

Study on Laboratory Diagnosis of the Ebola Virus and Its Current Trends

Hye Seon Jeong¹ and Yun-Jung Kang²¹Department of Laboratory Medicine, St. Vincent Hospital, The Catholic University of Korea, Suwon 16247, Korea²Department of Health Science, Dankook University Graduate School, Cheonan 31116, Korea

에볼라 바이러스 진단법과 개발 동향에 관한 고찰 연구

정혜선¹, 강윤정²¹가톨릭대학교 성빈센트병원 진단검사의학과, ²단국대학교 일반대학원 보건학과

In late December 2013, the Ebola virus emerged from West Africa. The outbreak started in Guinea and rapidly spread to Liberia and Sierra Leone. Initially, the virus is spread to the human population after contact with infected wildlife and then spread person-to-person through direct contact with body fluids such as blood, sweat, urine, semen, and breast milk. The Ebola virus infects endothelial cells, mononuclear phagocytes and hepatocytes. It causes massive damage to internal tissues and organs, such as blood vessels and the liver, and ultimately death. Most tests for the virus RNA rely on a technology called reverse-transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR). While this method is highly sensitive, it is also expensive, requiring skilled scientists, and delicate power supplies. The strip analytical technique (enzyme-linked immunosorbent assay or ELISA) detects antigens or antibodies to the Ebola virus. This test is cheap and does not require electricity or refrigeration. Despite ongoing efforts directed at experimental treatments and vaccine development, current medical work on the Ebola viral disease is largely limited to supportive therapy. Thus, rapid and reliable diagnoses of the Ebola virus are critically important for patient management, infections, prevention, and control measures.

Keywords: Ebola virus, Polymerase chain reaction, Strip analytical technique

Corresponding author: Yun-Jung Kang
Department of Health Science, Dankook
University Graduate School, Pyeongtaek
31116, Korea
Tel: 82-31-683-2901
E-mail: yun_jung83@hanmail.net

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Received: July 17, 2015
Accepted: July 27, 2015

Copyright © 2015 The Korean Society for Clinical Laboratory Science. All rights reserved.

서론

2013년 12월 2일 기니 남부의 케케두 근처 멜리안도(Meliandou) 마을의 2세 남아가 고열, 구토, 설사의 증세를 보이다가 갑자기 혼수 상태에 빠진 뒤 12월 6일 사망했다. 이어 아이의 어머니와 3세 누나, 할머니도 비슷한 증상으로 사망했다(Saéz 등, 2015). 이것을 시작으로 에볼라 바이러스 질환(Ebola virus disease)은 2015년 5월 31일 현재 27,181명이 감염되어, 이 중 11,162명이 사망(치사율 41%)했다. 1976년 처음 발견된 에볼라 바이러스는 2014년 이전까

지 고립된 아프리카 지역에서만 발생하였지만, 2014년 발생한 에볼라 바이러스 질환은 기니, 시에라리온, 라이베리아, 말리, 나이지리아, 세네갈, 이탈리아, 스페인, 영국, 미국 총 10개국에서 발생하였다. 감염자의 분비물을 통한 바이러스 감염의 확산으로 의료 관련 종사자들의 2차 감염이 미국과 스페인에서 보고되었다(Organization, 2015). 심각한 출혈열(severe hemorrhagic fever)을 일으키는 바이러스로 증상은 일반적으로 발열, 목의 통증, 근육통, 두통, 간과 신장의 기능저하와 함께 구토, 설사, 발진 등을 나타내며, 장기 내부와 외부에서 출혈 증세를 나타내기도 한다. 체액 손

실로 인한 저혈압으로 치사율은 25~90%에 이른다(Organization, 2014). 에볼라 바이러스는 땀과 침, 혈액, 림프액, 분비물, 정액, 모유 등 체액의 직접접촉을 통해 전염된다(Bausch 등, 2007). 일반적으로 공기전염으로는 확산되지는 않는다(Francesconi 등, 2003). 높은 사망률과 심각한 질병을 일으키며, 효과적인 치료법과 허가된 백신이 없어 Biosafety Level 4로 분류된다(Alimonti 등, 2014). 발병원인이나 감염경로가 확실하지 않아 예방에 어려움이 따른다. 이런 이유 때문에 조기 진단하여 부족한 체액을 보충하고, 손실된 혈액을 대체하여 혈압을 유지하는 보조적인 치료를 받는 것만이 생존 확률을 높일 수 있는 방법이다. 본 논문에서는 에볼라 바이러스의 분자적 특징, 아형의 종류 및 진단법의 종류와 치료법의 최신 연구 동향에 대해 자세히 고찰하고자 한다.

