대한 유전성 대사 질환 : 제 11권 제 1 호, pp33~37, 2011

유전성대사질환의 유전자치료 전략 및 현황

이화여자대학교 의학전문대학원 생화학교실

정 성 철

서 론

유전자치료는 일반적으로 유전물질을 도입하여 환자의 질병의 치료 또는 임상증상의 개선을 목적으로 한다. 유전자 치료의 기본 개념 중의 하나는 바이러스를 유전전달물질로 변형하여 목적하는 세포에 연구하고자 하는 유전자를 전달하는 것이다. 바이러스의 유전자의 특성에 따라 유전자 치료에 사용되는 gene therapy vectors는 RNA viral vector와 DNA viral vector로 구분된다. RNA viral vector는 murine leukemia virus 같은 retrovirus에서 유도된 것들인데 이 vector의 단점은 분열하지 않는 세포에는 유전자를 도입하는 것이 불가능하다는 것이다. 이런 문제점은 human immuno-deficiency virus 같은 lentivirus에서 유도된 새로운 retrovirus의 사용으로 극복될 수 있다. 그러나 아직 lentivirus의 임상에서의 응용성은 그 안전성여부가 충분히 검토되지 않아 활용에 있어 제약이 따른다. 가장 흔하게 사용되는 DNA virus vector는 adenovirus와 adeno-associated virus인데 adenovirus는 분열하는 세포와 분열하지 않는 모든 세포에 유전자를 전달할 수 있고 또한 전달 할 수 있는 유전자의 크기도 30 Kb로써 종양 및 다양한 유전질환의 치료에 응용할 수 있는 잠재력을 가지고 있음에도 불구하고 유전자 도입 후 1-2주 후부터 중화항체의 생성으로 인해 급격하게 활성이 상실되는 단점을 가지고 있다. 이에 반해 adeno-associated virus는 현재 유전자 전달 매체로써 주목 받게 하는 여러 가지 특징을 갖고 있다. 이 바이러스는 감염되어 혈청학적으로 이 바이러스에 양성을 보이는 성인이 전체의 85%를 차지할 정도로 이 바이러스의 분포가 광범위함에도 불구하고 이 바이러스와 관련된 임상적 질병은 아직 발견되지 않는 비병원성 바이러스로써 분열하는 세포 및 간과 뇌세포와 같은 비분열 세포에도 유전자를 효율적으로 도입할 수 있는 바이러스다. 더욱이 이 바이러스는 배양된 세포에 있어서나 인간에 있어서 모두 염색체 특정위치에 integration (인간의 경우 chromosome 19q13.3)되어 장기간 발현 할 수 있고. 광범위한 host range를 보유하고 있으며 환경의 변화 및 다른 virus에게 치명적일 수 있는 열악한 환경에 대해 높은 안정성을 가지고 있다. 이런 특징들로 인해 이 adeno-associated virus는 유전자 치료에 있어서 유전자 전달 매체로서 높은 관심의 대상이 되어 현재 이 바이러스로 진행된 연구로는 Fabry disease, cystic fibrosis, Parkinson disease, muscular dystrophy, Hemophilia B, Hemophilia A 등이 있고 Hemophilia B의 경우 현재 임상 시험이 상당히 진행된 상태로서, 시험결과 매우 긍정적인 결과를 보였다는 논문이 발표되었다. 특히, 대부분의 유전성대사질환은 단일유전자 이상 질환으로 이상 유전자가 밝혀져 있어서 유전자 치료의 좋은 연구대상이 되고 있다.

