

제4장 감염성 질환 (Infectious Diseases)

➤ 감염성 질환의 진단과 치료 방법

: 임상적 증상으로 감염성 질환 판단 (염증반응과 감염원이 분비하는 독소로 인한 증상)

-> 감염원인 미생물 규명 (배양검사 및 생화학적 검사) -> 최종진단

: 분자의학적 방법 활용

진단 - 객담, 혈액, 소변에서 DNA, RNA 검사를 통한 (배양검사 없이) 감염원 검출

치료 - 항생제 (내성 등 부작용 동반)

-> 안티센스(antisense), 리보자임(Ribozyme), DNA vaccine 및 면역치료 등 분자요법

미생물 유전체

- 유전체가 규명된 미생물
 - : Haemophilus influenza
 - : Helicobacter pylori
 - : Treponema pallidum
 - : Escherichia coli
 - : Mycobacterium tuberculosis

- 미생물의 염기서열을 알게 되면...
 - DNA probe : 배양검사를 통한 미생물 검출 방법 대체
 - 안티센스(antisense) : 미생물 성장 억제
 - DNA vaccine에 응용
 - 미생물의 독성기작 규명 -> 숙주의 방어기작 유도

미생물의 분자학적 검출

➤ 분자 탐색자(probe) 개발

- 대상 미생물의 염기서열 규명

- target : specific or conserved sequence

DNA or RNA, rRNA (multicopy로 존재)

- 분자의학적 검사로 원인균 확인 이외에 항생제에 대한 내성 정도 확인 가능

- 배양법 보다 높은 민감도 지님 (PCR 등)

- 2 step 권장 : 비특이적 DNA probe를 이용하여 선별검사 수행 후 정확한 원인 미생물 규명

(ex) 선별검사에서 식중독 원인균으로 살모넬라 규명 후 살모넬라 아형(subtype)검사 수행

➤ 분자의학적 검출법

- 제자리부합법 (in situ hybridization)

: 색으로 표지된 probe를 사용하여 현미경으로 검체 관찰

: 자궁경부암 관련 인체유두종 바이러스(human papilloma virus ; HPV) 검출

- 화학발광법 (chemiluminescence)

- 센자성(ferromagnetic)염주이용법

- DNA chip : 고체물질에 고정시킨 oligonucleotide fragment

간단한 예

- Mycobacterium 중 결핵균 검색법
 - 기존 방법 이용 시 3-6주 소요, 분자의학적 탐색으로 수시간 안에 균 동정 가능
 - PCR 기법 (미국 식약청 인증)
 - : 진-푸로브 (Gen-Probe, San Diego, CA)
 - : 앰프리코 (Amplacor, Roche, Branchburg, NJ)
 - Microarray 개발 중 (세균의 subtype 규명 가능 & 리팜핀(rifampin) 내성 돌연변이종 확인 가능)

- 후천성 면역결핍증
 - 분자의학적 진단
 - : HIV 검출 & 정량화 & 전파양상 파악 가능

- HIV 감염 시 일반적인 증상
 - : 그림 4-1

➤ 후천성 면역결핍증 감염에 대한 치료과정 감시 기법

표 4-1. 사람면역결핍바이러스 감염에 사용되는 분자학적 검사

사람면역결핍바이러스 혈청검사	효소면역측정법(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)으로 바이러스 검출, 웨스턴 블롯으로 확인
CD4 도움 T 림프구	면역결핍 정도를 추적 관찰
사람면역결핍바이러스 RNA 바이러스 부하	감염의 시간 경과를 예측할 수 있게 해 준다. 약물치료의 반응 정도를 관찰
사람면역결핍바이러스 유전자형 분석	약물의 민감도 결정, 사람면역결핍바이러스의 아종을 결정하여 역학 조사에 활용
사람면역결핍바이러스 표현형 분석	필요시 시행, 약물에 대한 민감도 확인

