

Adjuvant—그 분류 및 작용방법에 대한 개관

(Adjuvants—a classification and review of their modes of action)

John C. Cox, Alan R. Coulter

윤인중* · 김우호**譯

요 약

금세기초부터 갖가지 물질이 vaccine에 가해졌으며, 일정한 처방이 vaccine을 더욱 유효하게 만들기 위해서 고안되고 있다. 많은 선택권에도 불구하고 다만 aluminium 염(鹽)만이 사람용 vaccine adjuvant(免疫應答強化物質)로 받아들여지고 있으며, 수의(동물)용 vaccine도 크게 aluminium 염의 사용에 의존하고 있다. 현재 많은 새로운 vaccine들이 개발되고 있으나 vaccine당 구성분의 수를 증가시키고 또한 vaccine 과정에서 요구되는 dose 수를 줄이는 vaccine 접종 schedule을 단순화시키고자 하는 욕구가 대두되고 있다. 이제 더욱 유효한 adjuvant들이 이 욕구를 성취시키기 위해서 요구되는 것이다.

Adjuvant(Latin어의 "adjuvare = 돕다"에서 유래)는 1920년대 초부터 vaccine 효능을 증진시키기 위해서 사용되었다^{1,2}. Adjuvant(免疫應答強化物質, 免疫補助劑) 활성이 있는 물질과 그들의 사용을 기술한 다수의 문헌이 크게 늘어나고 있으나³⁻⁵ 그들의 작용방도는 크게 불가사의하고 경험적인 것으로 머물러 있다. 이 review의 목적은 adjuvant가 작용할 수 있는 방도(方途)를 상세히 고찰하는 것과 그들의 작용방도에 따라 adjuvant의 분류를 시도하는데 있다. 결과적인 이득은 3가지 부분일 것이다. 첫째, 만약 한 질병의 변인(病因)이 알려져 있다면 방어면역응답을 유발(誘發)시킬 수 있는 adjuvant를 vaccine 처방으로 선택할 수 있다. 두번째로 만약 그 질병의 변인 및 면역에 관해서 잘 이해되어 있지 못하다면 상이한 범위의 면역응답(免

疫應答)을 유발할 수 있는 adjuvant는 연구를 위해서 합리적으로 선택될 수 있다. 세번째로 이 지식은 소망하는 대로 상이한 효과를 촉진하기 위해서 각종 adjuvant를 조합하는데 사용할 수 있다.

이 review는 vaccine에 첨가(添加)하거나 혹은 시행하였을 때 그 면역원성을 증가시킬 물질 및 공정(工程)의 범위를 토의하게 될 것이다. 이 접근방법은 Allison & Byars⁶에 의해서 정의된 adjuvant 및 vehicle(媒體) 양쪽을 합친 것으로써 water-in-oil(w/o) emulsion(예: Freund's incomplete adjuvant)⁷와 같이 잘 알려진 adjuvant와 adjuvant의 넓은 항목내에 포함되는 각종 microcapsule 화기법(microencapsulation technology)이 허용되는 것이다.

특정 adjuvant에 관한 더 상세한 정보를 위해서 독자는 최근의 review들³⁻⁵과 점막면역 및 모체이행항체(maternal antibody) 존재하의 유아의 vaccine 접종에 관한 Morein 등⁸의 review를 참조하기 바란다.

* 중앙가축전염병연구소 \ ** 파천연구소

Adjuvant의 작용방도

Adjuvant들은 5가지 방도중 한가지 또는 그 이상의 방도로 작용한다(표 1 참조).

면역조절(Immunomodulation) : 이것은 cytokine network를 수식(修飾)하는 여러 adjuvant의 능력을 인용하는 것이다. 대체로 면역조절성 adjuvant는 면역원에 대한 상이한 시기 혹은 부위에 제시(提示)되었을 때 다만 adjuvant 효과를 발휘할 것이다. 면역조절은 전체 면역계의 일반적인 상승조절을 초래할 것이나 가장 흔하게 일정 cytokine의 상승조절을 이루며 다른 것들에 대해서는 상반되는 하강조절을 이룬다. CD4⁺ T세포의 주요 2가지 subset인 Th1 및 Th2는 mouse^{9,10} 및 사람¹¹에 있어서 잘 기술(記述)되어 있으며, 다른 동물종¹²에서의 그들의 존재도 가정(假定)되고 있다. Th1 응답은 전형적으로 보체결합(CF)항체 및 강한 지연형과민증(DTH) 반응을 야기하며 γ -IFN, IL-2 및 IL-12와 관련하는데 반하여, Th2 응답은 고도의 순환 및 분비항체수준을 초래하며 때때로 IgE 및 cytokine인 IL-4, IL-5, IL-6 그리고 다분히 IL-10 생성을 초래한다. Th1 및 Th2 응답은 상호억제적이다¹⁰.

적절한 면역조절 adjuvant의 선택은 면역응답의 증

진을 유도할 뿐만아니라 또한 IgG의 isotype와 다른 Ig들 그리고 어느 만큼 CD4⁺ 지시의 세포매개면역(CMI)이 유발되는가도 결정짓는다. 면역응답은 결코 전적으로 한 방향 또는 다른 방향으로 치우치지 않는다. 가장 현저한 동요(動搖)는 aluminium염 > 90% Th 2¹³ 및 주로 Th1형 응답¹⁴을 야기하는 세균내독소(細菌內毒素)와 그 유도체(lipid A, monophosphoryl lipid A)에 의해서 일어난다.

