

# 도약연구사업(국가지정연구실) 최종보고서

① 부처사업명(대)	기초연구사업		보안등급(보안, 일반)	일반
② 사 업 명(중)	중견연구자지원사업		공개가능여부(공개, 비공개)	공개
③ 세부사업명(소)	도약연구사업			
④ 과제성격(기초, 응용, 개발)	기초	④-1 실용화 대상여부(실용화, 비실용화)		실용화
⑤ 과 제 명	국 문	HIV 게놈 packaging 조절 응용 및 제어 기술 개발		
	영 문	Technology for inhibition & modulation of HIV genome packaging		
⑥ 주관연구기관	가톨릭대학교(성의)			
⑦ 협동연구기관				
⑧ 주관연구책임자	성 명	유 지 창	직급(직위)	교수
	소속부서	의과대학 병리학교실	전 공	분자바이러스학

## □ 연구의 개요 및 필요성

### 1. 연구개발 개요

- 인간세포를 매개로하여 감염 증식하는 바이러스들에 의한 질환들은 인류의 생명을 끊임없이 위협하고 있다. 바이러스가 일으키는 난치성 질환들의 대표적인 예를 들자면 Human Immunodeficiency Virus(HIV; HIV인간면역결핍바이러스)에 의한 후천성면역결핍증, Hepatitis B Virus(HBV)와 Hepatitis C Virus(HCV)에 의한 간염 및 간암, Human Papilloma Virus(HPV)에 의한 자궁경부암, 그리고 최근 세계 도처에서의 outbreak으로 크게 문제가 되었던 Coronavirus에 의한 SARS(Severe Acute Respiratory Syndrome; 중증급성호흡기증후군), Avian Influenza Virus에 의한 조류독감들 등은 인류가 시급히 극복 해결해야 할 과제들이다.
- 더욱이 현재 바이러스들에 의해 유발되는 난치성 질환들은 그 심각성에도 불구하고 대부분의 경우 효과적인 치료제나 제어방법이 거의 미비한 상태이다.
- 또한 HIV 경우에도 현재 대부분 역전사효소와 단백질분해효소, HBV 경우 역시 DNA 중합효소를 표적하여 개발되었으며, 이러한 개발된 항바이러스 제제들의 경우에도 약제내성 바이러스 문제로 인하여 새로운 기전의 항바이러스 저해제나 저해기술 개발이 시급히 필요시 되고 있으며, 보다 효과적인 항바이러스 기술 개발을 위해서는 종래의 방식에서 벗어나 돌연변이가 발생 또는 허용되지 않는 바이러스 target들에 대한 항바이러스 저해 기술 개발이 요구되고 있다.
- 따라서 본 연구개발에서는 HIV를 모델시스템으로 하여 HIV 뿐만 아니라 난치성질환 유발 바이러스들에게 있어 모두 매우 잘 보존된(conserved) 기전인 **바이러스 게놈 packaging** 단계를 표적하여 이를 조절, 저해할 수 있는 새로운 유형의 항바이러스 저해제 및 저해기술과 그리고 이를 이용한 응용기술들을 개발하고자 한다.

### 2. 연구개발의 필요성

인간세포를 매개로하여 감염 증식하는 바이러스들에 의한 질환들은 인류의 생명을 끊임없이 위협하고 있다. 바이러스가 일으키는 난치성 질환들의 대표적인 예를 들자면 Human Immunodeficiency Virus(HIV; HIV인간면역결핍바이러스)에 의한 후천성면역결핍증, Hepatitis B Virus(HBV)와 Hepatitis C Virus(HCV)에 의한 간염 및 간암, Human Papilloma Virus(HPV)에 의한 자궁경부암, 그리고 최근 세계 도처에서의 outbreak으로 크게 문제가 되었던 Coronavirus에 의한 SARS(Severe Acute Respiratory Syndrome; 중증급성호흡기증후군), Avian Influenza Virus에 의한 조류독감들 등은 인류가 시급히 극복 해결해야 할 과제들이다.

그러나 아직까지도 이들 바이러스들에 대한 효과적인 치료제나 제어방법이 거의 미비한 상태이다. 현실이다. 더욱이 이들 바이러스들 뿐 아니라 그나마 치료제 개발이 많이 이루어진 HIV의 경우도 바이러스의 특징인 변이성(mutability) 으로 인하여 기존 개발된 저해제에 대한 내성바이러스가 지속적으로 출현

보고됨에 따라 기존약제 사용의 어려움 뿐 아니라, 백신 개발에도 난항을 겪고 있는 실정이다. 따라서 이런 문제를 극복할 수 있는 새로운 기전의 항바이러스 저해제나 저해기술 개발의 필요성이 절실히 요구되고 있다.

