

# Approach to a vaccine against *Pseudomonas aeruginosa*

제일제당(주) 종합연구소  
김 현 수

병원내 감염(nosocomial infection hospital) 또는 기회 감염(opportunistic infection)의 주요 원인균의 하나인 *Pseudomonas aeruginosa*(이하 *P. aeruginosa*로 칭함) 환경에 대한 강한 생존력과 감염시 높은 사망률 및 여러 항생제에 대한 고내성균으로 아직도 주요 연구 대상이 되어 있는 균이다.<sup>1-3)</sup> 항생물질의 발달은 그람 양성균에 의한 감염증을 감소시킨 반면 그람 음성균의 감염증은 줄어들지 않고 있으며, 최근에는 AIDS 환자의 병원 기회 감염 원인균 중에 *P. aeruginosa*가 다른 감염균에 비하여 가장 높은 비율로 감염되고 있음이 보고되고 있다.<sup>4)</sup>

패혈증(septic shock)은 수술, 열상(화상) 및 외상 등으로 저항력이 약화된 환자의 혈액 중에 균의 침입이나 그 구성 성분(세균 소독 등)이 유입되어 발생하는 질환으로 고열, 혈압 저하 등의 쇼크나 세균 내독소에 의한 백혈구 파괴로 전신 감염, 만성기도 감염, 폐낭포성선유증 등의 난치성 감염을 일으켜 높은 치사율을 나타낸다.<sup>1,4,5)</sup> 녹농균 감염증에 대한 치료법은 전통적인 항생제 치료와 현재 생리 활성 물질 수용체 길항물질(receptor antagonist), 항 TNF(조직괴사 인자) 단일 항체, 항 sepsis 단일 항체, 항 내독소 단일 항체 치료법 등이 다양하게 시험되고 있고 특히 말기 환자에 대한 항독소 면역글로블린이 시도되고 있으나 대중적인 치료법으로 사용되지 못하고 있는 실정이다.<sup>6,7)</sup> 녹농균 감염 패혈증 예방 백신은 여러 연구 그룹에서 위폐양 백신, RSV 백신 및 Rota 백신 등과 함께 향후

개발해야 될 주요 백신으로 지정하여 연구를 추진 중이나 아직 상품화 단계로 성공시킨 예는 없다. 이것은 주원인 균인 *P. aeruginosa*의 종류와 균체의 다양한 항원(백신 후보 물질)들이 아직 만족할 만한 안전성이나 방어 효과를 갖지 못했기 때문이다.<sup>8,9)</sup> 당 연구팀은 아직 개발된 바 없는 *P. aeruginosa* 예방 백신을 개발하기 위하여 국내외에서 *P. aeruginosa*를 수집하여 실험실적 시험과 동물 시험을 행하여 특이적, 비특이적 방어 효과가 뛰어난 수종의 *P. aeruginosa*를 선별하였고 이들 균의 배양법과 외피단백질의 순수 정제법을 확립하여 안전성과 감염 방어 효과가 높은 녹농균 예방 백신을 개발하였기에 이 연구에 대한 추진 방법과 결과의 일부 및 임상 적용의 가능성을 제시하고자 한다.<sup>10,11)</sup>

## 1. 향후 개발이 요구되는 백신

소아들에게 특히 필요한 백신은 parainfluenza virus types,<sup>1-3)</sup> RSV(respiratory syncytial virus), rotavirus, group A streptococcus 및 adenovirus type 1, 2, 3 등의 백신이 있고 여성들에게는 CMV(cytomegalovirus), HPV(human papillomavirus)가, 지역적(주로 후진국)으로는 *Shigella*, improved Japanese B encephalitis, dengue fever, *Cholera*, *Typhoid* 및 malaria, 성 접촉 감염에 의한 HIV, HSV 및 *Chlamydia* 등의 백신 개발이 필요하다. 병원 입원 환자에 일어나는 *P. aeruginosa*, *Staphylococcus*, *Legionnaire's bacillus* 및 *Candida* species