(항원)제시(Presentation) : 이것은 항원의 구조적 통합성(완전성)을 보존하는 adjuvant의 능력과 이것을 적절한 면역효과세포에게 제시하는 것을 인용한 것이다. 이것은 adjuvant가, 구조적 epitope가 더욱 효과적으로 유지되는 방도에서 항원과의 상호작용이 가능할 때 일어날 것이다. 주요 이점은 증진된 *in vivo* 활성 및 증가된 저장수명(shelf life)이다. 유효한 항체 응답을 성취하는 데에는 3가지 주요 상호작용 set가 있다. 첫번째 상호작용은 전문적 항원제시세포(APC) 즉, 전형적으로 수상세포(DC) 및 Langerhans 세포(LC)와 그리고 아직 그들의 역할이 논의되고 있는 다분히 M ϕ (大食細胞)와의 작용이다¹⁵. 항원은 receptor(受容體)매개 endocytosis 혹은 액상(液相) pinocytosis¹⁶에 의해서 취입(取入)되며 결과적으로 생겨난 endosome은 en-

표 1. Adjuvant의 작용방도

작 용	Adjuvant의 type	이 점
1. 면역조절	• Cytokine network를 수식하는 대체적으로 작은 분자 혹은 단백질.	면역응답의 상승조절, Th1 및 Th2의 선택.
2. 제시(항원)	• 그 생래(生來)의 구조에서 면역원과 상호작용하는 대체로 양친매성(兩親膜性) 분자 혹은 복합체.	증가된 증화항체응답. 응답의 장기간 지속.
3. CTL 유발	• 면역원과 결합하거나 또는 봉입(封入)할 수 있는 입자 및 세포막과 융합하거나 또는 세포막을 파괴하는 입자. • 세포표면 MHC-1로의 peptide의 직접적 부착을 위한 w/o emulsion.	정확한 class I 구속 peptide를 생성하는 단백질의 cytosol processing. 만약 혼잡peptide로 알려져 있으면 단순processing.
4. 표적화	• 면역원과 결합하는 입자상 adjuvant. Kupffer 세포를 포화시키는 adjuvant. • M ϕ 및 수상(樹狀)세포상의 lectin receptor를 표적하는 탄수화물 adjuvant	Adjuvant 및 면역원의 유효한 사용. 위와 동일. 만약 표적이 선택적이면 응답의 type 결정.
5. 저장생성	• 단기작용기간을 위한 w/o emulsion. • 장기작용기간을 위한 microsphere 혹은 nanosphere.	유효성 단일 dose vaccine을 위한 잠재력.

dolysosome을 형성하기 위해서 융합(融合)한다. 이 단계에서 외부신호 즉, 다분히 주로 GM-CSF¹⁷가 부위의 배출 lymph절 혹은 비장의 DC로 하여금 항원 processing 및 제시를 시작하게끔 지령한다. 항원은 peptide 소편으로 처리되어 이미 소포체(ER)에서 조립된 MHC-II 분자와 결합하여 Golgi체 및 trans-Golgi 세망을 통해서 processing 된다. 다음 그 생겨난 복합체는 peptide가 MHC-II와 연관하여 표출(表出)되는 APC의 표면으로 수송된다¹⁸. APC는 또한 IL-1을 분비하며 그량은 APC의 상승조절정도에 의해서 결정된다. 이 상승조절은 면역조절 adjuvant의 기능의 한가지일 수 있다. IL-1의 국소적 농도는 CD4⁺ 세포를 APC로 유인(誘引)할 것이며, MHC-II 복합체에 상보적인 T세포 수용체(TCR)와 더불어 이것들은 clone 확장을 이루게 될 것이다. 다분히 Th1/Th2 switch도 이 단계에서 결정될 것이다. 만약 이것이 사실이라면 면역조절 adjuvant는 이 때에 존재해야 하며 이와같은 역할에 유용하게끔 유효한 농도로 되어야 한다.

두번째 상호작용은 항원과 B세포를 포함하며, 인식은 우선적으로 표면 Ig¹⁹와 항원사이에서 있어야 한다. 결합된 항원은 Ig receptor매개 endocytosis에 의해서 내면화(內面化)되어 endolysosome에서 소화되고, 초래된 peptide는 MHC-II와 관련하여 B세포 표면에 재차 발현(發現)된다. 이 때까지 T세포 subset는 이 복합체를 인식할 수 있으며 이미 clone 확장을 이루고, 최초의 B세포의 표면상의 Ig와 같은 특이성의 Ig(항체)를 능동적으로 분비하는 형질(形質)세포로의 clone 확장을 이루도록 B세포를 도우며 지도한다. 또한 cytokine 교환은 항체의 isotype를 결정한다.

세번째 상호작용은 지지하는 증거가 증가하기는 하지만^{20,21} 부분적으로 추론적인 것으로 여포성 수상세포(FDC)는 면역응답의 유효한 친화력성숙과 생물학적으로 적절한 항체산생의 지속 두가지를 위해서 필수적인 본래의 항원의 장기간의 저장소를 준비할 수 있다. 이들 응답이 원래의 구조(형태)에서의 항원의 이용성에 의존한다는 논쟁이 있다²¹.