본 론

1. 에볼라 바이러스(Ebola virus)의 분자적 특성

필로 바이러스 과에 속하는 에볼라 바이러스(Ebola virus)는 필라멘트(filamentous)처럼 가늘고 긴 실 모양으로, 외피(enveloped), 비분절(nonsegmented), 음성단일가닥 RNA (negative-single stranded RNA)로 되어있고, 직경은 80 nm, 길이는 900~1,000 nm 정도로 최대 14,000 nm이다(Feldmann & Klenk, 1996; Feldmann & Geisbert, 2011). 유전자의 크기는 18,959 kb이며, 7개의 구조적 단백질과 1개의 비 구조적 단백질로 구성되어 있다(Volchkov *et al.* 2001). 유전자 순서는 3' leader, nucleoprotein (NP), virion protein (VP) 35, VP40, glycoprotein (GP), VP30, VP24, RNA-dependent RNA polymerase (L), 5' Trailer이다. 구조적 단백질 7개의 유전자 중 4개는 바이러스를 만드는데 필요한 유전자와 효소(NP, VP35, VP30 and L)이고, 2개는 기질(matrix) 단백질(VP40, VP24)을 만드는 유전자, 나머지 1개는 막 당 단백질(membrane glycoprotein)이다. 비 구조적 단백질 유전자는 분비 당 단백질(secretory glycoprotein, sGP)이다.

1) 다섯 가지 아형 종류

에볼라 바이러스는 유전체 염기서열의 계통분류학적 유사성에 따라 5가지 아형으로 분류되고 있다. 자이르형 에볼라(*Zaire ebolavirus*, EBOV-Z), 수단형 에볼라(*Sudan ebolavirus*, EBOV-S), 레스틴형 에볼라(*Reston ebolavirus*, EBOV-R), 코트디부아르형 에볼라(*Tai Forest ebolavirus*, 이전 *Côte d'Ivoire ebolavirus*, EBOV-TF) 그리고 분디부교형 에볼라(*Bundibugyo ebolavirus*, EBOV-B)가 있다(Feldmann & Geisbert, 2011). 레스틴형은 1989년 미국 버지니아의 레스틴(Reston)에 수입된 필리핀 원숭이

(*Macaca fascicularis*)의 검역과정에서 직원이 감염되었다(Jahrling 등, 1990). 이후 1992년 이탈리아(Organization 1992), 2008년에는 필리핀(Barrette 등, 2009)에서도 발견되었다. 영장류에는 치명적이지만 인간에게는 병원성을 나타내지 않는다. 1994년 서아프리카 대서양 연안에 위치한 나라인 코트디부아르(*Cote d'Ivoire*)에서 침팬지를 부검한 과학자 한 명(생존) 감염 예에서 분리된 에볼라 바이러스가 코트디부아르형이며, 이후 추가 발병 사례는 없다(Formenty 등, 1999). 나머지 아형인 분디부교형은 2007년 우간다의 분디부교(*Bundibugyo*)에서 발견되었다. 자이르형나 수단형 보다는 코트디부아르형에 가장 가까운 변종이다(Towner 등, 2008). 현재 유행 중인 바이러스는 '자이르형 에볼라 바이러스 (EBOV-Z)'이다. 자이르형, 수단형 그리고 분디부교형은 아프리카(수단, 콩고민주공화국, 가봉, 우간다) 지역에서 출혈열을 일으켰으며 병원성이 강해 환자 사망률(case mortality)이 25~90%에 이른다. 반면에 코트디부아르형 및 레스틴형이 사람에게 감염을 일으킨 예는 있지만, 사망한 사례는 현재까지 보고된 바가 없어 다른 에볼라 바이러스 아형과는 병원성에 있어 큰 차이가 있다. 에볼라 바이러스 표면에 존재하는 당 단백질(glycoprotein, GP)은 바이러스가 세포에 결합하는데 관여하기 때문에 바이러스의 병원성에 중요한 역할을 한다. 예를 들어 당 단백질의 편집위치(editing site)를 제거시킨 돌연변이를 만들면, 이 돌연변이는 더 이상 비구조적 당 단백질(soluble GP)을 발현하지 않고, 당 단백질의 합성은 증가하여 미성숙 전구체로 소포체에 축적된다. 이 돌연변이는 야생형 바이러스(wild-type)에 비해 훨씬 더 많은 세포독성을 지니게 되지만, 병원성은 감소한다. 이는 바이러스가 당 단백질의 발현에 의한 독성을 스스로 조절하는 메커니즘을 가지고 있다는 의미이며, 세포가 바이러스 독성에 의해 빨리 죽어버리면 면역체계가 반응할 시간이 없기 때문에 병원성은 감소하게 되는 것이다(Volchkov 등, 2001). 자이르형, 수단형, 코트디부아르형 에볼라 바이러스의 경우, 당 단백질 furin motif 절단위치(cleavage site)가 R-X-K/R-R로 절단에 민감한 반면, 레스틴형 에볼라 바이러스는 절단위치가 K-Q-K-R로 cleavability가 감소하여 독성은 증가하지만, 인간에게는 비 병원성을 나타낸다(Volchkov 등, 1998).

