細胞毒性波及效果는 癌化되거나 健全하거나 간에 모든 分裂細胞들에 영향을 미치는 것들이었다. 광범위한 脫毛, 쇠약, 육지기 및 嘔吐 등은 때로 癌處置 그 자체만큼이나 防室할 수 없는 副作用으로 여겨졌으며, 또한 암세포는 세포독성약제에 대해 抵抗性を 획득 할 수도 있었다. 이들 藥劑(drugs)의 사용에 있어, 健全細胞와 癌細胞를 식별하지 못한다는 것이 癌處置에 있어 가장 큰 障礙物의 한가지로서, 더구나 정상세포에 대한 독성의 觸發없이 모든 암세포를 박멸하기 위

한 충분한 量의 약제를 만든다는 것은 또다른 어려움일 수 밖에 없다. 이런 이유로 標的化 prodrug의 활성화가 이 狀況에 적합한 것으로 여겨지게 되었다.

‘Prodrug’ (前驅藥劑)란 內在性酵素 혹은 代謝에 의해서 藥物을 活性化形態로 改變시키는 약리학적으로 非活性的인 化合物이다. 그것들은 일반적으로 安全性, 毒性, 特異性的의 缺如 혹은 限定된 生物利用性和 관련된 문제를 克服하게끔 design되어 있다. 이와 같이, prodrug는 그 자체가 활성적인 약제화합물로 구성되어 있으나, 일시적으로 활성을 억제하고, 상당히 毒性을 감소시킬 수 있는 화학적 偽裝物質 group으로 이루어져 있으며 (prodrug masking), 입증된 약제의 약 5~7%를 차지하고 있다고 한다.

Prodrug의 開發原理는 藥劑 그 자체의 投與에 비해 표적세포에 훨씬 더 높은 濃度の 약물을 전달하는 것에 의지한다. 과거 10여년간, 抗癌藥物들이 효소에 의해 활성화되는 수많은 prodrug들을 개발하였다. 許多한 內在性酵素들은 勿論 非內在性 효소들도 prodrug활성화에 이용되었다. Ab-, gene- 및 virus-誘導 酵素 prodrug治療法(ADEPT, GDEPT, VDEPT)들이 그 예이다. Prodrug들의 개발은 비교적 성공하였다고 볼 수 있으나, 이들 모든 prodrug들은 完全한 選擇性を 缺如하고 있었다. 따라서 종양세포와 정상세포 간의 차이점을 밝혀내고 종양세포내에서 prodrug들이 더욱 신속하고 선택적으로 標的의 開裂을 觸媒하게끔 prodrug활성화효소를 위한 基質의 親和性 및 酵素의 代謝回轉率(turnover rate)에 의해서 적절한 기질을 개발할 더 많은 연구가 이루어져야 할 것이다. 지난 5년여에 걸쳐, 經口的 生體利用法 및 腫瘍特異的 標的化成就에 대한 戰略이 prodrug design에 있어 가장 중요한 進展이었다고 볼 수 있다.

1986년, 화학적반응을 촉매하는 첫 CAb(abzyme)의 作成報告이래 과학자들은 prodrug들의 位置特異的인 傳達과 細胞毒性形態로 prodrug들을 활성화시키는 自動誘導裝置의 機能을 갖는 장치들을 만들어내었다. 그러는 동안 이 표적화 접근방법은 표적Ag을 發現하는 세포들의 指定腫瘍細胞型的 免疫原性 記號識別的破壞를 가능케 하였다. 그들은 末梢的으로 蓄積되지 않으므로, 全身的인 독성을 惹起하지 않으면서 독성약물의 過量이 變種細胞들에게 전달될 수 있게 하였던 것이다.

位置特異的 標的化的의 한가지 접근방법은 ADEPT(Ab-directed enzyme prodrug therapy)이며, Ab-enzyme conjugate 및 低毒性 prodrug의 두가지를 포함한다. ADEPT는 몇단계를 거쳐 이룩된다.

우선 (i) 종양Ag에 대한 Ab는 종양세포(tumor cells)에 결합하고, 그들과 더불어 conjugate된 enzyme을 提示한다. (ii) 그 enzyme은 prodrug에 결합한 다음, (iii) drug로부터 masking group의 開裂을 觸媒한다. (iv) 活性化된 drug는 종양부위에 局在하여 作動하게 되며, 경우에 따라 細胞融解를 促進한다.