이와같이 항원제시는 3가지 주요 이점을 부여한다. 즉, 첫번째로 형태적으로 관련되는(예: 중화) 항체의량을 최대화(最大化)할 것이며, 두번째로 항체의 친화력에 영향을 미칠 것이며, 세번째로 그것은 면역응답

의 기간에 영향을 미칠 것이다.

CD8⁺ 세포상해성 T-lymph구(CTL) 응답의 유발 : CTL 응답의 유발은 대체적으로 항원이 세포의 cytosol내에서 processing 되기(내재성 경로)를 요구하며, 그곳에서 일반적으로 9-mer인 peptide가 MHC class I 분자의 폐쇄식(閉鎖式) groove(홈통)내에 투입된 다음, 세포표면에 발현된다. 이 processing은 앞절에서 기술한 외재성 경로와는 대조적이다. 현재의 증거는 세포 단백질의 반전(재편성)은 26S multi-enzyme complex에서 일어나는 것으로 추정된다. 이 complex의 단백질분해 성분은 proteasome으로써 이것은 24~28 subunit로 구성된 고도로 보존적인 20S 구조물이다²²⁻²⁵. 이 complex를 통과하는 단백질의 대부분은 exopeptidase에 의해서 amino산으로 더욱 processing된 peptide로 퇴출(退出)된다. 그러나 작은 비율의 부분은 특성화된 수송(transporter)단백(TAP1 및 TAP2)에 의해서 선별적으로 ER로 수송되는데 그곳에서 그들은 형성된 MHC-I의 groove 속으로 투입된 다음 Golgi체를 통하여 세포표면으로 수송된다¹⁸. 한 저분자질량단백질(LMP)은 한 특성화된 proteasome이며 그곳에는 MHC coding의 subunit의 2개(혹은 그 이상)가 있다는 증거가 증가되고 있다²⁶. 한 proteasome내에 이들 MHC coding의 subunit의 존재는 MHC 적합성의 peptide에 대한 단백질분해성 개열(開裂)을 수식할 것이다. LMP의 산생은 γ -IFN에 의해서 상승조절되며, 이것이 MHC-I 속으로 삼입할 수 있는 peptide의 비율이 cytokine 경고 signal에 대한 응답에서 증가될 수 있는 기전으로 추정하도록 하고 있다.

CTL 유발을 위해 유용하다고 생각되는 adjuvant에 대해서는 적절한 peptide의 MHC-I 속으로 도입 혹은 지속성을 촉진시켜야 한다. 이것을 성취하기 위한 가장 유효한 방법은 adjuvant가 어떤 방도에서 세포막과 상호작용하는 것이며 따라서 adjuvant와 결합한 항원은 proteasome에서의 정상적인 processing에 적합한 형태로 cytosol내에 침적(沈積)되는 것이다. 이것은 외막과의 융합 혹은 endosome막의 융합 혹은 파손(endosome 탈출)에 뒤이은 endocytosis/pinocytosis에 의해서 일어날 수 있다. 이 adjuvant 처방내에 한 면역조절제의 도입 특히 γ -IF 산생을 유발하는 것의 도입은 관련된 MHC-I-peptide 발현을 증가시키는 것으로 기대된다.

대부분의 세포가 MHC-I을 발현하지만 CTL 유발을 위한 가장 유효한 표적세포는 APC이며 다분히 대부분이 DC일 것이다²⁷.

CTL 유발의 또다른 기전은 빈 외부적으로 노출된 MHC-I로의 peptide의 직접적인 부착에 의하는 것이다²⁸. 이것은 수상(水相, aqueous phase)이 peptide를 함유하고 넓리 인식되고 있는 단백질 즉, 파상풍유독소(tetanus toxoid)와 같은 w/o 처방으로 성취될 수 있다²⁹. w/o emulsion은 DC들을 유인하며 동시에 단백질로부터 peptide를 보호하는 저장소를 만들어 내는 것으로 가정하고 있다. 파상풍유독소는 DC로 하여금 lymph 양조적으로 이주(移住)하게 할 것이며, 파상풍유래 peptide가 제시되는 동안 T세포는 유인될 것이며 그들의 약간은 원래의 CTL peptide를 인식하는 CD8⁺ 세포일 것이다.

표적화(Targeting) : 이것은 대체로 APC를 통해서 면역효과세포에게 면역원을 전달하기 위한 adjuvant의 능력을 정의하는 것이다. Data가 거의 없지만 도입(導入)된 vaccine의 거의 대부분은 혈청의 protease에 의한 분해에 의하거나 혹은 간(肝)에서의 컷통과(물질)의 제거에 의해서 상실된다. 이 형태의 adjuvant 활성은 면역응답의 type를 수식하지는 못하지만 일정한 효과 즉, 면역응답 발생의 효능을 성취시키는데 요구되는 면역원의 량에 오히려 영향을 미칠 것이다. 그러나 만약 표적화가 DC보다도 오히려 M ϕ 를 선택할 수 있거나 혹은 반대로 면역응답의 type가 응답에서 강한 Th2 변동으로 인도되는 M ϕ 의 소모에 관한 최근의 연구¹⁵에서 나타난 바와 같이 실질적으로 수식될 수 있다. Adjuvant가 이 효과를 성취시킬 수 있는 몇가지 방도가 있다. 가장 보편적인 것은 다(多)분자 집괴(集塊)를 형성하는 것과 같은 방도에서 항원과 상호작용하는 것이다. 이들 집괴는 만약 면역조절 adjuvant가 포함된다면 M ϕ 및 DC에 의해서 취입되도록 고무될 것이며, 항원 및 면역조절제가 같은 APC로 전달되는 것을 보증할 것이다. 이 특성을 지니는 adjuvant를 "입자상(粒子狀) adjuvant"라고 한다. 특별한 응용에 있어 1~10 μ m의 입자는 Peyer patch에 의한 취입을 최적화 하기 위해서 경구적으로 전달시킬 수 있다³⁰.