현재, 유전자치료는 미국을 선두로 영국, 프랑스 등에서 활발히 연구되고 있다. 2011년 현재, 전세계에서 약 1,700건 이상의 임상시험이 수행되고 있으며, 미국에서 약 1,080건 이상의 임상시험을 시행하고 있으며, 국내에서는 약 13건이 임상시험 중이다. 그 중 59건이 신약허가의 전단계인 제 3상 임상시험 중이며, 2건이 신약으로 승인되어 치료에 이용

중이다. 임상시험의 대상질환으로는 암이 전체 임상시험 중 64.5%를 차지하고 있고, 단일 유전자 이상질환 8.3%, AIDS 등 감염질환이 8.0%를 차지하고 있다. 상시험에 이용되고 있는 벡터를 살펴보면, adenovirus가 23.6%로 가장 많고, retrovirus가 23.6%, 비바이러스 벡터인 리포펙틴을 이용하거나 DNA를 직접 주입하는 경우가 20.6%, 그 외 adeno-associated virus vector를 이용한 방법이 4.8%, Herpes Simplex virus를 이용한 경우가 3.3% 등이다.

유전성 대사질환의 경우, 제 I 형 뮤코다당증, Gaucher병, 요소회로 대사이상의 하나인 ornithine transcarbamylase (OTC) 결핍증, 알파-1-항트립신 결핍증, 가족성 고지혈증, Pompe병 등에 대하여 임상시험이 진행되었거나 진행 중에 있다.

본 론

1. 아데노신 탈아민화 효소(ADA) 결핍증

1990년 최초로 시행된 유전자치료 임상시험은 ADA 결핍증에 의한 중증면역 결핍증 환자를 대상으로 한 것이었다. 이 질환이 선택되었던 이유는 골수이식에 의해 이 증상이 완치될 수 있기 때문에 전달된 치료 유전자를 가진 세포를 선택적으로 이식할 수 있는 이점을 가질 것으로 믿어졌기 때문이다. 이 때 수행된 방법은 생체 외에서 ADA cDNA를 레트로바이러스 벡터에 의해 환자로부터 추출한 T 임파구로 도입하고, 이 임파구를 다시 환자에게 재도입하는 것이었다. T 세포는 수년간 생존이 가능하지만, 이러한 시도는 몇 가지 한계점을 가지고 있었다. 첫째, 유전자가 도입된 T 임파구를 선별하기 않고 모든 세포를 환자에게 이식하였고, PEG-ADA 효소치환요법과 병행함으로써 치료효과 판별이 어려웠다. 둘째, 당시 사용되었던 벡터 시스템은 효율이 낮아서 대부분의 경우 유전자가 도입된 세포에서 낮은 수준의 ADA 효소 활성도를 보여주었다. 말초혈액에서 발견된 T 임파구에서 비교적 낮은 수준의 효소활성도가 지속적으로 관찰되었으나, 독자적인 유전자전달에 의한 임상적인 호전은 기대할 수 없었다.

그러나, 2000년 시행된 레트로바이러스 벡터를 이용한 골수 조혈모세포로의 유전자도입에 의한 유전자치료법은 상당한 효과를 보여 주고 있음을 보고하였다. 유전자전달 후 10개월이 지나서도 정상 대조군과 비슷한 수치로 효소활성이 회복되어 있었고, 임상증상의 호전이 동반되었고, 부작용은 관찰되지 않았다. 현재 중요한 관찰요소는 이러한 치료효과가 얼마나 지속되느냐 하는 것이다. 유전자가 도입된 조혈모세포의 생존이 계속되어져야 하고, 도입된 유전자의 발현이 지속되어야 하기 때문이다.

2. 고셔병(Gaucher disease)

Gaucher병에 대한 유전자치료 연구는 1987년 레트로바이러스를 이용하여 치료 유전자인 글루코세레브로사이드 분해효소(glucocerebrosidase) cDNA를 제 1형 Gaucher병 환자의 섬유아세포에 도입하여, 축적된 스핑고지질을 완전히 분해해 낸다는 보고를 시작으로 장기간에 걸쳐 진행되고 있다. 1990년 유전자를 함유한 레트로바이러스 벡터를 Gaucher병 환자로부터 추출한 조혈모세포에 도입하여 환자에게 다시 이식하는 임상시험을 시도하였고, 1992년에는 이러한 방식으로 전달된 유전자가 Gaucher병 환자에게서 생리적으로 타당한 정도의 효소활성도를 발현하고 있음을 보고하였다.

