

발 간 등 록 번 호
11-1471057-000576-01

바이오의약품 정보자료집

백신 항원전달시스템 기술 및 연구 동향 정보집

2022. 12.



식품의약품안전처

식품의약품안전평가원

바이오의약품연구과

이 정보집은 식품의약품안전처 식품의약품안전평가원에서 시행한 용역연구개발과제의 연구결과를 바탕으로 정보 제공을 목적으로 마련한 것입니다.

본 정보집에서 기술한 내용은 구속력을 갖지 않으며, 기존의 규정을 대체하지 않습니다. 또한 제시된 정보 등은 2022년 12월 현재의 과학적 근거를 바탕으로 기술된 것으로 최신 과학의 발전으로 수정될 수 있습니다.

또한 여기에 제시된 정보 등은 식약처의 정책이나 연구 및 심사 방향과는 다를 수 있음을 알려드립니다.

※ 과제명/주관연구기관/과제번호/총연구기간:

백신 항원전달시스템 기술 및 연구동향 조사연구/ 인제대학교산학협력단
/21172생물안722//2021.7.1.~2022.4.30

※ 본 정보집에 대한 의견이나 문의사항이 있으면 식품의약품안전평가원 의료제품연구부 바이오의약품연구과에 문의하시기 바랍니다.

전화번호: 043-719-4702, 4710

팩스번호: 043-719-4700

목 차

1. 백신 연구 개발 동향	1
1.1. 백신 항원전달시스템 분류	2
1.2. 임상 사용 및 임상 개발 단계의 항원전달시스템	4
1.3. 비임상 개발 단계의 전달시스템	14
2. 백신 항원전달시스템 기술 동향	15
2.1 플라스미드	15
2.2 바이러스벡터	17
2.3 나노 입자 기반 항원전달시스템	22
2.4 박테리아 벡터	35
2.5 바이러스 유사 입자	39
2.6 세포 및 인공 세포	43
2.7 세포외 소포	46
3. 향후 백신 개발 전망	50
3.1. 다가 백신	50
3.2. 점막 백신	51
3.3. T 세포 targeting 백신	53
4. 참고문헌	

1. 백신 연구 개발 동향

코로나19의 전 세계적인 유행으로 인하여 감염병에 대항하는 전략에 대한 요구가 높아졌으며, 이러한 전략의 중심에는 인공적으로 면역력을 획득하는 백신이 있다. 코로나19 외에도 사스, 메르스, 에이즈, 지카, 신종플루 및 조류 인플루엔자 등에 대응하기 위한 새로운 백신 개발이 현재까지도 계속되고 있다. 감염병에 대한 예방 백신뿐만 아니라, 암 환자를 대상으로 하는 암 치료 백신은 암항원 특이적인 면역 반응을 유도함으로써 기존의 항암 치료 효과를 개선할 수 있는 전략으로 주목받고 있다.

성공적인 백신 개발을 위해 최적의 항원 선정, 항원전달시스템 기술, 최적의 면역 증강제 개발, 그리고 백신 제조 단계의 문제들을 극복하는 것이 필요하다. 이러한 진보들은 앞으로 신종 바이러스가 출현하였을 때 빠르게 대처하는 데 기여할 수 있고, 현재의 감염 질환에 대한 예방 백신의 한계를 극복할 수 있는 해결책이 될 수 있으며, 암과 같은 난치병에 대한 치료 백신의 개발에 활용될 수 있다.

백신 개발 플랫폼을 보유한 다양한 연구소와 기업에서 백신 개발을 동시다발적으로 시작하였으며, 선두 그룹에서 개발한 백신이 현재 허가 승인이 되어 활용되고 있다. 임상시험이 완료되었거나 진행 중인 코로나19 백신들을 분석해보면, 기존에 임상적으로 활용되어 온 전세포 백신 및 subunit 백신과 같은 전통적인 백신 형태에 국한되지 않고, DNA 백신, mRNA 백신 및 바이러스 벡터 백신과 같은 임상적으로 활용되지 않았던 신규 백신이 큰 비중을 차지하고 있으며, 신속한 개발 및 제조가 가능한 코로나19 mRNA 백신 및 바이러스 벡터 백신이 최종 허가 승인되어 성공적으로 시장에 등장하게 되었다.

최근 주목을 받는 유전자 백신은 유전자 조각 단독으로 투여되지 못하고, 항원전달시스템이 필수적으로 요구된다. 백신에서 항원전달시스템은 충분한 양의 항원을 체내로 전달하는 것뿐만 아니라, 때로는 면역원성을 향상시키는 면역증강제로서의 기능을 수행하기도 한다. 또한, 항원전달시스템에 의하여 최종 제품의 물리화화학적 특성이 결정되어 안정성을 결정하는 인자가 되기도 한다. 본 연구에서는 백신에서 활용되고 있는 항원전달시스템에 대하여 항원 전달 효능, 유효성, 안전성, 물리화학적, 생물학적 특성 등을 분석하고, 추가로 앞으로 임상적으로 활용 가능성이 있는 신규 항원전달시스템을 소개하고자 한다.

1.1 백신 항원전달시스템 분류

백신은 항원 특이적인 면역 반응을 유도하기 위하여 사용되는 인공적인 방법으로서, 크게 항원과 면역증강제 등으로 구성이 된다. 백신 면역화를 통해 항원 특이적인 면역 반응을 형성하고, 이를 통해 형성된 기억세포에 의하여 강력한 2차 면역 반응을 유도하여 방어력을 획득할 수 있다.

백신은 항원의 형태에 따라 감염체 전체를 이동한 전세포(whole cell) 기반의 생백신과 사백신, 그리고 감염체의 일부를 사용하는 subunit 백신으로 구분이 된다 (표 1). 약독화 생백신은 감염 과정을 모방하여 면역반응을 효율적으로 유도할 수 있으나, 면역력이 약한 숙주에서는 감염을 일으킬 수 있다. 사백신은 사멸화되어 병원성이 없으나, 상대적으로 약한 면역원성으로 인하여 여러 번의 면역화가 필요할 수 있으며, 사멸화 과정에서 항원성이 변형될 가능성이 있다. Subunit 백신은 전세포 백신 대비 안전하고 원하는 항원 특이적인 반응을 활성화할 수 있다는 것이 특징이며, 성공적인 백신 개발을 위해서는 효과적인 항원의 선정이 중요하다. Subunit 백신은 항원의 세부 유형에 따라 재조합 단백질 백신, 다당류 백신, 변독소 백신 등으로 구분된다. 또한, 바이러스의 유전자를 포함하지 않은 바이러스 단백질만으로 구성된 바이러스 유사입자도 subunit 백신으로 구분할 수 있다.

백신 유형 중 전세포백신의 경우, 전체 병원체를 약독화 혹은 사멸시켜 백신을 제조하므로 추가적인 항원전달시스템을 요구하지 않으며, subunit 백신도 항원의 종류에 따라서는 항원전달시스템 없이 항원 단독으로 백신의 효과를 유도하기도 한다. 그러나 상대적으로 면역원성이 낮은 펩티드 항원의 경우 적절한 항원전달시스템, 혹은 면역증강제를 통해 면역원성을 개선하는 것이 필요하다. 그 외에도 재조합 단백질은 그 자체로 백신이 구성되기도 하나, 바이러스유사입자 혹은 자기결합나노입자와 같이 입자성을 띄게 되면 면역원성이 강화되는 작용을 기대할 수 있다. 또한, 유전자 백신의 경우, 숙주세포로의 낮은 전달 효율, 약한 면역원성, 물리화화학적 불안정성 등으로 인하여 적절한 항원전달시스템이 필수적이다. 지질 기반의 항원전달시스템, 플라스미드, 바이러스 벡터, 박테리아 벡터 등 다양한 항원전달시스템이 적용되어 개발되고 있다.

표 1. 임상에서 사용되는 백신의 형태에 따른 분류 및 대표적 적응증

항원의 형태	항원의 세부 유형	대표적 적응증
전세포 (whole cell)	live attenuated	홍역, 유행성이하선염, 풍진, 소아마비, 결핵
	inactivated	A형 간염, 소아마비, 인플루엔자, 광견병
아단위 (subunit)	다당류	수막구균 감염, 폐렴구균성 폐렴, 헤모필러스 인플루엔자 type b
	변독소	디프테리아, 파상풍
	바이러스유사입자	B형 간염, 자궁경부암, E형 간염, 코로나19
유전자	DNA	코로나19
	mRNA	코로나19
세포에 적재된 항원	세포용해물	암

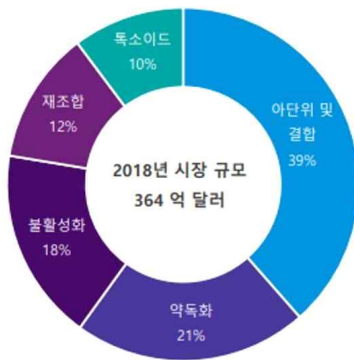
표적하는 항원을 단백질 혹은 다당류 수준이 아닌 유전자 형태로 활용하게 되면, 상대적으로 빠르고 쉬운 백신 설계, 개발 단계의 단축이 가능해진다. 초기에는 플라스미드 DNA 백신으로 유전자 백신이 시작되었으나, 낮은 유전자 전달 효율로 인하여 백신의 면역원성이 약한 것이 문제로 대두되었다. 이를 극복하기 위한 전략으로서, 효율적인 전달시스템의 활용 및 효과적인 면역보강제의 적용이 연구되었다. 최근 코로나19 백신으로 승인된 바이러스벡터 기반의 아데노바이러스 벡터 백신은 높은 유전자 전달 효율과 함께 면역 반응의 활성화를 유도할 수 있다. DNA 백신은 숙주 세포의 핵 안으로 이동하여 전사를 거쳐 mRNA가 되고, mRNA가 세포질로 이동하여 번역이 되면 단백질 항원을 생산할 수 있으나, mRNA 백신은 숙주 세포의 세포질에서 바로 번역을 통해 단백질 항원을 생산한다는 점이 장점이 될 수 있다. 다만, mRNA는 DNA에 비하여 안정성이 낮아서 임상적 활용에 제약이 있었으며, 현재는 지질나노입자를 항원전달시스템으로 활용하여 유전자 전달 효율을 개선함으로써 임상 효과를 입증하고 코로나19 적응증에서 승인되어 활용되고 있다.

또 다른 백신의 유형은 세포 기반 백신으로 항원은 세포에 적재한 형태로 체내로 투여된다. 현재 암 환자를 대상으로 하는 암 치료 백신이 많이 개발되고 있다. 특히 저항성 전립선암환자를 대상으로 임상 승인되어 치료에 활용되고 있는데, 이 백신은 환자 유래의 수지상세포에 암세포 용해물을 적용하여 제작하고 있다.

1.2. 임상 사용 및 임상 개발 단계의 항원전달시스템

기존의 백신 시장은 subunit 백신 및 단백질접합 백신, 그 외 전세포 백신 등으로 구성되어 있었으나(그림 1), 코로나19 백신 시장은 빠른 개발이 가능한 유전자 형태 (바이러스 벡터 및 mRNA)의 백신이 선두가 되고 있다.

타입별 백신 시장 구분



질환별 백신 시장 구분

(십억 달러, %)

구분	2018		2028		'18~'28 CAGR
	시장 규모	비중	시장 규모	비중	
페럼구균	6.96	19.1%	14.56	14.1%	7.7%
DTP	6.29	17.3%	20.83	20.1%	12.7%
인플루엔자	4.91	13.5%	14.48	14.0%	11.4%
암	4.23	11.6%	15.94	15.4%	14.2%
HPV	3.43	9.4%	9.10	8.8%	10.2%
수막구균	2.55	7.0%	7.42	7.2%	11.3%
간염	1.59	4.4%	4.79	4.6%	11.7%
MMR	1.96	5.4%	4.9	4.7%	9.6%
로타바이러스	1.28	3.5%	3.52	3.4%	10.6%
수두	0.98	2.7%	2.01	1.9%	7.4%
기타	2.21	6.1%	6.02	5.8%	10.5%
합계	36.39	100.0%	103.57	100.0%	-

Source: 생명공학정책연구센터, BIS Research 'Global Vaccine Market', 삼성KPMG 경제연구원 재구성

그림 2 항원의 형태 별 백신 시장의 점유율

유전자 백신은 신속한 개발 및 제조가 가능하고 실제 임상적으로 먼저 활용되기 시작하였다. mRNA 백신 개발사 모더나는 바이러스 서열 분석 2개월 만에 임상시험을 진입하였다. 또한 바이러스 벡터 백신은 높은 수준의 단백질 발현 및 강력한 면역 반응 유도가 기대될 수 있는 유전자 백신으로 분류될 수 있다. 한편, 유전자 수준이 아닌 재조합 단백질 백신은 B형 간염 백신 등 이미 임상적으로 활용되는 형태로서, 기존의 대량 생산 시설을 활용 가능하며, 상대적으로 안전성이 입증된 백신이라는 장점이 있다. 그 외에도 전세포 불활성화 백신 및 약독화 생백신의 형태 및 세포 기반 백신 등도 개발이 진행되고 있다.

현재 새로운 항원전달시스템을 활용하여 임상 개발중인 백신은 대부분 코로나19 백신이며 이를 분석해보면 (그림 2), 현재 임상 개발 중인 백신이 121건, 비임상 개발 중인 백신이 194 건으로

확인되고 있다. 이외에 임상 개발 단계의 백신 후보군 중 가장 많은 비율을 차지하는 플랫폼은 subunit 백신으로 36%를 차지하였으며, RNA 백신, nonreplicating virus vector 백신, 불활화 바이러스 백신이 각각 17%, 15%, 13%로 뒤를 이었다.

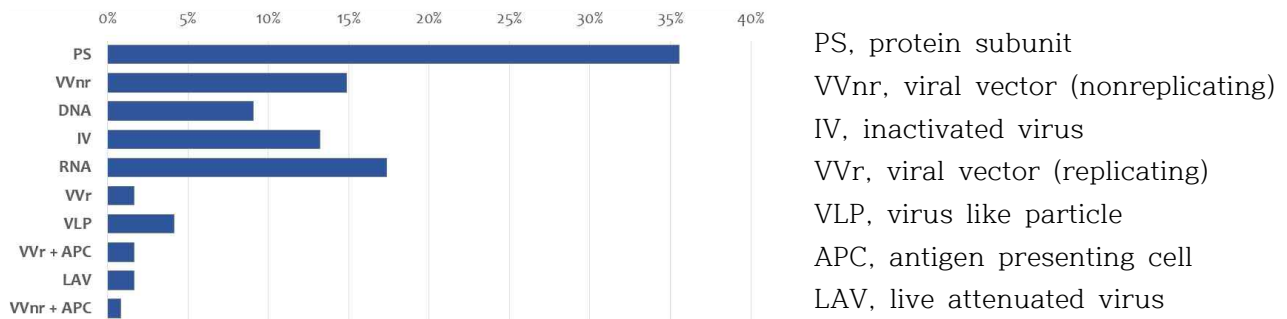


그림 3 임상 개발 단계의 코로나19 백신 후보군의 백신 플랫폼 분석 (adjusted from WHO document)

임상 개발 단계의 코로나19 백신 121건 중 항원전달시스템를 사용하는 64종의 백신 플랫폼을 분석한 결과, 지질나노입자 (lipid nanoparticle, LNP) 시스템이 30%, 비복제형 바이러스 벡터가 29%, 플라스미드 형태가 14% 순으로 확인되었다. 그 외에도 바이러스 유사 입자 혹은 자가조립 나노입자들의 형태가 관찰되고 있다 (그림 3과 표 2).

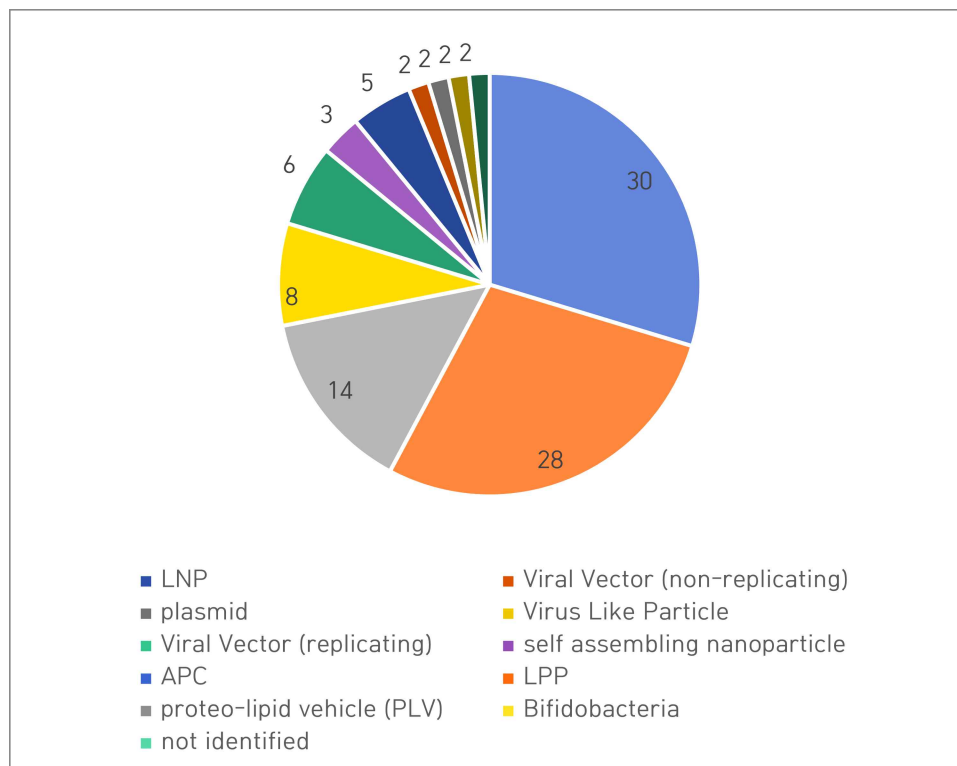


그림 4 임상 개발 단계의 코로나19 백신 후보군의 백신 항원전달시스템 분석 결과 (adjusted from WHO document) (21년9월기준)

임상 개발 단계의 코로나19 백신 중 비복제형 바이러스 벡터 형태의 대부분은 항원전달시스템으로 침팬지 혹은 인간의 아데노바이러스를 사용하고 있으며, 그 외 adeno-associated virus (AAV), parainfluenza virus (PIV) 등의 바이러스도 개발 단계에 있다. 복제형 바이러스 벡터로서는 안전성이 입증된 vesicular stomatitis virus(VSV)등이 활용되고 있다. 특히 바이러스 벡터 백신의 경우 비복제형 형태와 복제형 형태에서 모두 비강내 혹은 경구 투여 경로가 시도되고 있다는 것을 확인할 수 있다.

백신 항원전달시스템으로서 바이러스 벡터는 안전성과 protective immunity를 유도하는 것이 중요하다. 최근 다양한 DNA 바이러스 및 RNA 바이러스가 백신 전달시스템으로서 연구, 개발되고 있으며, 여기에는 attenuated vaccinia virus, replication-defective adenovirus, VSV, human PIV, 등이 포함된다. 바이러스 벡터들이 갖는 한계로서, 일부 vaccinia virus는 면역원성이 낮은 문제가 지적되고 있으며, replication-defective adenovirus vector는 높은 dose가 필요로 한다. VSV는 인간에서 안전성 이슈가 있으며, human PIV 백신은 기존에 존재하는 벡터 특이적인 면역반응으로 인하여 백신 효과가 기대에 못 미치는 결과가 보고되고 있다.

바이러스의 경우 복제 가능 여부와 무관하게 숙주세포에 감염이 되어 항원을 발현시키는 것이 일반적이나, CoviVac의 경우 newcastle disease virus (NDV) 바이러스 벡터의 형태로 코로나19 바이러스 항원을 포함하는 형태로 구성되어 있으며, 내부에 바이러스 유전 물질도 포함하고 있으나, 이후 불활성화 과정을 통해 실제 바이러스가 숙주 세포에서 감염이 일어나지 않는 점은 다른 바이러스 벡터와는 차이점으로 분석될 수 있다. 따라서 기전적으로는 불활성화 바이러스 백신과 유사하게 면역 반응을 유도하게 된다.

임상 개발 단계의 코로나19 백신 중 DNA 백신의 대부분은 플라스미드의 형태로 투여되고 있다. 그 외에, Covigenix VAX-001는 proteo-lipid vehicle(PLV)을 항원전달시스템으로 활용하여 표적 세포막과 fusion을 유도함으로써 내부의 플라스미드 DNA를 endocytosis 경로를 우회하여 효율적으로 세포질로 이동시킬 수 있는 기술이 적용된 백신이다.

DNA를 전달하기 위한 시스템으로 virus가 아닌 Bifidobacteria를 항원전달시스템으로 활용되기도 한다. 현재 개발 중인 bacTRL-Spike oral DNA vaccine은 경구 투여를 위하여 감염이 되는 박테리아를 사용하였으며, 이를 통해 점막 면역 관용을 극복하고 백신의 효과를 유도할 수 있는 기전을 가지고 있다.

임상 개발 단계의 코로나19 백신 중 가장 많은 비율을 차지하고 있는 mRNA 백신의 대부분은 항원전달시스템으로 LNP를 채택하고 있다. LNP도 구성 성분 및 비율에 따라 물리화화학적 특성

및 mRNA 전달 효율이 달라질 수 있다. 또한 core-shell structured lipopolyplex (LPP)를 사용한 mRNA 백신이 확인되고 있다. 그 외에도 liposome의 형태가 mRNA 항원전달시스템으로 적용될 가능성이 있다.

바이러스 유사 입자 백신은 근육 주사 혹은 피하 주사의 형태로 투여되고 있으며, 면역원성을 증가시키기 위한 면역 증강제를 별도로 포함하는 형태로 활용되고 있다. 단백질 subunit 백신의 경우에도 이들의 면역원성을 증강시키기 위하여 자가조립 나노입자를 core로 하여 백신을 제작하는 기술들이 활용되고 있다. 대표적으로 SK바이오사이언스의 GBP510은 ‘수용체 결합 단백질’(RBD)와 워싱턴대 항원디자인연구소(IPD)의 ‘자가조립 나노입자’(Self Assembly Nanoparticle) 기술이 접목되어 단백질 subunit 백신의 약한 면역원성이 개선될 것으로 예상된다.