다른 방법으로 adjuvant가 당(糖)moiety(예: saponin)

혹은 분자를 인식하는 다른 세포표면 receptor(예: LTB, CTB에 의한 GM-1 ganglioside의 인식)³³, 또는 면역원이 mannose polymer(예: mannan, acemannan)³⁴ 혹은 다른 탄수화물에 부착할 수 있는 곳을 지닐 때 M ϕ ³¹나 DC³²로의 전달은 증가될 수 있다.

세번째 선택권은 간에 있는 Kupffer 세포를 포화하는 adjuvant에 대한 것으로 가능하면 adjuvant에 연결되지 않은 항원이 APC에 의해서 우선적으로 취입될 수 있다. 그와 같은 작용기전은 각종 탄수화물 adjuvant의 많은 것에 대해서 가정되고 있다³⁵.

저장(저류)소 생성(Depot generation) : 이것은 단기(short-term) 혹은 장기저장소(long-term depot)로 성취될 수 있으며, 후자는 지속적 혹은 파동(波動)적 방출로 이를 수 있다. 단기저장물은 aluminium염 및 w/o emulsion으로 유형화(類型化)되며, 항원은 주사부위에서 그들 물질속에 잡혀있게 되어 간의 제거(해제)에 의해서 상실되지 않는다. 투약 8~10일 후 주사부위의 절제(切除) 관찰에서 반응의 정도 혹은 기간에 미치는 영향이 거의 없었다는 것³⁶은 항원이 그 단계에서 제거되었거나 혹은 가두어 버려진 것으로 추정된다.

장기저장물은 파동적 전달을 이를 수 있게끔 분해되는 microsphere를 산생하기 위한 PLG(poly lactide co-glycolide)와 같은 합성 polymer를 사용함으로써 가장 잘 성취된다. 이들 microsphere는 10 μ m 이하의 크기가 선호(選好)되며 따라서 그들은 생물분해가 APC에 의해서 그들의 내용물(면역원 및 바람직한 adjuvant)의 제거를 허용할 때까지 주사부위에 머무른다. 1~6개월 간에 걸친 방출시간이 적절한 정확도로 성취될 수 있다^{30,37}.

Adjuvant의 분류

합리적인 비교를 허용하게끔 adjuvant를 group화 하는데 사용될 수 있는 다수의 상이한 범주(範疇)가 있다. 이 review에서는 adjuvant를 크게 2 group으로 배분한다. 즉, 먼저번의 review³에 의거하면 adjuvant는 입자상의 것과 비입자상의 것으로 구분되나 어떤 adjuvant의 작용방도에서의 변화는 더욱 잘 이해하게 되었다. 이 review의 adjuvant의 기술(記述)은 간결하

로 독자는 뒤의 선별된 참고문헌을 그리고 더 상세한 것에 관해서는 초기의 review를 참고하기 바란다.

입자상(particulate) adjuvant(표 2. 요약 참조) : 현미경적 입자로 존재하는 adjuvant로서 적어도 약간의 adjuvant 활성은 이 특성에 의거한다. 일반적으로 입자상 adjuvant의 이점은 면역원이 취급될 수 있거나 혹은 적어도 입자와 결합되었을 때 전적으로 확인된다.

Aluminium 염류(鹽類)^{38,39} : 이것들은 100~1,000 nm 크기의 입자인 수산화(水酸化) aluminium, 인산(磷酸) aluminium 또는 명반(明礬; alum)의 불가용성 gel 양 침전물이다⁴⁰. 면역원은 사전에 형성된 gel에, 혹은 *in situ* gel 형성동안에 정전기(靜電氣)적 상호작용에 의해서 결합된다^{41,42}.

그들은 1930년이래 사람 및 수의용 vaccine에 널리 사용되어 왔으며 탁월한 안전성을 기록하고 있다. 그들은 강한 Th2 응답, 훌륭한 표적화(만약 면역원이 흡수된다면)를 유발하며, 적절한 저장소 효과를 초래하나 최소의 CTL 혹은 CMI를 유발한다. 강한 IgE 응답^{13,43,44}이 때로 보고되고 있다. Aluminium 염은 염가(廉

價)이며 안전하고 처방하는데 단순하다³⁸.

Water-in-oil(w/o) emulsion^{36,45} : 이들은 지속적 oil phase(전형적으로 mineral oil, squalene 또는 squalane)에 표면활성제(surfactant; 전형적으로 manide mono-oleate)에 의해서 안정화된 물의 미소적(微小滴)들이다. Freund의 incomplete adjuvant(FIA)은 사람 및 수의용 vaccine에 사용되어 왔으나 부위반응성의 낮은 발생 때문에 현재는 크게 불신임(다분히 불공평하게) 되고 있다. 신진대사성 oil은 훌륭한 안정성 profile을 지닌다³⁸.

