



# 인 제 대 학 교 바 이 러 스 질 환 연 구 센 터

인제대학교 의과대학  
최인학

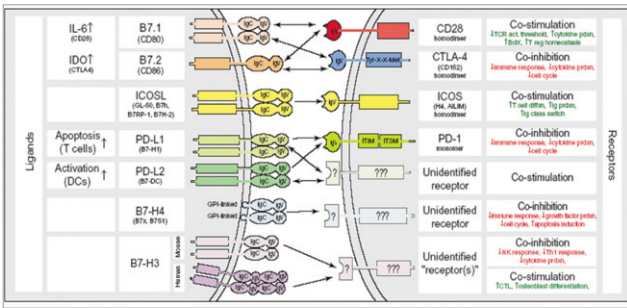
본 연구센터는 기본적으로 각 인체질환(바이러스 감염, 종양, 자가면역질환 등)에서의 면역조절 단백질들의 기능을 연구하는 곳이다. 인제대학교 의과대학 부산 캠퍼스에 8개 기초의학교실들과 다른 두 개의 연구센터와 함께 의과대학 연구동에 위치해 있다. 최인학 교수(의학, 면역학전공)를 센터장으로 하여 4명의 교수와 1명의 박사후 연구원, 3명의 학위생, 5명의 실험조교선생님들이 함께 센터를 운영하고 있다. 2004년 5월 처음 센터가 문을 연 후 비교적 짧은 시간이지만 연구실 정비가 마무리되었고 지금은 센터 본연의 연구사업을 진행할 수 있게 되었다.

외부에서 침입하는 세균이나 바이러스 혹은 암세포와 같은 위험신호(danger signal)로부터 생체의 면역감시체계(immune surveillance)가 우리 몸을 보호하고 있다. 이러한 면역 시스템이 제대로 작동하려면 외부 침입자에 대해서는 면역능(immunity)이 적절히 발생되어야 하고, 자기 몸의 구성성분에 대해서는 관용(tolerance)이 생겨서 자기(self)에 대한 면역반응은 발생하지 않도록 해야 한다. 이러한 두 가지 면역반응은 세포와 세포 사이의 정교한 교류시스템(communication)에 의해 균형이 이루어지고 있다. 이러한 균형에 이상이 생겨서 자기와 위험요소를 구별하지 못하면 위험요소에 대해 면역반응이 안생기거나 혹은 자기 몸을 위험요소로 인식하여 공격하게 되므로 자가면역질환과 같은 병이 생길 수 있다. 따라서 이러한 면역반응을 인위적으로 적절하게 조절할 수 있다면 바이러스성 질환이나 암질환 혹은 자가면역질환을 면역학적인 방법으로 치료할 수 있을 것으로 생각한다.

본 센터에서 수행되는 연구는 크게 세 가지로 요약할 수 있다. 첫째, 면역조절 단백질인 B7-CD28 family 공동신호분자(co-signaling molecule)들의 생체내 기능을 분석하여 복잡한 면역세포 network의 상호작용을 규명하는 것, 둘째, 공동신호분자들의 발현을 조절하여 생체반응을 조절하는 연구와, 셋째, 인간항체 library를 이용하여 생물활성이 있는 항원에 대해 항체 library를 대량검색하여 단시간내에 인간 단세포군 항체를 제작하는 antibody engineering 연구를 하고 있다.