하지만, 환자의 골수를 제거하지 않고 유전자가 도입된 조혈모세포를 이식하여 혼합된 형태의 세포가 존재하게 만드는 방식의 Gaucher병에 대한 초기 유전자치료 연구는 효소대체요법의 광범위한 보급과 함께 다소 주춤해지다가, 효소치료제가 지나치게 고가인 점과 또한 신경계를 침범하는 제 2형, 제 3형 Gaucher병에 대한 관심과 더불어 최근 다시 연구가 활발히 진행되고 있다. 최근에는 아데노바이러스를 이용하여 직접 환자에게 유전자를 전달하는 방

법과 신경계로의 효율적인 유전자 전달과 유전자의 강력한 발현을 위하여 렌티바이러스 벡터를 이용한 유전자치료법이 연구되고 있다.

3. 파브리병(Fabry disease)

Fabry병은 여러 유전성 대사질환 중 유전자치료의 가능성이 가장 높은 질환 중 하나다. 치료 유전자인 알파-갈랄토스 분해효소(alpha-galactosidase A) 유전자가 도입된 세포에서 분비된 효소는 주변 세포의 수용체에 의해 세포 내로 이동하게 되어 주위세포에서도 효소 활성도를 가지도록 만들기 때문이다. 이러한 주위세포로의 치료효과는 효소가 혈액 내로 순환되면서 국소적 혹은 전신적인 효과를 가져오게 된다.

처음 연구는 레트로바이러스에 의해 골수 세포에 유전자를 전달한 후 이를 Fabry병 질환 모델 마우스에 주입하는 방법을 사용하였으며, 유전자가 전달된 마우스에서 주입 후 25주 경까지 효소의 활성도는 물론 축적된 스핑고지질을 제거하는 탁월한 효과가 있음을 보여 주었고, 현재 임상시험 중에 있다.

이후에도 강력한 발현을 위해서 아데노바이러스 벡터를 이용한 연구가 진행되고 있으며, 생체외 유전자전달법의 단점을 극복하고 보다 안전한 유전자치료법 적용을 위하여 아데노부속바이러스를 이용한 유전자치료법이 활발하게 연구되고 있다. 특히, 아데노부속바이러스를 이용한 유전자 전달의 경우 적절한 프로모터의 사용에 따라 간으로 유전자를 직접 주입하거나, 근육내 주사로 인해 전달된 유전자의 발현이 장기간에 걸쳐 안정적으로 발현되고 있음을 동물실험을 통해 입증하여 유전자치료의 성공 가능성을 한층 높여 주었다.

4. 페닐케톤뇨증(Phenylketonuria)

페닐케톤뇨증은 이미 10여 년간 유전자치료 연구자들의 관심이 되어 온 질환이지만, 아직까지 성공적이지 못한 결과를 보여 주고 있다. 이미 페닐케톤뇨증의 원인 유전자인 페닐알라닌 수산화효소를 발현하는 유전자가 널리 보급되었고, 동물실험을 위한 모델 마우스도 존재하고 있지만, 효과적인 유전자 전달 벡터를 찾지 못하고 잇는 실정이다. 레트로바이러스 벡터의 경우, 시험관 내에서는 효과가 좋지만, 생체 내로 전달되었을 경우에는 낮은 유전자 도입율을 보여 주었으며, 이와 유사하게 DNA/단백질 복합체를 이용한 유전자 전달 기법도 생체 내에서는 효과가 없었다. 재조합 아데노바이러스 벡터를 이용한 유전자 전달의 경우는, 단기간으로는 성공적이었으나, 아데노바이러스에 대한 면역반응 때문에 몇 주 이상 발현되지 못하였다. 최근에는 adeno-associated virus vector를 이용한 페닐알라닌 탈수산화 효소 유전자전달 기법이 질환 모델 마우스를 이용한 동물실험에서 아무런 부작용 없이 장기간에 걸쳐 유전자를 발현하고, 효과적으로 혈중 페닐알라닌 농도를 감소시킴을 보고하였다.

