

총설

생명정보학적 관점에서의 조류 인플루엔자 연구동향

안인성, 손현석¹⁾

한국과학기술정보연구원 슈퍼컴퓨팅센터 바이오인포매틱스팀, 서울대학교 보건대학원 생명정보학교실¹⁾

The Current Trend of Avian Influenza Viruses in Bioinformatics Research

Insung Ahn, Hyeon S. Son¹⁾

Bioinformatics Team, Supercomputing Center, Korea Institute of Science and Technology Information;
Laboratory of Computational Biology & Bioinformatics, Institute of Health and Environment,
Graduate School of Public Health, Seoul National University¹⁾

Objectives : Since the first human infection from avian influenza was reported in Hong Kong in 1997, many Asian countries have confirmed outbreaks of highly pathogenic H5N1 avian influenza viruses. In addition to Asian countries, the EU authorities also held an urgent meeting in February 2006 at which it was agreed that Europe could also become the next target for H5N1 avian influenza in the near future. In this paper, we provide the general and applicable information on the avian influenza in the bioinformatics field to assist future studies in preventive medicine.

Methods : We introduced some up-to-date analytical tools in bioinformatics research, and discussed the current trends of avian influenza outbreaks. Among the bioinformatics methods, we focused our interests on two topics: pattern analysis using the secondary database of avian influenza, and structural analysis using the molecular

dynamics simulations in vaccine design.

Results : Use of the public genome databases available in the bioinformatics field enabled intensive analysis of the genetic patterns. Moreover, molecular dynamic simulations have also undergone remarkable development on the basis of the high performance supercomputing infrastructure these days.

Conclusions : The bioinformatics techniques we introduced in this study may be useful in preventive medicine, especially in vaccine and drug discovery.

J Prev Med Public Health 2007;40(2):185-190

Key words : Influenza in birds, Computational biology, Epidemiology, Influenza vaccines, Proteomics

서론

조류인플루엔자는 조류 인플루엔자 바이러스에 의하여 발생하는 급성 질환으로서, 원래는 닭이나 오리 등과 같은 가금류에게서 발병해 왔으나, 최근 들어 전 세계적으로 인간으로의 감염사례가 다수 보고되면서 예방의학적으로 중요한 의미를 지니게 되었다. 우리나라의 경우에는 2003년 12월 12일에 음성군 닭농장에서 H5N1 subtype의 조류 인플루엔자 바이러스가 최초로 발견된 이래, 2006년에는 11월 22일부터 전북 익산지역을 중심으로 고병원성 조류인플루엔자로 의심되는 사례가 다시 발견되어 관계당국을 긴장시키고 있다. 조류 인플루엔자는 감염된 조류의 콧물, 호

흡기 분비물, 대변 등을 통하여 전파가 되는데, 이 중에서도 특히 오염된 대변이 다시 구강 등을 통하여 감염을 일으키는 사례가 많다. 이와 같은 조류 인플루엔자가 전 세계적으로 확산되어 나갈 수 있었던 것은 바로 철새들을 통한 전파 때문인데, 이 때 조류인플루엔자에 감염된 철새는 닭이나 오리에 비하여 별다른 병증을 나타내지 않기 때문에 이동경로를 따른 장거리 전파가 가능하다. 닭의 경우에는 조류 인플루엔자에 대한 감수성이 매우 크기 때문에 감염 시 약 80% 이상이 호흡곤란으로 폐사하여 큰 경제적 손실을 야기한다[1].

조류 인플루엔자로 인한 인간 감염사례는 1997년 홍콩에서 33%의 치사율을 나타내면서 처음으로 보고되었고, 이 후 2003

년에는 한국, 중국, 일본, 캄보디아, 인도네시아, 라오스, 태국 및 베트남 등과 같은 아시아 국가들에서 조류 인플루엔자가 재발하여 약 1억여 마리의 가금류가 폐사되었다[2]. 이 경우, 질병의 발발은 한국에서 시작되었으나, 인간감염의 사례는 베트남과 태국에서 각각 80% 및 66.7%의 치사율을 보이며 발생하였으며, 이것은 33%의 치사율을 보였던 홍콩의 예보다 훨씬 더 높은 수치로서 H5N1 subtype 바이러스의 인간에 대한 독력이 더욱 강해진 경향을 반증하는 결과였다 [1]. 질병관리본부의 발표 자료에 따르면, 2006년 7월 현재 세계적으로 229명이 감염되어 그 중 131명이 사망한 것으로 알려져 있다. 조류 인플루엔자에 감염된 사람들 대부분은 주로 가금류와 밀접하게 접촉하는 농장의 인부나 보건당국의 검역반원 등으로 아직까지 인간 대

Table 1. Eight segments of influenza A virus genome

Segment #	Gene name	Abbreviation
1	Polymerase basic protein 2	PB2
2	Polymerase basic protein 1	PB1
3	Polymerase	PA
4	Hemagglutinin	HA
5	Nucleoprotein	NP
6	Neuraminidase	NA
7	Matrix proteins	MI, M2
8	Nonstructural proteins	NS1, NS2

인간 감염의 구체적인 사례는 보고되어 있지 않으나, 인플루엔자 바이러스의 빠른 변이속도를 고려해 볼 때 이에 대한 예방책 마련에도 충력을 기울여야 할 것이다.