## B7-CD28 family의 생체내 기능연구

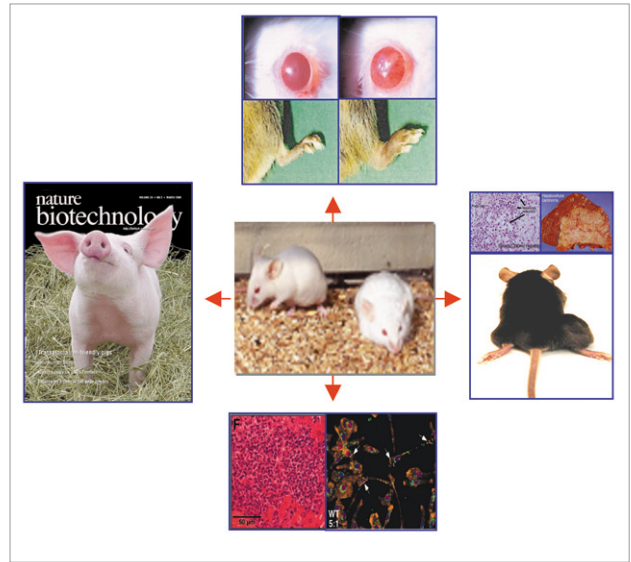
본 센터에서는 B7 family에 속하면서 주로 면역억제기능이 보고된 면역억제 공동분자(co-inhibitory molecule)인 B7-H1, B7-H4와 억제신호수용체인 CTLA-4, PD-1, BTLA 등을 주로 연구하고 있다. 이들 리간드와 수용체는 수지상세포와 T 세포에 각각 발현되어 있으면서 서로 특이적인 결합을 통해 억제신호를 보내어 T 세포의 활성을 억제하는 것으로 알려져 있다(그림참조). 면역조절에 관한 연구에서 중요한 것은 적절한 동물모델의 사용과 이들 분자의 기능을 차단하거나 활성화하는 우수한 reagent를 확보하는 것이다. 본 센터에서는 감염모델로 *Listeria monocytogenes* 감염모델과 herpes simplex type 1 virus에 의한 각막손상모델(HSK)을 사용하고 있으며, 자가면역질환 모델인 rheumatoid arthritis(RA) 동물모델을 이용하고 있다. 또한 각종 종양세포에서 이들 면역억제 리간드를 발현하는 세포주를 자체 제작하여 종양모델 개발에 이용하고 있다. 본 센터가 참여하고 있는 과기부와 보건복지부의 장기복제식 기술개발사업을 위해 돼지 이종이식에 관한 *in vitro*, *in vivo* 이식모델과 이식편대 숙주질환(Graft-



[Fig. 1] Interaction between B7 and CD28 family

versus-host disease) 모델을 이용하여 이식면역에서의 이들 분자들의 역할을 규명하고 있다. 또한 공동신호분자와 억제수용체 유전자가 knockout되어 있는 마우스 (B7-H1<sup>-/-</sup>, B7-H4<sup>-/-</sup>, PD-1<sup>-/-</sup>)를 확보하고 있어서 더욱 정교한 기능연구가 가능하다. 그동안의 연구를 통해 *Listeria* 감염모델에서 B7-H1이 면역억제기능보다는 면역활성을 유도한다는 새로운 사실을 밝히게 되었다. 또한 C형 간염환자의 monocyte에서 대량으로 발현되는 B7-H1은 오히려 바이러스 특이적인 T 세포의 증식과 사이토카인 분비를 억제하는 기능을 규명하므로써 C형 간염의 만성화에 B7-H1이 기여하고 있으며 이를 이용하여 감염의 면역학적 치료법개발의 가능성도 확인하게 되었다. 따라서 다른 질환모델에서도 이들 분자들의 새로운 면역기능이 규명될 가능성이 있어서 이 분야의 연구에 많은 기대를 하고 있다. 현재 이들 분자에 의해서 전달되는 세포내 신호체계가 어떤 경로로 면역억제현상과 연결되는지 연구 중에 있다.

지금까지 생체내에서 면역억제 공동분자(co-inhibitory molecule)의 기능을 억제하기 위해서 리간드-수용체 차단효과가 있는 마우스 단세포군 항체를 사용하여 왔다. 그러한 이러한 항체의 면역조절기능을 인체에 적용하기 위해서는 이종 단백질에 대한 인체의 항체생성으로 단세포군 항체가 중화되는 결점을 극복하여야 한다. 본 연구센터에서는 이러한 문제점을 해결하기 위해 두가지 전략을 사용하고 있다. 먼저 유전적으로 혹은 약리활성물질로 면역억제 공동분자의 발현을 조절하므로 차단항체와 유사한 리간드-수용체 차단효과를 얻는 것과 마우스 항체대신 인간 단세포군 항체를 바로 얻는 것이다.