➤ 감염성 질환의 분자의학적 치료

표 4-2. 전염성 질환의 치료에 사용되는 분자학적 도구

항생제	미생물의 생화학적 반응을 방해하는 약물. (예 : 페니실린은 세균 벽의 합성을 방해한다.)
안티센스	미생물 유전자를 방해하는 RNA 분자. (예 : 실험적 사람면역결핍 바이러스 치료)
리보자임	미생물 유전자의 파괴를 촉매하는 RNA 분자. (예 : 사람면역결핍 바이러스 및 C형 간염 바이러스에 대한 연구)
항감염 단백질	미생물의 대사 과정을 방해하는 단백질. (예 : 사람면역결핍 바이러스가 림프구에 붙기 전에 바이러스에 붙는 CD4 수용체 단백질 ; 점막 표면에서 선천 면역을 담당하는 단백질-디페신(defesin))
세포 내 외가닥 항체(체내 항체)	세포 내 항체. (예 : 항 erbB2 암단백질 항체)
DNA 백신	(예 : 항 인체 인두종 바이러스 백신)

안티센스

➤ antisense RNA and RNAi

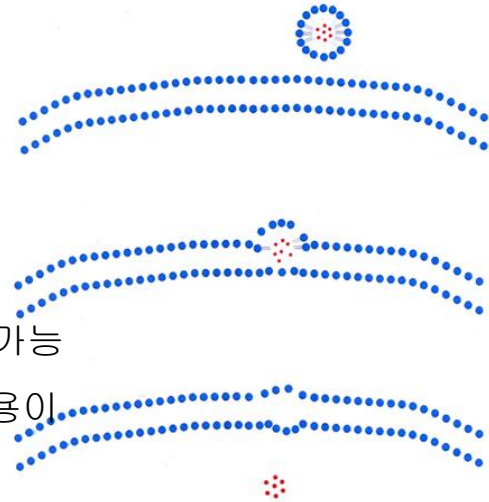
- destruction of mRNA in the cytoplasm
and inhibit or block production of protein for a particular function

➤ 리포좀

: target cell specific expression vector

Ex-1) helper T cell의 CD4 specific vector → T cell 내의 HIV의 복제 억제 가능

Ex-2) helper Liver cell specific vector → C형 간염 바이러스 감염 치료에 용이



➤ DNA vaccine과 antisense RNA coded vector의 차이점

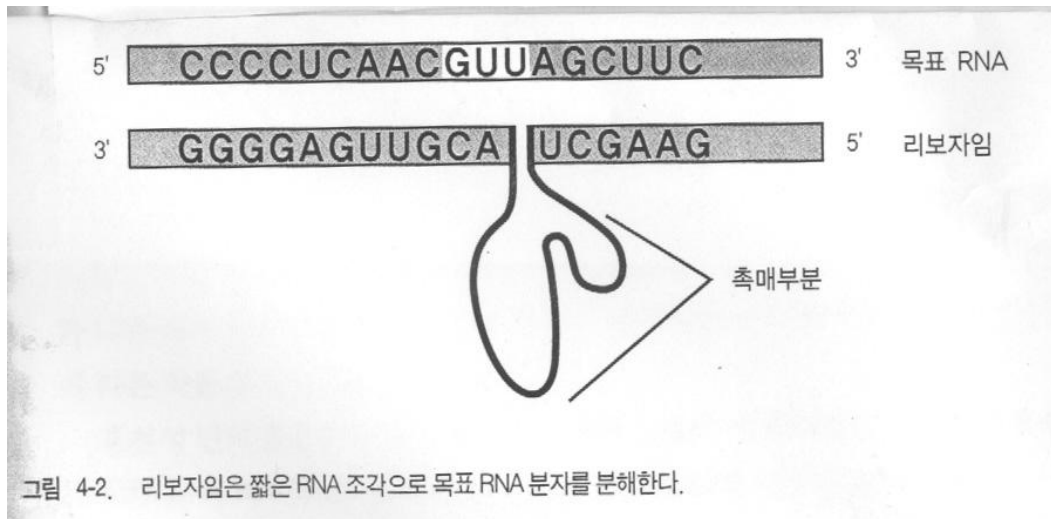
- DNA vaccine : 항원성 있는 바이러스 유전자의 일부를 사용하여 면역반응 유도
- antisense RNA : 바이러스 제거 시 면역시스템 사용되지 않음

리보자임

➤ Ribozyme

(from **ribo**nucleic acid **enz**yme, also called RNA enzyme or catalytic RNA)