5. 제 I 형 뮤코다당증(mucopolysaccharidosis type I; Hurlers syndrome)

모든 제 1형 뮤코다당증 환자에 대하여 골수이식이 가능한 것은 아니기 때문에 환자로부터 추출한 골수에 정상 유전자를 도입하고 발현시킨 후 환자에게 다시 이식하는 연구가 수행되었다. 치료유전자인 alpha-L-iduronidase (IDUA) cDNA를 함유한 레트로바이러스 벡터를 환자의 골수세포에 도입한 결과 CD34+ 세포에 정상적으로 유전자가 도입되었고, 효소를 생산되고 있음을 확인하였다. 이렇게 생산된 효소는 세포 외로 분비되어 주위세포의 mannose-6-phosphate 수용체를 통하여 효소의 활성이 전달되는 결과를 가져오게 됨을 관찰하였다. 현재까지의 3-4 건의 임상시험은 이러한 레트로바이러스를 이용하여 골수의 조혈모세포에 유전자를 전달하는 기법을 이용하고 있다.

결 론

유전자치료 임상시험이 1990년에 처음으로 시도된 이후 지금까지 전 세계적으로 막대한 자금과 노력이 동원되었음에도 불구하고 여러 가지 문제들로 인해 아직까지 만족스러운 기대를 얻지 못하고 있는 실정이다. 그 주된 원인으로는 벡터가 체내로 들어가는 효율이 낮다는 것과 체내에 들어간 유전자의 경우에도 발현효율이 극히 낮다는 것이다. 또한, 유전질환의 경우 대상유전자의 크기가 엄청나게 크고, 질환의 양상이 인종간의 차이가 있는 등 여러 가지 걸림돌이 많은 상황이다. 임상시험에 가장 많이 이용되고 있는 바이러스 벡터의 경우 그 기원이 대부분 병원성 바이러스이기 때문에 안전성의 측면에서도 많은 논란을 야기하여 왔다. 특히, 1999년 가장 활발한 유전자치료연구를 시행하고 있던 미국 펜실바니아 대학병원에서 OTC 결핍증 환자가 임상시험 도중 사망하는 사건이 발생하여 이 대학의 유전자치료 임상시험이 모두 중단되고 난 후에는 전 세계적으로 유전자치료의 안전성과 유효성에 대해 더욱 더 회의적인 분위기가 반영되어지고 있다. 물론, 이 임상시험 중의 사망원인에 대해서는 논란의 여지가 많으나 이로 인하여 adenovirus 벡터를 이용한 유전자치료법에 대한 연구는 현재 시들해져가고 있으며, 바이러스 벡터 중에서는 인체에 전혀 병원성이 없는 adeno-associated virus를 이용한 연구와, 유전자의 발현 효율을 고려하여 lentivirus를 이용한 연구가 활발해지고 있다.

하지만, 이러한 많은 문제점에도 불구하고 유전자치료는 불치·난치성 질환들을 치료할 수 있는 현재까지 알려진 차세대 치료법 중의 하나라는 점, 단 한 번의 투여로 장기간 효과를 얻을 수 있다는 점 등 부인할 수 없는 장점을 가지고 있다. 유전자치료의 기술적인 문제는 치료유전자에 대한 분자유전학적인 연구, 실험실에서의 유전자전달 벡터에 대한 충분한 연구, 그리고 적절한 표적세포의 선택을 통해 해결해 나갈 수 있을 것이고, 유전자 치료의 안전성과 윤리적인 문제점은 연구자들의 자율적인 규제와 유전자치료의 임상시험에 대한 허가와 감시체계의 강화를 통해 어느 정도 해결할 수 있을 것이다.