2. 에볼라 바이러스의 증상 및 질환

잠복기는 2~21일이며(Dixon and Schafer 2014), 노출 후 8~12일에 나타나는 초기 증상은 갑작스런 열(89%), 두통(80%), 무력감(66%), 현기증(60%), 설사(51%), 복통(40%), 후두염(34%), 구토(34%), 결막염(31%) 등으로 비특이적이다(Schieffelin 등, 2014). 노출 후 2주에 전해질 이상(설사, 구토, 저 칼륨혈증, 저 나트륨혈증, 저 칼슘혈증)을 포함한 위장관 기능장애가 나타난다. 위장관 기

능장애가 클수록 저혈량 쇼크와 장기 부전으로 이어 질 수 있다 (West & von Saint André-von Arnim, 2014). 질병의 빠른 진행으로 경구 또는 정맥 수분 보충이 중요하며, 집중 치료와 조기의 관리가 필요하다(Kilgore 등, 2015). 증상이 나타난 후 6~16일에 사망하고, 2주를 넘어 생존하는 경우, 회복하는 경향을 보였다. 2주 후 회복된 환자는 근육통, 관절통, 간염증, 안질환, 이명, 심막염, 고환염, 화농성 이하선염 등을 나타낸다(Bwaka 등, 1999).

3. 에볼라 바이러스의 진단법

에볼라 바이러스의 진단은 혈액으로부터 바이러스 또는 바이러스 입자를 검출하거나, 감염에 대한 항체 반응을 측정하는 것이다. 현재 알려진 에볼라 바이러스 감염 확인 방법은 감염 기간 정도에 따라 달라지는데, 감염 직후일 경우 PCR (polymerase chain reaction), ELISA (antigen-capture enzyme-linked immunosorbent assay), IgM ELISA, virus isolation 을 통하여 확인 할 수 있고, 감염 후 어느 정도의 시간이 지났거나 회복 한 후에는 IgM과 IgG 항체 검사를 통해서 진단이 가능하다. 감염자 사망 후에는 PCR, Immunohistochemistry 또는 virus isolation 검사를 통해서 감염 여부를 확인 할 수 있다(Grolla 등, 2005). 또한 확진 검사로 western blot과 아세톤에 고정된 세포를 이용하는 간접면역형광 분석법(indirect immunofluorescence assay, IFA)이 있다. 바이러스혈증(viraemia)이 높은 수준일 때 전자현미경으로 진단하는 것도 유용하다(Grolla 등, 2005). 바이러스 분리를 위해 사용하는 세포주는 Vero cell (clone E6)과 MA-104cell (원숭이 신장세포)를 사용하지만 일차 분리 시 세포변성 효과가 나타나지 않아 기니아피그(Guinea pig)를 사용한다(Table 1). 최근 발생한 에볼라 바

이러스 질환 진단을 위해 이등 실험실에서는 PCR 또는 빠른 분석을 위해 ELISA 분석법을 사용한다.

1) 검사실 소견(Laboratory test)

초기에는 백혈구 감소증(혈액 1 μL 당 1,000개 이하), 혈소판 감소증(혈액 1 μL 당 50,000~100,000개), 간 손상을 나타내는 효소인 AST, ALT은 높은 수치를 나타낸다. 신부전을 나타내는 효소인 urea nitrogen, creatinine 수치도 상승하였다(Schieffelin 등, 2014). 혈뇨, 단백뇨, Amylase 농도는 상승, PT (prothrombin time), PTT (partial thromboplastin time), bleeding time연장, DIC (disseminated intravascular coagulation), D-dimer수치 상승을 나타낸다. 감염후기에는 질환이 진행됨에 따라 미성숙 과립구 증가와 비정형 림프구 증가로 총 백혈구 수는 정상이상으로 증가한다(Feldmann & Geisbert, 2011; Kortepeter 등, 2011).

2) RT-PCR (reverse-transcriptase polymerase chain reaction)

바이러스 핵산을 표적으로 하는 RT-PCR은 에볼라 바이러스를 검출이 신속하고 민감하다. 급성기에 감도는 우수(민감도 100%, 특이도 97%) (Leroy 등, 2000) 하지만, 부적절한 시료채취 및 운송 보관 등의 원인으로 위음성 결과와 PCR 작업 중 cross contamination에 의해 위양성 결과가 나올 수 있다. 잠복기 중에 바이러스는 검출되지 않고, 증상 발현 후 72시간까지 음성을 나타낼 수 있다. 정액에서의 검출은 증상 발현 후 3개월 후에도 나타날 수 있다(Martin 등, 2015). 감도가 매우 높지만, 고도의 생물학적 안전장치 가 구비된 정교한 실험실과 숙련된 과학자들을 필요로 한다. 더욱이 지속적인 전력공급과 냉장처리가 필수적이고, 가격이 비싸

Table 1. Laboratory diagnosis

Test	Target	Source	Advantages	Disadvantages
PCR	Viral nucleic acid	Blood, serum, tissues, oral/nasal, breast milk	Rapid, sensitive, can distinguish between strains	Requires specialized equipment
Antigen detection ELISA	Viral antigen	Blood, serum, tissues, oral/nasal, breast milk	Rapid, sensitive, high throughput	Requires specialized equipment
Immunohistochemistry	Viral antigen	Tissue (e.g. skin, liver)	Shows histologic location of viral antigen	Slow, Requires formalin fixation
Fluorescence assay (IFA)	Viral antigen	Tissue (e.g. liver)	Rapid and easy	Interpretation is subjective
Electron microscopy	Viral particle	Blood, tissues	Distinguishes unique morphology	Insensitive; requires specialized equipment
Indirect immunofluorescence assay (IFA)	Virus-specific Antibodies	Serum	Rapid and easy	Nonspecific positives; subjective
Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)	Virus-specific Antibodies	Serum	Rapid, specific, sensitive, high throughput	Slower than IFA
Immuno blot (Westernblot)	Virus-specific Antibodies	Serum	Protein specific	Interpretation sometimes difficult
Virus isolation	Viral particle	Blood, Tissues	Isolate is available for study	Slow (~1 week)

Abbreviations: PCR, Polymerase chain reaction; ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay.