그들은(국소적 자극효과의 결여에서) 면역조절성이 빈약하나 훌륭한 단기저장물로 작용하며, 염가이고 처방하기 비교적 단순하며 특히 친수성 면역원에 대해서 훌륭한 항체응답을 유발한다. W/o emulsion은 가용성 면역조절제가 취급될 수 있는 탁월한 처방을 제공한다. Emulsion은 불안정할 수 있다.

Oil-in-water(o/w) emulsion^{48,49} : 이것들은 지속적 water phase(水相)에서 표면활성제(전형적으로 Tween 80 및/또는 Span 85)에 의해서 안정화된 oil(전형적으로 squalene 또는 squalane, size는 약 200nm)의

표 2. 입자상 Adjuvant의 특성

Adjuvant	면역조절	표적화	항원제시	CTL 유발	저장물(소)
Aluminium염	강한 Th2, IgE	+	-	-	+ST ^a
W/o emulsion	약한 Th1 및 Th2	-	-	- 또는 +++ ^b	+++ST
O/w emulsion	약한 Th1 및 Th2	+	+++	-	-
ISCOM	강한 Th1 및 Th2	+++	++++	++++	-
Liposome	-	++	+++	++	-
<i>Microparticle:</i>					
< 10µm	-	++++	-	-	-
> 10µm	-	-	-	-	+++LT ^c
Calcium염	-	+	-	-	+ST
Proteasome/Microsome	-	++	+++	-	-
Stearyl tyrosine	중등도 Th1 및 Th2	-	-	-	+ST
γ-Inulin	중등도 Th1	-	-	-	-
Algammulin	중등도 Th1 및 Th2	+	-	-	+ST

a : ST(단기)(≤2주), b : 다만 외부로 적용된 peptide에 대한 훌륭한 CTL 응답, c : LT(장기)(수주~수개월)

미소적들이며, 때로 가용성 면역조절제(예: muramyl dipeptide(MDP) 유도체 혹은 block copolymer)와 결합시켜 사람의 vaccine adjuvant로 개발중에 있다^{50,51}. O/w emulsion은 탁월한 항원제시 및 중등도의 표적화를 초래한다.

그들은 염가이며 안전하고⁵², 지질친화성 면역조절제가 도입될 수 있으면 탁월한 기초처방이 된다. 더구나 그들은 항원제시가 중요한 곳에서 양친매성(兩親媒性)의 분자에 고도로 적합하다. Oil phase 속에 면역원을 도입하는 것이 중요하다.

Immune stimulating complexes(ISCAM, adjuvant-IscoTec AB)^{53,54} : ISCOM matrix는 saponin과 cholesterol 및 phospholipid(磷脂質)의 상호작용으로 이루어진 약 직경 40nm 정도의 개방 cage양 구조물이다. 면역원성 ISCOM들은 그속에 단백질 혹은 기타 면역원성분자가 도입된 ISCOM들이다.

그들은 수의용 vaccine에 사용되고 있으며, 사람에서의 각종 후보 vaccine에서 정제된 saponin fraction과 관련시켜 연구되고 있다⁵⁵. ISCOM은 강한 Th1 및 Th2 응답, 훌륭한 표적화 및 항원제시 그리고 탁월한 CTL 응답을 유발한다. 그들은 염가이며, 동물연구에서 안전하며 처방하기에 단순하다. 유효한 CTL 응답을 위해서는 ISCOM속에 면역원을 도입하는 것이 중요하다⁵⁶.

Liposome^{57,58} : 단일 혹은 다층상(多層狀)의 2중막 소포(小胞)는 cholesterol 및 인지질로 구성되며 그 크기가 20nm~3 μ m로 각양이다. 면역원은 막결합성(지질친화성 및 양친매성분자)이거나 또는 막공간내(친수성 분자)에 있게 된다.

Liposome은 훌륭한 표적화, CTL⁵⁹ 및 항원제시를 이루는 잠재력을 지니며, 친수성 및 지질친화성 면역조절제가 도입될 수 있는 안전하고 기본적인 처방을 제공한다. 그러나 그들은 면역원을 도입하고 처방하기가 어려우며 대부분의 상태에서 유효한 가용성 면역조절제가 필요하다.

Nanoparticle 및 microparticle^{60,61} : 이것들은 대부분이 전형적으로 cyanoacrylate 및 PLG copolymer인 생물적 합성 및 생물분해성의 범위에서 형성되는 그 크기가 10~1,000 μ m(nanoparticle)의 것과 1~100 μ m(microparticle)의 범위에 이르는 작은 고휘입자이다.

그들은 장기간(수주 수개월)의 저장물 작용할 수 있으며, 만약 직경이 < 5 μ m면 탁월한 표적화를 이루며, 단일dose 다단계vaccine(single-dose multi-release vaccine)의 최상의 선택권을 제공한다. 입자속으로의 면역조절 adjuvant의 도입³⁷은 그 유효성을 증가시킨다. 조제의 어려움과 제조 및 제어에 상관되는 어떤 문제는 해결되어야 할 과제로 남겨져 있다.

기타 입자상 adjuvant : 다수의 다른 입자상 adjuvant들은 오늘날까지도 주목되지 못하고 있으나 언급할 필요가 있다.

(a) Calcium염⁶² : Aluminium염과 유사하나 면역조절 활성을 결여하고 있다. 사람용으로 입증되고 있다.