표 2. 임상시험 진행중인 코로나19 백신의 플랫폼 기술 및 항원전달시스템

ID	백신 플랫폼	백신 유형	투여경로	전달 시스템	개발사	임상 단계
1	Viral vector (Non-replicating)	ChAdOx1-S - (AZD1222) /Covishield/ Vaxzevria	IM	Ad	AstraZeneca + University of Oxford	Phase 4
2		Recombinant novel coronavirus vaccine (Adenovirus type 5 vector)	IM	Ad	CanSino Biological Inc./Beijing Institute of Biotechnology	Phase 4
3		Gam-COVID-Vac Adeno-based (rAd26-S+rAd5-S)	IM	Ad	Gamaleya Research Institute ; Health Ministry of the Russian Federation	Phase 3
4		BBV154, Adenoviral vector covid19 vaccine	IN	Ad	Bharat Biotech International Limited	Phase 1
5		Chimpanzee Adenovirus serotype 68 (ChAd) and self-amplifying mRNA (SAM) vectors expressing spike alone, or spike plus additional SARS-CoV-2 T cell epitopes.	IM	Ad	Gritstone Oncology	Phase 1
6		SC-Ad6-1, Adenoviral vector vaccine	IM	Ad	Tetherex Pharmaceuticals Corporation	Phase 1
7		AZD2816; adenoviral vector ChAdOx platform and based on the Beta (B.1.351) variant	IM	Ad	AstraZeneca + University of Oxford	Phase 2/3
8		Ad26.COVS.2.S	IM	Ad	Janssen Pharmaceutical Johnson & Johnson	Phase 4

9		GRAd-COV2 (Replication defective Simian Adenovirus (GRAd) encoding S)	IM	Ad	ReiThera + Leukocare + Univercells	Phase 2/3
10		VXA-CoV2-1 Ad5 adjuvanted Oral Vaccine platform	Oral	Ad	Vaxart	Phase 1
11		AdCLD-CoV19 (adenovirus vector)	IM	Ad	Cellid Co., Ltd.	Phase 1/2
12		Human Adenovirus Type 5: hAd5 S+N bivalent vaccine (S-Fusion + N-ETSD). E2b-Deleted Adeno.	SC or Oral or sublingual (SL)	Ad	ImmunityBio, Inc	Phase 1/2
13		AAV5-RBD-S vaccine (BCD-250), A recombinant Adenovirus-Associated viral Vector (AAV-5) encoding spike protein	IM	AAV	Biocad	Phase 1/2
14		Parainfluenza virus 5(PIV5) vector that encodes the SARS-CoV-2 spike protein	IN	PIV5 vector	CyanVac LLC	Phase 1
15		MVA-SARS-2-S/a poxvirus-based vector vaccine	IM	MVA	University of Munich (Ludwig-Maximilians)	Phase 1
16		Modified Vaccinia Virus Ankara (MVA) vector expressing a stabilized SARS-CoV-2 spike protein	IM	MVA	German Center for Infection Research	Phase 1/2
17		COH04S1 (MVA-SARS-2-S) - Modified vaccinia ankara (sMVA) platform + synthetic SARS-CoV-2	IM	MVA	City of Hope Medical Center + National Cancer Institute	Phase 1
18		COVIVAC. Newcastle Disease Virus (NDV) expressing membrane-anchored pre-fusion-stabilized trimeric SARS-CoV-2 S protein +/- adjuvant CpG 1018 / inactivated NDV	IM	NDV	Institute of Vaccines and Medical Biologicals, Vietnam	Phase 1/2
19	Viral vector (Replicating)	Live recombinant Newcastle Disease Virus (rNDV) vector vaccine	IM or IN	NDV	Laboratorio Avi-Mex	Phase 1
20		DeINS1-2019-nCoV-RBD-OPT1 (Intranasal flu-based-RBD)	IN	flu	University of Hong Kong, Xiamen University and Beijing Wantai Biological Pharmacy	Phase 2
21		rVSV-SARS-CoV-2-S Vaccine (IIBR-100)	IM	rVSV	Israel Institute for Biological Research	Phase 2/3
22		MV-014-212, a live attenuated, recombinant human respiratory syncytial virus (RSV) expressing	IN	RSV	Meissa Vaccines, Inc.	Phase 1

		a chimeric SARS-CoV-2 spike as the only viral envelope protein.				
23	Virus like particle	RBD SARS-CoV-2 HBsAg VLP vaccine	IM	VLP	Serum Institute of India + Accelagen Pty + SpyBiotech	Phase 1/2
24		Coronavirus-Like Particle covid19 (CoVLP)/with a squalene-based immunologic adjuvant used in various vaccine products by GlaxoSmithKline (GSK)	IM	VLP	Medicago Inc.	Phase 3
25		VBI-2902a. An enveloped virus-like particle (eVLP) of SARS-CoV-2 spike (S) glycoprotein and aluminum phosphate adjuvant.	IM	VLP	VBI Vaccines Inc.	Phase 1/2
26		ABNCoV2 capsid virus-like particle (cVLP) +/- adjuvant MF59	IM	VLP	Radboud University	Phase 1
27		SARS-CoV-2 VLP Vaccine (adjuvanted with alum and CpGODN-K3)	SC	VLP	The Scientific and Technological Research Council of Turkey	Phase 2
28	self-assembling nanoparticle	GBP510, a self-assembling nanoparticle developed at the Institute for Protein Design (IPD) at the University of Washington/Component A is a recombinant protein comprised of a portion of the SARS-CoV-2 Spike protein/component A proteins are then attached to the surface of component B, a "central core" nanoparticle.	IM	self-assembling nanoparticle	SK Bioscience Co., Ltd. and CEPI	Phase 3
29		SpFN (spike ferritin nanoparticle) uses spike proteins with a liposomal formulation QS21 (ALFQ) adjuvant.	IM	self-assembling nanoparticle	Walter Reed Army Institute of Research (WRAIR)	Phase 1
30	DNA based vaccine	CORVax - Spike (S) Protein plasmid DNA Vaccine	ID	plasmid	Providence Health & Services	Phase 1
31		GLS-5310	ID	plasmid	GeneOne Life Science, Inc.	Phase 1/2
32		COVIGEN	ID or IM	plasmid	University of Sydney, Bionet Co., Ltd Technovalia	Phase 1
33		COVID-eVax, a candidate plasmid DNA vaccine of the Spike protein	IM	plasmid	Takis + Rottapharm Biotech	Phase 1/2

34		INO-4800+electroporation	ID	plasmid	Inovio Pharmaceuticals + International Vaccine Institute + Advaccine (Suzhou) Biopharmaceutical Co., Ltd	Phase 2/3
35		AG0301-COVID19	IM	plasmid	AnGes + Takara Bio + Osaka University	Phase 2/3
36		nCov vaccine	ID	plasmid	Zydus Cadila	Phase 3
37		GX-19N	IM	plasmid	Genexine Consortium	Phase 1/2
38		AG0302-COVID19	IM	plasmid	AnGes, Inc	Phase 1/2
39		Covigenix VAX-001 - DNA vaccines + proteo-lipid vehicle (PLV) formulation	IM	proteo-lipid vehicle (PLV)	Entos Pharmaceuticals Inc.	Phase 1
40		bacTRL-Spike, genetically modifying probiotic bacteria. Upon administration, the bacteria shepherd their genetic payloads through the upper gastrointestinal tract and then colonize the large intestine.	Oral	Bifidobacteria	Symvivo Corporation	Phase 1
41	RNA based vaccine	ChulaCov19 mRNA vaccine/SARS-Cov2 Wild-type S-spike mRNA/ lipid nanoparticle (LNP) vaccine	IM	LNP	Chulalongkorn University	Phase 1
42		LNP-nCoVsaRNA	IM	LNP	Imperial College London	Phase 1
43		LNP-nCOV saRNA-02 vaccine; Self-amplifying RNA (saRNA) encapsulated in lipid nanoparticles (LNP)	IM	LNP	MRC/UVRI and LSHTM Uganda Research Unit	Phase 1
44		mRNA-1273.211. A multivalent booster candidate combining mRNA-1273 plus mRNA-1273.351.	IM	LNP	ModernaTX, Inc.	Phase 2/3
45		ARCT-154 mRNA Vaccine	IM	LNP	Arcturus Therapeutics, Inc.	Phase 2/3
46		ARCT-165 mRNA Vaccine	IM	LNP	Arcturus Therapeutics, Inc.	Phase 1/2
47		ARCT-021 mRNA Vaccine	IM	LNP	Arcturus Therapeutics, Inc.	Phase 1/2
48		ARCT-021	IM	LNP	Arcturus Therapeutics	Phase 2
49		SARS-CoV-2 mRNA vaccine (ARCoV)	IM	LNP	Academy of Military Science (AMS), Walvax Biotechnology and Suzhou Abogen	Phase 3

					Biosciences	
50		mRNA-1273	IM	LNP	Moderna + National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID)	Phase 4
51		BNT162b2 (3 LNP-mRNAs), also known as "Comirnaty"	IM	LNP	Pfizer/BioNTech + Fosun Pharma	Phase 4
52		CVnCoV Vaccine	IM	LNP	CureVac AG	Phase 3
53		MRT5500, an mRNA vaccine candidate	IM	LNP	Sanofi Pasteur and Translate Bio	Phase 2
54		HDT-301: Self-replicating mRNA vaccine formulated as a lipid nanoparticle.	IM	LNP	SENAI CIMATEC	Phase 1
55		mRNA-1283	IM	LNP	ModernaTX, Inc.	Phase 1
56		PTX-COVID19-B, mRNA vaccine	IM	LNP	Providence Therapeutics	Phase 1
57		CoV2 SAM (LNP) vaccine. A self-amplifying mRNA (SAM) lipid nanoparticle (LNP) platform + Spike antigen	IM	LNP	GlaxoSmithKline	Phase 1
58		mRNA-1273.351. A lipid nanoparticle (LNP)-encapsulated mRNA-based vaccine that encodes for a full-length, prefusion stabilized S protein of the SARS-CoV-2 B.1.351 variant.	IM	LNP	Moderna + National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID)	Phase 4
59		DS-5670a, mRNA vaccine	IM	LNP	Daiichi Sankyo Co., Ltd.	Phase 1/2
60		core-shell structured lipopolyplex (LPP)-based mRNA vaccine (SW0123) against SARS-CoV-2	IM	LPP	Shanghai East Hospital and Stemirna Therapeutics	Phase 1
61		EXG-5003; a temperature-sensitive self-replicating RNA vaccine expressing the receptor binding domain of the SARS-CoV-2 spike protein.	ID	N. I.	Elixirgen Therapeutics, Inc	Phase 1/2
62	Cell-based vaccine	covid19/aAPC vaccine is prepared by applying lentivirus modification with immune modulatory genes and the viral minigenes to the artificial antigen presenting cells (aAPCs).	SC	aAPC	Shenzhen Geno-Immune Medical Institute	Phase 1
63		LV-SMENP-DC vaccine.	SC & IV	APC	Shenzhen	Phase

		Dendritic cells are modified with lentivirus vectors expressing covid 19 minigene SMENP and immune modulatory genes.			Geno-Immune Medical Institute	1/2
64		Dendritic cell vaccine consisting of autologous dendritic cells loaded with antigens from SARS-CoV-2, with or without GM-CSF	IM	DC	Aivita Biomedical, Inc. NationalInstituteofHealth ResearchandDevelopme nt,MinistryofHealthRepu blicofIndonesia	Phase 2

비임상 개발 단계의 코로나19 백신을 분석해보면 (그림 4), 가장 많은 비율을 차지하는 플랫폼은 임상 개발 현황과 동일하게 subunit 백신으로 39%를 차지하였으며, 비복제형 바이러스 벡터 백신, RNA 백신, 복제형 바이러스 벡터 백신, 바이러스 유사입자 백신이 각각 13%, 12%, 10%, 9%로 확인되었다. 임상 승인된 백신 혹은 임상 개발 중인 백신의 현황과 비교하여, 현재 연구 단계 (비임상 개발 단계)에서는 복제형 바이러스 벡터 백신과 바이러스 유사 입자 백신이 상대적으로 비중이 높게 관찰되고 있다. 특히 복제형 바이러스 벡터 백신의 투여 경로의 많은 부분이 비강 투여로 진행되고 있는 점을 고려하면, 현재 전신투여 백신의 여러 한계를 극복하기 위한 대안으로 점막 투여 경로가 주목받고 있는 것으로 분석된다.

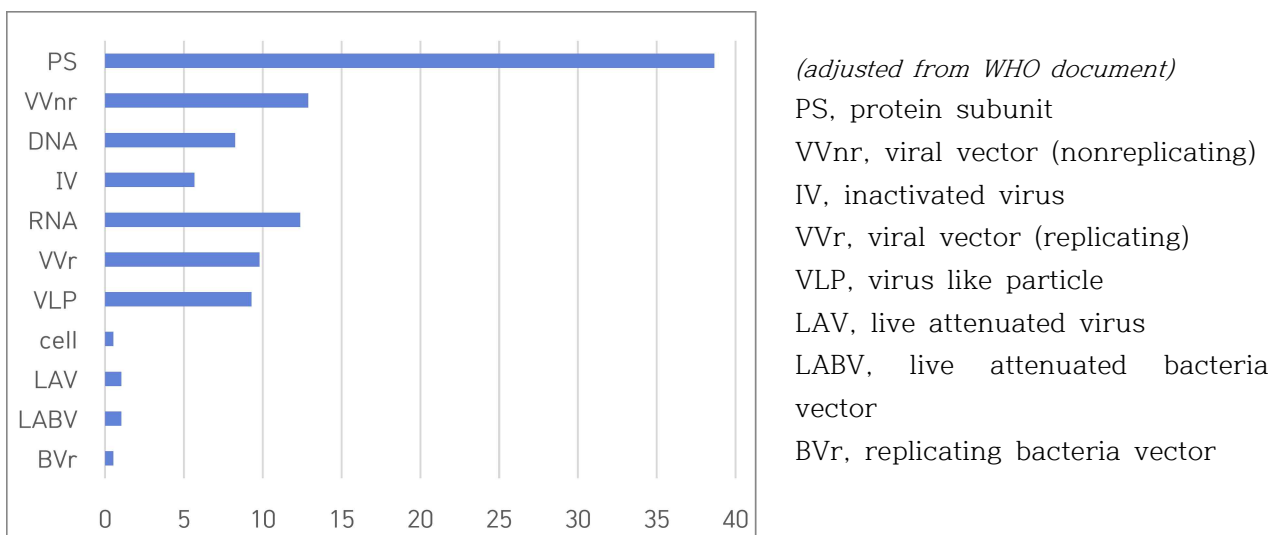


그림 5 비임상 개발 단계의 코로나19 백신 후보군의 백신 플랫폼 분석

표 2에서는 코로나19를 포함한 다양한 적응증을 대상으로 임상 및 임상시험 단계에 진입한 백신의 항원전달시스템과 이러한 항원전달시스템이 주로 전달하는 항원의 유형이다. 전달물질은 기술의 발달에 따라 앞으로 더욱 확장될 것으로 예상된다. 코로나19의 전세계적인 유행으로

인하여 거의 모든 형태의 백신 플랫폼에서 코로나19 바이러스에 대한 백신이 개발되었다. 그 외에도 HIV-1, 메르스, 지카, 에볼라 등 바이러스 감염증이 다양한 플랫폼에서 개발이 진행되어 왔다. 병원성이 없는 박테리아 벡터는 경구로 투여되는 점막 백신으로 활용되어 녹농균, 이질 등 세균 감염증에 대한 백신으로 개발되고 있다. 넓은 범위로는 subunit 백신으로 분류가능한 바이러스 유사입자, 박테리아 유사입자, 자기결합 나노입자는 모두 입자로 이루어져 있고, 이들은 단백질 항원 단독에 비하여 면역원성이 개선될 수 있으며, HPV (자궁경부암) 백신을 포함한 다양한 적응증에서 허가 승인 혹은 임상시험이 진행 중이다. 세포 기반 백신은 세포를 배양하는 단계로 인하여 제조 비용이 고가라는 단점이 있으나, 암, HIV-1과 같은 난치병을 치료하기 위하여 적용될 수 있었으며, 현재 코로나19 적응증으로도 백신이 임상시험 진행 중으로 확인되고 있다. 세포외 소포체에는 암세포 유래 소포체 및 박테리아 유래 OMV가 포함되며, 암 및 Neisseria 에 대한 백신으로 임상시험 진행 중이다.

표 2. 임상 사용 및 임상 개발 단계의 백신 항원전달시스템

항원전달시스템		대표적인 전달 물질 유형	대표적 적응증
플라스미드		유전자	HIV-1, 메르스, 지카, 에볼라, 코로나19, 말라리아, 암
바이러스	비복제형		HIV-1, 메르스, RSV, 코로나19, 암
	복제형	유전자, 단백질	HIV-1, 지카, RSV, 코로나19, 암
지질 기반 항원전달시스템		펩티드, 유전자	HIV-1, 공수병, 지카, 인플루엔자, 코로나19, 결핵, 암
박테리아		유전자, 단백질	인플루엔자, H. pylori, 코로나19, 장관독소원성대장균, 녹농균, 이질, 암
바이러스 유사입자		단백질	코로나19, 인플루엔자, RSV, HBV, 말라리아, 암
박테리아 유사 입자			RSV, 인플루엔자
자기결합나노입자			코로나19
항원 제시 세포		세포용해물, 단백질, 펩티드	HIV-1, 코로나19, 암
세포외 소포체		단백질, 유전자	암, Neisseria meningitidis(OMV)

항원전달시스템은 현재 조절하기 어려운 각종 질환에 대한 백신 개발에 크게 구분 없이 적용되고 있다는 것을 알 수 있다(표2). 병원체(또는 암)에 따라 방어면역에 관여하는 T세포, B세포 등 면역 세포의 기여도가 다르며, 병원체(또는 암)의 면역 회피 기작 및 면역 억제 기작이 다르므로, 모든 질환에 대한 최적의 항원전달시스템을 결정하기는 어려울 수 있다. 따라서 백신 개발 과정에서는 병원체의 기작 이해를 바탕으로 가장 효과적인 백신을 설계하게 된다. 이러한 백신 설계는 항원(들), 항원전달시스템, 면역증강제, 투여 경로, 개발 기간 및 비용 등이 모두 종합적으로 고려된다. 결과적으로 특정 질환(예, 코로나19)에 대하여 최적의 항원전달시스템을 결정하기는 어려우며, 최종 형태의 백신(항원+면역증강제+항원전달시스템)의 평가는 유효성, 안전성, 안정성 등을 기준으로 진행할 수 있겠다.

1.3. 비임상 개발 단계의 전달시스템

앞서 소개한 항원전달시스템 이외에도, 아직 임상시험 단계까지 진입되지는 않았으나, 신규 항원전달시스템이 연구 개발되어 보고되고 있다 (표 3). 대부분 항원을 encoding하는 유전자 전달체로서 개발되고 있으며, 그 외에 단백질 항원 등도 전달 가능하다. 바이러스 중 세균을 감염하는 박테리오파지는 초기에는 생물학적인 항 세균전략으로 연구되었으며, 최근 파지 표면에 디스플레이된 항원을 전달하는 백신 플랫폼으로 개발되고 있다. 입자 기반 항원전달시스템은 화학적인 성분에 따라 유기 나노 입자와 무기 나노입자로 구분되는데, 유기 나노 입자로서 현재 임상적으로 활용되고 있는 것은 지질 기반 입자이며, 지질이 아닌 폴리머 기반 입자 역시 항원을 전달하는 시스템으로 활용이 가능하다. 무기 나노입자는 유기나노입자에 비하여 생체친화도가 낮을 것으로 우려되어 아직 임상적으로 개발 단계는 아니나, 안정성 측면에서 기존 나노입자에 비해 개선된 특징이 있다. 지질 기반 나노입자 중에서도 high-density lipoproteins (HDL) 및 - Microbubble ultrasound contrast agent (MCA)와 같은 새로운 형태의 입자를 항원전달시스템으로 활용 가능하다는 연구가 진행되고 있으며, 구체적으로는 각론에서 다시 소개할 예정이다. 향후 지속적인 연구를 통하여 이러한 신규 항원전달시스템이 좀 더 검증되고 최적화되면, 앞으로 임상시험을 거쳐서 현재의 백신의 한계를 극복한 신개념의 백신으로 활용될 것으로 기대된다.

표 3. 비임상 개발 단계의 항원전달시스템

항원전달시스템	항원 유형
박테리오파지	단백질
폴리머 기반 입자 (polymeric nanoparticle, micelle)	유전자, 단백질
무기 나노입자 (Silica nanoparticle, iron oxide nanoparticle, gold nanoparticle)	유전자, 단백질
High-density lipoproteins (HDL)	유전자, 단백질
Microbubble ultrasound contrast agent (MCA)	유전자, 단백질

2. 백신 항원전달시스템별 기술 동향

고전적인 형태의 전세포 백신, 그리고 표적 항원 특이적인 면역 반응 활성화가 가능한 subunit 백신에 이어 유전자 백신이 임상적으로 활용되고 있다. 특히 유전자 형태의 백신은 숙주 세포로의 전달이 단백질 항원을 생성하기 위하여 반드시 요구되며, 따라서 전달 효율이 백신 효능을 좌우하게 된다. 그뿐만 아니라 유전자 백신의 낮은 면역원성을 보완할 수 있는 면역 증강제를 추가로 조합하거나, 혹은 항원전달시스템이 면역 증강 활성을 가지게 설계되기도 한다. 유전자를 전달하기 위한 전달시스템은 크게 플라스미드, 바이러스 벡터 및 비바이러스 벡터인 지질 기반 입자로 구분할 수 있으며, 기타 박테리아 벡터 등도 연구되고 있다.

subunit 백신은 원하는 항원 특이적인 면역 반응을 선택적으로 유도할 수 있다는 장점이 있으나 상대적으로 면역원성이 약한 단점이 있으며, 이는 면역증강제와 병합으로 개선할 수 있다. 또다른 전략으로는 입자를 형성하여 항원 단백질 단독으로 투여되었을 때에 비하여 면역원성이 개선된 재조합 단백질 백신이 개발되고 있는데, 바이러스유사입자 및 자기결합 나노입자가 여기에 포함된다.

2.1 플라스미드

가. 정의 및 작용 기전

플라스미드는 세포의 염색체와 독립적으로 구분되어 자가 증식이 가능한 DNA를 의미하며,

이들은 세균 및 고세균, 진핵생물의 세포에서도 관찰되고 있다. 인공적으로 제작한 플라스미드를 활용하면 숙주 세포에서 원하는 유전자를 발현시키는 벡터로 활용이 가능하다. 임상적으로는 유전자 치료제의 벡터로서 주목받아 왔으며, 유전자 형태의 항원을 전달할 수 있는 백신으로서도 연구 개발되고 있다.