최근 들어, IT 기술의 급속한 발달로 인하여 웹을 통하여 미국의 NCBI (National Center for Biotechnology Information)나 유럽의 EBI (European Bioinformatics Institute) 등과 같은 해외 기관들을 통하여 다량의 유전체 및 단백질체 정보들이 수집 및 배포되고 있다. 이 중에서도 특히 NCBI의 경우에는 FTP 서버를 통하여 주기적으로 수집된 유전체 데이터를 GenBank flat file 이라는 특정한 파일 형태로 배포해오고 있다. 또한 'Influenza Virus Resource' 와 같은 조류 인플루엔자 바이러스와 관련된 유전체 정보 전문 검색 데이터베이스를 별도로 구축하여 좀 더 세분화된 정보추출을 가능하게 하였다. 이 글에서는 먼저 조류 인플루엔자 바이러스의 일반적인 구조 및 기능에 대하여 설명하고, 이와 더불어 생명정보학적인 관점에서의 조류 인플루엔자 데이터베이스 활용방안 및 백신연구 현황 등을 논하여 향후 조류 인플루엔자의 인간감염 예방을 위한 전략연구에 도움이 되고자 한다.

본 론

1. 조류 인플루엔자 바이러스의 구조

일반적으로 인플루엔자 바이러스들은 바이러스 내부의 nucleoprotein들의 항원성에 의해서 A, B, 및 C 그룹으로 나뉘는데, 이 중에서 A형 바이러스들은 보통 국제적인 호흡기성 질환인 독감을 유행시키는 것으로 알려져 있고, B형도 이와 같은 유행성을 나타내기도 한다. 그러나 C형 바이러스는 아주 드문 경우에 약한 상기도

질환을 나타낸다. 인플루엔자 A 바이러스의 주요 숙주는 오리, 제비갈매기 등과 같은 야생 물새들이며, 인플루엔자 B 바이러스의 경우에는 주요 숙주가 인간이고 드문 경우 인간 이외의 동물 중에서 감염증상을 나타내기도 한다 [3,4]. 조류 인플루엔자 바이러스는 바로 전자에서 설명한 인플루엔자 A 바이러스의 일종으로서, negative-sense single-stranded RNA 바이러스의 형태를 띠고 있으며, 계통학적으로 orthomyxoviridae 과의 influenzavirus A 속에 포함되는 종이다. 이 바이러스의 유전체는 총 8개의 서로 다른 조각들로 이루어져 있으며 (Table 1), 그 크기는 약 890 bp에서 2,341 bp 에 이르기까지 다양하다 [5].

이 조각들에 의해서 암호화되는 단백질들 중에서도 특히 4번째 조각에 해당되는 hemagglutinin (HA)과 neuraminidase (NA)의 경우 생체 내에서의 면역반응과 밀접한 관련이 있는 것으로 알려져 있는데, 특히 HA의 경우에는 H1부터 H15까지 총 15종의 subtype들, 그리고 NA의 경우에는 N1부터 N9까지 총 9종의 subtype들로 이루어져 있어서 이들의 조합에 의해서 매우 빠른 변이양상을 나타낸다 [5]. 이번에 조류 인플루엔자의 원인이 되는 바이러스의 subtype은 HA의 5번째 subtype과 NA의 1번째 subtype이 결합된 H5N1 형태의 subtype인 것으로 알려져 있다. 일반적으로 H5형은 사람에게서는 감염을 일으키지 않으나, 이번에 문제가 된 H5N1 subtype의 경우에는 동남아시아 지역을 중심으로 인간 감염사례가 지속적으로 보고되고 있어서 이에 대한 대비책이 요구된다.

일반적으로 사람을 숙주로 하는 HA는 α -2,6-galactose를 포함하는 glycolipid 수용체들과 glycoprotein의 말단 sialic acid에 결합하는 반면에, 조류의 HA는 α -2,3-galactose 수용체들과 결합을 한다. HA는 인플루엔자 바이러스의 표면에 존재하는 항원성 당단백질로서, 바이러스가 대상 숙주세포와 결합하는 작용을 매개하는 반면에, 이와 유사한 항원성 당단백질 효소인 NA는 감염된 숙주세포들로부터 인플루엔자 바이러스의 복제된 자손 바이러스들이 외부로 방출되는 작용을 돕는다. 독감 예방약으로 알려진 'Tamiflu'나 'Relenza' 등은 바