(b) Proteosome⁶³ : 세균(예: Neisseria meningitidis) transmembrane 단백질의 다중결합집괴(多重結合集塊) 구조속에 양친매성의 면역원을 도입할 수 있다. 그들은 면역조절활성을 지니고 있지 않으나 면역원의 훌륭한 제시 및 표적화를 제공한다. CTL 유발은 미소하다. Carrier 단백질에 대한 기왕증 반응은 반복사용에 대한 그들의 유효성을 감소시킬 수 있다.

(c) Virosome⁶⁴ : Proteosome에 유사하나 virus 유래 transmembrane 단백질(예: influenza virus HA)로 구성된 다.

(d) Stearyl tyrosine⁶⁵ : 이 adjuvant는 중기저장물로서 작용하고 Th1 응답을 자극하게끔 친수성 단백질과의 안정된 복합체를 형성한다. 안전성 profile은 좋은 것으로 보고되고 있다.

(e) γ -Inulin⁶⁶ : γ 형태의 inulin은 면역조절성이 있고 다분히 다른(제2의) 보체경로의 수식에 의해서 Th1 응답을 야기하는 작은(1~2 μ m) 란원형의 입자들로 존재한다. α -inulin은 사람에 대한 주사용으로 받아드려지고 있다.

(f) Algammulin⁶⁷ : 수산화 aluminium과 γ -inulin의 조합물로서 양자의 조합된 특성을 지닌다. Phase 1 임상 시험을 거쳤다.

비입자상 adjuvant (요약은 표 3 참조) : 이것들은 그 활성이 어떤 입자형성 혹은 다중성상에 의존하지 않는 adjuvant이다. 그들은 대체로 면역조절제이나 약간의 증진된 표적화능을 지닌다. 대부분의 이점은 입자상adjuvant과 관련되고 있다.

Muramyl dipeptide(MDP) 및 그 유도체^{68,69} : N-

표 3. 주요 비입자상 Adjuvant의 특성

Adjuvant	면역조절성	표적화	(항원)제시	CTL	비 고
친수성 MDP	강한 Th2	-	-	-	w/o emulsion에서 사용
지질친화성 MDP	강한 Th1	-	-	-	o/w emulsion에서 사용
B ₂ ion block copolymer?		- 또는 +++ ^a	+++	-	w/o 또는 o/w에서 사용
Saponin	강한 Th1, Th2	-	-	+	ISCOM 형성, Liposome, MPL과 함께 사용
Lipid A(MPL)	강한 Th1	-	-	-	o/w emulsion, liposome, saponin과 사용
Cytokine	각양	-	-	-	어떤 입자상 adjuvant와 선별적으로 사용
탄수화물 polymer	중간정도 Th1, IL-1 생성	+++	-	-	선별적으로 conjugate?
다당류 유도체	?	+++	-	-	

a : 자체 잡피형성의 copolymer(예: CRL 1005)의 경우.

acetyl muramyl-L-alanyl-D-isoglutamine은 Mycobacteria로부터 추출된 peptidoglycan의 adjuvant 활성적인 성분이다. 보고된 덜 독성적인 유도체로는 threonyl MDP, murabutide, N-acetylglucosaminyl-MDP(GMDP), murametide 및 nor-MDP가 있다. 지질친화성 유도체에는 MTP-PE가 포함된다.

MDP 및 유도체는 강력한 IL-1 산생물질이다. 친수성 유도체는 Th2를 자극하는 경향이 있으나, 반대로 지질친화성 유도체는 Th1을 자극하는 경향이 있다⁷⁰. 그들은 입자상 adjuvant, 특히 w/o emulsion, o/w emulsion 및 liposome과 결합시켜 가장 잘 사용되나 임상시험에서 역반응과 관련되고 있다⁷¹.

B₂ion성 block copolymer^{72,73} : 이들 polymer(重合體)는 가장 전형적으로 polyoxyethylene(POE)의 영역에 이웃하는 소수성(疏水性) polyoxypropylene(POP)의 영역으로 구성된다. 전체의 5~20%를 구성하는 POE의 분자량은 2,500~12,500에 걸친다. 상이한 polymer가 w/o 혹은 o/w emulsion의 oil phase에 첨가제로 사용된다. 그들의 1차적인 작용은 그들이 면역조절활성을 지닐 수 있으나 양친매성분자의 제시를 촉진한다. B₂ion성 block copolymer는 비생물분해성이며⁷⁴, dose-site 반응성에 연결되고 있다⁷⁵. 더 높은 분자량의 block copolymer인 CRL 1005⁷⁶로의 최근의 관찰은 이

들 adjuvant가 APC에 대한 표적화가 1차적인 작용방도인 입자상 adjuvant로써 더욱 적절하게 고려될 것이다.

Saponin^{77,78} : 이것들은 *Quillaia saponaria* 나무의 껍질로부터 추출된 평균 분자량 2,000인 triterpenoid의 복합혼합물이다. Saponin은 조(粗)추출물이며, Quil A 및 Spikoside는 부분적으로 순화된 반면 QS21 및 ISCOPREP 703은 정제된 실체이거나 혼합물이다. Saponin의 다른 source도 기술되고 있다⁷⁹.