腫瘍部位에 축적된 drug는 擴散되어 이웃 종양세포들을 死滅시키기 때문에 모든 종양세포를 표적으로 할 필요는 없다고 한다. 내재성효소가 체내에 존재하지 않음을 밝힐 필요가 있다. 그와 같은 효소가 작용하여 원하는 부위에서와 마찬가지로 末梢部位에서도 prodrug의 비특이적인 활성화가 초래되기 때문이다. 이와 같은 陷穽을 극복하기 위해서는 細菌?에서 발견되는 非人體性的의 효소가 사용되어야 한다.

이와 같은 문제를 해결하기 위해서 Blackburn 등(5)은, 外來酵素 대신 abzyme을 사용하는 변법 즉, ADAPT(Ab-directed abzyme prodrug therapy)의 이용을 示顯하였다. 이 접근방법에서 Ab는 prodrug활성을 촉매할 수 있는 적절한 TSA에 대해서 작성되었다. 그들은, 전에 prodrug를 세포독성형으로 改變시킬 수 있음을 시현한 세균의 효소인 CPG2 exopeptidase에 유사한 방법으로, Ab에 의해 작용할 수 있는 bipartate carbamate prodrug를 考案해 냈다. 세포독성작용이 있는 화합물로 nitrogen mustard prodrug에 있는 carbamate ester bond를 加水分解할 수 있는 몇몇 abzyme들을 작성한 것이다. Carbamate는 그 자체가 매우 훌륭하게 Ab촉매제를 전달할 뿐만 아니라 그 開裂機轉까지도 再調整할 수 있다는 것이다.

또한 Taylor 등(6)은, bis-carbonate구조에 근거한 tripartate prodrug들의 개발에 주력하였다. TSA 혹은 drug 그 자체에 구조적으로 유사한 prodrug를 활성화시킬 수 있는, 전에 보고한 abzyme들과는 달리, 그의 연구는 다수의 구조적으로 상이한 prodrug를 활성화할 수 있는 Ab들을 개발하는데 집중하였다. 이 접근방법은, 상이한 type의 癌에 적용할 수 있고, 그렇치않으면, 특이적인 drug에 저항성이 생길 수 있는 종양을 潛在적으로 處치할 수 있는 이점이 있다고 하였다.

Doxorubicin, melphalan 및 vinblastine-3-carboxyhydrazide와 같은 몇몇 抗癌製劑는 carbamate로 機能化되었을 때 상당히 弱毒性的의 prodrug로 될 수 있기 때문에 carbamate들은 매력적인 접근방법이라고 Taylor는 말하고 있다. 더구나 사람의 esterase 및 protease 등에 의해서 가수분해되는 것에 대해 고도로 저항하는 carbamate linkage를 design할 수 있기때문이라고 하였다. 그러나 carbamate prodrug design에 의해서도 모든 abzyme들의 촉매효능은 in vitro에서 75~80%의 세포파괴 결과를 얻을 정도였다.

근래까지 design된 가장 효과적인 abzyme들은 TSRI의 Barbas III 등(7)이 活性免疫操作法(reactive immunization*)이라는 접근방법을 사용하여 작성한 aldolase樣 abzyme인 38C2 및 33F12일 것이다. 이 방법은 TS擬態를 사용하여 작성한 abzyme 보다 그 선택된 hapten이 Ab-combining site에서 amino acid 機能性으로 共有結合(C-C결합)하는 활성적인 反應實體인 것이다(일반적으로 Ab는 그들의 基質과 共有結合하지 않음). Ab와 hapten 간의 共有複合體는 그 때문에 촉매작용이 진행되는 과정의 中間體 단계에 類似한 것이다.

이들 Ab들은 자연적으로 생성된 aldolase와 비교하여 107~108에 비슷한 촉매효능(kcat)을 나타내었다. 그들은 多劑 prodrug들의 활성화를 위해 매력적인 촉매제가 되는 광범위한 基質特異性을 내세우고 있다. 修飾된 amino, sulfhydryl 또는 hydroxyl group을 지닌 각종 tripartate prodrug들의 활성화를 가능케하기 위해서 Barbas III 등은 β -heterosubstituted ketone들 및 aldehyde들의 retro-Michael反應을 連繫하여 Ab로 촉매된 retro-aldol반응을 포함하는 應用化學을 考案해 냈다. 그들은 毒性을 감소시키는 수단으로서 抗癌藥劑인 doxorubicin 및 camptothecin의 활성화를 위해 이 화학내용을 전에 記述한바 있다. 이 연구에서, carbamate 및 ester prodrug들은 쉽사리 abzyme 38C2에 의해서 (사람의 내재성효소에 의해서가 아니고) 억제 mask를 벗어버리고, 그들 元來의 세포독성화합물로 개변된 것이다. 이 경우, 촉매활동이 Ab의 활성부위에 있는 lysine amino group의 連繫에 따라 정해지며, 그것은 Ab投與에 뒤이어 數週間 지속되었다고 한다.