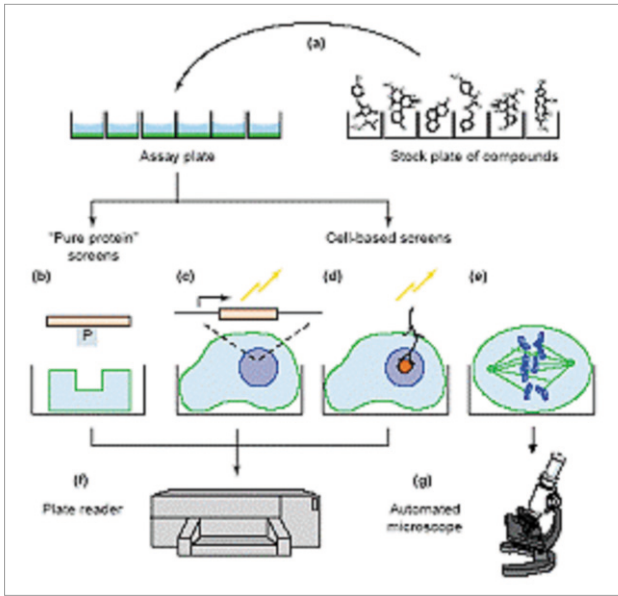
[Fig. 2] Various animal models for research of immune co-signaling molecules

### 공동신호분자들의 발현조절을 이용한 종양억제 연구

암세포는 우리 몸의 면역감시체계를 벗어나서 살아 남기위해 면역억제 공동분자인 B7-H1과 B7-H4를 암세포 표면에 발현하고 있다. 특히 암세포에서 발현된 B7-H1은 암세포 특이적인 T 세포를 apoptosis시키거나 anergy 상태로 만들어 결과적으로 항암면역기능을 감소시키는 중요한 면역회피기전중의 하나임이 마우스 모델에서 확인되었다. 본 센터에서는 암세포에서 발현되는 면역억제 공동분자의 발현을 조절하여 암세포의 면역회피기전을 극복하는 연구를 진행 중이다. 이를 위해 먼저 이미 확보하고 있는 면역억제 공동분자의 promoter construct들을 이용하여 각 단백질들의 전사조절에 미치는 인자들을 확인하였다. 면역세포뿐 아니라 암세포에서도 인터페론 감마 (IFN- $\gamma$ )에 의해 과발현되고 있는 B7-H1은 전사인자 interferon regulatory factor-1 (IRF-1)에 의해 endogenous 혹은 IFN- $\gamma$ -induced B7-H1 expression이 조절되고 있음을 규명하였다. 이는 이러한 전사인자를 조절하면 암세포에서 면역억제 공동분자의 발현을 조절할 수 있음을 시사하는 것이다. 향후 암세포의 면역회피기전에 중요한 역할을 하고 있는 면역억제 공동분자의 발현조절을 이용한 새로운 항암 면역치료의 가능성을 제시할 것으로 기대하고 있다. 본 센터에서는 여러 약리적 작용이 있는 natural single compound library와 chemical library를 이용하여 B7-H1/B7-H4, 면역억제 수용

체들의 발현조절을 검색할 수 있는 시스템을 구축하고 있다. 이러한 시스템은 genetic 혹은 pharmacological immune modulator의 발굴을 가능하게 할 것이다.

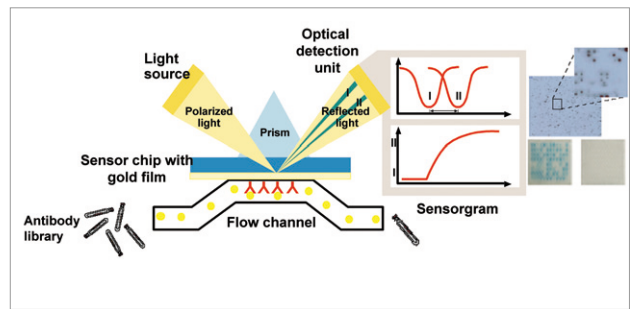
[Fig. 3] Small molecule assay using promoter- or whole cell-based system