백신이 요구되고 있으며, 기타 *Helicobacter pylori*, Epstein-Barr virus 및 hepatitis C 등의 백신 개발이 요구되고 있다.<sup>8,9)</sup>

## 2. 예방 및 치료 백신 후보 물질

*P. aeruginosa* 균체를 구성하고 있는 구조물 또는 생산 성분이 대상이 되며 균체 자체를 열 처리한 방법, 균체효소(elastase), exotoxin A 항체, 균체 외피 구성 성분인 외피다당체(slime), *P. aeruginosa* 공통 항원 OEP, polysaccharide tetanus 독소의 복합체, 단백질 중 항원 서열을 가진 합성 peptide, O-polysacchridetoxin A conjugated, 상기 여러 성분의 다가 항원 복합체, *P. aeruginosa* 항원에 대한 면역글로블린 등 여러 가지가 있으며 이중 본 연구에서는 OMP(Outer-membrane protein)을 순수 분리하는 방법을 사용하였다.<sup>13-17)</sup>

## 3. *P. aeruginosa*의 특성 및 감염률

*Pseudomonas*에는 160종(species)이 포함되어 있

고 녹농균 속중 병원 분리균은 *P. aeruginosa*가 90%이상 차지하고 있어 녹농균 감염증의 주 원인균임을 알 수 있다. *P. aeruginosa*의 분류 방법은 Fisher-DelvinGnabasik의 immunotyping 방법으로 병원 감염 분리균의 80-98%까지 typing 되며 균의 혈청학적 7형으로 구분하는 방법과 Fisher의 7형 외에 열 가지 균의 형을 포함하여 전체 17형으로 분류하는 IATS (International Antigen Typing Schem)방법이 있다. 또 균의 유전적 특성이나 성장과 형태에 관련된 특성 및 혈청학적 typing 방법에 따라 *Pseudomonas* 계통(taxonomy)을 RNA group으로 I-V 그룹으로 구분하고 특정 제한 효소의 절편 크기 등으로 37분류법 및 기타 O group분류법 등이 있다.<sup>18-20)</sup>

*P. aeruginosa*는 분류상 RNA group I에 속하며 병원 감염(기회 감염 포함) 전체 3.1-15.5% 중 약 10%인 0.3-2% 수준의 감염률과 보고자 및 질환 대상에 따라 다소 차이가 있지만 35-72%의 사망률을 나타내고 있다.<sup>21)</sup>