Saponin은 형성된 혼합 단백-saponin micelle의 결과로써 다분히 어떤 단백질에 대해서 강력한 Th1 및 Th2 응답과 중등도의 CTL 응답을 유발한다. Quil A는 수의용 adjuvant에 넓리 사용되고 있으며, 정제된 saponin은 사람용 adjuvant로써 사용이 제안되고 있다. 그들은 염가이며, 처방하기 단순하며 대체적으로 안전하다.

Lipid A^{80,81} : Lipid A는 2개 인산기(磷酸基)와 5개 혹은 6개의 지방산연쇄(일반적으로 길이가 C₁₂~C₁₆)가 붙은 glucosamine의 2당이다. 1'인산기의 제거는 4' monophosphoryl lipid A(MPL)를 남기며 그것은 단일 혹은 o/w emulsion, liposome, QS21 혹은 CWS(cell wall skeleton)과 결합하여 사람용으로 제안된 vaccine adjuvant이다. Lipid A 및 MPL은 강력한 Th1 응답을

유발한다.

Cytokine^{4,82} : Cytokine은 사람 및 수의용 vaccine 첨가제로 제안되고 있는 대체로 분자량 20kDa 정도의 당단백(glycoprotein)들이다. 그들은 갖가지 작용을 행하는 것으로 예컨대, IL-1(T 및 B세포 성숙), γ -IFN (Th1 상승조절, 촉진된 MHC 발현), IL-2(Th1 상승조절), IL-4(Th2 상승조절) 및 GM-CSF(DC를 위한 공동이주 signal) 등이 그것이다. 최근 IL-12는 강한 Th1 전환을 나타내는 것으로 나타났으며, 사람 vaccine에서의 adjuvant으로써 잠재력을 갖는 것으로 밝혀졌다^{83,84}. Cytokine은 고가(高價)이며 종특이성(種特異性)이 있고, 그것에 더하여 안정성, 독성 및 자기면역(autoimmunity)의 점에서 관심사가 되고 있다. 만약 이들 문제점이 극복될 수 있다면 cytokine들은 약간의 예방용 그리고 대부분의 치료용 vaccine의 중요구성분이 될 수 있을 것이다.

탄수화물(carbohydrate) polymer^{34,85,86} : 이것들은 면역원과 혼합⁸⁷되거나 혹은 결합(conjugate)된 사람용 vaccine adjuvant로 제안된 mannose(예: mannan) 및 β 1-3포도당(예: glucan, acemannan, lentinan)의 중합체이다. 그들은 표적 M ϕ (mannose receptor를 통하여), DC(DEC 205 receptor를 통하여)를 자극할 수 있으며³², Th1 응답을 상승조절한다.

다당류 유도체(derivatized polysaccharide)^{88,89} : 이들은 일반적으로 고분자량의 황산dextran 혹은

DEAE(diethylaminoethyl) dextran으로써 수의용(사람용으로도 제안되고 있음)으로 사용되고 있으며, 전자의 한 경우에는 w/o emulsion과 관련되고 있다⁹⁰. 그들의 작용은 복잡하며 다분히 Kupffer세포의 포화(飽和)에 의하거나³⁵ 혹은 T 또는 B세포 분열촉진성에 의한 것으로 보인다.

세균 독소^{91,92} : 이들은 복합단백질로써 예컨대 cholera toxin(CT), CTB pentamer, *E coli labile toxin*(LT), LTb는 어떤 동물model에 있어서 강력한 점막 adjuvant 역할을 한다. LT대용 변이물질^{93,94}은 가능한 사람용 adjuvant로 제안되고 있다. 세균독소의 adjuvant 작용은 이해되어 있지 못하며, GM1 gnanglioside receptor 혹은 내재성 adenylate cyclase 활성의 자극을 통한 분자표적화가 관여되는 것으로 보인다⁹⁵.

기타 비입자상 adjuvantk : 표 4는 과거의 탁월성 혹은 현재의 유망성 때문에 언급할 수 있는 가치가 있는 몇몇 다른 adjuvant들을 선정한 것이다.

Adjuvant 조합

이 관점에서 저자들은 adjuvant의 작용방도에 따라 다수의 기본적인 adjuvant 처방을 고려하였다(표 1). 요약하면 면역조절물질은 면역응답의 크기 즉, 반응하는 Th1/Th2의 평형(平衡)과 뒤이어 생성된 항체의 isotype 및 DTH의 범위의 양쪽에 영향을 미치는 것이

표 4. 기타 비입자상 Adjuvant

Adjuvant	작 용	비 고	참 고 문 헌
Avidine DDA	Th1 유발, 항원제시(liposome 혹은 o/w emulsion에서)	수용불가의 독성	48, 104-107
CWS(cell wall skeleton)	Th1 유발?	o/w emulsion에서 MPL과 사용	99
DHEA(dehydroepiandrosterone)	Th1 유발	투여곤란	108-110
Vitamin D3	Th2, S-IgA 유발?	투여곤란	108-110
TDM(trehalose dimycolate)	Th1 유발	투여곤란, 수용불가의 독성	111
P ₃ CSS	표적화, 강력한 CTL 유발	잠재적으로 독성적	112, 113
Poly I:C,	Th1(γ -IFN) 및 Th2(IL-4)	Poly I:C 독성	114-116
Poly ICLC	유발		
Poly A:U	Th1 유발(IL-6)		116-118

다. 항원제시는 중화항체가 주요 요구물질 때 중요하며 그 응답의 친화성 및 기간에 영향을 미친다. 만약 CTL 응답이 요구될 때에는 cytosol(세포질액) 전달이 가능한 adjuvant가 최량의 option이다. 표적화는 APC로의 항원전달효능을 증가시키며 항원비용이 높을 때 중요하게 된다. 단기저장(저류)은 유사하게 효능을 증가시키나 장기저장은 단일 dose 다단계 방출(single-dose multi-release) vaccine에 대한 기회를 제공한다.