로 이와 같은 NA의 생리활성을 억제하는 것으로 알려져 있다. 이 밖에도 바이러스의 내부 단백질들을 암호화하는 유전자 조각들이 존재하는데, PB1, PB2, PA, NP, M, 및 NS 유전자들이 이에 포함된다 [6]. 먼저 RNA polymerase를 암호화하는 과정에 참여하는 유전자들인 PB1, PB2 및 PA 유전자들 중에서도 특히, PB1은 인플루엔자 바이러스의 polymerase를 이루는 주요 구성물질로서, 바이러스의 병원성에 관여하며 전염성 인플루엔자의 독력의 경중을 결정하는데 중요한 역할을 하는 것으로 보고되어 있으며 [7], 이와 유사하게 polymerase의 주요 구성성분으로 알려진 PB2는 사람에게 감염된 H5N1 subtype의 조류 인플루엔자 바이러스의 약 75% 정도에서 627번째 위치에 존재하는 아미노산인 라이신 (lysine)에 돌연변이가 발생했던 것으로 밝혀져서 이 유전자 위치에서의 돌연변이가 또한 바이러스의 독력을 변화시킬 수 있는 가능성이 제기된 바 있다 [6]. 그리고 NP 유전자에 의하여 암호화되는 nucleoprotein은 RNA의 구조와 연관이 있는 단백질이며, M 유전자에 의하여 생성되는 matrix 단백질들은 HA나 NA 당단백질들과 마찬가지로 바이러스의 표면 쪽에 위치하여 바이러스의 외부 방어막인 capsid를 형성한다. Matrix 단백질들 중에서 특히 M2 단백질은 바이러스의 외피를 제거시켜서 8개의 RNA 조각들이 숙주세포의 세포질에 노출되는 과정을 유도하기 때문에 이 M2 transmembrane protein은 바이러스의 숙주세포로의 효율적인 감염을 위하여 필수적으로 요구되는 이온 채널 역할을 하는 것으로 알려져 있다 [8]. 마지막으로 NS 유전자에 의해서 암호화되는 nonstructural protein들은 1997년도에 발생한 H5N1 subtype으로 인한 조류 인플루엔자의 병원성과 관련이 있는데, 특히 NS1 유전자 상에서의 하나의 아미노산 변이가 H5N1 subtype 바이러스의 독력을 크게 높여 놓은 것으로 여겨지고 있다 [7,9].

2. 조류 인플루엔자 (H5N1 subtype)의 최근 발생현황

1997년에 최초로 인간감염 사례를 남긴 조류 인플루엔자 바이러스는 2003년에 제

발한 이후로 지금까지 다양한 종류의 종 내에서 꾸준히 발견되어져 오고 있다. 특히, 미국의 CDC (Centers for Disease Control and Prevention)에서 발표한 최신 자료들에 의하면, H5N1 subtype 바이러스에 감염된 오리의 경우 예전보다 더 장기간 아무런 감염증세 없이 H5N1 바이러스를 보유하고 있는 사례들이 보고되고 있으며, 이 밖에도 돼지 (중국) 및 고양이과 (네덜란드, 태국) 동물들에 대한 H5N1 subtype 바이러스들의 감염사례 또한 기존의 조류 인플루엔자 바이러스 유전체가 현재까지도 계속해서 새로운 숙주 종에 적응해 가면서 자체적인 변이과정을 거치고 있음을 시사해 주고 있다 [10,11]. 이처럼 아시아 지역에서 시작된 조류 인플루엔자 파동은 철새 등을 통해서 점차 유럽 및 아프리카 대륙으로 전파방향을 잡아가고 있으며, 이에 따른 대응책을 논의하기 위하여 2006년 2월에는 유럽연합 주최로 긴급 대책회의가 소집되기도 하였다. 이 회의에서는 최근 들어 이탈리아와 그리스, 슬로베니아 및 오스트리아 등지에서 폐사한 백조가 조류 인플루엔자에 감염되었던 것으로 판명된 것을 근거로 조류 인플루엔자의 다음 번 목표지역은 바로 유럽이 될 것이라는 사실에 의견을 모았으며, 또한 아프리카가 아시아로부터 유럽으로 전파되기 위한 교두보적인 역할을 할 것으로 예측하였다 [12]. 실제로 대다수의 아프리카 국가들은 매우 열악한 주거환경을 가지고 있으며, 조류 인플루엔자의 주요 전염원인 닭이나 오리나 사람의 거주 지역 간의 구분이 불명확하여, 아시아 지역에서 인간 감염사례가 발생한 태국이나 베트남과 매우 유사한 환경조건을 나타내고 있어서 이에 대한 대책 또한 시급한 실정이다. 지금까지 조류 인플루엔자에 감염된 대부분의 사람들은 양계업에 종사하거나 닭이나 오리 등과 함께 생활을 해온 사람들이어서 조류 인플루엔자가 이와 같은 가금류로부터 인간으로 중간 장벽을 뛰어넘어서 전파된 것으로 알려져 있다. 그러나 WHO에서 최근에 발표한 자료에 의하면, 2006년도에 인도네시아에서 발생한 조류 인플루엔자의 인간감염 사례는 기존의 감염경

로가 조류로부터 인간으로의 직접적인 접촉에 의한 감염에 국한되어 있던 틀을 깨고서 대인간 전파의 가능성을 시사하여 국제적인 경각심을 일깨우고 있다. 보고에 의하면 인도네시아에 거주하는 하나의 가족공동체 내에서 8명의 인간감염 사례가 발생하였는데, 이 경우 최초의 조류 인플루엔자 감염자는 가금류와의 직접적인 접촉에 의하여 감염이 된 것으로 보이며, 이후에 이 최초 감염자가 6명의 가족구성원들에게 조류 인플루엔자 바이러스를 감염시킨 것으로 생각되어지고 있다. 이후에 6명의 2차 감염자들 중에서 어린아이 한 명이 그의 또 다른 가족구성원인 아버지를 감염시켰다. 그러나 이 가족으로 인한 추가 감염은 아직까지 발견되지 않고 있다 [10].