단백질 형태의 항원은 외인성 항원으로 작용하여 주로 항체 반응을 유도하지만, 유전자 형태의 항원은 숙주세포에서 생성이 되는 내인성 항원을 작용하여 세포독성 T세포 반응을 효율적으로 유도할 수 있다는 장점이 있다. 또한, 유전자가 남아 있는 동안 지속적으로 항원이 생성되는 점도 장기간의 투여 효과를 기대할 수 있다는 장점이 될 수 있다. 전세포 백신 및 단백질 백신에 비하여 빠른 개발 기간 또한 장점이 될 수 있다.

나. 현재 개발 단계 및 적응증 분석

플라스미드 DNA 백신은 암에 대한 치료용 백신으로 많은 연구가 되었으며, 그 외에 감염에 대한 예방 백신으로도 연구 개발되고 있다. 전기전공법과 같은 기술이 접목되어 DNA 백신이 코로나19, 메르스, 지카 바이러스 백신 등으로 현재 임상시험에 진입하였다.

플라스미드 벡터를 사용하는 DNA 백신의 경우 다른 부가 물질 (항원전달시스템 물질) 사용하지 않으므로 mRNA 백신의 LNP, 혹은 바이러스 벡터 백신의 바이러스 등이 추가되지 않으므로 심각한 이상반응을 일으킬 가능성이 상대적으로 낮다고 해석할 수 있다.

다. 최근 연구 개발 동향

DNA 백신은 안정성, 안전성 및 항원 특이적인 면역 반응의 유도 능력을 가진 유형이나, 임상적으로는 DNA 백신이 항원 단백질로 발현되는 효율이 낮아 면역원성이 약한 것으로 분석되고 있다. 먼저, 유전자 항원 발현 효율을 증가시키기 위하여 플라스미드의 프로모터를 개선하거나, 불필요한 유전자 영역을 제거하는 연구가 진행되어 왔다. 그 외에도 항원제시세포인 DC를 자극할 수 있는 분자인 Fms-like tyrosine kinase-3 ligand (Flt3L) 와 CD40 ligand (CD40L) 등을 함께 발현하거나, IL-12, GM-CSF와 같은 cytokine을 같이 발현시키는 플라스미드가 개발되었다. MHC class I pathway를 통한 항원 제시를 증강시키기 위하여 이와 연관된 인자인 calreticulin과 항원을 연결시켜 발현시키는 전략이 보고된 바 있다. 한편으로는

DNA 백신의 항원 발현 효율을 증가시키기 위하여 전기 천공 및 gene gun을 통해 세포로의 uptake를 증가시키는 전략이 적용되고 있다.

약한 면역원성을 극복하는 방법으로 여러 번의 부스터 샷을 적용할 수 있다. 상대적으로 바이러스 벡터 백신에 비하여 항원전달시스템 유래의 항원이 발현되지 않으므로 여러 번 투여가 가능하다. 또한, 바이러스 벡터 백신으로 priming 후에 DNA 백신으로 boosting하는 전략은 여러 연구를 통해 장기간 지속되는 기억 면역 반응을 확립하는 것이 가능하다고 입증되었으므로 실제 임상적으로 부스터 샷에서 DNA 백신을 활용하는 것이 가능할 것으로 보인다.

DNA 백신의 특징 중 하나는 세포성 면역 및 체액성 면역이 모두 활성화된다는 것이다. 효과적인 면역 기억이 확립되고 장기간 유지되는 면역반응을 위해서는 T 세포 면역 반응이 중요성이 강조되고 있으므로, 세포성 면역 반응을 효율적으로 유도하는 유전자 백신이 주목받고 있다. 더 나아가 향후 변이 항원에 대한 예방 효과에 대한 T 세포 반응의 기여도 역시 앞으로 연구될 필요가 있다.

2.2. 바이러스 벡터

가. 정의 및 작용 기전

유전자 형태의 항원을 세포 내로 전달하기 위하여 바이러스 운반체(벡터)를 활용할 수 있다. 바이러스는 기본적으로 숙주의 세포에 부착-침입하고, 세포 내부에서 항원을 발현하는 생활사를 가지므로, 효율적으로 항원을 발현시킬 수 있는 시스템인 동시에, 바이러스 감염으로 인하여 숙주의 면역 시스템을 활성화할 수 있는 면역 증강제로서 역할을 할 수 있다. 다만 바이러스로 인한 병원성이 나타날 우려로 인한 안전성의 문제가 있다.

아데노바이러스는 대부분의 사람이 평생에 걸쳐 노출될 가능성이 큰 일상적인 바이러스이며, 병원성이 높지 않은 특징이 있다. 안전을 위하여 복제 능력을 제거한 아데노바이러스가 개발되었으며, 이들은 많은 임상시험에서 안전성을 보여주었으며, 얀센과 아스트라제네카 사의 코로나19 백신으로 활용되고 있다. 높은 바이러스 생산 능력과 보관성이 장점이 될 수 있으나, 아데노바이러스 특이적인 중화 항체가 생성될 경우 항원 전달 효율이 떨어지는 것이 문제가 된다. 이를 극복하기 위하여 기존 아데노바이러스를 변형시키거나 침팬지 아데노바이러스를 활용하기도 한다. 숙주 염색체에 삽입이 되지 않으므로 장기간의 유전자 유지는 어려우나 삽입

돌연변이를 일으킬 가능성은 없는 유형이다. 분열 및 미분열 숙주세포에 모두 transfection이 된다는 것이 장점이 될 수 있으며, 유전자 packaging 능력이 큰 편이다.

아데노부속바이러스는 감염된 세포에서 에피솜 형태로 존재하지만, 숙주 염색체에 무작위 삽입되어 삽입돌연변이를 통한 안전성 이슈가 생길 수 있다. 아데노바이러스에 비하여 바이러스 특이적인 면역반응이 적다는 장점이 있으나, 일부 캡시드 단백질에 면역반응을 일으킬 가능성이 있다. 세포분열에 상관없이 다양한 세포를 효율적으로 감염시키며, 타 바이러스 대비 질병을 일으키는 병원성이 낮다. 전달할 수 있는 유전자 크기가 최대 4.5kb로 바이러스 벡터 중 상대적으로 전달 능력의 제약이 크다.

레트로바이러스 및 렌티바이러스 역전사 효소를 사용하는 바이러스로서 안전을 위하여 일반적으로 복제 불가능한 바이러스 벡터로 개발하는데, 제조과정 중 복제가능 바이러스 생산 가능성이 문제가 될 수 있다. 숙주의 염색체로 삽입이 될 수 있으므로, 삽입 돌연변이 및 숙주 유전자의 변형 등에 대한 가능성을 분석해야 한다. 레트로바이러스는 분열하는 세포에서 transfection이 가능하나, 렌티바이러스는 분열 및 미분열세포 모두 transfection이 되는 가능성이 있다. 최근에는 안전성을 높이기 위하여 자가 불활성화되는 렌티바이러스가 개발되고 있다.

단순 허피스 바이러스는 아데노바이러스처럼 에피솜 바이러스로서 삽입 돌연변이로 인한 우려는 없으나, 중추신경계에 조직 친화성(tropism)있으며, 잠복하였다가 재활성화할 가능성이 있다. 바이러스 특이적인 면역 반응이 높은 편이며, 상대적으로 전달할 수 있는 유전자의 크기가 큰 것이 장점이다.

폭스 바이러스 과로 분류되는 백시니아 바이러스는 과거 천연두 예방 백신으로 활용되어 왔으며, 천연두가 사라진 이후에는 유전자 전달시스템으로서 주목받고 있다. 아주 낮은 확률로 염색체에 삽입이 일어나는 것으로 보고되고 있으며, 열 안정성이 높고 숙주 세포 범위가 넓다. 강력한 면역 반응이 유도되므로, 한 번 투여되면 반복 투여는 어렵다.

베쿨로바이러스는 곤충 유래 바이러스로서 인간 병원체가 아니므로 안전하다는 장점이 있다. 즉 복제를 하거나, 유전체에 삽입이 되지 않고, 사람들은 베쿨로바이러스 특이적인 면역 반응이 형성되어 있지 않다. 타 바이러스 벡터 대비 좋은 세포막 투과 능력을 보고하고 있으며, 포유동물 세포에서 miRNA 및 shRNA의 전달을 통한 gene silencing 결과들이 보고된 바 있다. 저렴한 비용으로 대량 생산이 가능한 장점으로, 현재는 바이러스유사입자 및 재조합 단백질 백신을 제작하기 위한 in vitro 발현 시스템으로서 백신 개발에서 많은 역할을 하고 있다. 향후 안전성을 특징으로 하여 유전자 치료 및 백신의 항원전달시스템으로서 역할을 할 가능성이 있다.

나. 현재 개발 단계 및 적응증 분석

바이러스 벡터의 경우 비복제형과 복제형이 있으며, 비복제형의 아데노바이러스, AAV, PIV, NDV, modified vaccinia ankara (MVA) 등이 있고, 복제형의 경우 respiratory syncytial virus (RSV), VSV 등이 있다.

NDV-vectored vaccine은 생약독화 바이러스 벡터 백신이다. Laboratorio Avi-Mex의 Patria® 는 single negative stranded RNA virus인 NDV을 항원전달시스템으로 선정하였다. NDV는 조류 바이러스로서 생산 역가가 높으며 생산 단가가 저렴하다는 장점이 있다. 포유동물에서의 병원성이 낮으며 oncolytic virus로서 암 치료용으로 임상시험이 진행된 바 있다. 해당 백신은 코로나19 바이러스의 spike 단백질을 체내에서 발현시키는 벡터로서의 역할 뿐만 아니라, 바이러스 표면에서 코로나19 바이러스 spike 단백질을 발현하고 있으므로, 단백질 항원과 유전자 항원이 모두 전달되는 형태의 백신으로 분류될 수 있다. 현재 임상시험을 통하여 안전성과 면역원성을 보고하고 있다.

VSV는 높은 세포독성을 가진 바이러스로서 한 번 투여 시에도 강력한 T세포 반응 및 항체 반응을 유도할 수 있을 것으로 기대되었다. 이를 기반으로 VSV 기반의 Ebola 바이러스 및 코로나19 감염에 대한 예방 백신이 개발되고 있다. BriLife® (rVSV-ΔG-spike)는 replication-competent VSV platform으로서 인간에서는 질병을 일으키지 않는 동물 바이러스이다. 코로나19 바이러스의 spike 단백질 유전자를 포함하는 동시에 바이러스 자체에서 코로나19 바이러스 단백질이 발현되어 있으므로, 빠르고 강력한 중화 항체 유도가 가능하다는 장점이 있다. 복제 가능 바이러스의 경우 자발적인 spike mutation이 일어나 실제 코로나19 바이러스의 변이를 모방할 수 있다. 임상시험을 통하여 알파, 감마, 델타 변이 중화 항체에 대한 중화 항체의 유도 활성을 확인하였으며, 베타, 오미크론에 대해서는 그 보다 낮은 중화 항체의 역할을 측정하였으나, 궁극적으로 시험한 모든 변이에 대한 중화 항체 형성을 확인할 수 있었다.

RSV는 영아에서 급성 호흡기 감염의 원인이 되는 바이러스이다. 메시아 사에서 개발한 MV-014-212는 생약독화 재조합 human RSV는 바이러스 envelop protein과 함께 코로나19 spike 단백질이 발현되어 있다. 메시아 사에서는 RSV 약독화 백신 또한 개발하고 있으며, 안전성을 위한 약독화 기술인 AttenuBlock을 소개하고 있다. 약독화를 위하여 고전적인 방법인 serial passage, gene deletion 혹은 mutation을 유도하게 되면, 바이러스 복제에 영향을 주거나 면역원성이 감소되는 것이 문제가 될 수 있으며, codon de-optimization을 통해 항원의

발현을 조절하는 전략을 확립하고 있다. 이를 통해 원하는 항원의 발현은 증가시키고, 면역 반응을 방해하는 인자는 발현을 감소시키는 전략을 사용한다.

바이러스 벡터들이 갖는 한계로서, 일부 vaccinia virus는 면역원성이 낮은 문제가 지적되고 있으며, 아데노바이러스는 높은 dose가 필요로 한다고 알려져 있다. VSV는 인간에서 안전성 이슈가 있으며, human PIV 백신은 기존에 존재하는 vector 특이적인 면역반응으로 인하여 백신 효과가 기대에 못 미치는 결과가 보고되고 있다.

Hybrid bacteriophage display를 사용한 백신 개발 전략은 사람에서 병원성이 없는 바이러스인 박테리오파지를 활용한 새로운 백신 플랫폼 기술이다. 손쉽게 대량 생산이 가능하다는 장점이 있으며, 이들은 아단위 단백질 항원을 표면에 발현하며, 추가적으로 면역 증강제와 함께 투여하여 항원 특이적인 면역 반응을 효율적으로 유도할 수 있다. 인트론 바이오에서 개발한 phagerus 기술은 항원을 display하는 박테리오파지와 면역증강 효과가 있는 박테리오파지를 기반으로 하므로 점막 투여가 용이하며 면역원성이 높은 장점이 있다. 생산으로 위해 세균 시스템을 활용할 수 있으며 추가적인 면역증강제가 요구되지 않는다. 냉동이 요구되지 않는 안정성이 수송 및 운반에 장점이 될 수 있다. 그러나 아직 임상적으로 활용된 경험이 없으며, 사람에서 작용 기전 및 항원전달시스템 자체의 면역원성이 잘 규명되어야 한다.

최근 파지를 기반으로 한 임상시험 연구는 파지를 생물학적 항생제로 활용하는 것으로 표적 세균 감염에 대한 치료제로 적용하여 연구되고 있다. 파지를 치료제로 활용하기 위해서는 파지의 제조 단계에서의 QC 및 역가 분석이 중요하다. 파지 자체의 면역원성은 예상했던 것에 비하여 크게 문제가 되지 않는 것으로 임상시험 결과 확인되었다.

파지 기반 백신은 아직 개발 단계에 있으며, 항원 display 혹은 DNA 전달 벡터 및 hybrid 형태로 적용될 수 있다(그림5). 기존 백신에 비하여 파지 캡시드에 의하여 항원이 보호되므로 안정성과 항원 특이적인 면역 반응 유도에 도움을 준다는 보고가 있다. 또한 바이러스 기반 백신에 비하여 파지는 물리적으로, 유전적으로 안전성이 더 높을 것으로 예상된다. 현재 동물 시험 단계에서 연구가 진행되고 있다. 앞으로 파지 백신이 체내에서 항원을 어떻게 전달하여 processing하는지, 그 기전에 대한 연구가 필요하다. 특히 파지가 APC에 endocytosis로 uptake되는 효율은 전달 시스템으로서 파지의 가능성을 좌우하게 된다. 또한 파지마다 면역 증강 효과를 비교 분석하는 연구가 필요하며, 파지의 투여로 인하여 체내 정상세균총에 대한 영향 분석이 필요하다.

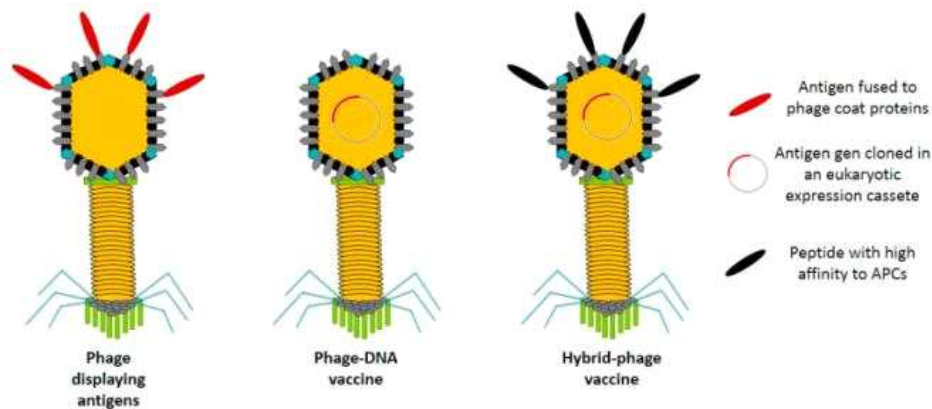


그림 6 박테리오파지 기반 항원전달시스템

Bacteriophage-Based Vaccines: A Potent Approach for Antigen Delivery, Vaccines (Basel). 2020 Sep; 8(3): 504.

다. 최근 연구 개발 동향

백신 항원전달시스템으로서 바이러스 벡터는 안전성과 방어 면역력을 유도하는 것이 중요하다. 복제 가능 및 복제 불가능 바이러스 벡터 모두 안전성을 검증하는 것이 필요하다. 또한 바이러스 벡터의 경우 앞선 플라스미드 백신과는 달리 바이러스 항원이 전달되는 것이 특징이 된다. 이를 통해 면역 증강 효과를 기대할 수 있으므로, 상대적으로 강력한 면역 반응이 유도될 수 있으나, 이 기전을 통해 부작용(발열, 통증, 염증 등)이 유의적으로 증가되는 것이 보고되고 있다. 한편 바이러스 벡터 특이적인 중화 항체로 인하여 백신의 효능이 저하되는 현상에 대한 우려가 있으며, 이는 바이러스 priming-DNA boosting의 전략으로 극복하고자 하는 시도가 이루어졌다. 또한 침팬지 아데노바이러스를 활용하여 기 확립된 사람 아데노바이러스 중화 항체를 회피하려는 전략이 관찰되고 있다. Gamaleya Research Institute에서 개발한 Sputnik V 백신은 아데노바이러스 type 26과 아데노바이러스 type 5를 항원전달시스템으로 구성하였다. 그러나 임상시험을 진행하면서 아데노바이러스 벡터 백신이 반복 투여되는 경우에도 백신의 효능 저하가 현저하지 않은 현상이 관찰되고 있으므로, 실제 벡터 특이적인 중화 항체의 작용에 대한 추가 연구가 필요할 것이다. 부스터 샷으로 전세계 수십개국에서 사용이 승인된 Sputnik light 역시 Sputnik V 백신의 첫 번째 성분 (아데노바이러스 type 26 항원전달시스템)으로 구성되어 있으며, 바이러스 벡터의 반복 투여가 가능하다는 것을 보여주고 있다.

바이러스는 숙주 세포 표면의 수용체와 특이적으로 결합하여 세포 내로 침입하게 되므로, 바이러스의 유전자 전달 효율을 증가시키기 위하여 바이러스 spike 단백질의 변형을 유도하는 연구가 진행되었다. 즉 coxsackie Adenovirus Receptor(CAR) 의존적으로 감염이 일어나는

아데노바이러스 type 5의 spike 단백질을 아데노바이러스 type 35의 fiber knob으로 치환한 재조합 바이러스 벡터는 아데노바이러스의 형질도입 효율을 현저하게 증가시킬 수 있었다.

백신 개발 단계에서 고려사항으로 효율적으로 대량 생산을 하는 문제와 비복제형 바이러스의 복제형 바이러스로의 전환으로 인하여 인체주입 후 나타날 수 있는 부작용 문제가 있다. 또한 재조합아데노바이러스 벡터의 면역원성을 보완하기 위해 추가로 adjuvant 등을 병용투여하는 연구가 있다. 그 외에도 점막 백신으로 적용경로 변경에 따른 제형 등에 대한 비임상연구가 활발히 진행되고 있다.

2.3. 나노 입자 기반 항원전달시스템

가. 정의 및 작용 기전

나노입자는 나노미터 크기를 갖는 입자로 정의되며, 각 입자들은 모양, 크기, 성분, 표면의 특성, 작용기 등에 따라 물리화학적, 생물학적, 면역원성 특징이 달라질 수 있다. 백신 항원전달시스템으로서 나노입자의 특징을 정리하면 1) 용해된 형태에 비하여 입자성을 가진 항원이 면역원성이 높으며, 2) 직경에 따라 생체 분포가 영향을 받는데, 특히 20 ~50 nm 크기는 림프관으로 흘러가기에 적합하여 림프조직의 면역 세포를 활성화하는 데에 도움이 되고, 3) 나노입자의 형태는 구형, 막대형, 세모형, 별형 등 다양한데, 이러한 모양이 생체 분포 뿐 아니라 대식세포 포식에 영향을 주는 인자로 보고되고 있으며, 4) 입자의 표면분자가 PEG, hyaluronic acid, poly(sarcosine) 등 다양한 성분으로 수식될 수 있는데, 이러한 화학적인 변화는 입자의 친수성, 생체 내 반감기, 대식세포로의 포식 등에 영향을 미치게 된다.

항원전달시스템으로서 나노 입자는 세포 내부로 endocytosis 되어 항원을 세포 내로 이동시킬 수 있고, 이 과정을 통하여 세포성 면역 반응을 유도할 수 있는 기전이 알려져 있다. 세포의 항원으로 기능하여 항체 반응을 유도하는 것도 가능하다. 또한 입자의 특성에 따라 지속적인 항원의 방출, 저장소 효과, 표적화 전달, 면역증강성, 높은 encapsulation, cargo의 생체이용률 및 전달 효율 증가, 세포막 통과 증가, 생체내 분해성 및 생체 친화성 등의 장점이 있다. 한편 formulation의 필요성, 안정성을 개선하기 위한 노력 및 면역독성과 같은 부작용의 문제가 개발 과정에서 단점이 될 수 있다.

약물 방출은 입자 크기에 영향을 받으며, 작은 입자는 더 큰 표면적을 가지므로, 입자 표면에 있거나 입자 표면에 근접한 대부분의 약물의 방출이 빠르게 된다. 또한 더 작은 입자는 나노입자 분산액의 저장 및 운반 동안 입자의 응집 위험이 더 커진다. 따라서 원하는 크기의 안정한 나노입자를 형성하는 것이 필요하다. 특히, 나노입자 기반 백신의 경우 세포 흡수 전에는 방출되지 않는 것이 이상적이므로, 방출 조절 연구가 필요하다. 또한 항원 전달체의 생분해 정도도 약물 방출에 영향을 미치게 된다. 약물이 방출되는 속도는 약물 용해도, 흡수된 약물의 방출, 나노입자 소재, 나노입자 크기로부터 약물의 분산, 나노입자 소재의 분해 및 분해/분산 과정의 조합에 의해 결정되는 것으로 알려져 있다.

