

슈퍼박테리아 잡는 강력한 항생제 약물 발굴

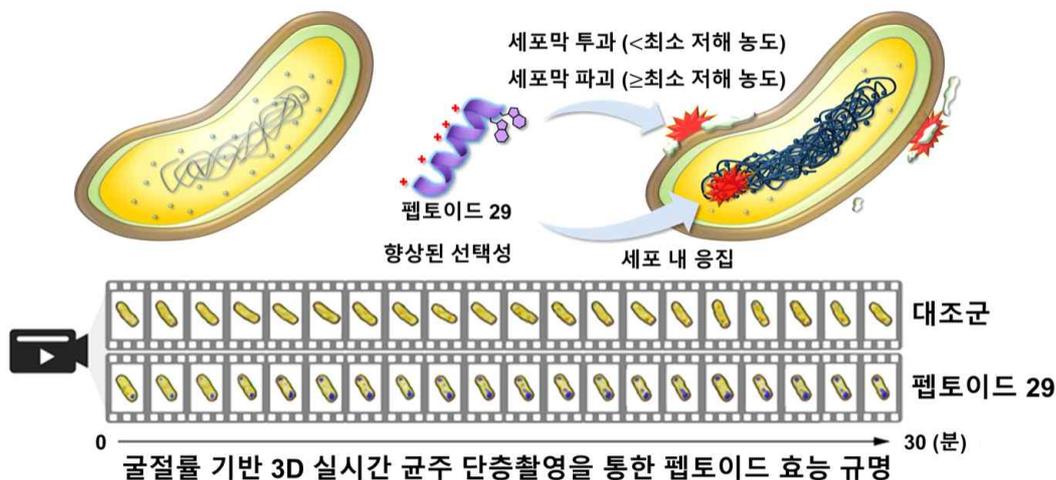
- 항균 펩티드 유효약물 발굴과 메커니즘 규명 성공 -



▲ 화학과 서지원 교수

국내 연구진이 기존 항생제에 내성이 생긴 슈퍼박테리아를 잡는 강력한 항생제 약물을 발굴했다.

한국연구재단(이사장 이광복)은 광주과학기술원 서지원 교수와 한국기초과학지원연구원 이성수 박사 공동연구팀이 다제내성균에 효과적이면서 독성을 낮춘 항균 치료제 유효물질을 발굴했다고 밝혔다.



(그림1) 3차원 홀로토포그래피 활용 다제내성균 치료 항생제 원리 규명.

항균 펩티드에 의한 세포막 파괴 및 세포 내 단백질/핵산 응집 원리.

이를 굴절률 기반 3차원 실시간 균주 단층촬영을 통해 직접적으로 규명함.

항생제에 내성이 생긴 슈퍼박테리아 감염은 코로나바이러스처럼 전염속도가 빠르지는 않지만, 한 번 감염되면 치명률은 훨씬 높다.

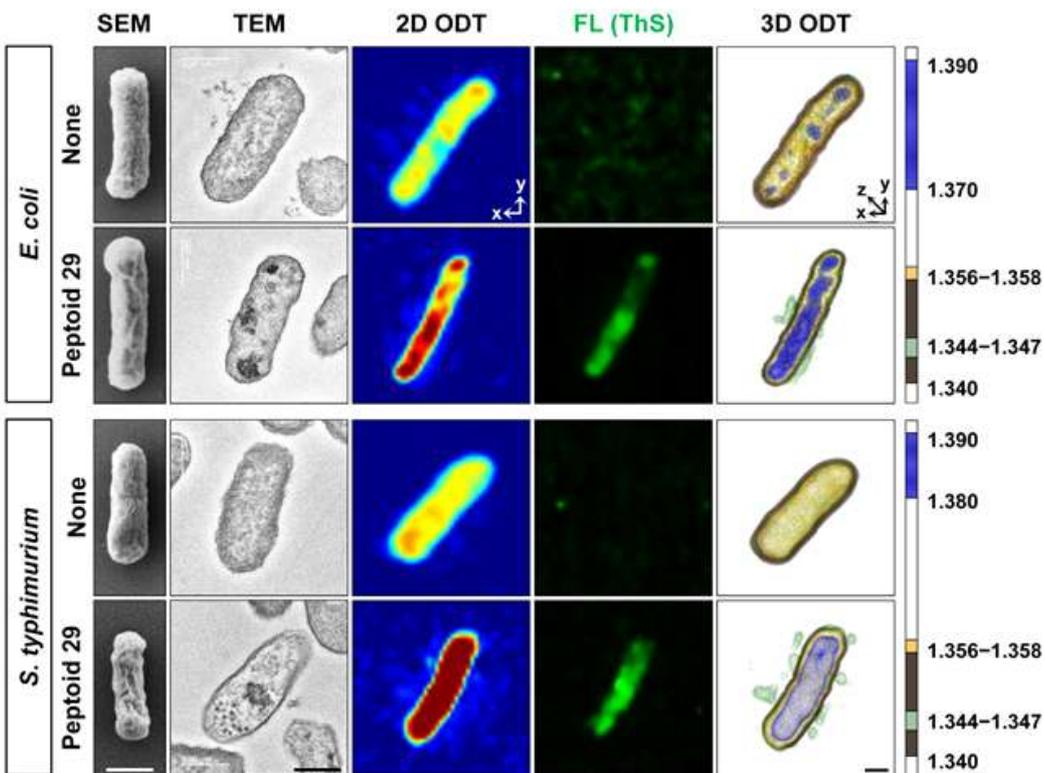
세계보건기구(WHO)는 다제내성균*에 의한 사망자가 2050년 연간 천만 명에 이를 것으로 추산했다. 이는 지난해 암으로 인한 사망자 수와 맞먹는 수치이다.