다. 이러한 문제점 때문에 RT-PCR 방식은 서아프리카의 에볼라 창궐 지역에서 사용되기 어려운 단점이 있다(Kelly, 2014).

3) 항원검출

항원검출 ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay)는 2000년 이전 전염병에 에볼라 바이러스 진단 할 수 있는 주력이었지만, 이후 더 민감한 RT-PCR로 대체되었다. 항원검출은 급성기에 매우 민감하지만(민감도 93%, 7~16일에는 항원이 검출되지 않는다(Martin 등, 2015)(Fig. 1).

4) 혈청학적 검사

Specific IgM antibody는 발병 두 번째 주 동안 최고치를 나타내며, 증상 후 첫 주에 capture ELISA를 통해 검출된다. 이것은 발병 후 30~168일 사이에 사라진다. 증상발병 6~18일에 곧 IgG 항체가 나타나며 최대 3~5년 동안 지속한다(Martin 등, 2015).

5) 배양

바이러스 배양은 Biosafety Level 4의 시설에서 시행 해야 하고, 바이러스 성장(일반적으로 14일이내)이 느리기 때문에 직접적인 환자관리에 임상적으로 유용하지 않다(Martin 등, 2015).

6) 면역조직화학(Immunohistochemistry)

에볼라 바이러스 항원을 특이 폴리클로날(polyclonal)과 모노클로날(monoclonal)항체를 사용하여 포르말린에 고정된 조직에서 면역조직화학방법에 의해 검출할 수 있다. 이러한 방법은 포르말린 고정 조직에서 진단 할 수 있는 유일한 방법으로 포르말린 고

정 생검은 감염이 없고 특별한 주의나 냉장시설 없이도 가능하다(Zaki 등, 1999).

4. 에볼라 바이러스 검사법의 최근 동향

최근, UN에서 판매 승인된 진단법 4가지이다. 첫 번째는 RealStar® Filovirus Screen PT-PCR Kit 1.1 (Altona Diagnostics GmbH, Germany)로 RNA추출을 위해 혈장에서 filovirus-specific RNA를 검출하는 방법이다. 두 번째는 ReEBOV Antigen Rapid Test Kit (Corgenix, USA)로 에볼라 기질 단백질인 VP40을 검출하는 면역 크로마토그래피 항원검사(민감도 91.8%, 특이도 84.6%)이다. 세 번째는, Liferiver™ Ebola Virus (EBOV) Real Time RT-PCR Kit (Shanghai ZJ Bio Tech Co. Ltd., China)로 자이르형, 수단형, 코트 디브아르형, 분디부교형 에볼라 바이러스를 real-time PCR을 통해 검출하는 방법이다. 네 번째는 Xpert® Ebola Assay (Cepheid, Sweden)로 이것은 카트리지에 안에 모든 시약이 포함되어있는 분석 방법으로 Real-time RT-PCR방식이며, 카트리지가 자체에서 추출과 증폭이 가능하여 불필요한 오염이 일어나지 않는 장점이 있다 (WHO, 2015). 이런 진단법 중에서 PCR이 기본 진단법으로 이 검사는 전문장비, 숙련된 인력, 전기시설, Biosafety Level 4의 시설 등이 필요하다. 이런 이유로 아프리카 현지에서 맞는 간단한 실험실 테스트가 많이 늘어나고 있다. 2014년 7~8월 사이 기니에서 53명의 환자로부터 얻은 정맥천자에 의한 혈액 샘플 및 fingerstick을 통한 모세혈관의 혈액 120개의 샘플을 채취하여 RealStar Filovirus Screen RTPCR Kit 1.0 (altona Diagnostics, Germany)을 사용하여 분석하였다. 모세관 혈액 샘플로 시행했을 시, 민감도 86.8%, 특이도 100%를 보여 비상시 제한된 곳에서 진단을 위해 정맥 혈액 샘플에 대한 대안이 될 수 있음을 시사한다. 정맥천자가 어려운 경우 특히 장점이 될 수 있다. 특히 신생아나 유아, 문화적, 종교적 이유로 정맥천자를 거부하는 환자에서 유용하다고 할 수 있겠다. 에볼라 바이러스 신속진단 키트(Ebola virus one-step test kits)의 대부분이 Lateral flow immunoassay방식으로 혈장, 혈청, 전혈에 있는 에볼라 항원을 검출하는 정성검사로 정확성은 99%이상, 10분내로 결과판독 가능한 것이 있다. 또 다른 방법은 이중항원샌드위치법으로 에볼라 바이러스 항체를 검출하기 위해 콜로이드 골드(colloidal gold)와 결합한 에볼라 항원을 이용하여 혈청 또는 혈장에 있는 에볼라 바이러스 항체를 검출하는 방식이 있다 (Au-Ebola-Ag-Ebola-Ab-Ebola-Ag). 신속 진단 검사법은 단순성, 휴대성, 낮은 비용 측면에서는 상당한 장점이지만, PCR보다 예측 가능성이 떨어지고, 판독 어려가 높고, 낮은 농도의 바이러스 또는 구강에 있는 바이러스의 검출이 낮아 PCR로 확진 검사를 실시해야 한다. 일상적인 검사에서는 사용할 수 없지만 혈액에서 고농