3. 생명정보학과 조류 인플루엔자 유전체 연구

생명정보학 분야에서의 조류 인플루엔자 연구는 주로 인플루엔자 바이러스의 유전체 및 단백질체 서열연구가 주를 이루고 있다. 최근 빠르게 발달된 인터넷 기술에 힘입어서 기존의 실험실 단위로 생산, 저장 및 가공되어 왔던 생물학적인 정보들은 공공의 데이터베이스 형태로 저장 및 배포되고 있다. 이와 같은 데이터베이스들 중에서도 특히 두각을 나타내고 있는 데이터베이스가 바로 미국의 NCBI에서 운영하는 염기서열 및 생물학적 문헌 정보와 주석정보에 대한 포괄적인 정보를 제공하는 'GenBank 데이터베이스'이다. GenBank의 데이터는 기본적으로는 실험을 수행한 연구자들이 제출하는 데이터로 구축이 되며, DDBJ (DNA DataBank of Japan), EMBL (European Molecular Biology Laboratory)와 함께 "International Nucleotide Sequence Database Collaboration"을 이루어서 웹과 FTP를 통하여 데이터를 무료로 사용할 수 있는 웹기반의 검색 및 분석서비스를 제공하고 있다. GenBank 엔트리(entry)는 대량의 정보들 속에서 다른 엔트리들과 식별을 위해 각각 고유한 식별자(identifier)를 할당받게 되는데, 각각의 엔트리들은 전통적으로 박테리아 (BCT:

Table 2. Divisions of the GenBank library in NCBI

Division	Sequences
PRI	primates sequences
SYN	synthetic sequence
ROM	rodents sequences
UNA	unannotated sequences
MAM	other mammalian sequences
EST	Expressed sequence tags
VRT	other vertebrate sequences
PAT	patent sequences
INV	invertebrate sequences
STS	Sequence tag sites
PLN	plant, fungal, and algal sequences
GSS	Genome survey sequences
BCT	bacterial sequences
HTG	High-throughput genomic sequences
VRL	viral sequences
HTC	unfinished High-throughput cDNA sequencing
PHG	bacteriophage sequences
ENV	environmental sampling sequences

bacteria), 바이러스 (VRL: virus), 설치류 (ROD: rodent), 영장류 (PRI: primate) 등과 같은 대략적인 계통 분류학적인 그룹과 일치하는 '분과 (division)'로 나뉜다 [13]. 최근 몇 년 동안 분과는 특정한 시퀀싱 프로젝트가 진행됨에 따라서 점차적으로 증가하고 있으며, 현재는 총 18개의 분과들이 존재 한다 (Table 2). 이 엔트리들은 NCBI FTP사이트에 두 달에 한 번씩 발표될 때마다 파일전송의 편의를 위하여 EST나 PRI 처럼 대량의 분과들을 다중 파일로 나누어서 배포한다. 서론에서 언급했던 조류 인플루엔자 전문 데이터베이스인 'Influenza Virus Resource' 데이터베이스 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/FLU/FLU.html>) 또한 이와 같은 NCBI에서 배포한 GenBank flat file을 기반으로 하여 이중 바이러스와 관련된 정보들뿐만 아니라 VRL 분과정보를 사용하여 생성된 일종의 2차 데이터베이스이다 (Figure 1).

'Influenza virus resource' 데이터베이스는 기존의 GenBank 검색보다 좀 더 세분화된 카테고리별로 검색할 수 있도록 설계되었기 때문에 이 특성을 잘 활용한다면 인플루엔자 관련 패턴연구에 큰 도움이 될 것이다. 먼저, 이 데이터베이스에서는 조류 인플루엔자뿐만 아니라 인플루엔자 바이러스 A, B, 및 C 종에 속하는 모든 서열들을 카테고리별로 검색할 수 있으며, 또한 원하는 서열을 단백질, 암호화서열 (coding region) 및 염기서열 등과 같이 선택적으로 추출할 수 있다. 그리고 인플루엔자 바이

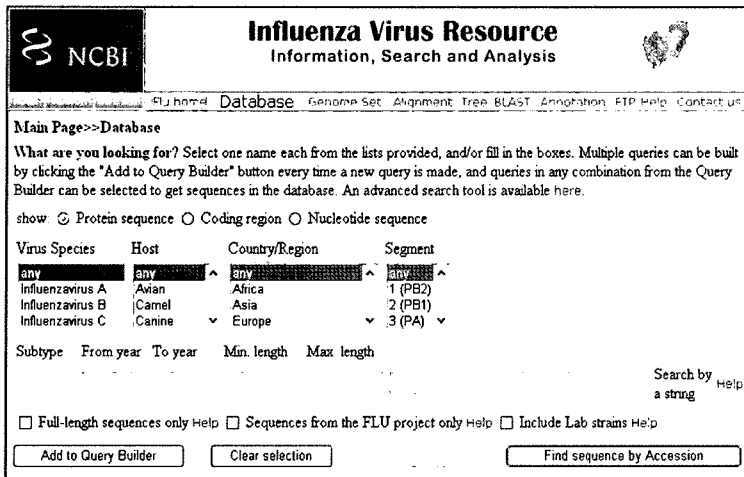


Figure 1. Main homepage of Influenza Virus Resource in NCBI.