* Reactive immunization (活性免疫操作法): 촉매적으로 가장 활성적인 abzyme을 선별하고 작성하는 새로운 방법으로, 生理學的 pH로 반응하거나 B세포 receptor(受容體)에 共有結合할 수 있는 免疫原(immunogen)을 사용한다.

神經芽細胞腫(neuroblastoma)의 동물model에서의 결과는 훨씬 鼓舞的이었다고 한다. Barbas III는 근래에 발간된 논문에서, in vivo에서 abzyme효능이 강력한 생물학적효과를 나타내었다고 말하고 있다. 또한 그 주요 利點은 활성화 drug들의 immunosilent(免疫無反應)狀態를 지니게끔 한 점이라고 하였다. 또다른 이점은, 사용된 drug masking(prodrug상태로 있게끔 安定化된 樣相) 化學이 abzyme으로 하여금 다만 masking상태의 linker에만 작용하고 構造에는 작용하지 않는다는 점이라고 덧붙였다. 따라서 구조적으로 相異한 drug들이 모두 같은 효소에 의해서 'unmask' 상태로 될 수 있다는 것이다. 일반적으로 abzyme의 速度는 增進될 수 있 있다고 Barbas III는 말하고 있다.

20세기초 Dr. Ehrlich가 치료제로서의 Ab의 潛在力을 認識한 이래, 1970년대 중반에 이르러 mAb의 창제와 근래의 Ab phage library의 개발은, 이들 방법에 의한 각종 疾病의 處置에 관한 重要性을 加重시켰다. 미국 FDA에 의해서 인증된 10여종의 mAb에 더하여, 개발중에 있는 상당수의 생명공학적 약제는 mAb 및 그것들을 위한 최근의 IND (investigation of new drugs)應用은 低分子(small molecule)들의 登場을 무색케 하였다. 治療劑로서의 Ab분자의 성공적 跳躍은 적어도 다음의 3가지 特性에 근거하고 있다. 즉, (i) 高度의 特異성과 親和力으로 Ag과의 結合을 허용하는 Fab moiety, (ii) Ab依存細胞毒性(ADCC)과 같은 effector機能을 매개하는 Fc moiety 및 (iii)

21일 이상의 循環上의 半減期를 허용하는 적어도 15kD이상의 分子量(MW), 등이 그것들이다.

TSRI(The Scripps Research Institute)의 Dr. Lerner(현 회장) 등에 의해서 創製된 CAb의 연구는 많은 진전을 거듭하면서, Ab產生 diketone에 標的特異分子를 連結함으로써 癌 등의 질병표적에 대응하는 Ab들은 program될 수 있다는 假說을 도출해 내었다. 이와 같은 Ab들을 작성하고 商品化하기 위해서 2002년 Barbas III 등을 주축으로 CovX라는 venture기업회사를 설립하게 되었다(2007년 거대 제약기업인 Pfizer가 引受). CovX사에서 이들은 'CovX-Body'라는 cpAb(chemically programmed Abs)를 개발하기에 이르렀다(8). 이 기법은 Ab의 骨格을 작성하기 위해 vaccine을 사용한 다음, 特異的 疾病標的에 대응하는 Ab를 作製하고 調節하기 위한 化學劑를 사용하는 것으로, 化學적으로 program된 Ab 및 vaccine을 포함하는 免疫過程인 것이다. 그들은 이 과정을 'Instant Immunity'라고 칭하였다.

이 연구는, 장기간에 걸쳐 生體內에서 머물 수 있는 큰 可溶性分子인 CAb를, 질병야기세포(암세포 등)를 죽일 수는 있으나 治療劑로서 効果적으로 작용할 사이도 없이 신속히 體外로 排出되버리는 低分子인 藥物(drug) 또는 peptide를 물리적으로 결합시키는 開拓的인 方途를 제공하였다. 이들 混合分子는 疾病惹起細胞들을 죽이고 drug의 效能을 극적으로 促進시키기에 충분할 정도로 循環系에 滯留하는 바람직한 特性들을 지니는 것이다.