Adjuvant 조합의 목적은 면역학적 응답의 희망하는 혼합을 성취하기 위해서 각종 adjuvant 성분을 조합하는 것이다. 가장 잘 알려진 adjuvant 조합은 w/o emulsion의 단기저장효과와 더불어 결핵균(*Mycobacterium tuberculosis*) (주로 TDM 및 MDP)의 면역조절특성과 조합되는 Freund의 완전 adjuvant(FCA)이다⁷. 이 adjuvant는 매우 강한 Th1 및 Th2 응답을 발생시키며 특히 친수성 면역원에 적합하다. Ciba-Geigy adjuvant 처방⁹⁶은 대사성 oil(squalene)과 nor-MDP를 사용하는 FCA의 변법(變法)이다. 그것은 임상시험에서 성공적으로 사용되었다. Adjuvant 조합(특히 FCA와 TiterMaxTM)의 기본으로써 w/o 처방의 성공에도 불구하고 그들은 정상적으로 CTL 응답을 유발하지 않으며 효과적인 면역조작을 위해서는 다단계의 dose를 필요로 한다. 즉, (항원의) 장기저류(貯溜)가 확립되지 않는 것이다.

W/o emulsion에 근거한 많은 조합된 adjuvant가 기술되고 있다. 그중에서 가장 잘 알려져 있는 것들은 비이온성 block copolymer L121와 threonyl MDP를 함유

하는 Syntex adjuvant 처방(SAF)⁹⁸, MPL과 CWS를 함유하는 Ribit DETOX adjuvant⁹⁹ 및 지질친화성 MDP 유도체인 MTP-PE(muramyl tripeptide-phosphatidylethanol-amine)를 함유하는 Chiron MF59 adjuvant⁵⁰이다. 이들 adjuvant 처방은 양친매성의 면역원에 대해서 커다란 가치가 있다. 즉, o/w 처방성분의 친수성 면역원은 최소의 이점을 부여할 것이므로 w/o 의 처방이 더 바람직할 것이다.

Liposome은 그 속에 각종 면역조절분자를 도입할 수 있으므로 다용도의 처방을 제공한다. 그 예로는 MPL¹⁰⁰, 지질친화성 MDP¹⁰¹ 및 Quil A¹⁰²이 포함된다. 친수성 분자가 liposome내에 도입될 수 있으나 그 효능은 일반적으로 낮으며, liposome 처방은 양친매성 면역원에 대해서 가장 적합하다. 또다른 한가지 조합은 MPL과 QS21의 혼합이다¹⁰³.

"최상"의 adjuvant 조합의 선택은 방어면역원의 화학적성상의 어떤 지식과 방어에 관여하는 면역응답의 성상에 관한 어떤 idea가 요구된다. 그러나 이들 문제에 관한 지식이 최소화적이라 하더라도 소수의 기본 처방과 첨가물의 합리적인 선택은 유효한 adjuvant system의 선택을 허용하게 될 것이다. 이 review가 이와 같은 합리적인 선택에 있어 도움이 되기를 기대한다.

이 논문은 국내에서의 새로운 vaccine의 연구 및 개발에 참고가 되었으면 하는 뜻에서 「Vaccine」지 Vol. 16, No. 3, pp. 248~256, 1997에 게재된 것을 번역한 것입니다.

참 고 문 헌

1. Glenny, A.T. et al.: J. Path. Bact. 1926, 29:31.
2. Lewis, P.A. & Loomis, D.: J. Exp. Med. 1924, 40:503.
3. Cox, J.C. & Coulter, A.R.: In "Animal Parasite Control Utilizing Biotechnology" (Ed. Yong, W.K.). CRC Press, Boca Raton, 1992, pp. 49-112.
4. Vogel, F.R. & Powell, M.F.: In "Vaccine Design. The Subunit and Adjuvant Approach" (Eds. Powell, M.F. & Newman, M.J.). Plenum Press, NY, 1995, pp. 141-228.
5. Stewart-Tull, D.E.S. (Ed.): "Theory and Practical Application of Adjuvants". John Wiley and Sons Ltd., Chichester, 1994.
6. Allison, A.C. & Byars, N.E.: In "New Generation Vaccines". (Eds. Woodrow, G.C. & Levine, M.M.). Marcel Dekker, Inc. NY, 1990, pp. 129-140.
7. Freund, J. et al.: J. Immun. 1948, 60:383-398.
8. Morein, B. et al.: In "Concepts in Vaccine Development". (Ed. Kaufmann, S.H.E.). Walter de Gruyter, Berlin. NY. 1996, pp. 243-263.
9. Cherwinski, H.M. et al.: J. Exp. Med. 1987, 166:1229-1244.
10. Mosmann, T.R. & Moore, K.W.: Immunoparasit. Today 1991, A49-A53.
11. Romagnani, S.: Immun. Today 1991, 12:252-257.