본 연구개발에서는 HIV를 모델시스템으로 하여 HIV 뿐만 아니라 앞서 열거한 난치성질환 유발 바이러스들에게 있어서도 모두 매우 잘 보존된(conserved) 기전인 바이러스 게놈 packaging 단계를 표적하여 이를 조절, 저해할 수 있는 새로운 유형의 항바이러스 저해제 및 저해기술과 이를 이용한 응용기술들을 개발하고자 한다.

### [바이러스 게놈 packaging 이란?]

숙주세포를 매개로 하여 성장, 증식하는 전형적인 편성미생물(obligate intra-cellular parasite)인 바이러스는 숙주세포 내에서 자신의 유전정보만을 매우 선별적이고 특이적인 기전을 통하여 바이러스 입자 안으로 포장하여 나오게 되는데 이를 바이러스 게놈 packaging 또는 encapsidation 이라 한다. 이는 DNA 또는 RNA 바이러스를 포함한 모든 바이러스들에게 있어 예외 없이 적용되는 기전이나, 위에서 언급한 인간에게 치명적이며 난치성질환들을 유발하는 바이러스들에서와 같이 RNA를 게놈으로 하는 바이러스나 RNA를 매개로 하여 복제 전파하는 바이러스 계열들에 있어서는 더욱 이 기전의 중요성이 대두된다. 왜냐하면, 숙주 세포 내에는 수많은 종류의 RNA(mRNA, rRNA, tRNA 등)들이 존재하며, 이들 가운데서 바이러스들은 소량으로 존재하는 바이러스의 게놈 RNA만을 선택적으로 encapsidation 또는 packaging 할 수 있어야 하기 때문인 것이다. 이러한 특이성 그리고 동시에 거의 모든 바이러스에 유사한 기전으로 작용되고 있는 보편성(아래 참조)으로 인하여 이를 표적한 바이러스 게놈 packaging에 대한 조절, 저해 개발연구는 새로운 항바이러스 제어기술 방법으로서 최근 급부상하고 있는 개발 분야이다(1). 대표적 난치성질환 유발 바이러스들의 게놈 packaging 기전을 간략히 기술하면,

<HIV의 경우> 바이러스의 게놈 packaging에 대한 기전 연구는 HIV가 일으키는 질환의 치명적 성격 때문에 가장 많이 연구된 경우이기도 하다. 레트로 바이러스과에 속하며 렌티바이러스(lentivirus)인 HIV 게놈 packaging은 HIV gag 유전자에서 유래하는 gag 중합다단백질 전구체(polyprotein precursor) 내의 Nucleocapsid(NC)라는 단백질부위가 HIV genomic RNA의 LTR(long terminal redundancy)에 존재하는, 소위 Psi( $\psi$ ) sequence라고 하는, 약 130 base의 packaging 염기서열과 이것이 갖는 안정한 이차구조를 선택적으로 인지하여 결합하기 때문인 것으로 알려져 있다(2-6).

<HBV의 경우> Hepadnaviridae member중에 하나이며 DNA 바이러스인 hepatitis B virus(HBV)는 pregenomic RNA(pgRNA)의 역전사 과정을 거쳐 바이러스의 double-stranded 게놈 DNA가 만들어진다. 역전사 과정에 앞서 pgRNA는 바이러스의 polymerase(P 단백질)와 core 단백질에 의해 packaging 된다. 그 기전은 pgRNA의 5'-end에 존재하는 encapsidation signal 또는 epsilon이라 불리는 마찬가지로 매우 안정한 RNA(hairpin) stem-loop 구조와 염기서열(7-10)과 바이러스 P 단백질과 core 단백질의 선택적인 Protein-RNA 상호 결합작용에 의해 이루어진다(11-14). 이 encapsidation signal은 HIV 경우와 마찬가지로 지금까지 보고된 1,000 여종이 넘게 자연계에게 발생 보고된 HBV 변이체들(variants)에서조차도 매우 잘 보존되어 있음에 따라 역시 매우 훌륭한 항바이러스 target으로 평가되고 있다(15-17).

<HCV의 경우> RNA 바이러스인 hepatitis C virus (HCV) 경우에는 아직 배양시스템이나 실험동물 모델의 부재로 인해 자세한 게놈 packaging 기전 연구에 어려움이 있으나(18), 최근까지 *in vitro* 상에서의 결과에 의하면 HCV 게놈 packaging 역시 5'-end noncoding region에 여러 isolates들에서도 매우 잘 보존되어 있는 특이한 염기서열 구조(19)와 HCV core 단백질간의 상호결합 작용에 이루어지는 것으로 보고되고 있다(20-21). HCV 경우에는 흥미롭게도 3'-end에 역시 비슷한 매우 잘 보존되어 있는 염기서열 구조가 있다는 보고도 있으나 이것이 packaging에 관련여부는 아직 보고된 바가 없다(22).