- catalyze either the hydrolysis of one of their own phosphodiester bonds
- antisense와 같은 방법으로 제작 가능 (target RNA에 상보적인 염기서열 + Ribozyme)
- target RNA의 특정한 세개의 염기서열에서 RNA 가닥을 분리하여 영구히 불활성화 시킴



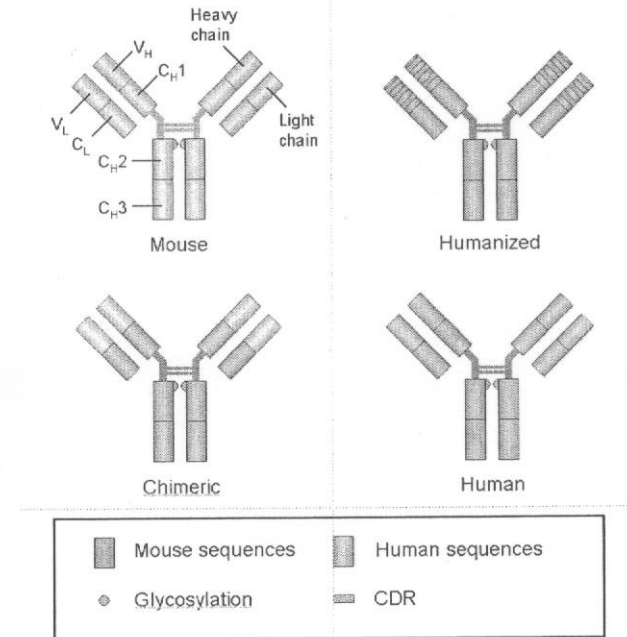
- 장점 : 한번 작용 후 다른 부위에 다시 작용 가능
높은 특이성 지님
핵산이므로 항원성 보이지 않음
- 단점 : 변성 -> 체내에서 불안정성 개선 요망

항감염 단백질

- ▶ 면역혈청(항혈청) 사용
Ex) 보툴리움 항독소, 항뱀독소
- ▶ 분자의학적 기법 응용
: 특정 항원에 대한 Ig 대량 생산

세포 내 외가닥 항체 - 체내 항체

- ▶ 체내 항체 (Intrabodies)
: 항체 유전자군을 활용 -> 유전공학적으로 외가닥 아미노산으로 이루어진 항체를 세포질내 발현
: 세포질내 암단백질 또는 HIV 등 바이러스의 구성물질에 대한 면역반응 가능



DNA 백신

➤ 면역 체계

: 생체 내에서 self와 non-self를 구별하여 외부에서 들어온 이물질을 인식하여 제거하는 일련의 반응

: innate immune response & adaptive immune response

: Humoral immune response & Cell-mediated immune response

➤ Mechanism of Antigen Presentation

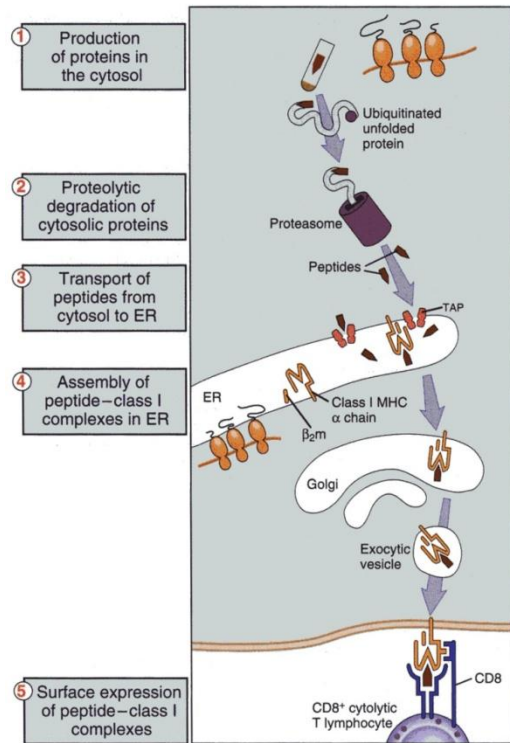


Figure 5-11 The class I MHC pathway of antigen presentation.
The numbered stages in the processing of cytosolic proteins correspond to the stages described in the text. β_2m , β_2 -microglobulin; ER, endoplasmic reticulum; MHC, major histocompatibility complex; TAP, transporter associated with antigen processing.