나노입자는 화학적인 성분에 따라 유기 나노입자와 무기 나노입자로 구분되며, 구성 성분의 결합 구조에 따라 지질의 결합 구조를 갖는 지질 기반 나노입자와 모노머들의 중합으로 형성된 폴리머 기반 나노입자, 그리고 이들의 하이브리드 입자로 구분할 수 있다.

지질 기반 나노입자는 그 구조에 따라 리포솜, LNP 및 lipopolyplex (LPP) 등으로 구분할 수 있다(그림6). 리포솜은 하나 이상의 지질 이중층으로 쌓여있는 구조로서, 내부에 수상의 공간으로 구성된다. 일반적으로 phosphatidylcholines, phosphatidylethanolamines, phosphatidylserines, phosphatidylglycerols과 같은 인지질과 cholesterol과 같은 안정화제를 사용하여 제조된다. 지질나노입자는 리포솜과 달리 중심부에 지질이 존재한다는 차이가 있다. 구성 성분인 지질은 인지질 혹은 스테롤 류가 될 수 있으며, 추가적으로 polyethylene glycol(PEG)에 결합되거나 그 외 화학적인 변형을 통해 물리화화적인 특성이 변화될 수 있다. 리포솜이 drug delivery system (DDS)로서 많은 가능성을 보여주었으나, 약물을 entrapping하는 효율이 떨어지고, 대량 생산이 어렵다는 문제가 존재한다. 그러나 바이러스 전달시스템에 비하여 큰 사이즈의 유전자 삽입이 가능하며, 생물학적 안전성이 문제가 되지 않고, 정제가 용이하다는 장점이 있다. 또한, 다양한 조성의 지질을 활용하여 리포솜의 성격을 조절 가능할 수 있다. 입자 자체의 크기나 전하 및 표면 수식물질의 물리화학적 성질 등에 의해 체내 투여 후의 반감기나 조직 분포도가 크게 바뀔 수 있다가 보고되어 있다. 그러나 바이러스 전달시스템에 비하여 유전자 전달 효율이 낮은 단점이 있다.

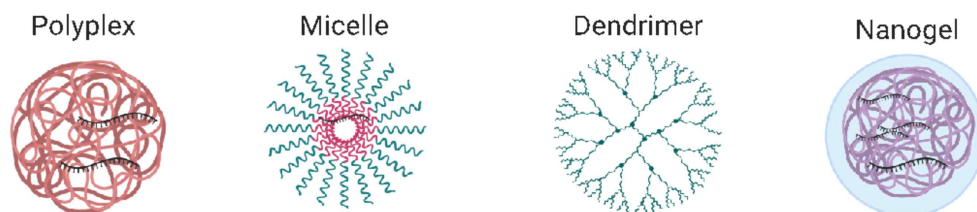
LNP는 양이온성 지질과 음이온인 핵산으로 구성하여 인지질 성분의 세포막과 잘 결합하기 때문에 유전자 전달체로서 적합하다. LNP는 상대적으로 solid lipid로 구성되어 물리적인 안정성이 개선되어 적재능력 및 수송 물질과의 적합성이 높고, 대량 생산이 용이하다는 장점이 있다.

Emulsion은 계면활성제를 사용하여 수상에서 오일 혹은 유상에서 물방울을 안정화시킨 제제인데, 특히 nanoemulsion은 계면활성제 단일층으로 둘러싸여진 유상의 중심부로 이루어진 입자를 의미한다. micelle은 계면활성제로 구성된 입자로서 지용성 tail이 core를 형성하고 있다.

(a) Lipids-based nanodelivery systems



(b) Polymers-based nanodelivery systems



(c) Hybride-based nanodelivery systems

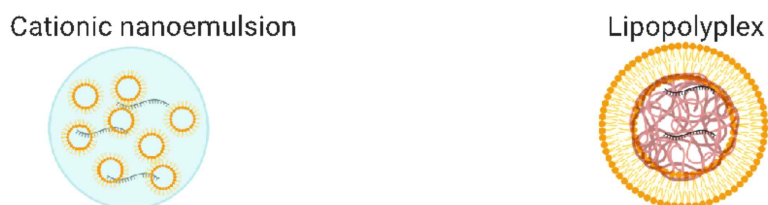


그림 7 구조에 따른 지질 기반 나노입자

Nanoparticles as Adjuvants and Nanodelivery Systems for mRNA-Based Vaccines Pharmaceuticals. 2020 Dec 30;13(1):45

이 밖에도 지질 기반 DDS는 입자 크기와 층구조(lamellarity)를 기준으로 nanodisk, small unilamellar vesicle (SUV), large unilamellar vesicle (LUV), giant unilamellar vesicle (GUV), multilamellar vesicle (MLV), multivesicular vesicle (MV), lipoplex 및 LNP로 구분될 수 있다. Nanodisc는 단일 지질 이중층으로 쌓여 있으며, 크기는 ~10 nm 정도이다. 수화 과정을 통해 지질막이 자가 조립되면 MLV가 되며, 이를 초음파 파쇄 혹은 압출을 통해 균질화하게 되면 직경 ~30nm 정도의 SUV 또는 ~100nm 정도의 LUV가 얻어질 수 있다.

양이온성 nanoemulsion (CNE)은 양이온성 지질 DOTAP과 면역 증강제 MF59, sorbitan trioleate, 및 polysorbate 80이 pH6.5 citrate buffer에서 결합되어 있는 형태로서 RSV 당단백질을 encoding하는 self-amplifying mRNA 백신이 보고된 바 있다. 이들은 CNE와 mRNA를 분리하여 보관하다가 사용할 때 제조하게 된다. 또 다른 그룹에서는 CNE와 LNP의 hybrid 형태인 nanostructured Lipid Carrier (NLC)를 개발하였으며, 현재 지카 바이러스

항원을 encoding하는 mRNA 백신으로 동물 모델에서의 결과가 보고되었다.

양이온성 폴리머는 핵산의 전달을 위해 수십년 간 연구가 되었으며, poly(L-lysine), polyethylenimine (PEI), DEAE-dextran, poly(β -amino esters) (PBAE) 및 chitosan 폴리머들이 개발되었다. 음이온성인 핵산이 양이온 polyplex에 결합하여 delivery에 활용될 수 있으나, LNP에 비해서는 임상적으로 적용되는 사례가 적다. 체내 투여 시에 효능 및 독성의 한계가 관찰되고 있다. LNP 기반 백신과 비교 연구에서 폴리머 기반 백신이 상대적으로 낮은 면역원성을 나타내었으며, 현재 코로나19 백신 임상시험 진행 현황에서도 해당 유형의 백신은 확인되지 않았다.

현재 임상 개발 단계의 mRNA 백신의 대부분은 항원전달시스템으로 지질나노입자를 채택하고 있다. mRNA 단독으로는 음전하의 큰 고분자 물질이므로 세포 내로 효율적인 진입이 어려우나, 지질 나노입자 전달시스템을 활용하면 전달 효율이 증가될 수 있다. 지질나노입자도 구성 성분 및 비율에 따라 물리화화학적 특성 및 mRNA 전달 효율이 달라질 수 있다. 지질나노입자는 중성의 phospholipid, cholesterol, PEG-lipid, 및 ionizable cationic lipid로 구성되어 있다. 양이온 지질은 mRNA의 음이온과 상호작용하여 입자를 형성하고, 음이온의 숙주 세포막과의 fusion에 기여할 수 있다. 인지질은 나노입자를 형성하고 세포 내에서 항원의 방출에 기여하게 된다. 콜레스테롤은 입자의 골격을 이루는 역할을 하며, PEG-lipid는 입자 크기를 조절하고, 보관 과정에서 응집이 일어나는 것을 막아 안정성에 기여하게 된다. 지질나노입자는 생체친화적이고, 일정 시간이 지난 후에는 분해되어 안전하다는 장점이 있다. 또한 대량 생산 및 제작이 용이하다는 장점이 있다. 2018년 지질나노입자를 이용한 최초의 RNAi 치료제(온파트로)가 임상 승인되었고, 코로나19 백신 개발에서도 항원전달시스템으로서 많은 주목을 받고 있다.

또다른 지질 기반 나노입자인 core-shell structured lipopolyplex (LPP)가 mRNA를 전달하기 위한 벡터로서 개발되었으며, 현재 임상 1상 시험이 중국에서 진행되고 있다. LPP에서는 mRNA 형태의 항원이 양이온성 물질에 단단히 결합하여 core structure를 형성하고, 이후 지질 shell에 봉입되는 형태가 나타나게 된다(그림7). LNP 항원전달시스템과 유사할 수 있으나, 좀더 바이러스 구조와 닮았으며, 따라서 cell uptake 및 면역 반응 활성화에 기여할 수 있다. 전통적인 LNP와 비교하여 LPP는 대부분 근육 주사 이후 투여 부위에서 항원 단백질로 발현이 되었으며, 주사 부위에서 혈관으로 leakage이후에도 간으로는 targeting이 낮고 비장으로 targeting이 되므로, off target effect 및 전신적인 독성 가능성이 낮은 것으로 해석할 수 있다. 또한 LPP는 대량생산이 용이하다는 장점이 있으며, 높은 colloidal stability가 나타남. 동물 실험에서 Th1 반응 및 항체 반응이 효율적으로 유도되었으며, 이는 WT 뿐만

아니라 변이에 대해서도 효과가 있었다.

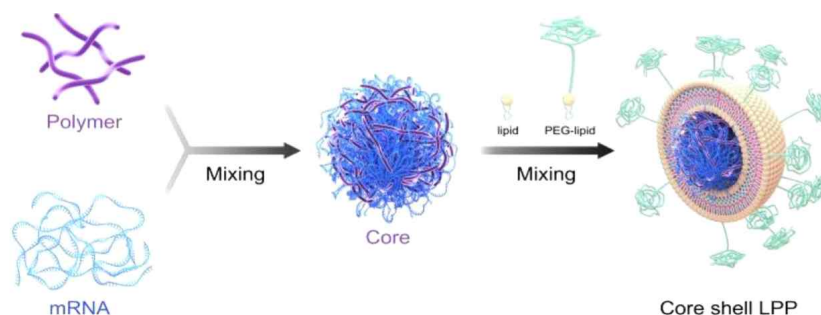


그림 8 lipopolyplex 전달시스템

A core-shell structured COVID-19 mRNA vaccine with favorable biodistribution pattern and promising immunity Signal Transduct Target Ther. 2021 May 31;6(1):213

폴리머 기반 나노입자는 현재 항원전달시스템으로서 임상적용이 활발하지는 않으나, 저분자 의약품의 전달시스템 (DDS)으로서 다양한 약물에서 적용되고 있다. 이들은 용해성을 개선하고 반감기의 연장과 약물의 표적화 등을 목적으로 한다. 최근 알부민을 전달시스템로 탁솔(Taxol™ : paclitaxel)과 결합한 형태의 나노 입자인 아브락산(Abraxane™)이 FDA의 승인을 받아 전이성 유방암환자의 치료에 적용되고 있다. 탁솔은 광범위하게 이용되는 항암화학제이나 용해도가 낮은 문제가 있었는데, 아브락산은 용해도를 개선한 뿐만 아니라 혈관내피세포 표면에 위치하는 알부민 수용체(albumin receptor)와 전이성 유방암세포에서 과발현되는 알부민 결합단백(albumin-binding protein)을 통하여 약물의 표적화를 하는 기전을 가지고 있으며, 그 결과 항암 치료 효과를 개선하는 효능을 유도하였다.

자연 폴리머 이외에도 많은 합성 폴리머로서 N-(2-hydroxypropyl)-methacrylamide copolymer(HPMA), polystyrene-maleic anhydride copolymer(SMA), polyethylene glycol(PEG), or poly-L-glutamic acid(PGA) 등이 DDS로 임상시험 중에 있다. 항암제와 conjugation하여 유리 항암제 대비 항암 효과의 개선이 기대된다.

미셀은 수용액 상태에서 스스로 모여 중심/바깥 구조를 형성하는 양친매성(amphiphilic) 폴리머를 구성 성분으로 하며, 소수성(hydrophobic) 중심부위는 소수성(불수용성) 약물을 저장하는 역할을 하며, 친수성(hydrophilic) 바깥부위는 소수성 중심부위를 에워싸므로써 안정화시키고 동시에 나노 입자에 수용성을 부여할 수 있다. 이러한 특징은 소수성 약물의 좋은 DDS로서 기능할 수 있다. Doxorubicin을 함유한 pluronic block copolymer micelle(PEG-pluronic-DOX)은 최초의 미셀 형태를 갖는 doxorubicin으로 용해도가

개선되었으며, 유리 약물에 비하여 우수한 항암 효과를 보고하고 있다. 최초의 폴리머 미셀 형태의 탁솔인 Genexol-PM[PEG-poly(D,L-lactide)- Taxol™]은 진행암 환자를 대상으로 임상시험 진행 중이다.

덴드리머(Dendrimer)는 중심으로부터 방사형으로 뻗어 나가는 hyperbranched monomer로 구성된 폴리머이다. 덴드리머는 균질한 크기, 표면 변형을 통한 다양한 기능성, 다가성(multivalency), 수용성, 약물을 함유능력 등이 특징이며, DDS로는 polyamidoamine이 많은 연구가 되고 있다. dendrimer-cisplatin 접합체의 경우 유리 cisplatin에 비하여 수용성이 뛰어나며, 동물실험 모델에서도 항암 효과가 높게 보고되었다. 가지뻗은 구조로 인하여 효소의 분해로부터 내부 항원(mRNA)을 보호할 수 있는 것으로 해석되고 있으며, 현재는 proof of concept(개념증명) 연구들이 보고되고 있다.

유전자 항원 외에도 단백질 혹은 펩티드로 구성된 subunit 백신 또한 나노입자 기반 항원전달시스템이 적용될 수 있다. 나노입자는 입자의 특성상 림프계로 targeting될 수 있으며, 면역 증강제 혹은 여러 개의 항원이 함께 전달될 수 있는 시스템이라는 점이 장점이다. 입자들은 endocytosis를 통해 세포 내로 uptake될 수 있으며, 항체 반응 뿐만 아니라 cross presentation을 통해 T세포 반응을 유도할 수 있다가 보고되었다. 아단위 항원의 전달시스템으로서 solid matrix-Ab-Ag (SMAA) 복합체, micelle, 리포솜, 면역자극복합체(Immune stimulating complexes: ISCOM) 등이 있다 (그림8). 이러한 전달시스템을 활용하면 다가 백신의 제조가 가능하며 subunit 백신의 약한 면역원성을 극복할 수 있다.

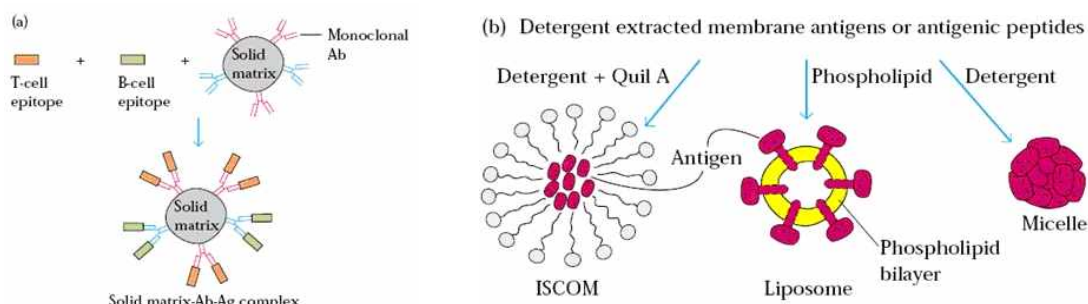


그림 9 아단위 항원 전달시스템

Kuby immunology (7th ed.). New York: W.H. Freeman.

Vacosome (vaccine liposomes)은 subunit 백신으로 세포 유래의 단백질이 리포솜의 지질막에 incorporation되어 항원전달시스템으로 기능하게 된다. 현재는 암세포 표면의 암항원들의 전달시스템로 연구가 되어 동물 실험 모델에서 항원 특이적인 면역 반응을 유도하는 활성이 보고된 바 있다. 단백질 항원 투여에 비하여 리포솜 기반으로 항원을 전달하게 되면

DC와 같은 APC에 endocytosis가 효율적으로 이루어지는 것으로 확인된다(그림9).

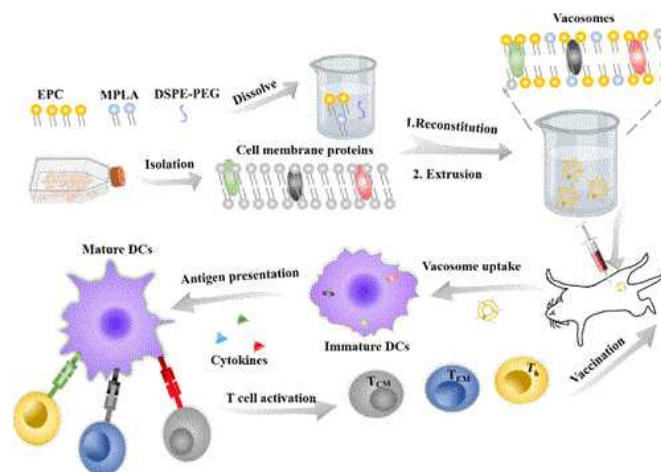
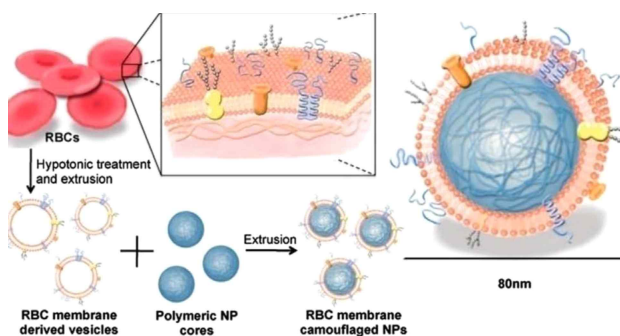


그림 10 vacosome 전달시스템

Recombination Monophosphoryl LipidA-Derived Vacosome for the Development of Preventive Cancer Vaccines ACS Appl. Mater. Interfaces 2020, 12, 44554–44562

Polymer 기반의 나노 입자 혹은 무기 나노입자의 경우 상대적으로 생체 적합성이 낮은 문제가 있다. 이를 극복하는 전략 중의 하나로 나노 입자 표면을 세포 유래 인자 (cell membrane derived vesicle 혹은 bacteria outer membrane)으로 coating을 한 연구가 수행된 바 있다(그림10). 이를 통해 drug 혹은 유전자의 전달이 가능하였으며, 단독 투여 시에 비하여 체내 반감기 연장 효과를 관찰하였다. 특히 나노입자 기반 항원전달시스템은 입자의 제조 조건에 따라 입자의 크기, 모양, 기타 물리화화적인 특성이 변화될 수 있으므로, 이를 조절하여 필요한 조직으로 targeting 혹은 반감기의 조절하는 전략으로 활용될 수 있다.



Bioinspired and Biomimetic Nanotherapies for the Treatment of Infectious Diseases Front Pharmacol. 2019 Jul 5;10:751

그림 11 세포 유래 인자를 이용한 나노입자 전달시스템

Lipoprotein은 체내에서 지질의 운반을 위해 합성되는 인자로서 density에 따라 very low density lipoprotein(VLDL), low density lipoprotein (LDL), intermediate density lipoprotein (IDL), high density lipoprotein (HDL) 등으로 구분될 수 있다. 지단백질은

지단백질 수용체에 결합하여 endocytosis되고 이후 endosomal escape를 통해 세포질로 운반한 지질을 release하는 특징이 있다(그림11). 이러한 특징을 활용하여 지단백질 기반 DDS가 개발되었다. 지단백질 중 HDL을 활용하여 내부에 유전자 혹은 drug을 봉입하여 투여하게 되면, 세포 내로의 흡수를 매개할 수 있으며, 이러한 전달 시스템은 기존에 존재하는 지질 전달 시스템을 그대로 활용한다는 점에서 효율적이며 안전하다는 장점이 있다.

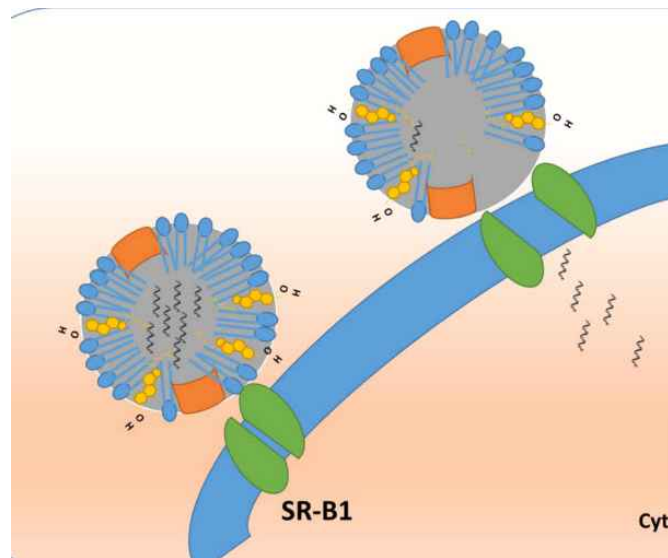


그림 12 Lipoprotein 전달시스템

Reconstituted HDL: Drug Delivery Platform for Overcoming Biological Barriers to Cancer Therapy Front Pharmacol. 2018 Oct 15;9:1154

Microbubble ultrasound contrast agent (MCA)는 유전자 전달시스템 및 DDS로서 많은 주목을 받았다(그림12). 초음파 영역에 존재하는 microbubble은 기계적인 자극을 통해 혈관 및 세포막의 투과성을 증강시킬 수 있으므로 전달 효율이 증가될 수 있다. MCA의 유전자 전달시스템로서의 특징은 1) 세포막 투과성 증가 2) 혈관 투과성 증가 3) 세포 내 endocytosis 개선 등으로 구분할 수 있다. MCA의 크기, 물리화학적인 특성들은 이들의 초음파에 대한 반응성에 영향을 미치고, 결과적으로 치료 결과에도 영향을 미치게 된다. microbubble formulation 기술, 초음파 scanner, 등의 개선이 요구된다. 진단 목적 혹은 유전 질환에 대한 유전자 치료 목적으로 MCA가 환자에게 적용되어 안전성과 치료효과를 보고한 바 있다.