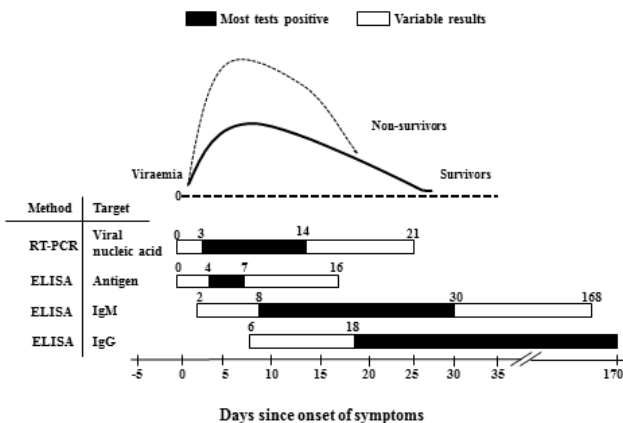


Fig. 1. Diagnostic laboratory tests can be expected after symptom onset. The average viraemia of Ebola virus disease in survivors and non-survivors. The expected results associated with the diagnosis, since symptoms onset date.

도의 에볼라 바이러스가 있는 환자에서는 유용하다. 심각한 질환과 감염전파가 쉬운 곳에서는 환자식별을 위해 필요하다(Organization, 2015).

5. 에볼라 바이러스의 치료

회복기 환자의 전혈 또는 혈장을 포함한 면역치료법, 바이러스 침입에 무방비 상태인 환자의 면역계를 대신해 에볼라 바이러스를 인식해 달라붙는 항체를 넣어주는 단일클론항체법, siRNA를 이용하여 에볼라 바이러스의 RNA를 분해시키는 방법과 핵산 유사체를 이용하여 에볼라 바이러스의 RNA를 불량품으로 만드는 방법이 있다 (Fig. 2).

1) 면역치료법(Immunotherapeutics)

1995년 콩고민주공화국 키크위트(Kikwit)에서 자이르형 에볼라 바이러스가 창궐할 당시 생존자의 혈장을 주입 받은 환자 8명 중 7명이 생존하였다(Mupapa 등, 1999). 아직 연구에 의해 그 효과나 안전성이 증명되지는 않았지만 제한된 수의 에볼라 바이러스 환자에게 회복기 환자의 IgG를 투여하는 치료법이다(Kilgore 등, 2015). 완치된 환자의 혈장에 에볼라 바이러스에 대한 항체가 포함되어 있을 것이라 보고 투병 중인 환자가 수동면역을 통해 바이러스에 대항하도록 하는 것이다. 하지만 높은 수준의 항체를 지닌 회복기 환자의 혈액량의 한계로 많은 환자를 구하는 데에는 어려움이 있다.

2) 지맴의 원리 및 한계

지맴(ZMapp)은 미국의 맵바이오제약(Mapp Bio-pharma-

ceutical)이 만든 항체로, 에볼라 바이러스의 당 단백질에 대항하는 3가지 단일클론항체의 조합이다. 만드는 과정은 생쥐에 에볼라 항원을 넣어 항원-항체 반응을 유도한 뒤 비장에서 에볼라 바이러스 항원에 대한 B세포를 찾는다. 가장 우수한 항체를 만드는 유전자를 분리한 뒤 항체를 사람의 항체 유전자로 바꿔 인간화된 항체 유전자로 변형시킨 뒤 담배(tabacco plant)에 넣어 식물이 항체 단백질을 만든다. 지맴은 원숭이 실험에서는 좋은 효과를 보였으나, 아직 사람에게 투여되었을 때의 안전성 역시 증명되지 않았다. 지맴은 식물을 이용하기 때문에 일단 비용이 싸다. 또한 실험과정에서 사람에게 바이러스가 전염될 우려가 없어 안전하고, 수송이나 보관도 편리하다. 하지만, 식물이 자라면서 만드는 유전자조작 물질이므로 식물의 성장속도에 맞춰 얻기 위해서는 시간이 걸리기 때문에 화학적으로 합성하는 약물과는 달리 바로 확보하기가 어려운 단점이 있다(Qiu 등, 2014).

3) Small inhibitory ribonucleic acid (siRNA) 기반 항바이러스제 개발

캐나다 테크미라제약(Tekmira)이 만드는 이 약은 RNA간섭 방법을 이용하는 약물이다. siRNA분자는 mRNA와 바이러스 복제를 억제하는 이중가닥 RNA단편으로, 표적이 되는 유전자의 염기서열과 일치하는 부분을 포함하고 있다. 세포 안에 들어온 TKM-Ebola는 RISC (RNA-induced silencing complex)에 의해 표적에 해당하는 가닥은 제거되고 상보적인 단일가닥만 남아 에볼라 바이러스의 mRNA와 붙는다. 그러면 RISC가 mRNA를 잘라 바이러스는 더 이상 증식하지 못한다. TKM-Ebola는 2010년 이미 영장류를 대상으로 제대로 작용했지만 부작용을 우려해 인체에 대한 임상 허가가 나지 않고 있다(Geisbert 등, 2010).