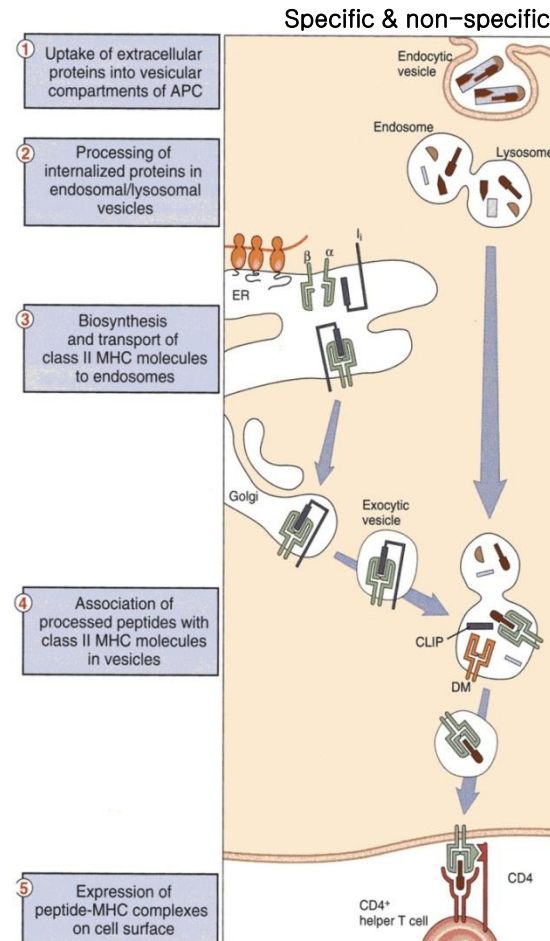


Figure 5-7 The class II MHC pathway of antigen presentation.
The numbered stages in processing of extracellular antigens correspond to the stages described in the text. APC, antigen-presenting cell; CLIP, class II-associated invariant chain peptide; ER, endoplasmic reticulum; I, invariant chain; MHC, major histocompatibility complex.

DNA 백신

- DNA vaccine의 작용 기작
: MHC class I pathway 자극 → cell-mediated immune response 유도 (CD4⁺ & CD8⁺ cytotoxic T cell)
- 기존 백신의 작용 기작
: MHC class II pathway 자극 → humoral immune response 유도 (B cell)
- DNA 백신과 기존 백신의 차이점

DNA 백신	기존 백신
주조직적합복합체 I 세포매개성 면역반응	주조직적합복합체 II 체액성 면역반응
CD8 ⁺ 세포독성 T 림프구	CD4 ⁺ 도움 T 림프구와 용해성 항체
항원은 단백질로 세포 내에 존재	항원은 단백질로 세포 외에 존재
백신은 벡터 또는 유전자 총에 의해 전달	백신은 주사에 의해 전달: 피하, 근육, 혈관 또는 경구
사람면역결핍바이러스, C형 간염바이러스	홍역, 유행성이하선염, 독감
사람 유두종바이러스, 말라리아	

DNA 백신

- DNA vaccine (세포 내에서 RNA로 전사되고 단백질로 번역되어 항원으로 작용)
 - : expression vector (항원 유전자 운반 벡터)
 - : gene gun (피부에 주사)

- DNA vaccine의 장점
 - : 세포성 면역반응 유도
 - : 상온에서 보관 가능 (기존 백신의 경우 열에 노출되면 쉽게 손상되므로 냉장보관 요망)
 - : 여러 종류의 DNA vaccine 제작 용이

➤ Influenza virus

: negative single-strand RNA

- 표면항원 유전자 : 혈구응집소(hemagglutinin, HA) & 뉴라미니다제(neuraminidase, NA)
- 내부유전자(internal gene) : M, NP, PB2 등 6개

: 혈구응집소(Hemagglutinin)에 따라 H는 15종(H1부터 H15)으로

뉴라미니다제(neuraminidase)라는 효소에 따라 N는 9종(N1부터 N9까지)으로 구분

: 빠른 돌연변이로 인한 다양한 coating protein 변이 유도

: 중화항체(neutralization Ab.)를 이용한 예방법

: 항바이러스제 - 아만타딘 (amantadine) & 리만타딘 (rimantadine)