'化學적으로 program된 Ab' 즉, CovX-body들은 또한 여러 영역의 질병에 대응한 治療제개발의 보편적인 方法을 제공하고 있으며, 이 기법은 사람의 治療에 이용된 최초의 CAb應用技術이기도 하다. b diketone은 複合體를 형성하기 위해 基質과 Ab의 自己組立(self-assembly)으로 引導된다. Barbas III가 癌治療에 있어서의 Ab들의 潛在力을 탐구하고 있을 당시, 여러 製藥社들은 integrin분자(세포와 그들 환경간의 안정적 상호작용을 증진시키는 adhesion분자들의 중요한 一族)에 대응하는 化合物을 개발중이었다. 그러나 이 project들은 모두 障礙物과 충돌하고 있었다. 잠재적 治療제가 고도의 親和力과 특이성으로 癌의 integrin분자에 결합하는 동안 그 化合物은 신속히 生체로부터 消失되는데, 어떤 경우에는 15분 밖에 걸리지 않았다. 특히 암과 같이 慢性的인 病症에 대해서 治療효과를 보기위해서는 충분히 많은 量の 藥제를 투여하는 것이 어렵기 때문에, 그와 같은 藥제를 투여한다는 것은 實用性이 없었다. Active immunization에 관한 검토를 하고 있던 어느날 Barbas는 새로운 idea를 떠올렸다. 즉, CAb에 이들 integrin-標的藥物의 한가지를 함께 붙혀보자는 것이었다. 이들 integrin과 결합할 수 있는 低分子를 찾아내어 diketone에 그것을 붙혀보았다. 그것 자체가 Ab에 부착한다면 그 複合體는 장기간 生체내에서 循環하게 될 것으로 믿었다. 결과적으로, 疑問視되던 분자들이 강력하고 장기간 지속되는 治療제를 형성하고자 정말로 自己組立한다는 것을 Barbas 등은 밝혀낸 것이다.

제1세대 치료제는 注入液(infusion)방법으로 傳達(delivery)되어야 하므로 體外(ex vivo)에서 형성되었다. Barbas III 등은 治療Ab(therapeutic Abs)는 전적으로 생체내(in vivo)에서 program 되고 산생될 수 있는 가를 규명한 것이다. 우선, 그들은 anti-diketone Ab骨格이 생체내에서 programming agent(특이적인 CovX linker와 결합한 peptide로 구성됨)를 찾아내어 결합할 수 있는 가를 확인하였다. 그들은 1,3-diketone에 근거한 vaccine을 건강한 mouse들에게 接種한 다음, 65일후 두가지 抗血管形成(antiangiogenic) integrin($\alpha v \beta 3$ 및 $\alpha v \beta 5$)의 阻止劑(inhibitor)에 연결된 diketone으로 구성된 programming agent를 mouse들에게 주사하였다. 處理된 mouse 들로부터의 混合血清檢査結果는, Ab 및 programming agent가 생체내에서 서로 program된 Ab들로 融合되 있음을 확인시켜 주었다.

Mouse의 生體內에서의 cpAb들의 產生過程을 요약하면 다음과 같다.

- 1) 과정 첫 단계는 특수한 低分子(1,3-diketone)로 이루어진 vaccine을 mouse들에게 接種한다.
- 2) 결과적으로, mouse들은 diketone분자에 대해 應答하는 Ab들을 산생한다.
- 3) 둘째 단계로, 질병표적에 결합하도록 design된 therapeutic moiety에 연결된 diketone으로 이루어진 化學적 programming agent를 면역된 mouse들에게 주사한다.
- 4) Programming agent의 diketone moiety는 첫단계에서 觸發된 Ab應答을 再誘導하며, 生成된 Ab들의 anti-diketone moiety에 共有結合한다.
- 5) 다음, Ab들은 therapeutic moiety를 통해 疾病標의에 결합하게끔 program된다.
- 6) 標的-program된 Ab 複合體는 program된 Ab의 Fc領域에 結合함으로써 免疫系에 의해서 정리된다. (면역세포에 의한 病症 整理).

이 연구팀은, colon cancer(結腸癌)와 melanoma(黑色腫)의 mouse model들에게 vaccine 및 programming agent를 處理함으로써 對照群의 그것들과 비교하여 75%이상의 腫瘍發育의 減少를 관찰하였다고 보고하고 있다. 그들은, 이 논문에서 cpAb들이 HIV, malaria 및 汎世界的流行(pandemic)의 flu(毒感)와 같은 感染病에 대해서도 면역을 惹起할 것으로 추정하였다. 그렇게 하기 위해서는 大衆이 cpAb를 生成할 수 있도록 어느 때라도 diketone분자를 接種한 다음, 거이 卽刻的으로 면역을 부여하기 위해 出現된 질병, 혹은 神經gas와 같은 化學的處置에 대해서까지도 이들 Ab 供給源의 活性化가 필요하게 되면, 化學적으로 program된 agent를 投與(經口的으로도 가능)해야 한다는 것이다. 이 접근방법은 注入液(infusion)방법의 Ab치료법에 비해 생산 및 처방비용을 감소시킬 것으로 추정하고 있다.