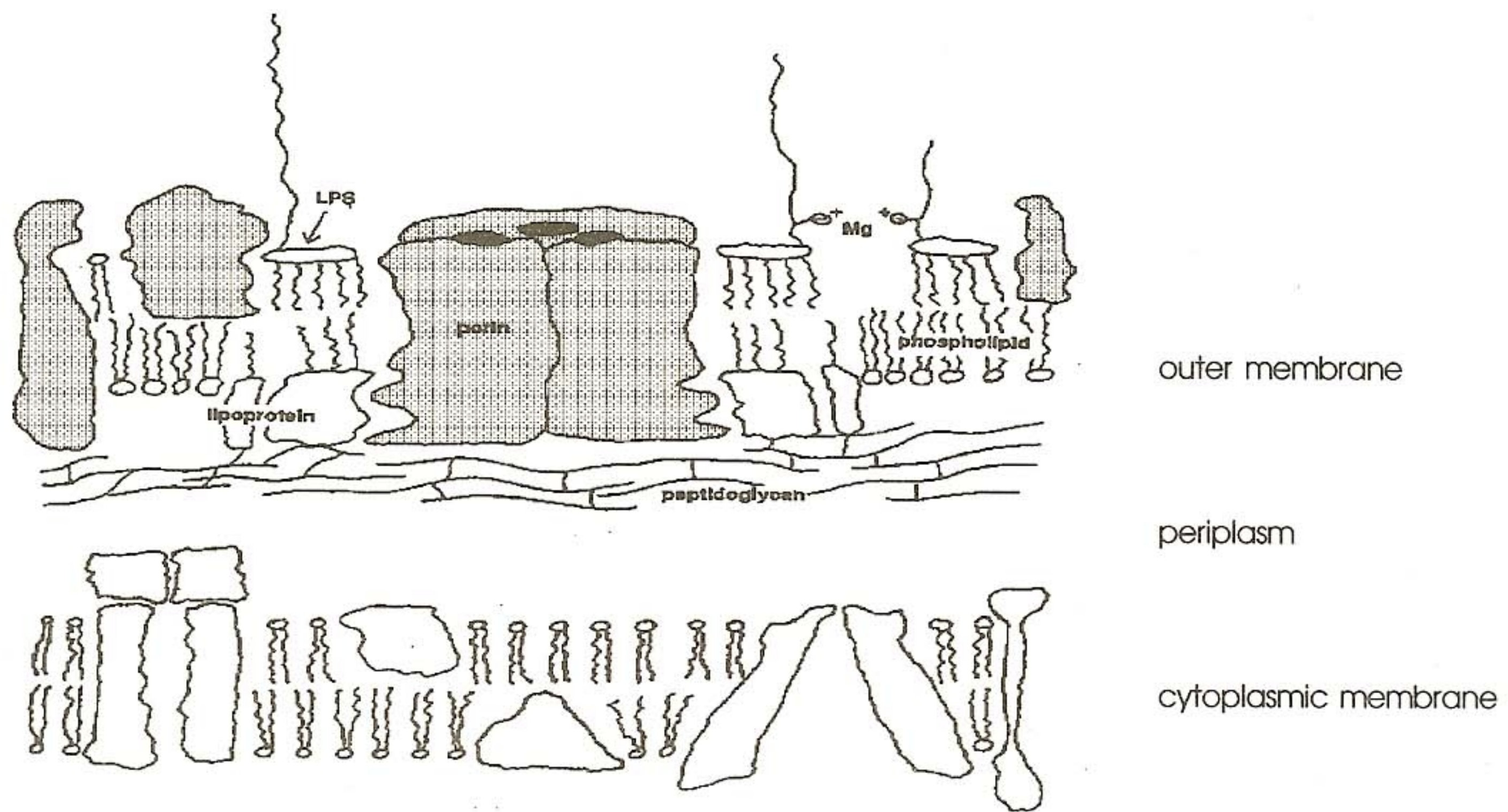


Fig.1 Structure of the cell envelop of a gram-negative bacteria such as *P. aeruginosa*. (From *Pseudomonas*, ASM pub. 1992, p155)



#### 4. 백신 개발 과정에 따른 시험 항목

실험 동물에 대한 각 균주의 pathogenicity 시험을 행하여 LD<sub>50</sub>량을 구하고 시험 물질의 투여 용량, 투여 횟수 및 투여 간격을 시험하였다. 시험 결과 실험 동물 kg당 0.2mg 항원을 mouse 복강내 7일 간격, 3회 투여하였을 때 가장 좋은 결과를 얻었다. 표준 공격 균주는 *P.aeruginosa*(GN11189)을 사용하였고,  $2.5 \times 10^7$  cfu/mouse 농도로 복강내 접종하여 생존율 및 사망률을 구하였다. 또 *In vitro* 역가 시험을 위한 ELISA 시험과 항원을 이용한 능동 면역, 수동 면역 효과 시험 및 각 온도에 대한 안정성 시험(stability test)을 통하여 방어 효과와 안정성이 높은 항원임을 알 수 있었다. 기타 시험으로는 일반 시험에 준하여 원액과 소분 제품에 대한 시험을 행하고 생물학적 제제의 신백신 개발을 위한 시험을 추진하였다. 일반 시험 항목으로는 단백질 함량, 동정시험, 무균시험, 핵산 함량, 분자량, 이상독성 부정 시험을 비롯한 역가 시험 등을 행하였고 전 임상 시험으로 일반 독성

시험(급성, 아급성), 유전독성, 일반 약리(자발 운동량, 수면 작용, 근이완, 항경련, 진통 및 체온 등), Irwin dose range 연구, 극소 자극성, 면역 독성 등 신약 개발에 필요한 시험을 국내 연구기관 및 국외 연구기관에 위탁하여 시험한 결과 기준 및 규정을 통과하였다.