### 인간항체 library를 이용한 면역공동 신호분자에 대한 인간단세포균 항체 제작

본 연구센터에서는 이미 phage display 기술을 이용하여  $1 \times 10^{10}$  이상의 인간항체 library를 제작하였다. 이로부터 B형 간염바이러스 (HBV)의 표면항원에 대한 인간단세포균 항체를 제작하여 *in vitro*에서 간세포에 HBV가 감염되는 것을 중화시킬 수 있음을 확인하였다. 이미 마우스 모델에서 B7-H1에 대한 단세포균항체가 *in vivo*에서 B7-H1에 의한 면역억제기능을 차단함이 증명되었기 때문에 인체에 바로 적용할 수 있는 인간단세포균 항체의 개발은 면역요법개발의 중요한 전략이 될 것이다. 본 센터에서는 기존의 항체 library의 검색에 사용하는 panning, amplification, enrichment 등의 전형적인 실험 과정을 변형하여 surface plasmon resonance (SPR) 방식에 기초하여 Biacore를 이용한 검색방법을 사용하고 있다. 이는 2-3주씩 걸리는 panning 과정을 2-3일내로 단축시키는 시간상의 절약효과 뿐 아

니라 binding kinetics에 따라 high association constant ( $K_A$ ) 혹은 low dissociation constant ( $K_D$ )를 보이는 클론들을 검색할 수 있는 장점이 있다. 지금까지 보고되어 있는 면역억제 공동분자와 면역억제 수용체들을 동물세포에서 대량으로 발현, 정제하여 이를 항원으로 사용하여 Biacore에서 이들과 특이하게 결합하는 인간단세포균 항체를 제작하고 있다. 제작된 항체는 각 리간드-수용체의 결합을 차단하는지 효과검증과정을 거쳐 인간암세포의 동물모델에 적용되게 된다. 이러한 항체에 의한 면역억제 공동분자의 차단효과로 인간암세포가 성공적으로 제거된다면 새로운 항암 면역치료요법이 개발될 것으로 기대하고 있다.



[Fig. 4] Biopanning of phage antibody library with Biacore system

# TaKaRa Custom Service

## 합성서비스

DNA 합성서비스  
RNA 합성서비스  
Double-Dye Probe 합성서비스  
siRNA 합성서비스  
Real Time PCR primer 합성서비스  
Peptide 합성서비스

## 유전자공학 관련서비스

유전자염기서열 분석서비스  
Subcloning 서비스  
PCR Subcloning(T/A cloning) 서비스  
Library 제작 서비스  
DNA 증폭(PCR 증폭) 서비스  
인공합성유전자제작  
Resequencing 서비스  
변이도입유전자제작  
미생물동정 서비스  
Cell-based assay

## DNA chip 관련서비스

DNA chip 제작서비스  
DNA chip 해석서비스

## siRNA 관련서비스

siRNA 발현 Plasmid 구축 서비스  
siRNA 발현용 재조합바이러스 제작 서비스

## Real Time PCR

Cycleave PCR/RT-PCR 해석 서비스  
SYBR Green I에 의한 정량해석 서비스

## Protein expression

대장균 Cold shock 발현계를 이용한 단백질 발현 서비스  
*E coli* & *Bacillus* 단백질 발현서비스  
포유동물 단백질 발현 서비스

## 세포 관련서비스

재조합 Retrovirus 제작 서비스  
재조합 Adenovirus 제작 서비스  
재조합 Baculovirus 제작 서비스  
항체 제작 서비스  
PixCell 시스템을 이용한 LCM 관련서비스

## 단백질관련 서비스

단백질 3차 구조해석 서비스  
단백질 · Peptide 일차구조 해석  
단백질 · Peptide의 분자량 측정

## 식품관련 유전자검사 서비스

GMO(유전자재조합식품) 검사 서비스  
한우판별 검사 서비스  
동물성 성분 검사 서비스  
PSE돈육(PSS돼지) 검사 서비스

## Human Forensic Typing 서비스

Autosomal STR typing 서비스  
mtDNA typing 서비스  
Y-chromosome haplotype typing 서비스

## Others

DNA Microbeads를 이용한 종합적 유전자 발현해석 서비스  
Riboprinter 시스템에 의한 미생물 typing  
당질분석서비스  
인공균주분양서비스  
벼품종판별서비스