사실 programming agent를 합성하는데 있어 어떤 특별한 어려움은 없으며, 흔히 diketone에 연결하기 위해 사용될 수 있는 치료용 peptide 혹은 작은 分子上에는 site가 있다고 그는 말하고 있다. 표적 병원체의 변화는 항상 進化하고 變異를 수반할 것이므로, programming agent는 病原體上의 保存部位(conserved site)인 epitope(抗原決定基)에 對應하는 Ab들에게 標的化해야 할 것이다.

CovX-Body의 利點을 열거하면 대략 다음과 같다.

- 1) 數分에서 數週에 걸쳐 延長的으로 作用한다.
- 2) 강력하고 장기적으로 作用하는 분자이다.
- 3) 生理學的으로 중요한 蛋白-蛋白 相互作用을 遮斷할 수 있다.
- 4) Ab의 2價性(共有結合)은 생물학적 作用을 促進한다.
- 5) 迅速한 增大와 開發이 가능하다.
- 6) 治療必要性에 근거한 調律 및 豫想할 수 있는 半減期.
- 7) 費用效果的 (cost-effective).
- 8) 잘 特性化되고 擴張性 있는 製造過程.
- 9) 새로운 分子 및 知的特性的의 創製可能性 등.

人間에 대한 適合性으로 design된 모든 CovX-Body들은 동일한 Ab로 統合된다. CovX-Ab의 독특한 상호작용 및 범위는 單一의 骨格을 사용하여 多樣한 CovX-Body들의 創製를 허용한다는 점이다. 이와 같이 CovX技術은 Ab의 利로운 특성과 peptide의 치료적 매력을 結合시킴으로써 ‘CovX-Body’ 라고 칭하는 새로운 生物藥劑學으로 歸着하게 되었다. 이 기법의 고도로 彈力的인 性狀은 크게 가치있는 생물학적표적을 밝혀내게 하였고, 能律的으로 CovX-Body들을 創製하였으며, 급속히 臨床前開發 및 임상적평가로의 候補群으로 되어가고 있다는 점일 것이다.

사실, cpAb의 개발은 低分子의 強點과 弱點 모두를 認識하고 Ab접근방법을 이용함으로써 새로운 免疫治療劑를 創出하는 방법의 개발에 근거하고 있다. 각각 同一한 peptide를 標識하는 두 結合部位를 지니게 하는 대신 서로 다른 두 peptide를 표지하는 이들 Ab는 糖尿病(diabetes), 肥滿 (obesity) 및 腫瘍學(oncology)과 같은 분야에서 장래의 치료제로서 큰 가능성을 지니고 있다. 이들 Ab治療劑는 Ab分子의 effector機能과 合成低分子의 制限없는 화학적 多樣성과 特性을 지니는 最上級 brand의 prodrug로 발전될 것으로 기대된다.

參考文獻

- 1) 김우호: 항체와 효소의 특성을 겸비한 효소항체, 대한수의사회지 2009년 10월호(pp. 908-918) 및 11월호(계속 pp. 1030-1039).
- 2) Tramontano A, et al, 1986, Catalytic antibody. Science 234:1566-70.
- 3) Pollack SJ, et al, 1986, Selective catalysis by an antibody. Science 234:1970-73.
- 4) Plangue S, et al, 2008, Catalytic antibodies to HIV: Physiological role and potential clinical utility. Autoimm, Rev, 7:473-479.
- 5) Wentworth P, et al, 1996, Toward antibody-directed "abzyme" prodrug therapy : carbamate prodrug activation by a catalytic antibody and its in vitro application to human tumor cell killing. Proc, Natl, Acad, ,Sci, USA, 93:779-803.
- 6) Ma Z, & Taylor J, S, 2001, Nucleic acid triggered catalytic drug and probe release : a new concept for design of chemotherapeutic and diagnostic agents. Bioorg. Med. Chem, 9:2501-10.
- 7) Shabat D, et al, 1999, Multiple event activation of a generic prodrug trigger by antibody catalysis. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 96:6925-30.
- 8) Doppalapudi V, R, et al, 2007, Chemically programmed antibodies: Endothelin receptor targeting CovX-Bodies™, Bioorganic & Medicinal Chem, Letters 17:501-506.

2010년 3월
金宇鎬 (江原大 名譽教授)