4) T-705 또는 Avigan (Favipiravir)

인플루엔자 바이러스가 주 목표로 개발되었던 저 분자 의약품인 파비피라비르(Favipiravir)는 핵산 염기와 비슷한 분자로 착각하여 불량품 계놈을 만드는 방식이다. 최근 학술지에 파비피라비르를 에볼라 바이러스에 감염된 생쥐에 투여할 경우 100% 생존했다는 연구결과가 나오고 때마침 서아프리카에서 에볼라 바이러스가 등장하여 갑자기 유력한 에볼라 치료제 후보로 부상했다(Smithers 등, 2014). 에볼라 바이러스가 사람 세포 안에서 복제, 전사할 때 파비피라비르 삼인산을 핵산 염기로 착각해 불량품 계놈이 만들어져 바이러스는 더 이상 증식하지 않는다. 이런 메커니즘은 대부분 바이러스 뿐 아니라 인체에도 영향을 주기 때문에 부작용이 크지만, 파비피라비르는 처음에 들어와 삼인산으로 바뀔 때만 인체의 효소를 이용할 뿐 이후에는 인체에 영향을 주지 않아 부작용이 적다. 파미

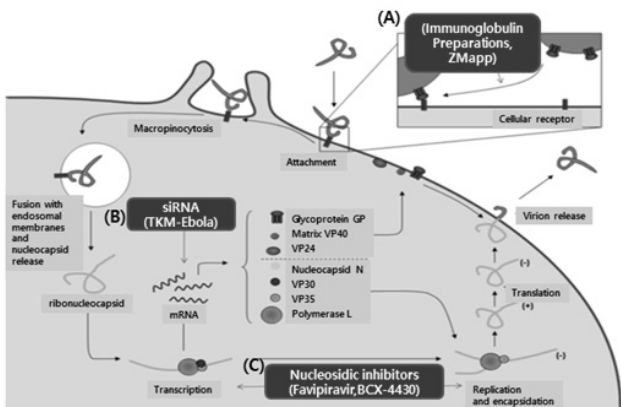


Fig. 2. Targets of experimental therapies. (A) Inserting an antibody response by recognizing the Ebola virus. (B) The method of using a siRNA inhibiting the RNA of the Ebola virus (C) There is a way to create a defective RNA of the Ebola virus using nucleic acid analogs.

파라비르는 경구 투여제이기 때문에 주사제인 지맵과 비교해 사용과 대량생산이 쉽다는 장점이 있다(Oestereich 등, 2014; Smither 등, 2014).

5) 항바이러스 개발 현황(각국의 임상시험 및 허가 현황)

한국시간으로 2014년 8월 11일 오후 WHO (세계보건기구)에서는 “의사가 환자에게 정보를 알리고 동의를 얻는다면 에볼라 바이러스 질환을 없애기 위해 아직 증명이 되지 않은 치료제와 백신을 사용하는 건 윤리적인 일”이라는 이례적인 발표를 하면서, 에볼라 바이러스 치료제인 지맵을 사용하기로 결정했다. 치사율이 높은 에볼라 바이러스 질환을 치료하기 위해 비 임상시험 중인 치료제를 사용하기로 한 것은 이례적인 일이다. 신약을 만드는 과정에서 비 임상시험(쥐, 토끼, 개, 원숭이)에서 안정성과 안전성을 입증 받은 후, 임상시험(3단계)을 거쳐 의약품 허가를 받게 된다. 지맵은 비 임상시험 결과만을 가지고 미국인 두 명에 치료를 시도 하여 호전된 결과가 나왔지만 아직 입증되지 않은 의약품으로 위험한 시도이다. 파비피라비르(Favipiravir)는 2014년 12월 17일부터 기니 케케두에 위치한 국경 없는 의사회 에볼라 치료센터에서 시작된 임상시험에서 초기 단계의 에볼라 바이러스 환자에게 효과적이라는 예비결과가 나왔다. 혈중에 에볼라 바이러스 수치가 비교적 낮은 환자들의 경우, 사망률이 30%에서 15%까지 떨어지는 결과를 나타냈지만 높은 수치의 환자에서의 효과는 미비했다. 현재 임상 2상을 진행 중이다. 하지만 최근 에볼라 바이러스 신규환자 수가 눈에 띄게 감소하고 임상시험 등록환자도 줄어 전면적으로 중단한 치료제가 늘고 있다.

6) 백신

여러 백신이 현재 개발 중이지만, ChAd3-ZEBOV와 rVSV-ZEBOV 백신이 가장 앞서 있다. 자이르 변종에 대한 백신이며 WHO와의 공조 하에 임상시험단계에 착수했다. 두 가지 모두 안전한 바이러스 백신에 에볼라 단백질을 표현시킨 생백신의 일종으로, ChAd3-ZEBOV의 경우 침팬지 아데노 바이러스 백신을 이용하며, rVSV-ZEBOV의 경우 약독화시킨 VSV백신을 이용한다. 이 백신에 에볼라 유전자 일부를 주입하여 에볼라 단백질을 바이러스 표면에 표현시켜 주입한다(Kanapathipillai 등, 2014).