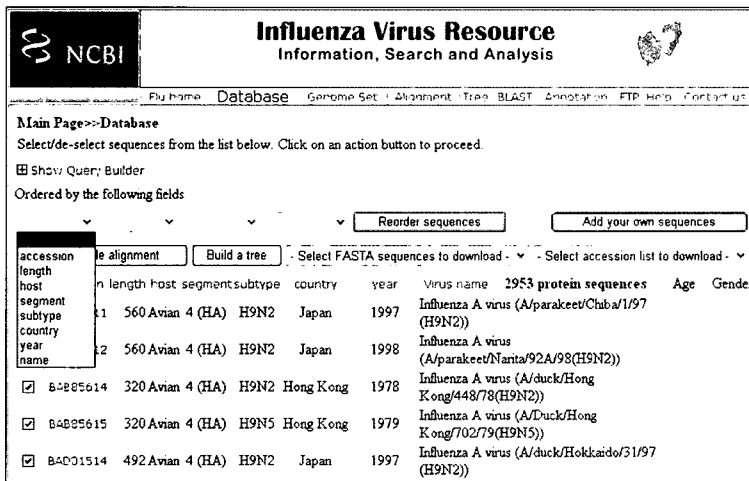


Figure 2. Searching result from the database of Influenza Virus Resource in NCBI.

러스 종 내에서도 각 바이러스의 숙주 종, 발견국가 및 유전체 상에서의 유전자 조각 (segment)과 같은 하위 카테고리들 선택할 수 있어서 기존의 bulky한 상태의 결과창에서 일일이 서열들을 추려내야 했던 수고를 덜 수가 있게 되었다. 이와 더불어 부가적인 기능으로 인플루엔자 바이러스들을 각각의 subtype, 발견시간 및 유전체 (또는 단백질)의 길이 별로 추출이 가능하도록 하여 최근 조류 인플루엔자와 함께 관심이 고조되고 있는 subtype별 패턴연구를 좀 더 심도 있게 수행할 수 있는 장을 열어 놓았다. 이상에서 설명한 검색 옵션들을 사용하여 조류를 숙주동물로 하는 인플루엔자 A 바이러스의 단백질 서열들을 검색할 결과는 Figure 2와 같다. 결과창을 통해서 검색된 서열들의 GenBank accession 번호, 길이, 숙주의 종류, 유전자 조각

의 종류, subtype, 발생국가, 발생연도 및 각 바이러스의 구체적인 명칭 등을 한 눈에 확인할 수가 있으며, 필요시 이 중에서 중심 열을 선택하여 그 열을 기준으로 결과를 재 정렬하여 검토할 수 있다. 검색된 서열들은 각 연구자의 검토과정을 거친 후에 전체 또는 일부분을 FASTA (=Fast Alignment) 파일 형식으로 다운로드 받아서 사용된다.

이상에서 설명한 바와 같이 GenBank의 flat file이나 조류 인플루엔자 전문 데이터베이스로부터 추출된 바이러스 서열들은 다양한 생명정보학 기법을 사용하여 다량의 유전체 또는 단백질체 정보로부터 특정 패턴을 분석해 내는데 사용이 된다. 2006년 Ahn 등 [14]은 JAVA 코드를 사용하여 GenBank flat file (version 151)로부터 조류 인플루엔자 바이러스를 포함하는

orthomyxoviridae 과에 속하는 모든 암호화 서열들 (coding sequences)을 추출하여, 각 코돈의 위치별 GC 함량 및 코돈 이용 bias 등을 계산하였는데, 조류 인플루엔자 바이러스가 속하는 인플루엔자 A 바이러스 종이 다른 종들에 비하여 현저하게 낮은 bias 수준을 나타내어 종간 장벽 (species barrier)을 뛰어넘는 전염발생시 새로운 숙주의 코돈 패턴에 더 쉽게 적응할 수도 있을 것으로 보고하였다. 일반적으로 대상이 되는 유전체의 개수가 많지 않을 경우에는 계통발생학적 분석법을 활용하여 종간의 유전적 거리를 계산해낼 수도 있고, 위의 예와 같이 대상 서열들의 개수가 많고 하위 카테고리들이 존재할 경우에는 해당 분과의 GenBank flat file을 직접 다운로드 받거나 'Influenza virus resource'와 같은 2차 데이터베이스로부터 몇 단계의 분류과정을 거친 파일들을 다운로드 받아서 전체를 대상으로 직접 계산을 수행하거나 MySQL이나 오라클 프로그램을 이용한 자체적인 데이터베이스를 구축한 이후에 필요한 정보들만을 추출하여 분석에 이용할 수 있다. 후자의 경우에는 다량의 서열 정보를 대상으로 발생연도 및 국가별 분석이 가능하기 때문에 향후 유전체 역학의 새로운 분야로 활용될 가능성이 매우 높은 분야이기도 하다.