유전자 치료법은 차세대 치료법의 하나로 새로이 연구되어지고 있는 배아 줄기세포(embryonic stem cell)와 성체 줄기세포(adult stem cell)를 이용한 세포치료법과 더불어 21세기의 중요한 치료법이 될 것이기 때문에 현재까지 밝혀진 유전자치료의 문제점을 해결하고 더욱 더 좋은 방법으로 나아가고자 하는 연구들이 국내외에서 더욱 더 활발히 시도될 것으로 기대한다. 유전자 치료가 비록 단기간 내에 획기적인 치료법으로 등장하지 않을지라도, 국내외 전문가들은 2015년 전후로 일부 질환의 치료를 위한 유전자치료가 임상시험의 단계를 넘어 본격적으로 환자에게 시술될 것으로 전망하고 있다.

참 고 문 헌

1) 정성철. 유전성 대사질환의 동물모델에서의 유전자치료. 대한유전성대사질환 학회지 2003;3(1):69-74.
2) 박은숙, 박주원, 정성철. 페닐케톤뇨증에 대한 유전자치료의 최신동향. 대한유전성대사질환 학회지 2007;5(1):25-9.
3) 정성철. 유전성대사질환의 유전자치료; 이동환 편저, 유전성대사질환. 고려의학 pp157-166, 2008.
4) Wiley Genetic Medicine Online. Gene therapy clinical trials, Journal of Gene Medicine, John Wiley & Sons. Available from URL://http://www.wiley.co.kr/genmed/
5) Kay MA, Glorioso JC, Naldini L. Viral vectors for gene therapy: the art of turning infectious agents into vehicles of therapeutics. Nature Med 2001;7:33-40.
6) Novelli EM, Barranger JA. Gene therapy for lysosomal storage disorders. Expert Opin Biol Ther 2001;1:857-67.
7) Dunbar CE, Kohn DB, Schiffmann R, et al. Retroviral transfer of the glucocerebrosidase gene into CD34+ cells from patients with Gaucher disease: in vivo detection of transduced cells without myeloablation. Hum Gen Ther 1998;92:2629-40.
8) Marshall J, McEachern KA, Cavanagh JA, et al.

Demonstration of feasibility of in vivo gene therapy for Gaucher disease using a chemically induced mouse model. Mol Ther 2002;6:179-89.
9) Kim EY, Hong YB, Lai Z, et al. Expression and secretion of human glucocerebrosidase mediated by recombinant lentivirus vectors in vitro and in vivo: implications for gene therapy of Gaucher disease. Biochem Biophys Res Commun 2004;318(2):381-90.
10) Kim EY, Hong YB, Lai Z, Cho YH, Brady RO, Jung SC. Long-term expression of the human glucocerebrosidase gene in vivo after transplantation of bone-marrow-derived cells transformed with a lentivirus vector. J Gene Med 2005l;7(7):878-87.
11) Jung SC, Han IP, Limaye A, et al. Adeno-associated viral vector-mediated gene transfer results in long-term enzymatic and functional correction in multiple organs of Fabry mice. Proc Natl Acad Sci U S A 2001;98:2676-81.
12) Ziegler, RJ, Yew NS, Li C, Cherry M, et al. Correction of enzymatic and lysosomal storage defects in Fabry mice by adenovirus-mediated gene transfer. Hum Gene Ther 1999;10:1667-82.
13) Choi JO, Lee MH, Park HY, Jung SC. Characterization of Fabry mice treated with recombinant adeno-associated virus 2/8-mediated gene transfer. J Biomed Sci 2010;17:26.
14) Nagasaki Y, Matsubara Y, Takano H, Fujii K, Senoo M, Akanuma J, et al. Reversal of hypopigmentation in phenylketonuria mice by adenovirus-mediated gene transfer. Pediatr Res 1999;45:465-73.
15) Oh HJ, Park ES, Kang S, Jo I, Jung SC. Long-term enzymatic and phenotypic correction in the phenylketonuria mouse model by adeno-associated virus vector-mediated gene transfer. Pediatr Res 2004;56 (2):278-84.
16) Jung SC, Park JW, Oh HJ, Choi JO, Seo KI, Park ES, Park HY. Protective effect of recombinant adeno-associated virus 2/8-mediated gene therapy from the maternal hyperphenylalaninemia in offsprings of a mouse model of phenylketonuria. J Korean Med Sci 2008;23(5):877-83.