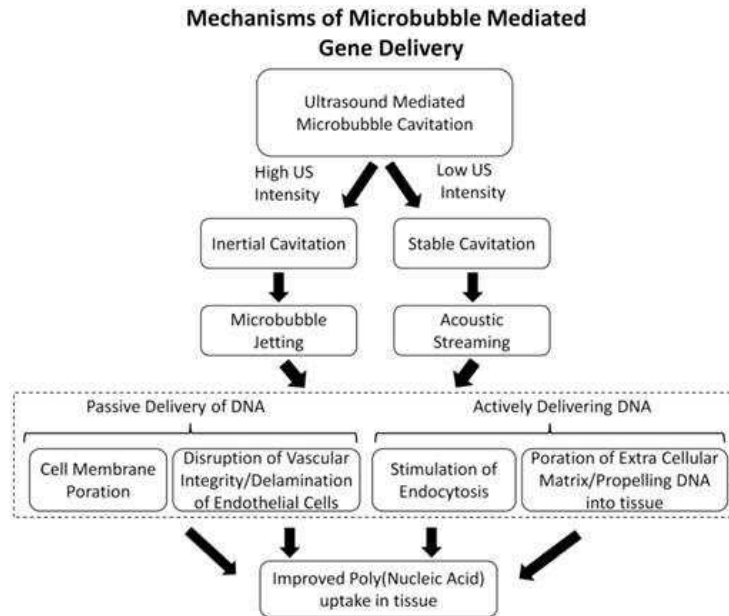


그림 13 Microbubble 유전자 전달시스템 기전

Advances in ultrasound mediated gene therapy using microbubble contrast agents Theranostics.
2012;2(12):1208-22.

Gas-filled microbubble은 초음파 적용을 하지 않더라도 항원의 전달시스템으로 활용 가능하다는 연구 결과들도 발표된 바 있다. 이들은 DC에 uptake되어 항원을 효율적으로 전달하여 항원 특이적인 면역반응을 유도할 수 있으며, DC의 활성화를 유도하는 면역증강성도 보여주었다. Gilles Bioley 등은 기존의 지질 혹은 폴리머 기반 입자성 항원전달시스템과 유사한 백신 효능을 지속해서 보고하고 있다. *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*와 같은 박테리아 감염을 적응증으로 한 백신 연구들의 동물실험 결과들이 논문으로 발표되고 있다.

나. 현재 개발 단계 및 적응증 분석

코로나19 백신으로 mRNA-LNP 백신이 승인되어 사용되고 있으며, 그 외 influenza, zika 바이러스, 광견병 바이러스, 결핵 감염에 대한 백신이 임상시험 진행 중이다. 그 외에도 암 면역 치료를 위한 mRNA 백신이 LNP 제형으로 임상시험이 진행 중이다. 백신 이외의 적응증으로 RNAi 치료제인 Onpattro 의 제형도 LNP이며, 그 외 다양한 항암제, 항생제의 DDS로서

리포좀이 임상적으로 활용되고 있다는 것을 확인할 수 있다(그림14).

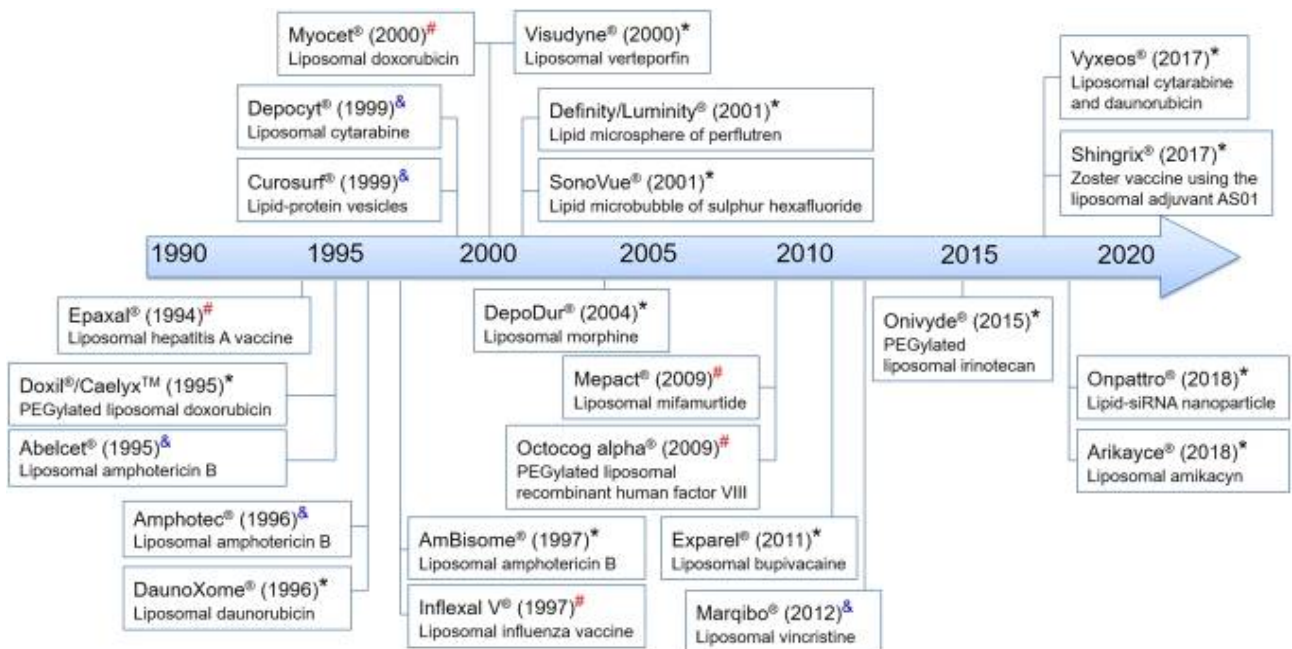


그림 14 지질 기반 나노입자 전달시스템 개발사 별 현황

Timeline of new lipid nano/microparticle-based pharmaceutical formulations approved in the Europe[#], U.S.&, or both^{*}. The years in the brackets indicate the initial approval time for the first indication.

그러나 그 외 polymer 기반 전달시스템은 저분자 DDS로서 임상시험 진행 중이나, 백신 항원전달시스템으로서 활용은 눈에 띄지 않는다. 또한 금 나노입자는 광열치료제로서 항암 치료제로 임상시험 진행 중이며, gene gun에서 유전자 전달 목적으로 연구되기도 하였다, DNA coated 금나노입자를 이용하여 gene gun으로 투여 시에 동물 실험 모델에서 유전자 전달 활성이 보고된 바 있다. 또한 Iron-oxide는 광열치료제로서 현재 임상적으로 승인되어 활용되고 있으나 상대적으로 유기 나노입자에 비하여 생체적합성이 떨어지는 것으로 알려져 있다.

다. 최근 연구 개발 동향

대표적인 mRNA 전달시스템으로서 LNP가 사용되고 있는데, LNP의 화학적인 안정성 및 형태, colloidal stability에 대한 연구가 필요하다. 또한 LNP의 구성 성분인 양이온성 지질은 인공물로서, 생체의 lipid는 주로 중성~phosphatidylserine처럼 음전하를 띄는 것과는 구분된다. 항원 전달 목적으로 사용하며, 생체 지질과 전기적인 interaction 면에서 유리하지만 독성이 나타날 가능성 존재하며, 이로 인하여 alternative lipid 개발 연구도 요구되고 있다.

LNP 항원전달시스템의 안정성은 완제품인 mRNA 백신의 안정성에 기여하게 된다. 보관 조건 및 reconstitution 이후 사용 조건에서 응집 및 분해가 일어나지 않는 것 또한 필요하며, 보관 및 생체 내 투여 이후에도 방출 특성이 백신의 기전에 적합하게 나타나야 하므로, 이를 조절하는 연구가 수행되고 있다.

백신의 유효성을 위하여 체내로 투여 후 효과적인 면역반응을 유도하기 위하여 DC와 같은 APC에 mRNA가 전달되는 것이 필요하며, 이를 위해 LNP의 면역 세포로의 targeting하는 연구가 필요하다.

LNP를 전신으로 투여 시 주로 간으로 분포되어, 간 효소에 의해 빠르게 분해되는 것이 알려져 있다. 따라서 LNP 제제의 활성을 개선하기 위하여 liver가 아닌 다른 장기로 targeting하는 연구가 수행되었으며, DC의 표면 수용체를 targeting하는 합성 펩티드로 구성된 polyplex를 이용한 전달 결과를 수행한 바 있다. 그러나 LNP의 표면을 수식하는 과정을 통해 targeting ligand가 masking될 우려가 남아 있다.

모더나 사는 mRNA 백신 개발을 위하여 온파트로 제제의 성분을 이용하는 연구부터 시작하였으며, 이후 새로운 형태의 지질로 구성된 LNP를 개발하여 코로나19 백신을 제조하였다. 인플루엔자 바이러스 HA 항원을 encoding하는 modified mRNA-LNP 백신의 임상시험을 수행하였으며, 비록 치명적인 부작용 없었으나, grade 3의 부작용이 관찰되었고, 용량이 감소되면 부작용의 빈도 및 심각도가 감소되는 것을 보고하였다. 임상시험을 통해 high dose 그룹은 심각한 부작용 발생으로 중단되었으며, 두 번째 백신 투여 시에는 대부분의 투여군에서 부작용이 나타난다는 보고가 있다.

화이자 사는 BNT162b1(코로나19 바이러스 spike protein의 RBD를 encoding하는 ~1 kb mRNA 백신)과 BNT162b2 (코로나19 바이러스의 spike protein이 trimer 형태로 발현될 수 있는 mRNA로 구성된 4.3 kb 백신)을 임상 2상에서 비교 분석하였다. 임상시험을 통해 older (65-85세) 군에서 younger (18-55세) 군에 비해 중화항체 유도도 약간 낮았으며, 부작용 중증도도 낮게 관찰되었다.

CureVac의 mRNA-LNP 백신은 화학적인 변형 없이 sequence-engineered mRNA 백신으로 diproline stabilized full-length S protein을 encoding하며 Acuitas사의 LNP로 제제화되었다.

MIT의 Anderson 교수 연구팀은 RNA를 전달하기 위한 전달시스템 연구를 통해 차세대 LNP를 개발하고 있다. 해당 연구팀은 ApoE protein을 recruitment할 수 있는 LNP를 제작하여 간세포 표면의 LDL 수용체에 결합을 유도하여 성공적으로 조직 targeting을 한 결과와, PBAE-mRNA

polyplex로 nebulization을 통해 폐로 targeting한 결과를 보고한 바 있다.

오하이오 주립대의 Dong 교수는 mRNA delivery를 효율적으로 하기 위하여 lipid like nanoparticle (LLN)을 개발하여 in vivo 항원 전달을 연구하고 있다. 신규 유기물 혹은 오렌지 비타민 유래의 지질을 이용한 LNP를 합성하였고, 기존 전기 천공 및 lipofectamine 시약에 비하여 우수한 mRNA transfection 효율을 보고한 바 있다. 기전으로는 비타민 C 의 cellular uptake system을 매개로 유전자 전달이 일어날 수 있는 것을 제안하였다. 다양한 연구진들은 신규 LNP 혹은 LLN을 개발하기 위하여 AI 기반의 design을 적용하고 있다.

UT Southwestern의 Siegwart 교수는 lipid library screegning을 통해 unique zwitterioninc amino lipid 로 구성된 LNP를 제작하고 liver 뿐만 아니라, lung, spleen 등으로 분포가 일어남을 보고하였다. 또한 특정 selective organ targeting 기술을 사용하여 LNP를 각 장기 특이적으로 분포시킬 수 있었으며, 장기 뿐만 아니라 면역 세포 targeting도 매개할 수 있었다. ionizable 인지질로 구성된 LNP는 endocytosis 이후 endosomal escape에 기여하는 기전을 규명한 바 있다.

미국 Wayne 주립대학 연구팀 역시 silica nanoparticle에 의한 항원 전달 효과를 동물 모델에서 확인한 바 있다. SiNP에 항원과 TLR-9 ligand를 coload한 백신으로 암 모델 마우스에 주사한 결과 항원 특이적인 T 세포 및 B세포 반응을 효율적으로 유도하였으며, 전신적인 염증성 cytokine 생성 및 비장 비대와 같은 전신 부작용이 현저하게 낮은 안전성을 보여주었다. 유전자 항원 뿐만 아니라 아단위 단백질 항원 역시 SiNP를 기반으로 전달될 수 있으며 우수한 lymph node targeting을 통하여 안전하고 효과적인 항암 면역 반응을 유도할 수 있었다.

Entos (UK) 사에서는 차세대 핵산 전달기술로 proteo-lipid vehicle (PLV)로 분류될 수 있는 Fusogenix Platform을 소개하고 있다(그림14). 중성의 지질 및 FAST (Fusion-Associated Small Transmembrane) 단백질로 구성되었으며, 이들은 높은 세포막 융합 및 세포내 핵산 전달을 유도할 수 있다. 중성의 지질을 사용하여 독성이 낮다는 장점이 있다. 또한 endocytosis가 아닌, 세포막과의 fusion으로 핵산의 이동이 일어나기 때문에 직접 세포질로 이동(endosome이 아닌)한다는 장점이 있으며, mRNA, miRNA, RNAi, siRNA, 및 CRISPR 등의 전달에 활용될 수 있다. 현재 코로나19 백신 개발은 임상 1상에 진입하였으며, plasmid DNA 백신을 전달하는 항원전달시스템으로 적용되었으며, 그 외 암 치료용 유전자 치료제는 전임상 혹은 그 전 단계로 확인되고 있다.

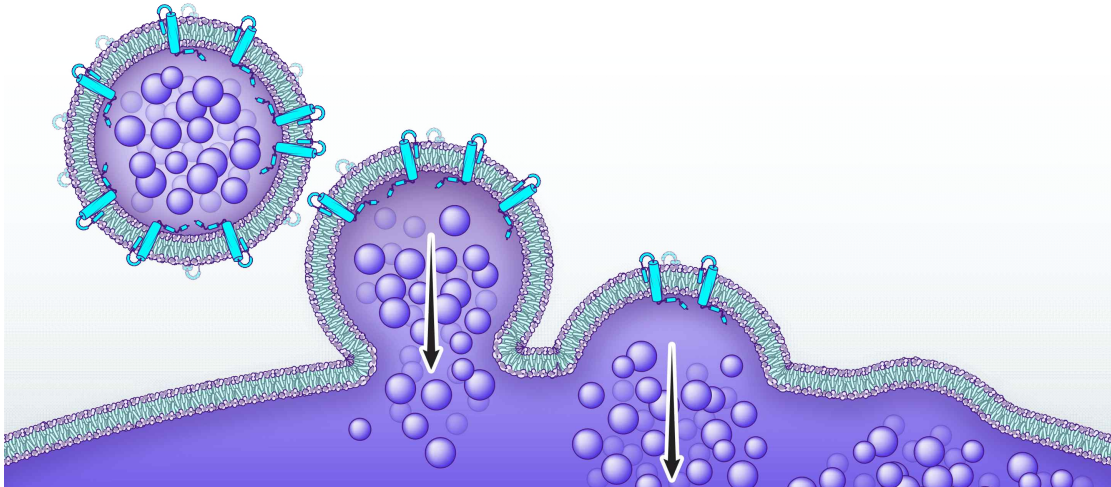


그림 15 proteo-lipid vehicle 플랫폼

Entos Pharmaceuticals, Fusogenix proteo-lipid vehicle (PLV)

금나노입자는 무기나노입자 중 안전하다고 간주되고 있으며, 광열 치료 및 광역동 치료 등에 활용될 수 있는 물리적인 특징을 가지고 있는 물질이다(그림15). 항원전달시스템으로서 금은 면역 증강제 작용, 낮은 독성, 안정성의 특성으로 가능성이 높다. 금나노입자는 높은 부피:표면 비율을 가지는 나노입자의 특성 뿐만 아니라, 생체 적합성이 높고, 여러 분자에 의하여 작용기를 첨가하기에 용이한 물질이다. 나노입자의 제조 조건에 따라 크기, 모양 등이 달라질 수 있다.

면역 자극 나노조성물 (CpG-Au@HBc VLP)은 self-assembling engineered virus-like particles로서 CpG-gold nanoparticle을 봉입하고 있으며, 세포성 면역 반응 및 체액성 면역 반응을 효율적으로 유도한 결과가 보고된 바 있다. 또한 플라스미드 DNA (pDNA)-coated gold nanoparticles이 마우스 모델에서 백신으로서 활용된 예가 알려져 있다. 그 외에도 DC에 항원을 전달하기 위하여 암항원을 display한 금나노입자를 적용한 연구에서는 투여된 금나노입자 기반 백신에 의하여 DC에서 교차 제시를 통한 CTL 반응이 효율적으로 유도되어 항암 효과가 유도된 결과가 알려져 있다. 그러나 아직 임상적으로 주목을 받고 있지는 못하고 있다.

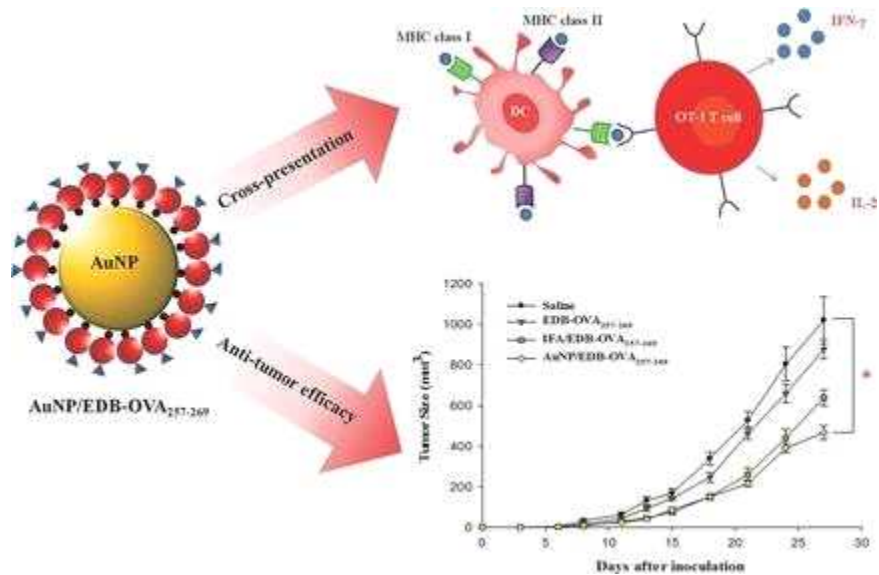


그림 16 금나노입자 전달시스템

Gold nanoparticles displaying tumor-associated self-antigens as a potential vaccine for cancer immunotherapy. Adv Healthc Mater. 2014 Aug; 3(8):1194-9.

2.4. 박테리아 벡터

가. 정의 및 작용 기전

바이러스 벡터와 같이, 병원성이 없는 박테리아가 유전자 혹은 단백질 항원의 전달 벡터로서 활용될 수 있다. 생체 내에는 무해균, 혹은 유익균 등이 서식하고 있으며, 이를 활용한 항원전달시스템 연구가 수행된 바 있다. 이 과정에서 박테리아가 가진 병원성을 제거하는 유전자 조작이 적용될 수 있다.

박테리아 표면에 외래 단백질을 디스플레이하는 기술은 1986년도에 처음 보고된 후, 그람음성균 및 그람양성균에서 수십 가지 이상의 박테리아 표면단백질을 활용하여 다양한 디스플레이시스템이 개발되었다(그림16). 그람음성균에서는 다양한 outer membrane protein(OMP)들과 autotransporter들이 사용되었고, 그람양성균에서는 Protein A와 같은 cell-wall anchoring 단백질이 효과적이었다.

초기 박테리아 디스플레이기술은 점막 백신의 전달수단으로 연구가 되었다. 점막면역유도는 비경구투여와 같은 전통적인 방법에 비해 국소적으로 항원특이적 분비 IgA의 생산이 가능하여

효과적인 방어 면역을 구축할 수 있는 장점이 있다. 바이러스나 박테리아의 감염이 호흡기나 장내의 점막을 통해 이뤄지는 경우 전신 면역에 비하여 점막 면역이 더욱 효과적일 수 있다.

박테리아 생백신을 개발하기 위해서는 *Salmonella*나 *M. bovis* BCG(Baille Calmette-Guerin)와 같이 병원성 미생물을 약독화거나, 비병원성 commensal 또는 food-grade 박테리아를 사용할 수 있다. 최근 약독화된 병원성 미생물의 사용시 어린이나 노약자 등에 대한 안전성 때문에 비병원성 commensal 또는 food-grade 박테리아를 이용하는 것이 더욱 선호될 수 있다.

항원 에피토프가 박테리아 표면에 디스플레이된 형태의 subunit 백신은 초기에는 면역원성이 낮게 나타났으나, 현재는 항원 에피토프와 항원이 점막에 잘 부착되도록 adhesin을 같이 디스플레이하는 전략을 사용하여 효과가 개선되고 있다.

박테리아 벡터 백신에서도 저장과 운반과정에서 안정성이 중요하다. 안정성이 높은 형태의 박테리아 디스플레이 기술 중 하나는 열이나 극한 조건에서 매우 안정한 박테리아 포자 형태를 활용하는 백신이다. 최초의 시도는 *B. subtilis*의 세포벽단백질인 CwA에 *Yersinia* 유래의 invasion(Inv)단백질을 융합하여 발현하여 포자 형태로 개발한 것이었으며, 이를 경구투여하여 강력한 면역반응이 일어남을 동물 실험에서 확인하였다. 그 외에도 *B. subtilis*의 코트 단백질인 CotB에 tetanus toxin의 C말단(TTFC)를 결합하여 디스플레이한 포자 형태의 박테리아 백신도 보고되었다.