4. 생명정보학과 백신연구

위에서 언급한 서열 정보를 활용한 패턴 연구 이외에도 조류 인플루엔자 연구에서 빠질 수 없는 분야가 바로 백신연구이다. 특히 H5N1 subtype 바이러스와 같이 이전에 인간에게 감염되었던 적이 없는 신종 바이러스가 종간 장벽을 뛰어넘어 인간에게 전염이 될 경우에는 더욱 속수무책으로 당할 수밖에 없는 것이 현실이다. 조류 인플루엔자 바이러스 (H5N1)의 경우, 새로운 종류의 HA subtype인 H5 타입으로 이루어져 있는데, 이 단백질은 인간집단 내에서 현재 거의 면역성을 나타내지 않기 때문에 인간에게 감염되었을 경우 심각한 호흡기성 질환을 야기 시킬 위험성이 크며, WHO의 발표에 의하면 실제로 2006년 2월 13일 기준으로 이 바이러스에

감염된 169건의 사례 중에서 약 54%에 달하는 91명이 사망하였다 [15]. 매년 비활성화된 형태의 인플루엔자 백신들이 인간 집단 내에서의 독감발병을 예방하기 위하여 사용이 되는데, 이 때 정제된 비리온들은 배자상태의 달걀로부터 배양된다. 이러한 과정을 거쳐서 얻어진 백신에는 항원역할을 하는 HA 단백질이 0.5 ml dose당 약 50 ug 수준으로 존재하며, 이 백신은 보조제 (adjuvant) 없이 근육 주사한다. 일반적으로 인플루엔자 백신의 효율은 70 - 90% 범위 내에 드는 것으로 알려져 있다. 그러나 2005년 말에 미국의 Sanofi Pasteur에 의해서 수행된 초기 백신개발 결과에 의하면 H5N1 subtype에 대한 백신은 보통의 인플루엔자 백신 dose의 약 6배에 달하는 90 ug의 H5 타입의 HA를 필요로 한다 [15,16]. 이에 반하여 2006년 7월에 GlaxoSmithKline (GSK) 제약회사는 그들이 개발한 보조제를 함유한 백신은 보통의 인플루엔자 백신 dose의 4분의 1에 해당하는 3.8 ug 수준만 주사하여도 인간에게서 면역반응을 유도할 수 있다고 발표하였다 [17]. 그러나 GSK가 개발한 이 백신은 아직까지 어떠한 국제 규제기구로부터도 판매허가를 받지 못한 상태이다. 이 밖에도 최근 유럽에서는 보조제인 aluminium hydroxide를 포함한 경우와 그렇지 않은 경우 각각 7.5 ug, 15 ug 및 30 ug의 A/Vietnam/1194/2004 (H5N1) HA를 300명의 18세에서 40세 사이의 건강한 지원자들에게 투여하여 그 결과를 보고하였는데, 이들의 실험에서는 보조제와 함께 30 ug 수준의 백신을 투여한 그룹에서 가장 높은 면역반응성이 나왔다. 이 30 ug 투여는 개발한 H5N1 백신은 유럽의 계절별 인플루엔자 백신생산을 위한 안전성 범위 내에 들어가는 수준으로 알려져 있다 [18]. 최근에 진행되고 있는 이 같은 백신들은 조류 인플루엔자에 의한 감염 자체를 예방하는 것 보다는 초기 감염상태에서 더 이상의 인체 내 확산을 억제시키는 것에 더 큰 비중을 두고 있다. 2006년에 미국 세인트 유다 어린이 병원의 Webster 박사 연구팀에 의하며 보고된 예에서도 이와 같은 백신개발 경향을 읽을 수가 있는데, 즉 이들은 흰 족제비 (ferrets)를 대상으로 A/HK/213/2003 바이러

스의 HA 및 NA 유전자들을 reverse genetics 기법을 사용하여 비활성화된 whole-virus 백신을 접종하였다 [19]. 그 결과, 최소한 실험실 환경 하에서라도, 이들이 개발한 H5N1 백신이 A/HK/213/2003 바이러스 계통뿐만 아니라 이보다 더 병원성이 강한 것으로 알려진 A/Vietnam/1203/2004 바이러스 계통에 대해서도 치명적인 독감의 진행을 차단하여 감염 초기에 이 백신을 사용할 경우 cross-protective 효과를 야기시킬 수 있는 가능성을 시사 하였다. 향후 백신개발의 방향은 초기 감염 시 치료뿐만 아니라, 감염 자체를 예방할 수 있는 방향으로도 진행이 될 것으로 기대된다 [16].

최근들어 빠르게 발달한 IT 기술의 결과, 백신개발 등과 같은 신약개발 연구에 있어서도 생명정보학 분석기법이 널리 사용되기 시작하였다. 신약개발 분야에서는 특히 생체 내에서 일어나는 항원물질과 항체 간의 면역반응에 관한 시뮬레이션 연구가 주로 이루어지고 있는데, 그 중에서도 특히 백신개발과 밀접한 연관이 있는 HA 당단백질의 생체막 환경에서의 분자동역학적인 시뮬레이션이 가장 활발히 이루어지고 있다. 일반적으로 대상 단백질이나 물질에 대한 임의의 환경 하에서 분자동역학적으로 시뮬레이션은 엄청난 양의 계산과정을 필요로 하기 때문에 고성능의 병렬형 슈퍼컴퓨팅 시스템을 이용하여 작업을 수행하는 경우가 대부분이다. 여기서 병렬형이란, 프로그램 내의 계산 영역을 여러 개로 나누어서 각각에 대한 계산을 여러 프로세서에서 동시에 수행한다는 의미로서 시뮬레이션 작업과 같은 고도의 계산을 필요로 하는 작업의 경우에 전체 시뮬레이션 속도와 정확도를 크게 향상시킬 수 있는 장점을 가지고 있다. 이와 같은 슈퍼컴퓨팅 시스템은 가격이 매우 비싼 단점을 가지고 있기는 하나, 최근 이에 대한 수요가 점차적으로 증가함에 따라서 국내의 몇몇 대학이나 국가기관 등에서는 자체적인 슈퍼컴퓨팅 인프라를 구축하여 사용하고 있는 실정이다.