<기타 바이러스의 경우> SARS의 원인바이러스인 Coronavirus도 비슷한 RNA packaging 염기서열과 이차 구조의 존재하고 그리고 SARS 바이러스와 유사한 Coronavirus들(예를 들어, MHV and BCoV 같은)에서와 같이 게놈 packaging에 연루된 것으로 이미 보고된 nucleocapsid 단백질의 존재가 확인되었다(23, 24). 또한 Polio 바이러스(25, 26), cytomegalovirus(herpes simplex virus 1)들에도 위와 같이 이들 바이러스들 간에 매우 잘 보존된 nucleocapsid 또는 coat 불리는 단백질과 특이적인 이차구조를 갖는 RNA 염기서열 간의 매우 선택적이며 특이적인 상호결합에 의해 바이러스게놈 packaging이 일어나고 있는 것으로 보고되고 있다(27-30).

이와 같이 바이러스마다 관여된 염기서열이 다르다 하더라도 **바이러스 게놈 packaging은 특이적 Protein-RNA interaction에 의해 이루어지며, 이러한 기전은 난치성질환을 일으키는 거의 모든 바이러스들에 잘 보존(conserved)되어 있다는 것이다.** 따라서 본 연구개발에서 제안하고 있는 이 바이러스 게놈 packaging에 대한 보다 상세한 분자기전 연구 및 이를 표적하여 조절 저해할 수 있는 기술 개발연구는 궁극적으로 여러 난치성질환을 유발하는 바이러스들에 광범위하게 적용될 수 있는 새로운 기반 및 핵심기술을 제공할 것이며, 더 나아가서는 바이러스 게놈 packaging 기전을 역이용하는 기술 개발을 위하여도 필요한 과제이다.

## □ 연구성과의 활용 방안

본 연구결과들에서 도출된 HIV packaging 저해제들, packaging 관련 신규 세포인자 발굴 및 새로운 gene therapy vector 개발 기반 기술들은 국내외 최초로 개발된 것임에 따라 실제 임상에서 적용될 수 있도록 앞으로 추가연구를 통하여 전임상 및 임상적 연구에 활용하여야 할 필요가 있다고 사료된다. 또한 본 연구결과들은 HIV 뿐만 아니라 다른 RNA 바이러스들의 게놈 packaging을 표적하는 신약개발 뿐 아니라. 그들 바이러스들의 게놈 packaging 기전연구에 매우 유용하게 활용될 것이며, 이러한 연구개발에서도 본 연구개발 기술과 정보를 활용할 계획임. 그러한 방안으로 본 연구를 통해 개발된 물질들은 기업화나 또는 주관기관 산학협력단과 한국기술거래소를 통한 국내외 제약기업으로의 기술이전을 할 것이며, 본 연구개발에 사용된 주요방법이나 molecule들은 이미 국내특허를 획득한 것들이며 세계 최초로 개발하는 것들로서 해외 경쟁력이나 또는 기업화에 문제가 되지 않음.

## □ 관련 해외과학기술정보

- 현재 HIV의 NC protein과 psi sequence사이의 interaction을 block하여 packaging을 막는 inhibitor의 개발과 이에 필요한 저해제 발굴, 탐색방법 개발의 노력은 국외에서 활발히 진행되고 있다.
- 특히, 내성 바이러스 출현이라는 기존 치료제의 한계를 극복하기 위해 Nucleocapsid (NC)라는 HIV core 단백질을 target으로 하는 치료제의 개발은 HIV packaging 단계를 저해함으로써 근본적이고 지속적인 치료효과를 기대할 수 있기에 중요한 차세대 치료제 개발을 위한 주요한 TARGET이라 할 수 있다.
- 그러나, 여러 가지 방법으로 이를 표적하는 연구개발들이 활발히 진행 중인 것으로 추정되고 있으나 현재까지도 이전년도와 비교하여 괄목할 만한 새로운 사실이 보고된 것은 아직 찾을 수 없으나, 최근에 발표되는 HIV 관련 학술발표들에 미루어 볼 때 Nucleocapsid 단백질을 이용하는 nuclease-based gene therapy의 개발에 미국과 캐나다를 중심으로 하는 세계 유수의 연구그룹들이 관심을 갖기 시작하고 있는 것은 매우 주목할 일이다.
- 또한 최근에는 PNAS online 저널([www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0909587107](http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0909587107))에 Broad spectrum antiviral inhibitor가 발견되었다는 보고가 있었음. 보고된 화학적 저해제는 본 연구진이 발견한 것과 유사한 구조를 가짐으로서 향후 전개에 있어 귀추가 주목됨.