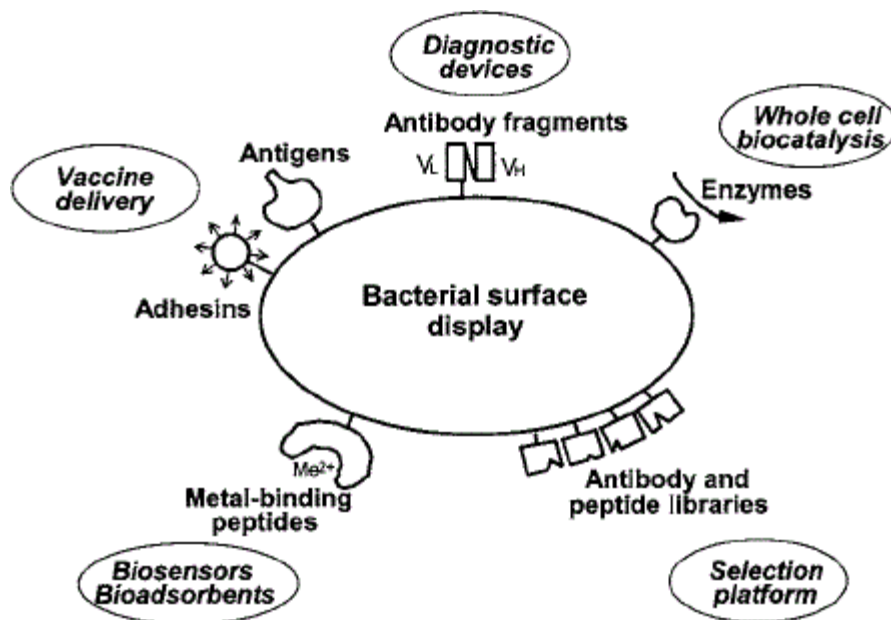


그림 17 박테리아 표면 디스플레이 기술

Biotechnological applications for surface-engineered bacteria *Biotechnol Appl Biochem*. 2004 Dec;40(Pt 3):209-28.

나. 현재 개발 단계 및 적응증 분석

미국 특허 (공개번호 US20200282037, 출원일 2018년 6월 15일), 발명의 명칭 BACTERIAL VACCINE, 출원인 NANTBIO, INC.에서는 유전적으로 엔지니어링된 박테리아 기반 백신 기술이 소개되었다. 질환 연관 항원을 발현하도록 형질 전환된 박테리아는 숙주에 항원을 전달하여 항원 특이적인 면역 반응을 활성화할 수 있으며, 박테리아가 가진 LPS를 낮은 수준으로 발현하도록 유전적으로 변형되어 CD14를 매개로 한 패혈증의 위험을 감소시킨 벡터로 사용 가능하다. 환자에게는 전신 혹은 국소 투여가 될 수 있다. 해당 발명에서는 E.coli와 같은 환자의 내부공생 세균을 활용하여 안전한 벡터로 활용 가능하다는 것을 보여주었다.

심비오(Symvivo Corporation, Canada)는 임상 진입 단계의 바이오텍 회사로서 유전자 전달을 위한 플랫폼 개발 기술을 보유하고 있다. 그 중 bacTRL™ platform 기술은 플라스미드 DNA를 전달하는 편리공생 박테리아 벡터 기반 기술로서 경구 투여 및 정맥 투여를 통한 전신 투여가 가능한 특징이 있다. 박테리아를 사용한 유전자 전달 기술은 빠른 개발이 가능한 플랫폼 기술이며, 박테리아를 조절할 수 있는 항생제 및 산소 조건 조절을 통해 안전성을 높일 수 있고, 실온에서 안정성이 높다는 장점이 있다. 현재 코로나19백신은 임상 진입 단계이며, 그 외 인플루엔자, 로타바이러스 감염에 대한 연구는 discovery 단계로 확인되고 있다.

다. 최근 연구 개발 동향

Bacterial ghost를 targeting delivery system으로 사용할 수 있다는 연구가 2020년 Chemical Engineering Journal에 발표되었다(그림17). Bacterial ghost는 ciprofloxacin과 같은 저분자 의약품의 적재능이 높고 대량 생산이 가능하다는 장점이 있으며, 세포 내로 endocytosis 되면 lysosomal degradation이 되어 cargo를 release할 수 있다. 특히 Bacterial ghost는 대식세포에 높은 표적 능력을 보여주는 특징이 있다.

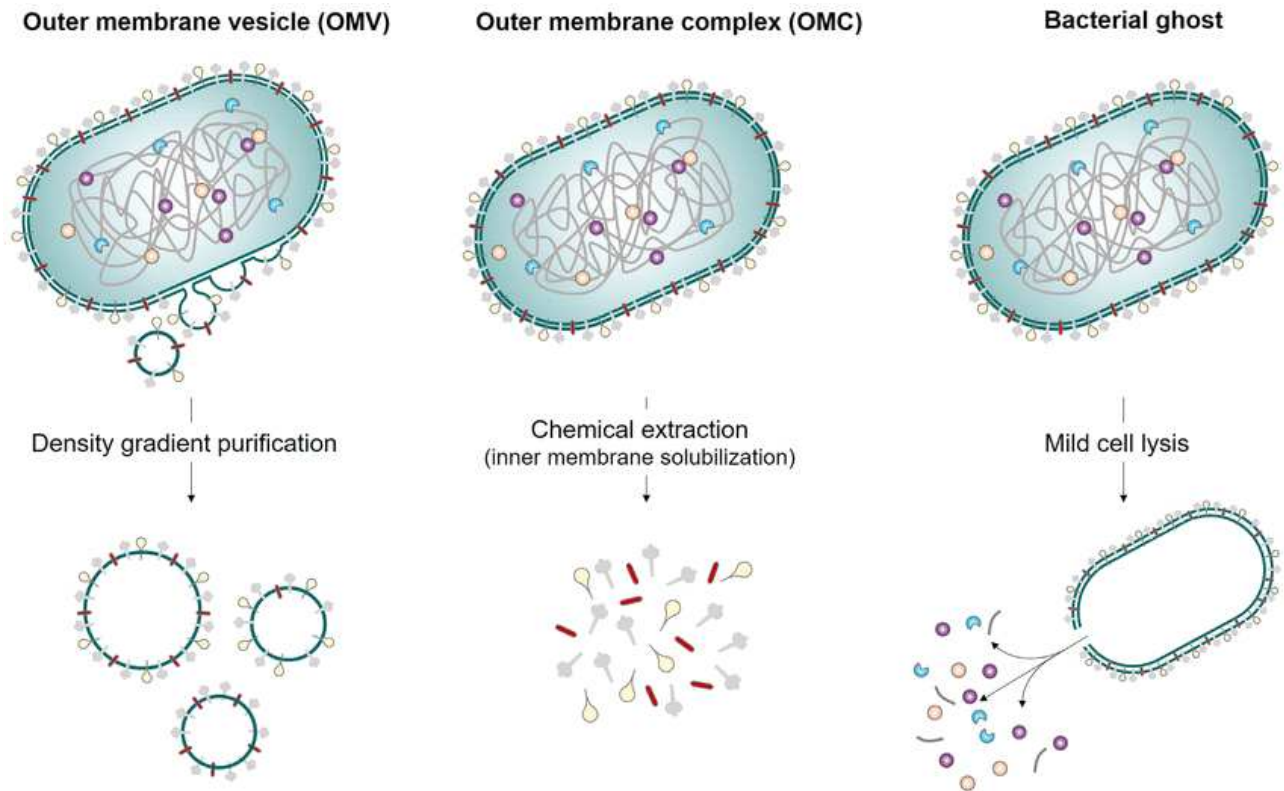


그림 18 bacterial ghost를 활용한 전달시스템 비교

Vaccines for multidrug resistant Gram negative bacteria: lessons from the past for guiding future success, FEMS Microbiol Rev. 2021 May 5;45(3):fuaa054.

2013년에는 bacteria-like particle (BLP) 기반 RSV 백신이 소개되었다. Food-grade *Lactococcus lactis*를 산성 조건 및 고온에서 사멸시키면 표면 단백질 및 세포내 성분의 소실은 있으나 펩티도글리칸 세포벽이 있는 구형의 입자로서 TLR-2를 통한 면역 증강 활성을 가진 항원전달시스템으로 활용 가능하다. BLP 표면에 RSV 항원을 결합시켜 제작한 BLP 백신은 재조합 단백질 항원의 약한 면역원성을 개선할 수 있다는 보고하였다. BLP 플랫폼은 needle free 점막 백신으로 활용 가능하며, 현재 비강 백신으로서 임상 1상을 완료하고 부작용이 없으며, 혈중 항체 뿐만 아니라 비강 IgA 반응을 유도했음을 보고한 바 있다. 그 외에도 계절형 독감 비강 백신이 동일한 BLP 기반 백신으로 개발되어 임상 1상을 진행하여, 내약성이 우수하고 강력한 점막 면역 반응을 비강에서 유도할 수 있다는 보고하였다.

2.5. 바이러스 유사 입자

가. 정의 및 작용 기전

바이러스유사입자(Virus Like Particle, VLP)는 바이러스 단백질로 구성된 입자로 바이러스 유전체를 가지고 있지 않기 때문에 바이러스 감염의 위험이 없으면서 유전자 전달이 가능한 입자이다. VLP는 유전자재조합 방법으로 항원/항체 단백질이 융합된 캡시드 단백질을 제조한 다음 자가조립(self-assembly)를 통하여 입자를 만들 수 있다. 바이러스의 자가조립 기전과 무관하게 자가결합성을 갖는 성분으로 구성된 입자는 “자가조립나노입자”로 표현하기도 하며, 이들이 바이러스 단백질(항원)을 구성 성분으로 하는 경우는 VLP로 분류할 수 있으나, 박테리나나 암 항원을 구성 성분으로 하는 경우에는 자가조립나노입자라는 표현이 더욱 적합할 수 있다. VLP는 크기나 모양이 항원 제시에 매우 적합하여 면역원성이 매우 높은 것으로 알려져 있으며, 특히 종양 치료용 항암백신으로 주로 연구가 진행되고 있다.

백신은 높은 면역원성과 안전성이 가장 중요하다. 세포 배양으로 생성되는 VLP는 감염능력이 없는 안전한 백신의 형태로서, 체액성 및 세포성 면역반응을 효율적으로 유도하므로, 기존의 백신의 한계를 극복한 대체 백신으로 주목받고 있다. VLP의 면역원성을 높이기 위하여 접종 route, dosage, 접종 간격 등에 관한 다양한 연구가 진행 중이다. 특히 플라비바이러스 VLP는 안전하고 비용이 적게 들어 대체 백신으로 많이 연구되고 있다. 플라비바이러스의 prM 및 E 단백질로 구성되는 VLP는 mature virus particles와 거의 같은 항원성 및 생화학적 특성을 가지는 것으로 알려졌다.

VLP는 nonenveloped (neVLPs) 또는 enveloped VLPs (eVLPs)으로 구분할 수 있는데 이는 지질막의 유무가 기준이 된다. 구성에 따라 native pathogen 유래의 단백질로만 결합된 homologous VLP와 다른 기원의 단백질 혹은 펩티드가 결합된 heterologous VLP로 구분할 수 있다. 최근 bioinformatic tool을 이용하여 VLP를 설계하는 다양한 연구들이 소개되고 있다.

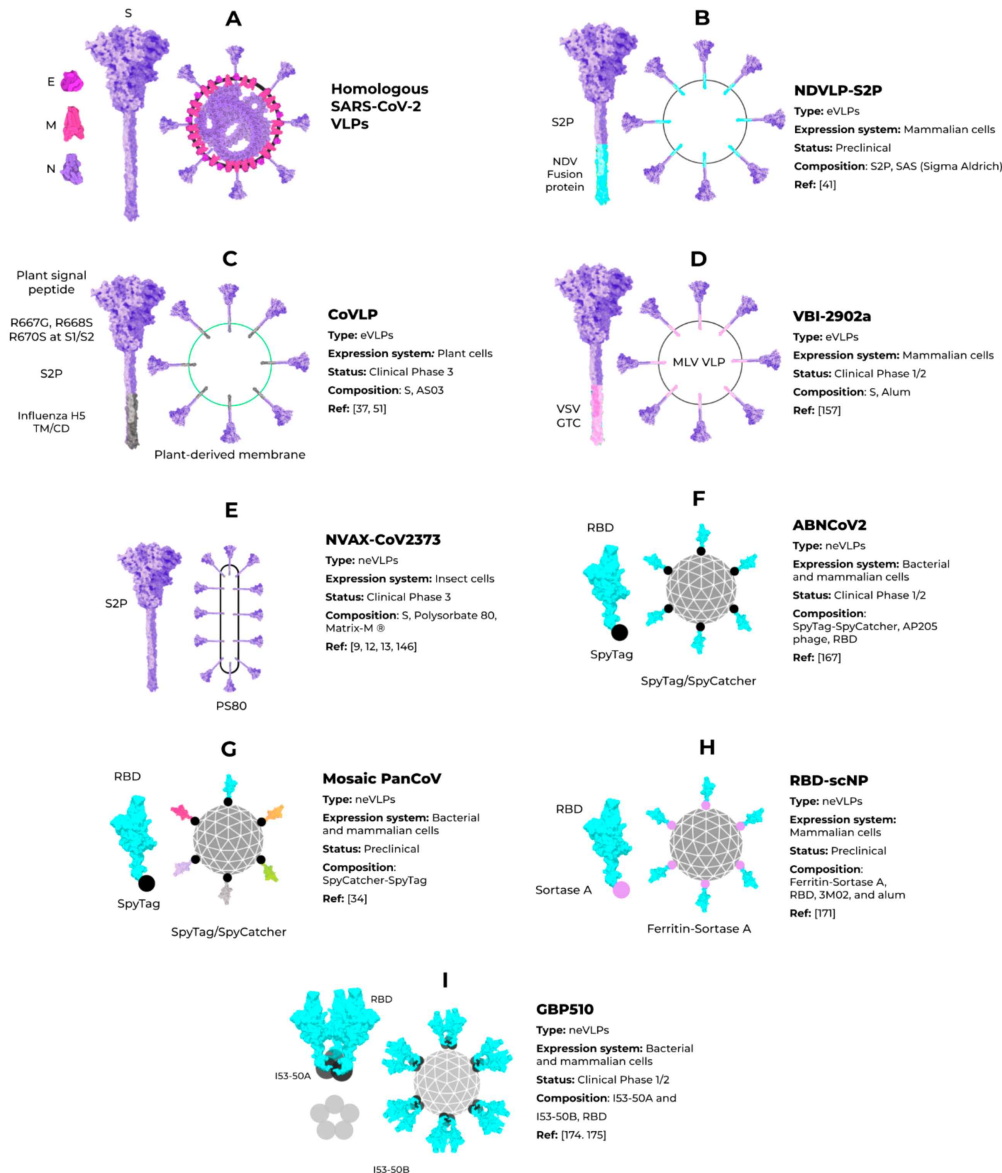


그림 19 VLP를 이용한 전달시스템

VLP-Based COVID-19 Vaccines: An Adaptable Technology against the Threat of New Variants Vaccines (Basel). 2021 Nov 30;9(12):1409.

코로나19 바이러스 eVLP를 형성하기 위하여 바이러스 구조 단백질이 필요할 수 있다. 바이러스 M, E, N protein을 활용하여 homologous SARS-CoV-2 VLP를 개발한 연구(A)가 발표되었고, 백신으로 활용 가능하다는 가능성을 보여주었으나, 대량생산 등에는 한계가 있었다. 이후 heterologous proteins (alternative VLPs scaffolds)으로 구성된 VLP 등이 개발되고 있다. 발현율이 높은 NDV 단백질과 SARS-CoV-2 S2P를 fusion한 단백질은 VLP를 형성하고 표면에 S2P를 잘 display하였고(B), 기존의 trimeric S protein에 비하여 면역원성이 우수한

것으로 분석되었다. 또다른 heterologous SARS-CoV-2 eVLPs vaccine(C)은 Medicago사의 백신으로 plant signal peptide, S1/S2 site, 그리고 Influenza H5 A/Indonesia/5/2005의 TM/CD으로 구성되었으며, GSK 면역증강제인 AS03와 함께 적용되었다. VBI-2902a(D)는 MLV-based eVLPs vaccine으로서 S 단백질이 VSV-G transmembrane cytoplasmic domain (VSV-GTC)과 결합되어 VLP를 형성하게 된다. 이러한 설계를 통해 S protein이 VLP scaffold에 incorporation될 수 있으며, 생산성 및 백신의 효과가 개선되는 것을 확인할 수 있다(그림18).

neVLP는 지질막을 가지지 않은 입자로서 세균 (예, *Escherichia coli*), 효모 (예, *Saccharomyces cerevisiae*) 등의 발현 시스템에서 생산 가능하다. Hepatitis B virus vaccine (Engerix-B®), Human papillomavirus vaccine (Gardasil®, Gardasil 9®)이 neVLP로 분류될 수 있으며, 이들은 *Saccharomyces cerevisiae* 시스템에서 생산되고 있다. 상대적으로 포유동물 세포주 및 곤충 세포 시스템에 비하여 대량생산이 용이하고 비용이 저렴하다는 장점이 있다. Cervarix® vaccine은 recombinant baculovirus를 사용하여 곤충 세포에서 VLP로 생산되고 있다. 코로나19 백신의 경우 glycosylated SARS-CoV-2 S protein이 항원이므로, 이를 생산하기 위해서는 곤충 시스템 또는 포유동물 세포 시스템이 적절할 수 있다.

Novavax사의 NVAX-CoV2373(E)는 baculovirus/insect cell system을 활용하여 S2P protein을 prefusion state로 발현시킨 다음, polysorbate 80 detergent에 incorporation 시켜서 제작하고 있다. 단백질 백신에 비하여 나노입자 백신은 면역원성이 높아 항체 형성이 증가하고 효과가 개선되는 것으로 알려져 있다. 상대적으로 mRNA 백신에 비하여 냉장 상태에서도 수개월 간 보관 가능하다는 안정성, 또한 임상 경험이 오래되었다는 점이 장점이다. ABNCoV2(F)는 Radboud University와 AdaptVac에서 개발 중이며, SpyTag-SpyCatcher 기술에 의해 S단백질이 bacteriophage scaffold system에 display되어 있는 형태이다.

Cohen 연구팀은 mosaic nanoparticle vaccine(G)을 소개하였는데, SARS-CoV-2 RBD를 포함한 여러 바이러스로부터 유래된 S 단백질로 구성되어 있다. 유사하게 Sortase A tagged ferritin-based VLP는 ferritin의 자가 결합 활성화에 의해 입자를 형성하고, Sortase A 작용에 의하여 SARS-CoV-2 S RBD는 입자에 conjugation되어 구성되며 (H) alum adjuvant와 함께 백신으로 개발되고 있다. 이들은 코로나19 바이러스 여러 변이주에도 방어 면역을 유도할 수 있으며, 현재 임상적으로 사용되고 있는 mRNA 백신에 비해 중화 항체 역가가 높다고 보고되고 있다. SK 바이오사이언스 사의 GBP510 (I)는 위싱턴 대학교 institute for protein design의 Two-component nanoparticle platform이 기반이 된 단백질 나노입자 백신, 혹은 자가 결합 나노입자 백신 기술을 바탕으로 개발되었다. SARS-CoV-2 S-2P trimer는 prefusion

conformation으로 생산(trimeric RBD-I53-50A)되고, pentameric I53-50B가 별도로 생산된 이후 in vitro에서 섞어주게 되면 20 trimeric와 12 pentameric 성분이 자가 결합하여 정이십면체 대칭성을 나타내는 나노입자를 형성하게 된다. 각 나노입자는 총 60 copies의 RBD를 display하는 것을 확인하였다. 이를 통해 유도되는 항체는 여러 epitope 특이적인 항체로 분석되어 original strain 뿐만 아니라 변이 주에 대한 중화 효과가 기대될 수 있다. 높은 생산 효율 및 높은 안정성이 장점이며, 현재 임상시험 진행 중인 백신 형태이다.

나. 현재 개발 단계 및 적응증 분석

VLP는 현재 Hepatitis B (Engerix-B®), Hepatitis E (Hecolin®) and HPV (Cervarix®, Gardasil® and Gardasil 9®)를 대상으로 허가 승인되어 활용되고 있다. 그 외에도 유전자 치료 및 DDS로 적용하는 연구가 진행되고 있다.

캐나다의 Medicago 사에서는 virus genome이 없는 VLP 플랫폼이 질적으로 우수하고, 안전하며, 효과적으로 소개하고 있다. 현재 pandemic flu, 코로나19, 계절성 독감 및 rotavirus에 대한 백신을 임상시험하고 있다. Medicago 사의 Proficia® technology는 식물을 기반으로 transfection된 유전자가 발현되고, 이를 통해 VLP를 만드는 기술이다. 해당 회사는 코로나19 바이러스의 recombinant S protein의 trimer 형태를 display하는 self-assembling VLP를 생산하고, GSK사의 oil-in-water adjuvant system AS03를 결합하여 백신으로 제조하였다. 임상 실험을 통해 안전성, 내약성, 면역원성을 보고하였으며, 이를 기반으로 캐나다에서 2022년 3월 허가 승인되었다.

다. 최근 연구 개발 동향

VLP는 자가 조립되어 단백질 입자로 형성되므로, 바이러스가 자연적으로 형성되는 것과 유사한 형태와 면역원성을 유지할 수 있다. 또한 VLP 생산 세포 시스템으로서 현재 식물 세포 외에도 포유동물세포, 박테리아, 곤충 세포, 효모 등 다양한 단백질 생산 세포가 활용될 수 있다. Cervarix®는 곤충 세포에서, Gardasil® 과 Gardasil 9®은 *Saccharomyces cerevisiae* 발현 시스템을 사용하였다. 그러나 포유동물 세포에서 나타나는 특징적인 glycosylation 및 folding pattern 등을 고려하면 생산이 까다롭고 고가의 비용이 필요하나 항원에 따라서 포유동물

시스템의 개발이 필요할 수 있다.

2.6 세포 및 인공 세포

가. 정의 및 작용 기전

백신 투여를 통해 항원 특이적인 면역 반응을 유도하기 위하여 DC와 같은 전문적인 APC에 의하여 항원이 제시되어 T세포를 활성화하는 것은 중요하다. T 의존적인 면역 반응은 T 비의존적인 면역 반응에 비하여 항체의 class switching, 친화도 성숙 등이 효율적으로 일어나며, memory 반응의 확립에도 기여할 수 있다.

항원을 투여하는 백신에서는 체내에서 APC가 항원을 획득하고 이를 processing하는 단계가 일어나나, 숙주에 따라서는, 특히 면역 억제 상태의 암환자, 만성 감염 환자 등의 경우, 이러한 과정이 효율적으로 일어나지 않는 것이 알려져 있다. 따라서 항원 특이적인 면역 반응의 유도를 최적화하기 위하여 체외에서 APC에 항원을 적용하여 투여하는 세포 기반 백신이 개발되었다.