#### 5. 결론

녹농균 패혈증의 주 원인균이며 항생물질에 내성이 높고 아직도 상품화되어 있지 않은 *P.aeruginosa* 예방 백신을 최초 개발한다는 목표로 연구를 추진하였다. 균체를 구성하고 있는 여러 성분 중 유효 성분을 선택하여 신의약품 개발에 준하는 시험을 거친 뒤 IND 허가를 얻어 현재 임상 I / II a 시험을 추진 중에 있다. 임상 시험 결과 유효성과 안전성이 입증되면 국내 연구에 의한 신백신 개발 제품을 세계 시장에 진출시킬 수 있을 것이며, 현재 이를 위하여 이종균주에 대한 교차 방어 능력등 다각도의 후속 연구를 추진 중에 있다.

#### 참고문헌

1. 장우현, 최명식: *Pseudomonas* infection and prevention. 감염 15: 27-53, 1983
2. Homma J. Y: 感染防禦機構로부터 본 綠膿菌 多價 백신. *Progres in medicine* 6: 2803-2806, 1986
3. Homma J. Y et al: Lower nephron toxicity of highly purified cytotoxin from *Pseudomonas aeruginosa* in rats. *Exp. Mol. Path.* 37: 249-271, 1982
4. Dropulic LK et al: Clinical manifestations and risk factors of *Pseudomonas aeruginosa* infection in patients with AIDS. *J. Infec. Diseases* 171: 930-937, 1995
5. Alexander J. W. et al: Immunological control of *Pseudomonas* infection in burn patients: A clinical evalution. *Arch. Surg.* 102: 31-35, 1971
6. Davis John: New approaches to septic shock. *SCRIP PJB Pub. Ltd* p22, 1993
7. Cryz S. J. et al: Protection against *Pseudomonas aeruginosa* infection in a murine burn wound sepsis model by passive transfer of antitoxin A, antielastase and antilipopolysaccharide. *Infection and Immunity. American Society for Microbiology* 1072-1079, 1983
8. Plotkin S. A.: Vaccination in 21st century
9. Dunn CDR: SCRIP's vaccine report. *PJB Pub. Ltd.* p158, 1992
10. Park W. J. et al: Active and passive protective effect of CFC-101(*Pseudomonas* Vaccine) in mice. *J. Appl. Pharm.* 2: 326-330, 1994
11. Kim Y. G. et al: Protective effect of CFC-101, a *Pseudomonas* vaccine, in mice. *J. Appl. Pharm.* 2: 322-325, 1994
12. WHO/UNDP: Ten years of progress 1984-1993 The programme for vaccine development. *WHO/MIM/PVD/93.1:* p16



13. 장우현 외: 녹농균증에 대한 다가 녹농균 백신 효과의 실험적 연구. *SJM* 23: 436-441, 1982
14. 최명식 외: 녹농균에서 정제한 original endotoxin protein의 방어효과 및 면역학적 기전. *SJM* 25: 56-65, 1984
15. Hancock R. E. W. et al: Micro review Outer membrane protein of *Pseudomonas*. *Molecular Microbiology* 4: 1069- 1075, 1990
16. Stanislavsky ES et al: Clinico-immunological trials of *Pseudomonas aeruginosa*. *Vaccine* 9: 491-494, 1991
17. Abe Chiyoji et al: Common protective antigen(OEP) of *Pseudomonas aeruginosa*. *Jpn. J. Exp. Med.* 45: 355-395, 1975
18. Germanier R Ed: *Pseudomonas aeruginosa* infections Bacterial Vaccines. *Academic press. Inc.* 317-351, 1984
19. Galli E et al Ed: A common system of nomenclature for the physical map of the Chromosome of *Pseudomonas* molecular biology and biotechnology. *ASM Pub* pp 9-11, 1992
20. Galli E et al Ed: Present situation of the taxonomy of aerobic *Pseudomonas* molecular biology and biotechnology *ASM Pub* p105-115, 1992
21. Mandell et al: *Microbiology* p985, 1984