결론

1976년 아프리카 중심부에서 처음 발발한 이후, 2014년 서아프리카에서 역사상 가장 대규모의 에볼라 바이러스 질환이 발생했다. 이번 유행을 일으킨 에볼라 바이러스는 자이르형 에볼라 바이러스

로 치사율은 약 40%정도이다. 발열, 두통, 무력감, 현기증, 설사 등의 증상을 보인다. 바이러스 확산을 막기 위해서는 치료제 개발뿐 아니라, 신속하고 정확한 진단시약 개발이 중요하다. 하지만, 발열 등의 초기 증상이 에볼라 바이러스 감염에 비특이적이며 종종 말라리아, 장티푸스와 같은 일반적인 질병을 가진 환자에서 볼 수 있기 때문에 단지 며칠 동안 감염된 사람에서 에볼라 바이러스를 진단하는 것은 어렵다. 왜냐하면, 아프리카에서는 말라리아, 결핵, 간염과 같은 여러 가지 병원체에 대한 항원들을 동시에 보유한 환자들이 많아, 검사에 혼란을 초래할 수 있기 때문이다. 이에 따라 실험실에서는 에볼라 바이러스에 대한 감도를 높이기 위해 변형된 검사방법을 사용하고 있는데, 이것이 현장에서 채취된 혈청에는 적용되지 않을 수도 있어 항원기반진단법 개발이 특히 중요하다고 하겠다.

요약

2013년 12월 말, 에볼라 바이러스는 서아프리카에서 발발했다. 기니를 시작으로 라이베리아, 시에라리온으로 빠르게 퍼지게 되었다. 에볼라 바이러스(자이르형 에볼라 바이러스)는 외피, 비분절, 음성단일가닥 RNA바이러스이다. 에볼라 바이러스는 인수공통 전염병이다. 바이러스는 처음 감염된 야생동물과 접촉 한 후, 혈액, 땀, 소변, 정액, 모유 등의 체액과의 직접적인 접촉을 통해 사람 대 사람으로 전염된다. 그러나 공기로 전염되지는 않는다. 잠복기는 2~21일이다. 에볼라 바이러스는 내피세포, 단핵 식세포, 간세포를 감염시킨다. 감염 후 바이러스가 숙주의 면역 시스템을 회피하기 위해 여러 메커니즘을 사용한다. 이것은 혈관, 간 등의 내부 조직 및 기관에 막대한 피해를 주어 죽음에 이르게 한다. RNA 바이러스에 대한 대부분의 실험은 역전사 중합효소 연쇄반응(RT-PCR)라 기술에 의존한다. 이 방법은 매우 민감하지만 숙련된 과학자, 전원 공급 장치 요구하며 비싸다. 스트립 분석기법(효소면역분석법, ELISA)은 에볼라 바이러스 항원 또는 항체를 검출한다. 이 기법은 저렴하며, 전기, 냉장 장치가 필요하지 않다. 실험적인 치료 및 백신 개발에 관한 지속적인 노력에도 불구하고, 에볼라 바이러스 질환은 현재 치료법에 제한이 있다. 그러므로 신속하고 정확한 진단이 환자관리, 감염예방, 관리대책에 있어서 매우 중요하다.