2010년 전립선암 환자를 대상으로 허가 승인된 DC 백신인 Provenge는 암환자에서 얻은 DC 전구세포를 체외에서 DC로 분열, 활성화하면서 암세포 용해물을 적용하는 과정을 거쳐 제작될 수 있다. 제작된 autologous DC 백신이 암환자에 다시 투여되면, 암환자에서는 DC에 의하여 T세포가 활성화되면서 효과적인 T세포 면역 반응이 유도될 수 있다.

그러나 세포 기반 백신은 자가 세포를 사용한다는 점에서 환자에서 세포를 취하는 과정이 필요하며, 세포 배양, 조작 과정이 오염 위험이 있으며, 고가이기 때문에 범용화 백신으로서는 적용의 한계가 있다.

한편, 인공 세포는 생물학적 세포와 유사하게 DNA machinery, protein expression machinery, 및 기능적인 세포성 대사가 이루어지는 시스템이다(그림19). 기존에는 세포의 대사를 연구하는 모델로 주목을 받았으나, 최근에는 항원을 전달하는 안정하고 생체적합성이 높은 전달시스템으로서 연구가 되고 있다. 그 외에도 APC를 모방한 인공적인 세포구조물은 APC처럼 효율적으로 T세포를 활성화하면서, 상대적으로 저렴한 비용으로 면역원성을 유도할 수 있다는 장점이 있다.□

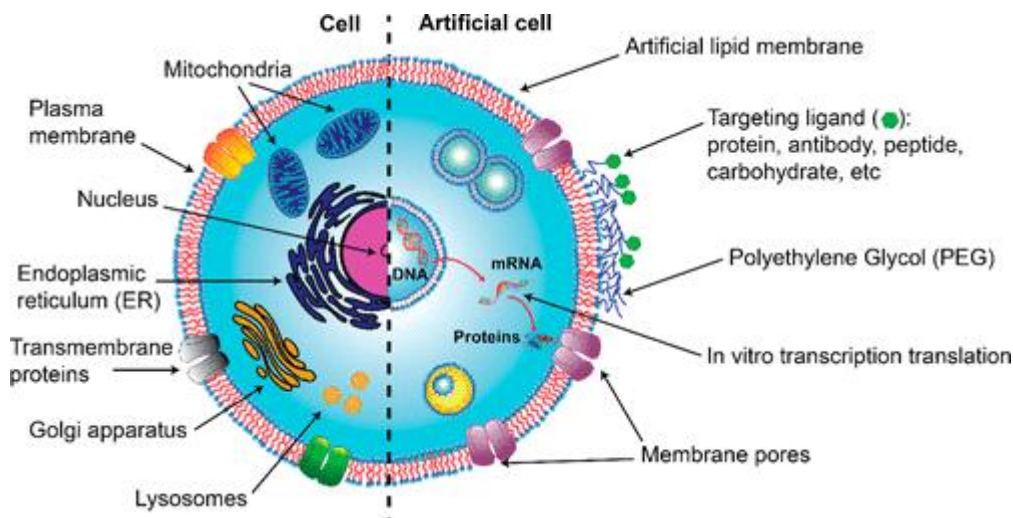


그림 20 인공세포와 세포 비교

Engineering Compartmentalized Biomimetic Micro- and Nanocontainers ACS Nano. 2017 Jul 25;11(7):6549-6565.

나. 현재 개발 단계 및 적응증 분석

기존에 허가 승인되어 활용되던 세포 기반 백신의 적응증은 암이었으며, 다른 형태의 백신 플랫폼에 비하여 제작 비용이 고가라는 점에서는 일반 감염 질환의 예방 백신으로는 세포 기반 백신이 적용되기에는 한계가 있었다. 그러나 강력한 세포 매개 면역 반응을 유도하기 위하여 HIV-1에 대한 치료 백신이 개발된 바 있었다. 자가 DC에 HIV-1의 다양한 항원을 encoding하는 mRNA로 전기천공을 이용하여 유전자를 전달하고, 이를 HIV-감염 환자에 투여한 경우, 항원 특이적인 CD4⁺, CD8⁺ T세포 반응을 유도할 수 있었으며, 부작용이 없는 백신임을 확인한 바 있었으나, 임상적인 지표를 개선하지는 못하였다. 그 외에 동종 줄기세포 유래의 DC를 활용하여 CMV 감염증에 대한 CMV pp65 mRNA-loaded DC 백신이 개발되어 건강한 지원자에게 투여된 바 있었으며, CMV 특이적인 세포성 면역 반응을 유도할 수 있었다.

최근 코로나19 팬데믹 상황에서는 현재 수지상 세포 기반 코로나19 백신이 개발되어 임상시험 진행 중임을 확인할 수 있다. 미국의 Aivita biomedical 사의 백신은 DC 기반 백신이며, 중국 Shenzhen Geno-immune medical institute에서도 세포 기반 백신 및 인공 APC 기반 백신을 개발하였으며, 현재 모두 임상시험 진행 중으로 파악되고 있다. Aivita biomedical 사의 백신은 DC 기반은 성인에서 covid19를 예방하기 위해 개발되고 있다. 자가 수지상세포는 체외에서 DC로 분화가 유도되면서 SARS-CoV-2 spike protein과 함께 배양되고, 배양 기간 이후

GM-CSF와 함께 또는 단독으로 피하 주사로 투여될 수 있다. Shenzhen Geno-Immune Medical Institute의 코로나19 aAPC Vaccine은 코로나19 바이러스의 구조 단백질 및 protease의 보존된 영역을 기반으로 합성 minigene을 확보하고, 렌티바이러스 벡터 시스템으로 인공 APC에 유전자를 전달하여 제작하게 된다. 추가로 면역 조절 유전자를 도입하여 aAPC를 최적화하게 된다. 코로나19/aAPC는 이후 분열을 하지 못하도록 불활성화되고, 이후 피하로 3번에 걸쳐 투여가 진행된다. aAPC의 활용으로 환자에서 DC 전구세포를 확보해야 하는 문제를 해결할 수 있다. 또한 APC와 유사하게 항원 특이적인 T세포 반응을 유도할 수 있다가 알려져 있다.

다. 최근 연구 개발 동향

DC 기반의 세포 백신은 T세포 면역 반응을 효율적으로 유도할 수 있으나, 제작 비용이 고가라는 문제가 있다. 이를 극복하기 위하여 셀리드 사에서는 대안적인 세포인 B세포 백신을 개발하였다. B세포는 DC에 비하여 혈액을 통해 많은 양을 확보할 수 있다는 장점이 있으나, 상대적으로 면역원성이 낮다. 이를 극복하기 위하여 B세포에 항원과 더불어 NKT ligand를 추가로 적재함으로써 체내에서 NKT 세포 활성화를 유도할 수 있으며, 활성화된 NKT에 의하여 B세포는 DC와 유사하게 항원제시세포로서 기능하며, 또한 NK 등과 같은 innate 면역 세포의 활성화도 기대할 수 있다. DC 기반 백신에 비하여 제작 기간이 단축되며, 제작 비용도 크게 절감될 것으로 기대된다.

1957년 처음 인공 세포가 Chang TM에 의하여 소개되었다. 인공 세포는 DNA와 단백질 발현 기구를 포함하고 있는 세포막을 가진 구조로서 세포의 특성이나 합성 분야에서 시험관 모델을 대신하여 주목받고 있다. 최근에는 세포의 대사를 이해하거나 이를 조절하는 기전 (예, 리보스위치)를 연구하기 위하여 인공 세포 모델을 활용한 연구가 보고되었다. 이후 최근에는 세포막-기반 DDS 연구로 확장이 되었으며, 이를 인공세포 혹은 protocell로 명명하고 있다. 이들은 DDS로서 연구가 진행된 바 있으며, 백신 항원전달시스템으로서는 artificial antigen presenting cells (aAPC)를 활용한 코로나19 백신이 임상시험 진입한 것으로 확인되고 있다.

aAPC 연구 중 하나는 Iron-Dextran 나노입자를 core로 하고 있다. 이러한 나노 입자에 APC가 T세포를 활성화하는 데 필요한 signal 1인 MHC와 signal 2인 costimulatory molecule인 B7.1을 display하여 aAPC를 제작할 수 있다. 그 외에 Quantum Dot Nano입자를 이용한 aAPC 제작 연구도 수행된 바 있다(그림20).

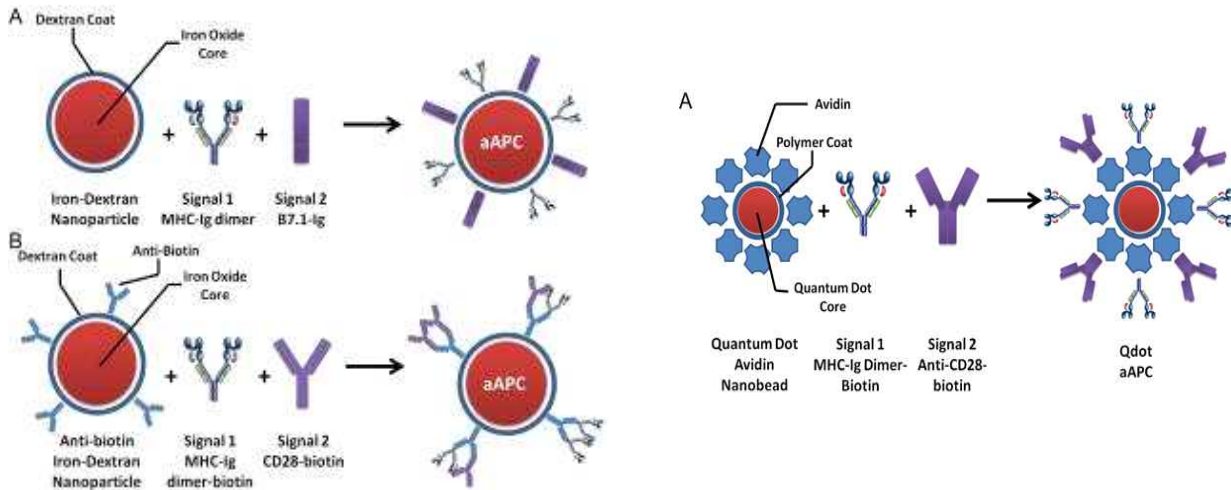


그림 21 aAPC를 활용한 전달시스템

Nanoscale artificial antigen presenting cells for T cell immunotherapy Nanomedicine. 2014
Jan;10(1):119-29.

2.7 세포외 소포

가. 정의 및 작용 기전

유전자 혹은 항원을 전달하기 위한 전달시스템로서 엑소좀의 기능 연구가 최근 보고되었다. 암 치료 백신 분야에서 암항원이 적용된 수지상 세포에서 유래한 엑소좀 혹은 암세포에서 유래된 엑소좀은 효율적으로 항원 특이적인 면역 반응을 유도하여 항암 치료 효과를 거둘 수 있다. 이러한 세포 유래의 전달시스템은 합성 입자에 비하여 다가 항원 특이적인 면역반응을 유도할 수 있기 때문에 장점이 될 수 있다

엑소좀 마커로서 Tetraspanins (CD63 a, CD81 b,c, and CD9 c,d)이 알려져 있으며, 그 외에 Multivesicular Body (MVB)-연관 단백질들이 마커로 활용될 수 있다. Endosomal maturation pathway 중 multivesicular bodies (MVBs)가 형성될 때 endosomal sorting complex required for transport (ESCRT) 단백질이 관여하며, 따라서 ESCRT-related protein들이 엑소좀의 마커로 활용 가능하다. 그러나 해당 단백질이 마커로서 활용되기 위해서는 엑소좀의 형성 과정이 좀 더 규명될 필요가 있다. 그 외에도 엑소좀 내부에는 HSP60, HSP70, HSP90이 종종 포함되기도 한다. 이 외에도 Tissue/Cell Type-특이적인 마커들이 활용될 수 있다(그림21).

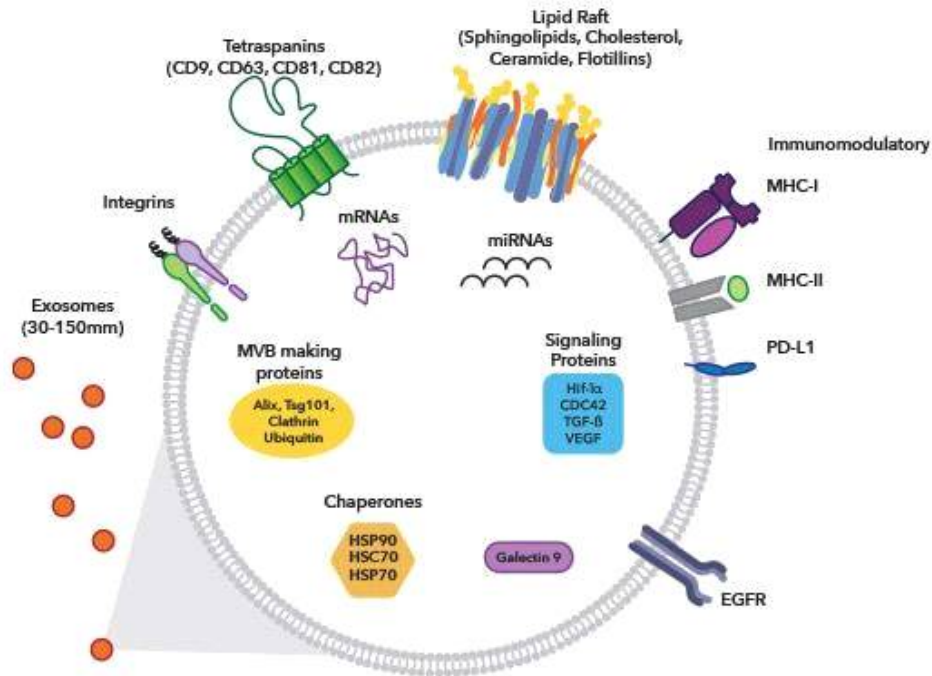


그림 22 세포밖 소포체(엑소좀) 마커

Novus Biologicals, Protein Markers for Exosome Characterization

Outer Membrane Vehicles (OMV)는 그람 음성 세균의 outer membrane이 periplasm에 존재하는 물질들을 에워싸면서 세포 밖으로 유리된 소포이다. 1960년대에 발견된 이후, 구성 성분에 대해서는 주로 단백질 성분을 확인하는 연구가 이뤄져 왔으며, 최근 이들을 이용하여 진단 및 치료에 활용하고자 하는 연구가 수행되고 있다. 병원성 미생물 유래 OMV는 지질, 단백질, DNA 등이 포함되어 있으며, protease나 온도 등의 외부 스트레스 인자에서 이들을 보호할 수 있다. OMV 표면에 분포하는 LPS는 면역보강제로서 작용하여 전달시스템이자 면역보강제로서의 기능을 주목받고 있다. 외막이 있는 그람 음성 세균 뿐만 아니라 그람 양성 세균에서도 세포 밖으로 유리되는 소포가 형성되므로, 이들은 세포외 소포라는 표현이 적합할 수 있다(그림22).

엑소좀과 OMV는 공통적으로 세포밖으로 분비된 세포 유래의 소포체라는 특징이 있으므로 세포외 소포체로 통칭할 수 있다. 실제 관련 국제 학회의 명칭은 International Society for Extracellular Vesicles (ISEV)이며, 국내 학회의 명칭은 ‘한국세포밖 소포체학회(Korean Society for Extracellular Vesicles (KSEV))’이다. 본 연구에서도 엑소좀과 OMV를 “세포외 소포” 명칭으로 묶어서 명명하고자 한다.

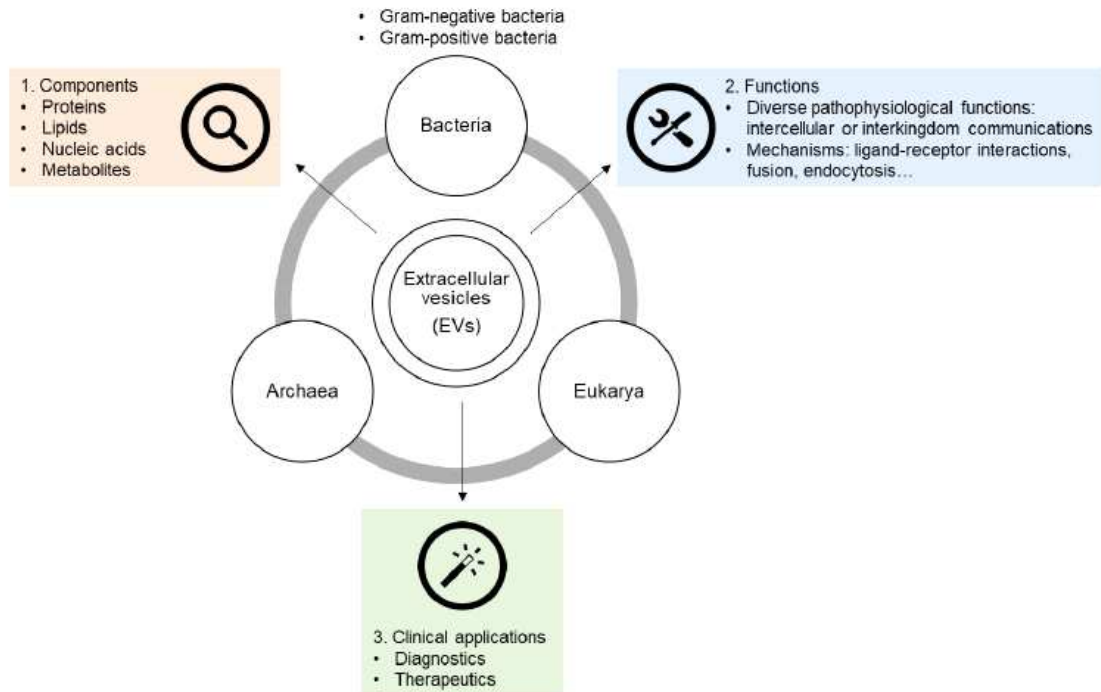


그림 23 세포밖 소포체(엑소좀) 연구 동향

BRIC View 2020-T07

나. 현재 개발 단계 및 적응증 분석

유전자 전달시스템으로서 엑소좀은 모세포로부터 유래한 핵산을 많이 지닐 수 있고, 세포 흡수율이 높고, 그 자체가 면역반응이 낮으며, 체내 물리적 장벽에 대한 제약이 낮다는 것이 장점이다. 엑소좀은 기존의 단백질 기반의 방법에 비하여 진단 도구로서 높은 정밀도를 가지는 것으로 보고되었다. 한편 치료 분야에서는 생체 유래물질로서 독성이 적고, 다양한 물질을 전달할 수 있는 전달시스템으로서의 기능을 주목받고 있다.

국외에서는 Evox therapeutics가 대표적인 세포외 소포체를 기반으로 한 회사이다. 엑소좀의 전달시스템으로서의 기능을 기반으로 DeliverEX platform으로 단백질 및 핵산을 전달하는 기술을 보유하고 있다. 유전질환 및 신경학적 질환 치료제를 개발하고 있으며 discovery 혹은 preclinical stage로 확인된다. 해당 회사는 항원전달시스템으로 개발을 진행하고 있지는 않으나, 전달시스템으로서의 엑소좀의 가능성을 확인할 수 있다.

현재 만성 염증, 자가면역 질환, 노화 등의 질환 치료제 및 항암 치료 백신으로서 개발이 진행되고 있다. DC와 같은 면역 세포 유래 혹은 종양 세포 유래 엑소좀에는 암 항원이 포함되어 있고, 이들에 의하여 T세포 활성화를 유도할 수 있다가 보고되었다.

OMV는 단백질, 글리칸 등의 전달시스템으로서 많은 연구가 되었다. OMV의 내인성 autotransporter를 활용하여 heterologous antigen를 uptake한 decorated OMV를 만드는 기술이 개발되었고, 이는 OMV를 항원전달시스템으로 활용 가능한 플랫폼 기술로서 활용될 수 있었다. 또한 OMV에 포함된 LPS에 의하여 면역 증강 효과가 유도되기도 하였다.

OMV는 박테리아 감염에 대한 백신으로서 기존의 백신의 대안으로 주목받았다. OMV는 상대적으로 제작 비용이 적게 들고 재조합 단백질 시스템이 아닌 세균을 생산 시스템으로 한다는 점이 장점이 될 수 있다. OMV 기반 백신은 그 자체가 가진 LPS에 의하여 innate 면역 시스템이 활성화되며, OMV가 함유한 항원 특이적인 중화 항체를 효율적으로 유도할 수 있다가 보고되었다. 또한 재조합 단백질 발현 시스템에 비하여 박테리아 항원이 native conformation이 유지되는 것이 장점이 될 수 있다. 현재 *N. meningitidis* 감염에 대한 OMV-based vaccine이 임상적으로 활용되고 있으며, 안전성과 유효성을 보고하고 있다.

그러나 OMV 기반 백신은 생산 효율이 다소 낮으며, LPS가 endotoxin으로 작용할 가능성이 부작용이 될 수 있다. 생산 효율을 증가시키기 위하여 박테리아를 stress를 가하여 OMV 생산을 유도하는 연구가 보고되었다. 또한 LPS를 제거하기 위하여 detergent를 사용한 추출법 혹은 유전적인 조작을 통해서 LPS의 양을 감소시킬 수 있다. 안전성을 위하여 LPS를 제거한 경우 면역원성이 감소되는 문제가 발생될 수 있다.

다. 최근 연구 개발 동향

수지상 세포 유래 엑소좀 (Dex)은 MHC class I, II, 공자극 분자 및 부착 분자를 보유하고, 마치 APC처럼 항원을 제시할 수 있다가 보고되었다. 이를 바탕으로 수지상 세포 유래 엑소좀과 종양 항원을 공배양한 백신이 DC 기반 백신의 대안으로 제시되고 있다. 최근 폐암환자를 대상으로 항암 치료 백신의 임상시험이 진행되었으며, 그 결과 제한적인 항암 치료효과를 보고하였다. 기대 이하의 면역원성은 해당 백신의 암항원이 임상적으로 대상 환자에서 중요하지 않을 가능성이 있고, 한편으로는 IFN- γ 에 의하여 면역 억제 인자인 PD-L1의 유도 가능성이 제안되었다. 따라서 최근 Dex의 면역원성을 개선하기 위하여 costimulatory molecule을 증가시키는 engineering을 하거나, 다양한 cytokine과 병용하는 연구가 수행되고 있다.

엑소좀에 더 많은 양의 핵산을 담지하기 위하여 리포좀과 엑소좀의 hybrid 형태가 제안되었다. 이를 통해 더 많은 양의 핵산 전달이 가능하였으며, 엑소좀에 의하여 핵산의 반감기 연장, 세포 uptake 개선 효과를 확인한 바 있다.