: 뉴라미니다제(neuraminidase) 억제제 - 자나미비어(zanamivir)

: DNA vaccine

- 목적 : 다양한 변종 Influenza virus에 대한 영구적인 면역을 갖게 하는 것
- conserved region 사용 : 적혈구 응집, 뉴라미니다제, 핵단백질의 유전정보를 지닌 부위

➤ Hepatitis C virus

: 만성 간질환 및 간경화증의 주된 원인

: HIV 같은 빠른 돌연변이 발생

: 유전자형을 기본으로 현재 6 종류로 분류

: 9,500 bp로 구성된 single-strand positive virus

: 한 개의 열린 해독틀 (ORF) 존재 (그림 4-3)

: translation 조절 부위 (5'-internal ribosome entry site ; IRES) 지님

: 예방 - DNA vaccine & 항원 보강제 (cytokine etc.)

: 치료

✓ 유전체를 공격 - antisense RNA & Ribozyme

- IRES를 target으로

- vector (adenovirus etc.) 사용

✓ 기능단백질 억제

✓ 바이러스의 증식이나 기능을 억제

- protease 또는 RNA polymerase 활성 억제

추가 : 감염백신

➤ 감염백신

: 특정 항원에 대한 면역을 유도하기 위해 유전공학적으로 변형된 미생물을 사람에게 감염시키고 전파시킴

Ex) HIV에 대한 T cell targeted DNA vaccine을 지닌 Influenza virus 제조

단 감염바이러스가 돌연변이를 일으키는 경우 심각한 질병을 유도할 수 있음 -> 생물학적 테러리즘

: 장점 - 가벼운 질환으로 면역획득 가능

- 많은 사람들이 손쉽게 면역획득이 용이함

➤ 과일백신 (fruit vaccine)

: 유전공학적으로 미생물 항원을 표현하도록 형질을 변형시킨 식물 이용

Ex) B형 간염 바나나, 로타바이러스 감자

감염에 대한 유전적 감수성

➤ 감염 감수성에 대한 유전적 다형태증 (polymorphism)에 대한 예

표 4-4. 감염에 쉽게 걸리는 유전적 다형태증

정상인에게는 문제가 되지 않는 비병원성 미코박테리아균은 인터페론 감마 수용체 돌연변이가 있는 경우 치명적으로 감염된다.

종양괴사인자(tumor necrosis factor) 다형태증이 있으면 말라리아나 다른 감염에 쉽게 걸린다.

적혈구 헤모글로빈과 적혈구효소 돌연변이가 있는 경우에는 말라리아에 잘 걸리지 않는다(예, 겸상적혈구증). 케모카인(chemokine) 수용체 다형태증이 있으면 사람면역결핍바이러스에 감염되어도 증상이 있는 질병으로 천천히 진행되거나 진행하지 않는다.

자연적 저항 연관 대식세포 단백질 1(natural resistance associated macrophage protein 1)은 결핵 감염에 영향을 준다.

만노스 결합 렉틴(mannose-binding lectin) 다형태증은 뇌막염쌍구균 질환의 감수성에 영향을 준다.

프리온

✓ 스탠리 프루시너(Stanley B. Prusiner)

: 광우병뿐 아니라 알츠하이머병 등에서 주요한 역할을 한다는 것을 밝힘

: 1997년 노벨 생리·의학상 수상

➤ Prion

: 단백질(Protein)과 비리온(Virion:바이러스 입자)의 합성어

: 동물과 인간에게 치명적인 신경퇴행성 질환인 해면상뇌질환을 일으키는 병원체

: DNA나 RNA와 같은 핵산 없이 감염성 질환을 일으키는 것이 특징... 프리온의 증식 기작은 아직 모름

: PrPc - 안정적인 구조로 변형 변형된 프리온

100°C 이상의 고온에서도 안정하고 protease에 강한 저항을 보임

비정상적인 PrPc 단백질에 의해 정상 프리온도 변형 가능

: 인간 관련 질병

- 크로이츠펠트-야콥병, 게르스트만-스트라우슬러-샤인커병, 치명적인 가족성불면증, 쿠루

동물 관련 질병

- 스크래피(진전성 질환), 광우병, 노새사슴과 엘크의 만성위축병