Acknowledgements: None

Funding: None

Conflict of interest: None

References

- Barrette RW, SA Metwally, JM Rowland, L Xu, SR Zaki, ST Nichol, P, *et al.* Discovery of swine as a host for the Reston ebolavirus. *Science*. 2009, 325(5937): 204-206.
- Bausch DG, JS Towner, SF Dowell, F Kaducu, M. Lukwiya, A Sanchez, *et al.* Assessment of the risk of Ebola virus transmission from bodily fluids and fomites. *Journal of Infectious Diseases*. 2007, 196(Supplement 2): S142-S147.
- Bwaka MA, M.J Bonnet, P Calain, R Colebunders, A De Roo, Y Guimard, *et al.* Ebola hemorrhagic fever in Kikwit, Democratic Republic of the Congo: clinical observations in 103 patients. *Journal of Infectious Diseases*. 1999, 179(Supplement 1): S1-S7.
- Dixon MG, IJ Schafer. Ebola viral disease outbreak—West Africa, 2014. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2014, 63(25): 548-551.
- Feldmann H, TW Geisbert. Ebola haemorrhagic fever. *The Lancet*. 2001, 377(9768): 849-862.
- Feldmann H, HD Klenk. Marburg and Ebola viruses. *Advances in Virus Research*. 1996, 47: 1-52.
- Formenty P, C Hatz, B Le Guenno, A Stoll, P Rogenmoser, A Widmer. Human infection due to Ebola virus, subtype Cote d'Ivoire: clinical and biologic presentation. *Journal of Infectious Diseases*. 1999, 179(Supplement 1): S48-S53.
- Francesconi P, Z Yoti, S Declich, PA Onek, M Fabiani, J Olango, *et al.* Ebola hemorrhagic fever transmission and risk factors of contacts, Uganda. *Emerging Infectious Diseases*. 2003, 9(11): 1430.
- Geisbert TW, ACH Lee, M. Robbins, JB Geisbert, AN Honko, V Sood, *et al.* Postexposure protection of non-human primates against a lethal Ebola virus challenge with RNA interference: a proof-of-concept study. *The Lancet*. 2010, 375(9729): 1896-1905.
- Grolla A, A Lucht, D Dick, JE Stron, H Feldmann. Laboratory diagnosis of Ebola and Marburg hemorrhagic fever. *Bull Soc Pathol Exot*. 2005, 98(3): 205.
- J Alimonti, A Leung, S Jones, J Gren, X Qiu, L Fernando, *et al.* Evaluation of transmission risks associated with in vivo replication of several high containment pathogens in a biosafety level 4 laboratory. *Scientific Reports* 4. 2014, doi:10.1038/srep05824.
- Jahrling PB, TW Geisbert, ED Johnson, CJ Peters, D Dalgard, W. Hall. Preliminary report: isolation of Ebola virus from monkeys imported to USA. *The Lancet*. 1990, 335(8688): 502-505.
- Kanopathipillai R, AM Henao Restrepo, P Fast, D Wood, C Dye, M.P Kienny, *et al.* Ebola vaccine—an urgent international priority. *New England Journal of Medicine*. 2014, 371(24): 2249-2251.
- Kilgore PE, JD Grabenstein, AM Salim, M. Rybak. Treatment of ebola virus disease. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*. 2015, 35(1): 43-53.
- Kortepeter MG, DG Bausch, M Bray. "Basic clinical and laboratory features of filoviral hemorrhagic fever." *Journal of Infectious Diseases*. 2011, 204(suppl 3): S810-S816.
- Leroy EM, S Baize, CY Lu, J McCormick, A Georges, M Georges-Courbot, *et al.* Diagnosis of Ebola haemorrhagic fever by RT-PCR in an epidemic setting. *Journal of Medical Virology*. 2000, 60(4): 463-467.
- Martin P. KB Laupland, EH Frost, L. Valiquette. Laboratory diagnosis of Ebola virus disease. *Intensive Care Medicine*. 2015, 1-4.
- Oestereich L, A Lüdtkke, S Wurr, T Rieger, C Muñoz-Fontela, S Günther. Successful treatment of advanced Ebola virus infection with T-705 (favipiravir) in a small animal model. *Antiviral Research*. 2014, 105: 17-21.
- World Health Organization. Viral haemorrhagic fever in imported monkeys. *Wkly Epidemiol Rec*. 1992, 67(142): 20849-26003.
- World Health Organization. Ebola virus disease. Fact sheet No. 103, updated September 2014.
- World Health Organization. Ebola situation report. WHO Geneva, MAY. 2015.
- Qiu X, G Wong, J Audet, A Bello, L Fernando, JB Alimonti, *et al.* Reversion of advanced Ebola virus disease in nonhuman primates with ZMapp. *Nature*. 2014, doi:10.1038/nature13777.
- Saéz AM, S Weiss, K Nowak, V Lapeyre, F Zimmermann, A Düx, *et al.* Investigating the zoonotic origin of the West African Ebola epidemic. *EMBO Molecular Medicine*. 2015, 7(1): 17-23.
- Schieffelin JS, JG Shaffer, A Goba, M Gbokie, SK Gire, A Colubri, *et al.* Clinical illness and outcomes in patients with Ebola in Sierra Leone. *New England Journal of Medicine*. 2014, 371(22): 2092-2100.
- Smither SJ, LS Eastaugh, JA Steward, M Nelson, RP Lenk, M. S. Lever. Post-exposure efficacy of oral T-705 (Favipiravir) against inhalational Ebola virus infection in a mouse model. *Antiviral Research*. 2014, 104: 153-155.
- Towner JS, TK Sealy, ML Khristova, CG. Albariño, S Conlan, SA Reeder, *et al.* Newly discovered ebola virus associated with hemorrhagic fever outbreak in Uganda. *PLoS Pathogens*. 2008, 4(11): e1000212.
- Volchkov VE, H Feldmann, VA Volchkova, HD Klenk. Processing of the Ebola virus glycoprotein by the proprotein convertase furin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1998, 95(10): 5762-5767.
- Volchkov VE, VA Volchkova, E Mühlberger, IV Kolesnikova, M Weik, O Dolnik *et al.* Recovery of infectious Ebola virus from complementary DNA: RNA editing of the GP gene and viral cytotoxicity. *Science*. 2001, 291(5510): 1965-1969.
- West TE, A von Saint André-von Arnim. Clinical Presentation and Management of Severe Ebola Virus Disease. *Annals of the American Thoracic Society*. 2014, 11(9): 1341-1350.
- Zaki SR, WJ Shieh, PW Greer, CS Goldsmith, T Ferebee, J Katshitshi, *et al.* A novel immunohistochemical assay for the detection of Ebola virus in skin: implications for diagnosis, spread, and surveillance of Ebola hemorrhagic fever. *Journal of Infectious Diseases*. 1999, 179(Supplement 1): S36-S47.