Zhaoting Li et al. 은 2021년 Advanced Materials지에서 bacteria-based delivery system에 대한 리뷰를 발표하였으며, Mireia Lopez-Siles et al. 은 2020년 박테리아 감염에 대한 백신의 유형을 분석한 결과, 재조합 단백질 백신 및 다당류 백신에 이어 OMV, OMC, 및 bacterial ghost가 연구가 진행됨을 확인할 수 있다.

3. 향후 백신 개발 전망

새로운 감염병의 출현으로 기존 백신의 형태에 국한되지 않고 새로운 백신이 빠르게 진입될 수 있다는 코로나19 백신을 통해 확인한 바 있다. 미래형 백신의 형태를 예측하고 준비하기 위하여 기존 백신의 형태에 국한하지 않고 연구 개발 중인 백신 유형을 파악하고 이들의 장단점을 분석하는 것이 필요하다.

3. 1. 다가 백신

이상적인 백신은 각종 변이에도 방어 효능을 유지하는 것이 필요하며, 이를 위하여 항원의 선정이 중요하다. 변이에도 보존되는 항원을 표적하는 방안이 있을 수 있으며, 그 외에도 각종 변이 특이적인 항원을 조합한 다가 백신을 구성하는 방법이 가능하다. 현재 다양한 코로나19 백신 개발 현황을 분석해보면, 변이에 효과를 나타내기 위하여 상기의 전략으로 개발되는 백신들을 확인할 수 있으며, 그 외에도 여러 질환에 대한 방어 효과를 동시에 유도하기 위하여 여러 병원체 유래의 항원을 조합한 다가 백신이 개발되기도 한다.

미국 VBI백신의 enveloped virus-like particle (eVLP) technology platform 기반으로 개발된 백신 중 VBI-2901은 3개의 형태로서 prefusion된 코로나19 바이러스 스파이크 단백질 외에 SARS-CoV와 MERS-CoV의 스파이크 단백질이 fusion된 형태로 개발되었으며, 2022년에 임상시험을 준비 중에 있다.

SK바이오사이언스가 개발한 자가 조립 입자 백신 GBP510은 단백질 재조합 백신이면서 입자를 형성하는 플랫폼이며, 해당 기술을 활용하면 다가 백신을 효율적으로 제작할 수 있다. 그 외에도 국내에서는 유바이오로직스와 랩지노믹스도 다가백신을 개발하고 있다.

VLP 백신 외에도 유전자 백신에서도 여러 개의 항원을 발현하는 유전자 벡터를 제작하여 다가

백신을 제작할 수 있으며, 펩티드 백신에서도 약한 면역원성을 개선하기 위한 방안으로 입자를 기반으로 다가 백신을 제조하는 연구가 활발히 수행되었다.

3. 2. 점막 백신

점막 면역(mucosal immunity)은 호흡기 점막, 장관 점막, 생식기 점막 등에서 나타나는 면역 반응으로, 점막을 통해 침입하는 병원체들에 대한 초기 방어에 중요한 역할을 담당하고 있다. 병원체들의 침입 시에 내부 감염 전 병원체들의 배제가 가능하며, 또한 병원체 감염이 일어나는 장소에서 면역 반응을 유도하는 것은 효율적인 보호를 위하여 필요하다.

점막으로 투여되는 백신에는 경구, 비강, 직장, 질내, 설하 백신 등이 연구되고 있다. 소아마비를 유발하는 폴리오 바이러스 예방용 경구백신이 처음으로 상용화되었으며, 이후 로타바이러스, 살모넬라, 콜레라에 대한 경구백신이 상용화되었다. 또한, 독감 바이러스 예방용 비강 백신 FluMist가 시중에서 사용되고 있다.

호흡기를 통해 감염되는 바이러스 질환을 예방하기 위한 비강 백신은 주사제에 비하여 비침습적인 장점이 있으며, 전신 백신에 비하여 좀 더 효과적으로 점막 면역을 유도할 수 있다. 즉, 비강백신은 호흡기 점막에서 IgA를 유도하는 동시에 폐에서 IgG를 유도하여 감염을 더 효과적으로 예방할 수 있으나, 근육으로 투여되는 전신 백신은 IgG를 유도하여 폐 감염을 예방하지만, 상대적으로 비강 감염 방어력이 낮은 것으로 관찰되었다.

코로나19 백신의 경우에도 비강으로 투여될 경우 호흡기를 통해 점막으로 침입하는 코로나19 바이러스를 효과적으로 방어할 수 있을 것으로 기대된다. 하지만 코로나19에 대해서 개발 중인 약 100개의 백신 가운데 7개만이 비강 백신으로 임상시험 중으로 분석되고 있다. 임상시험 중인 7개 비강백신은 바이러스백터(3개), 생약독화 바이러스(3개), 서브유닛 단백질 백신(1개) 형태로 개발 중이며, 아직 mRNA 기반의 비강백신은 임상시험 목록에 없지만, 유전자 백신 역시 점막 백신으로 활발히 연구가 진행되고 있다. 점막으로 투여하는 mRNA 백신을 개발하기 위해서 점막에 존재하는 세포를 표적하는 항원전달시스템의 확보가 중요하며, 그 외에도 점막 면역 내성을 극복하기 위한 면역증강제의 적용이 필요할 수 있다.

NAME	DEVELOPER	TYPE (ANTIGEN)	CLINICAL TRIAL
ChAdOx1-S	University of Oxford	Chimp adenovirus vector (spike)	NCT04816019 (phase 1)
AdCOVID	Altimmune	Adenovirus 5 vector (RBD)	NCT04679909 (phase 1)
BBV154	Bharat Biotech	Simian adenovirus vector (spike)	NCT04751682 (phase 1)
DeINS1-nCoV-RBD LAIV	University of Hong Kong	Live attenuated influenza virus (RBD)	NCT04809389 (phase 1)
MV-014-212	Meissa Vaccines	Live attenuated RSV (spike)	NCT04798001 (phase 1)
COVI-VAC	Codagenix	Live attenuated SARS-CoV-2	NCT04619628 (phase 1)
CIBG-669	Center for Genetic Engineering and Biotechnology, Cuba	Protein subunit AgnHB (RBD)	RPCEC00000345 (phase 1/2)

† HB, hepatitis B virus; RBD, receptor binding domain; RSV, respiratory syncytial virus; SARS-CoV-2, severe respiratory syndrome coronavirus 2

출처: Science, Scent of a vaccine, 2021.7.23.

그림 24 임상시험 중인 코로나19 비강 백신

궁극적으로 백신은 접종을 통해 감염되는 사이트에 면역을 유도하여 효과적인 방어를 하는 것을 목표로 하며, 이를 위해 근육 내 백신 접종 후 후속적인 점막 백신 투여에 의해 점막 영역에서 방어 면역 효과를 유도한 연구 결과가 발표된 바 있다. 전신 면역을 통해 IgG를 매개로 한 장기적 전신면역반응을 유도하고 기억 B세포 및 T세포를 형성하였고, 비강백신 부스터를 통해 기억 B세포와 T세포를 비강으로 유도하고 비강 및 상기도의 분비형 IgA를 유도할 수 있었다.

최근 코로나19 비강 백신으로 개발된 "vir4vac" RNA vaccines은 호흡기 sendai virus를 항원전달시스템으로 하여 구성된 바이러스 벡터 백신으로서 안전성과 호흡기 바이러스 감염에 대한 우수한 방어 효과를 유도하였다. 해당 백신은 자연적인 바이러스 감염을 모방하여 면역반응을 유도하므로, T세포 및 B세포 반응이 동시에 유도되며 점막 면역이 효율적으로 활성화될 수 있었다. 전신으로 투여된 백신에서는 전신 면역반응이 일어나 백신 투여자에서는 질환에 대한 방어 효과가 나타날 수 있으나, 호흡기 점막에서부터 virus shedding 현상을 통해 바이러스 감염을 효과적으로 차단하기에는 한계가 있다. 그러나 비강 백신에서는 효율적인 점막 면역 반응의 활성화를 통해 강력한 방어 효과 및 바이러스 전파 차단 효과를 유도할 수 있었다.

그러나 비강 투여 시에 신경독성 등의 안전성이 문제가 될 수 있다. 인플루엔자 비강백신 임상시험에서 안면마비 등이 보고됨에 따라 안전성을 평가하기 위하여 신경계로의 분포 및 영향을 분석할 필요가 있다.

또한 비강 투여는 호흡기 감염에 대한 직접적인 투여 경로가 될 수 있으나, 상대적으로 용량을 조절하기 어려우며 편안하게 다량의 백신을 흡입하기에는 한계가 있으므로, 가장 이상적인 점막

백신 경로는 경구 투여가 될 수 있다. 그러나 경구 투여 시에 경구 관용 기전을 극복하고 호흡기 점막으로 유효한 면역 반응을 유도하는 것이 관건이 될 수 있다. 이러한 문제는 적절한 면역 증강제의 적용으로 해결될 수 있다.

미국 백사트는 아데노바이러스 type 5 기반의 경구용 코로나19 백신 tablet을 개발하고 있다. 이 약은 위산에서 분해되지 않기 위해 coating되어 있으며, 하부소장에서 아데노바이러스 벡터가 유리되어 상피세포에 감염되어 코로나19 바이러스 스파이크 항원을 발현하는 것으로 알려졌다. 소장 하부에서 항원 특이적인 강력한 면역반응이 유도되며, 강력한 T세포 활성화도 유도할 수 있다는 임상 1상 시험을 통해 확인하였다. 비임상시험 결과에서는 코로나19 바이러스 전파를 효과적으로 차단하는 활성을 보고하였다. 해당 백신은 저온 유통이 요구되지 않으며, 주사기를 사용하지 않고 간단한 알약으로 복용할 수 있는 백신으로 유용할 것으로 기대된다.

3. 3. T세포 targeting 백신

최근 코로나19 바이러스에 대한 방어 면역을 확립하기 위해서는 장기간 지속되는 기억 면역과 변이에도 유효한 면역 반응이 나타나는 보존된 항원 특이적인 면역 반응이 중요하다는 사실이 여러 연구를 통해 보고되고 있다.

계절성 독감 바이러스도 항원의 변이가 일어나 백신의 유효성이 유지되는 기간이 짧은 대표적인 바이러스이다. 항체가 targeting하는 HA와 NA외에 주로 CTL이 인식하는 항원인 NP, PA 및 matrix 1 protein (M1)은 상대적으로 변이 바이러스에서도 보존되어 있으며, CTL 면역반응에 의하여 다양한 변이주에 대항하는 방어 면역을 확립할 수 있다가 보고된 바 있다. 또한 장기간 지속되는 면역 반응의 확립을 위해서는 memory T 세포 반응의 확립이 요구된다. 따라서 T세포를 활성화하는 항원의 선정이 효과적인 방어 면역을 유도하기 위해 중요할 수 있다.

효과적인 T세포 면역을 유도하기 위해서는 외인성 항원으로 작용하는 단백질 항원 기반 백신에 비하여 내인성 항원을 제공하는 유전자 백신이 효율적으로 활용될 수 있다. 또한 교차 항원 제시를 증강시키는 적절한 항원 증강제의 사용이 도움이 된다. 최종적으로 감염에 대한 효과적인 방어 면역을 획득하기 위하여 보존된 T세포 epitope을 포함하는 항원의 선정을 통하여 T세포 targeting 백신의 개발이 가능하다.

4. 참고문헌

- 1 Sirsi, S. R. & Borden, M. A. Advances in Ultrasound Mediated Gene Therapy Using Microbubble Contrast Agents. *Theranostics* **2**, 1208-1222 (2012).
- 2 Fan, Y., Marioli, M. & Zhang, K. Analytical characterization of liposomes and other lipid nanoparticles for drug delivery. *J Pharm Biomed Anal* **192**, 113642 (2021).
- 3 Carabineiro, S. A. C. Applications of Gold Nanoparticles in Nanomedicine: Recent Advances in Vaccines. *Molecules* **22** (2017).
- 4 Chang, T. M. Artificial cells in medicine and biotechnology. *Appl Biochem Biotechnol* **10**, 5-24 (1984).
- 5 Xie, S. Z. *et al.* Bacterial ghosts for targeting delivery and subsequent responsive release of ciprofloxacin to destruct intracellular bacteria. *Chem Eng J* **399** (2020).
- 6 Gonzalez-Mora, A., Hernandez-Perez, J., Iqbal, H. M. N., Rito-Palomares, M. & Benavides, J. Bacteriophage-Based Vaccines: A Potent Approach for Antigen Delivery. *Vaccines (Basel)* **8** (2020).
- 7 Yang, G., Chen, S. & Zhang, J. Bioinspired and Biomimetic Nanotherapies for the Treatment of Infectious Diseases. *Front Pharmacol* **10**, 751 (2019).
- 8 Zhou, J. R., Kroll, A. V., Holay, M., Fang, R. H. & Zhang, L. F. Biomimetic Nanotechnology toward Personalized Vaccines. *Adv Mater* **32** (2020).
- 9 Wernerus, H. & Stahl, S. Biotechnological applications for surface-engineered bacteria. *Biotechnol Appl Biochem* **40**, 209-228 (2004).
- 10 Sanyal, G., Sarnefalt, A. & Kumar, A. Considerations for bioanalytical characterization and batch release of COVID-19 vaccines. *NPJ Vaccines* **6**, 53 (2021).
- 11 Yang, R. *et al.* A core-shell structured COVID-19 mRNA vaccine with favorable biodistribution pattern and promising immunity. *Signal Transduct Target Ther* **6**, 213 (2021).
- 12 Biagi, C. *et al.* Current State and Challenges in Developing Respiratory Syncytial Virus Vaccines. *Vaccines (Basel)* **8** (2020).
- 13 Hargrave, A., Mustafa, A. S., Hanif, A., Tunio, J. H. & Hanif, S. N. M. Current Status of HIV-1 Vaccines. *Vaccines (Basel)* **9** (2021).
- 14 Tian, H. & Li, W. Dendritic cell-derived exosomes for cancer immunotherapy: hope and challenges. *Ann Transl Med* **5**, 221 (2017).
- 15 Walls, A. C. *et al.* Elicitation of Potent Neutralizing Antibody Responses by Designed Protein Nanoparticle Vaccines for SARS-CoV-2. *Cell* **183**, 1367-1382 e1317 (2020).

- 16 Trantidou, T. *et al.* Engineering Compartmentalized Biomimetic Micro- and Nanocontainers. *Acs Nano* **11**, 6549-6565 (2017).
- 17 Kim, E. K. *et al.* Enhanced antitumor immunotherapeutic effect of B-cell-based vaccine transduced with modified adenoviral vector containing type 35 fiber structures. *Gene Ther* **21**, 106-114 (2014).
- 18 Chang, S. Y., Lee, K. C., Ko, S. Y., Ko, H. J. & Kang, C. Y. Enhanced efficacy of DNA vaccination against Her-2/neu tumor antigen by genetic adjuvants. *Int J Cancer* **111**, 86-95 (2004).
- 19 Ahn, S. *et al.* Gold nanoparticles displaying tumor-associated self-antigens as a potential vaccine for cancer immunotherapy. *Adv Healthc Mater* **3**, 1194-1199 (2014).
- 20 Dinh, N. T. H. *et al.* Indoor dust extracellular vesicles promote cancer lung metastasis by inducing tumour necrosis factor- α . *J Extracell Vesicles* **9**, 1766821 (2020).
- 21 Tenchov, R., Bird, R., Curtze, A. E. & Zhou, Q. Q. Lipid Nanoparticles-From Liposomes to mRNA Vaccine Delivery, a Landscape of Research Diversity and Advancement. *Acs Nano* **15**, 16982-17015 (2021).
- 22 Lin, I. Y., Van, T. T. & Smooker, P. M. Live-Attenuated Bacterial Vectors: Tools for Vaccine and Therapeutic Agent Delivery. *Vaccines (Basel)* **3**, 940-972 (2015).
- 23 Castells, M. C. & Phillips, E. J. Maintaining Safety with SARS-CoV-2 Vaccines. *N Engl J Med* **384**, 643-649 (2021).
- 24 Pardi, N., Hogan, M. J., Porter, F. W. & Weissman, D. mRNA vaccines - a new era in vaccinology. *Nat Rev Drug Discov* **17**, 261-279 (2018).
- 25 Schoenmaker, L. *et al.* mRNA-lipid nanoparticle COVID-19 vaccines: Structure and stability. *Int J Pharm* **601**, 120586 (2021).
- 26 Buschmann, M. D. *et al.* Nanomaterial Delivery Systems for mRNA Vaccines. *Vaccines (Basel)* **9** (2021).
- 27 Alfagih, I. M., Aldosari, B., AlQuadeib, B., Almurshedi, A. & Alfagih, M. M. Nanoparticles as Adjuvants and Nanodelivery Systems for mRNA-Based Vaccines. *Pharmaceutics* **13**, (2021).
- 28 Perica, K. *et al.* Nanoscale artificial antigen presenting cells for T cell immunotherapy. *Nanomedicine* **10**, 119-129, (2014).
- 29 Yahalom-Ronen, Y. *et al.* Neutralization of SARS-CoV-2 Variants by rVSV-Delta G-Spike-Elicited Human Sera. *Vaccines (Basel)* **10**, (2022).
- 30 Balhuizen, M. D., Veldhuizen, E. J. A. & Haagsman, H. P. Outer Membrane Vesicle Induction and Isolation for Vaccine Development. *Front Microbiol* **12**, 629090, (2021).

- 31 Gorski, A., Borysowski, J. & Miedzybrodzki, R. Phage Therapy: Towards a Successful Clinical Trial. *Antibiotics (Basel)* **9**, (2020).
- 32 Raut, S. *et al.* Reconstituted HDL: Drug Delivery Platform for Overcoming Biological Barriers to Cancer Therapy. *Front Pharmacol* **9**, (2018).
- 33 Roovers, S. *et al.* The Role of Ultrasound-Driven Microbubble Dynamics in Drug Delivery: From Microbubble Fundamentals to Clinical Translation. *Langmuir* **35**, 10173-10191, (2019).
- 34 Ponce-de-Leon, S. *et al.* Safety and immunogenicity of a live recombinant Newcastle disease virus-based COVID-19 vaccine (Patria) administered via the intramuscular or intranasal route: Interim results of a non-randomized open label phase I trial in Mexico. *medRxiv*, (2022).
- 35 Kern, R. *et al.* Ultrasound microbubble destruction imaging in acute middle cerebral artery stroke. *Stroke* **35**, 1665-1670, doi:10.1161/01.STR.0000129332.10721.7e (2004).
- 36 Wu, J. & Li, R. K. Ultrasound-targeted microbubble destruction in gene therapy: A new tool to cure human diseases. *Genes Dis* **4**, 64-74, (2017).
- 37 Diltemiz, S. E. *et al.* Use of artificial cells as drug carriers. *Mater Chem Front* **5**, 6672-6692, (2021).
- 38 Lopez-Siles, M., Corral-Lugo, A. & McConnell, M. J. Vaccines for multidrug resistant Gram negative bacteria: lessons from the past for guiding future success. *FEMS Microbiol Rev* **45**, (2021).
- 39 Kim, G. N. *et al.* A vesicular stomatitis virus-based prime-boost vaccination strategy induces potent and protective neutralizing antibodies against SARS-CoV-2. *PLoS Pathog* **17**, e1010092, (2021).
- 40 Prates-Syed, W. A. *et al.* VLP-Based COVID-19 Vaccines: An Adaptable Technology against the Threat of New Variants. *Vaccines (Basel)* **9**, (2021).
- 41 W.H. Freeman. Kuby immunology (7th ed.). New York
- 42 Entos Pharmaceuticals, Fusogenix proteo-lipid vehicle (PLV)
- 43 Novus Biologicals, Protein Markers for Exosome Characterization
- 44 이재욱, 세포막 소포체(엑소좀) 연구 동향. BRIC View 2020, T07
- 45 국내 리포솜제제의 품질평가 가이드라인 2017
- 46 의약품 나노전달체의 특성평가 및 약동학적 평가법개발 2016
- 47 유전자 전달 의약품의 품질, 전임상, 임상 측면의 지침서 (EMA, 1999 draft)

- 48 코로나19 mRNA 백신 국가출하승인 가이드라인 [민원인 안내서] 2021
- 49 예방용 DNA 백신 평가 가이드라인 2021
- 50 치료용 DNA 백신의 품질 및 비임상시험평가 가이드라인 2015
- 51 유전자치료제 비임상시험평가 가이드라인 2017
- 52 임상시험용 유전자치료제의 특성분석, 제조 및 품질관리 평가 가이드 2005
- 53 자가세포치료제의 CMC 및 설비에 관한 지침 FDA 1997
- 54 암치료를위한 수지상 세포치료제 평가시고려사항 2005
- 55 세포치료제 품질관리 시험항목설정 가이드라인 2014
- 56 세포외소포치료제 품질, 비임상및 임상 평가 가이드라인 2018
- 57 유산균 제제의 품질관리 개선 방안 마련, 2004
- 58 유산균 제제 기준규격 개선 연구, 2014
- 59 인플루엔자 백신 평가 가이드라인, 2020
- 60 인유두종바이러스백신의 허가․심사 가이드라인(민원인 안내서), 2017

백신 항원전달시스템 기술 및 연구동향 정보집

발 행 일 2022년 12월
발 행 인 식품의약품안전평가원장 서경원
편 집 위 원 장 식품의약품안전평가원 의료제품연구부장 손수정
편 집 위 원 류승렬, 이철현, 전형옥, 박은혜, 김지화, 박태준, 허혜련
발 행 처 식품의약품안전평가원

공익신고자 보호법이 항상 당신의 양심을 지켜드립니다.

식약처의 공무원이나 관계자가 부조리한 행위를 하거나 부당하게 처리한 경우가 있을 때는 다음으로 신고하여 주시기 바랍니다. 신고자의 신원은 절대 보장하겠으며 향후 민원처리에 있어 추호의 불편함이 없도록 최선을 다하여 도와드릴 것을 약속드립니다.

공익신고자 보호제도란?

공익신고자등(친족 또는 동거인 포함)이 공익신고 등으로 인하여 피해를 받지 않도록 **비밀보장**, **불이익 보호조치**, **신변보호조치** 등을 통하여 보호하는 제도

※보호조치요구방법

식약처 홈페이지(www.mfds.go.kr) > 국민소통 > 국민신문고 > 공직자 부조리신고