현재 신약개발을 위한 분자 시뮬레이션 분야에서 연구자들이 가장 선호하는 시뮬레이션 프로그램으로는 미국의 하버드대학교에서 개발한 CHARMM 프로그램 [20]

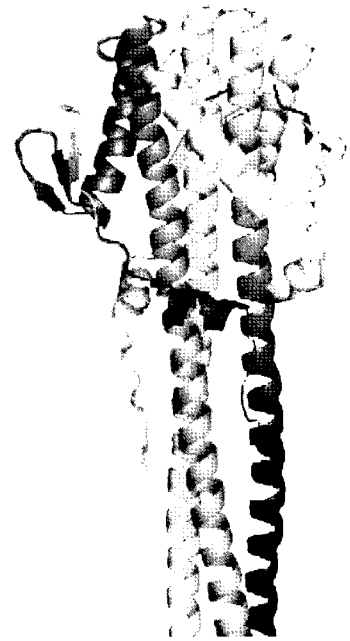


Figure 3. 3D structure of the hemagglutinin glycoprotein of avian influenza virus visualized by Pymol program. (PDB ID = 1HTM)

과 여러 대학의 개발자들이 연합하여 개발한 Amber package [21] 가 가장 대표적이다. 이 프로그램들은 보통 생체분자들의 시뮬레이션을 위한 분자 mechanical force field들과 소스코드 및 데모들을 포함하고 있다. 특히 CHARMM 프로그램에 포함된 force field parameter 나 topology 파일들은 이후에 개발된 여러 분자 시뮬레이션 프로그램에서도 공통적으로 사용될 만큼 인지도가 높다. 2004년 독일의 Huang 등 [22] 은 인플루엔자 바이러스의 숙주 세포로의 감염 시 중요한 역할을 하는 HA 당단백질 (Figure 3)을 대상으로 분자동역학 시뮬레이션을 수행한 바 있다. 이들은 바이러스의 표면에 존재하는 융합 펩타이드인 HA 단백질이 바이러스와 숙주세포의 세포막과 융합할 때 세포막 지질층의 이중막 topology를 불안정화 시키는 메커니즘을 규명하는 것을 목적으로 HA 단백질 중 서로 다른 protonation 상태를 나타내는 두 개의 N-말단 펩타이드를 대상으로 CHARMM 프로그램을 사용하여 전산모사 실험을 수행하였다. 실험 결과, 동일한 펩타이드를 대상으로 기존에 수행되었던 NMR 실험 [23] 결과에서와 마찬가지로, 이중막 내에 존재하는 융합 펩타이드들이 단단하고 곧은 구조가 아닌, 막대기 모양의 helix이기는

하지만 비틀린 모양에 잘 적응된 형태로 존재함을 밝힐 수 있었다. 이와 유사한 실험으로는 2005년도에 미국의 Lague 등 [24]에 의하여 수행된 연구를 예로 들 수가 있는데, 이들 역시 HA 용합 단백질을 대상으로 가상의 micelles와 bilayers 환경 하에서의 분자동역학적인 변화를 관찰하였다. 이들은 Huang 팀과 동일하게 CHARMM 프로그램을 사용하여 전산모사를 수행하였는데, 이 때 대상 분자들은 생체조건과 유사한 가상의 물 상자 (water box)에 둘러싸여 있는 상태였다. Lague 박사는 이 시뮬레이션의 결과 micelles와 bilayers 모두 HA 펩타이드에 대해서 서로 다른 반응을 나타내었는데, 즉, 전자의 경우에는 막의 지질 분자들이 그들의 위치에서 비교적 자유롭게 모양을 변화시킬 수 있어서 상대적으로 적은 양의 에너지를 가지고도 micelle의 모양을 변화시킬 수 있는 것으로 나타났다고 보고하였다. 궁극적으로 이들의 연구를 통해서 HA의 용합 펩타이드가 인접한 막의 지질분자들의 모양을 변화시킬 수 있다는 사실을 분자동역학적 시뮬레이션을 통하여 증명하였다.

결론

최근 들어 국제적인 인터넷 네트워크의 눈부신 발전으로 인하여 기존의 실험실 단위로 이루어지던 유전체 및 단백질체 정보의 저장 및 가공이 웹상의 대용량 데이터베이스 단위로 수행됨에 따라서 원하는 종류의 정보를 효율적으로 수집, 가공 및 분석할 필요성이 크게 대두되고 있으며, 첨단 IT 기술력을 바탕으로 하는 생명정보학 분야의 공조는 예방의학 연구에 있어서 이 같은 요구에 부응할 수 있는 돌파구를 제시할 수 있을 것으로 기대된다. 이 글에서는 최근 발생한 조류 인플루엔자의 특성분석과 더불어 조류 인플루엔자 연구에 활용될 수 있는 다양한 종류의 생명정보학적 분석사례들을 소개하여 조류 인플루엔자와 관련된 예방의학 연구에 도움이 될 수 있는 연구방향을 제시하고자 하였으며, 특히 조류 인플루엔자 바이러스와 같이 유전체의 자체적인 변이속도

가 매우 빠른 유전체 역학연구에 있어서의 생명정보학적 기법의 활용방안에 대하여 논하였다.

참고문헌

1. Avian Influenza [homepage on the Internet]. Seoul: CDC Korea; c2006 [cited 2007 Jan 5] Introduction to Avian Influenza. Available from: URL: <http://avian.cdc.go.kr/sub/introduction.asp> (Korean)
2. Centers for Disease Control and Prevention [homepage on the Internet]. Atlanta: The Center; [cited 2006 Jan 10] Key Facts About Avian Influenza (Bird Flu) and Avian Influenza A (H5N1) Virus. Available from: URL: <http://www.cdc.gov/flu/avian/gen-info/pdf/avian-flufacts.pdf>
3. Dimmock NJ, Easton AJ, Leppard KN. Introduction to Modern Virology. Massachusetts: Blackwell Publishing; 2002. p. 297-311
4. Liu JP. Avian influenza a pandemic waiting to happen? *J Microbiol Immunol Infect* 2006; 39(1): 4-10
5. Voyles BJ. The Biology of Viruses, 2nd ed. New York.: McGraw-Hill Co.; 2002. p. 147-149, 338-341
6. Lemon SM, Mahmoud AA. The threat of pandemic influenza: Are you ready? *Biosecure Bioterror* 2005; 3(1): 70-73
7. Garcia-Sastre A. Antiviral response in pandemic influenza viruses. *Emerg Infect Dis* 2006; 12(1): 44-47
8. Rhonda CP, Deborah AJ, Mardelle S, Carol AK, Mary JDS, Steve S. Medical Microbiology, 4th ed. Texas: University of Texas Medical Branch at Galveston; 1996. Chap. 58
9. Lee CW, Suarez DL, Tumpey TM, Sung HW, Kwon YK, Lee YJ, Choi JG, Joh SJ, Kim MC, Lee EK, Park JM, Lu X, Katz JM, Spackman E, Swayne DE, Kim JH. Characterization of highly pathogenic H5N1 avian influenza A viruses isolated from South Korea. *J Virol* 2005; 79(6): 3692-3702
10. CDC News. Avian Influenza: Current Situation. 2006 [cited 2007 Jan 5]. Available from: URL: <http://www.cdc.gov/flu/avian/outbreaks/current.htm>
11. Kim WJ. Overview of Pandemic Influenza. *J Prev Med Public Health* 2005; 38(4): 373-378 (Korean)
12. WHO News. Weekly epidemiological record 2006; 81: 173-188. Available from: URL: <http://www.who.int/wer/2006/wer8118.pdf>
13. Benson DA, Karsch-Mizrachi I, Lipman DJ, Ostell J, Wheeler DL. GenBank. *Nucleic Acids Res* 2007; 35(Database issue): D21-D25
14. Ahn IS, Jeong BJ, Bae SE, Jung J, Son HS. Genomic analysis of influenza A viruses, including avian flu (H5N1) strains. *Eur J Epidemiol* 2006; 21(7): 511-519
15. Treanor JJ, Campbell JD, Zangwill KM, Rowe T, Wolff M. Safety and immunogenicity of an inactivated subvirion influenza A (H5N1) vaccine. *N Engl J Med* 2006; 354(13): 1343-1351
16. Booy R, Brown LE, Grohmann GS, MacIntyre CR. Pandemic vaccines: Promises and pitfalls. *Med J Aust* 2006; 185(10): S62-S65
17. GSK's H5N1 flu vaccine achieves high response at low dose. *Pharmaweek*. 2006 July 26 [cited 2006 Dec 5] Available from: URL: <http://www.pharmaweek.com/TopNews/GSK's%20H5N1.asp>
18. Bresson JL, Perronne C, Launay O, Gerdil C, Saville M, Wood J, Hoschler K, Czambon M. Safety and immunogenicity of an inactivated split-virion influenza A/Vietnam/1194/2004 (H5N1) vaccine: phase I randomised trial. *Lancet* 2006; 367(9523): 1657-1664
19. Govorkova EA, Webby RJ, Humberd J, Seiler JP, Webster RG. Immunization with reverse-genetics-produced H5N1 influenza vaccine protects ferrets against homologous and heterologous challenge. *J Infect Dis* 2006; 194(2): 159-167
20. Brooks BR, Bruccoleri RE, Olafson BD, States DJ, Swaminathan S, Karplus M. CHARMM: A program for macromolecular energy minimization and dynamics calculations. *J Comp Chem* 1983; 4(2): 187-217
21. Case DA, Cheatham TE 3rd, Darden T, Gohlke H, Luo R, Merz KM Jr, Onufriev A, Simmerling C, Wang B, Woods RJ. The Amber biomolecular simulation programs. *J Comp Chem* 2005; 26(16): 1668-1688
22. Huang Q, Chen CL, Herrmann A. Bilayer conformation of fusion peptide of influenza virus hemagglutinin: A molecular dynamics simulation study. *Biophys J* 2004; 87(1): 14-22
23. Han X, Bushweller JN, Cafiso DS, Tamm LK. Membrane structure and fusion-triggering conformational change of the fusion domain from influenza hemagglutinin. *Nat Struct Biol* 2001; 8(8): 715-720
24. Lague P, Roux B, Pastor RW. Molecular dynamics simulations of the influenza hemagglutinin fusion peptide in micelles and bilayers: Conformational analysis of peptide and lipids. *J Mol Biol* 2005; 354(5): 1129-1141