2016년 미국에서 인류가 가진 모든 항생제에 내성을 갖는 다제내성균이 발견되었고, 이 균에 의한 감염으로 사망자가 발생했음이 미국 질병통제예방센터(CDC)에 의해 보고되었다. 이에 내성을 극복할 수 있는 새로운 항생제의 개발이 절실히 요구되는 상황이다.

* 다제내성균: 여러 항생제에 내성이 있어 감염병 치료를 위해 사용할 수 있는 항생제가 제한적인 세균.

연구팀은 생명체 고유의 자기방어 면역시스템이 가지고 있는 항균 펩타이드에 주목했다.

연구팀은 먼저 세균의 세포막과 잘 결합하도록 디자인한 항균 펩토이드*를 개발했다. 이 펩토이드는 적혈구 등 인체 세포에 대한 낮은 독성을 보이면서도 다제내성균을 포함한 다양한 박테리아 균주에 대해서 광범위한 활성을 보였다.



(그림2) 그람 양성균(대장균, 살모넬라균)에 대한 항균 펩토이드 치료제의 다중타겟 메커니즘 효과 교차 검증. 전자현미경, 형광현미경, 3차원 홀로그래피 단층 촬영 현미경을 통한 메커니즘 교차 검증 및 규명.

또한 세포막 파괴와 더불어 세포 내 여러 소기관 및 유전자의 응집을 유도하는 다중타겟 메커니즘** 작용을 밝혀냈다.

연구팀은 80여 종의 펩토이드 라이브러리를 합성하고 항균활성 및 독성스크리닝을 통해 펩토이드29를 유효물질로 발굴했다. 펩토이드29가 세균을 죽이는 작용이 단시간에 일어남을 확인했다.

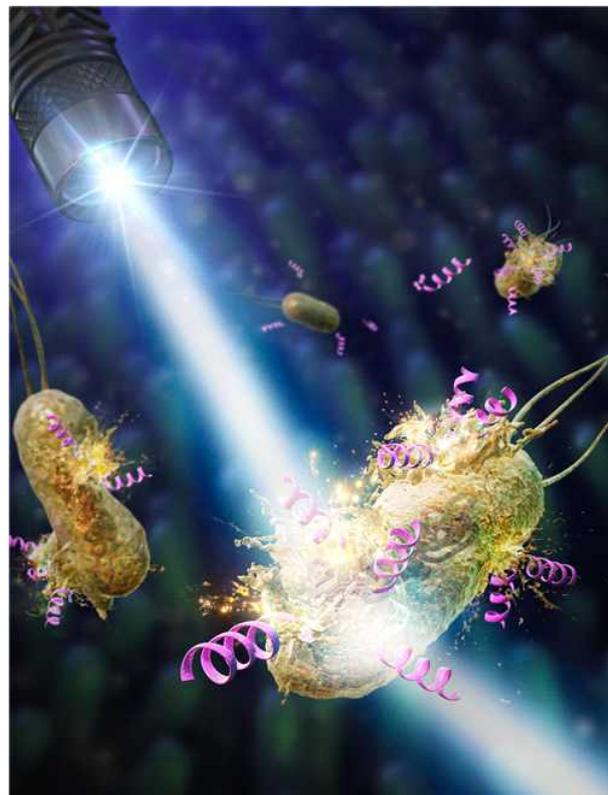
* 펩토이드(peptoid): 대표적 생체분자인 펩타이드의 구조를 인공적으로 모사한 펩타이드 유도체 신물질.

** 다중타겟 메커니즘: 박테리아의 생존과 번식에 필수적인 타겟 여러 개를 동시에 공격해 사멸시키는 원리를 말하며, 내성 발현 억제에 효과적이라고 알려져 있다.

항균 펩토이드가 박테리아를 죽이는 과정에서 기존에 간접적인 증명만 가능했던 메커니즘을 **굴절률 기반 3차원 홀로그래피 단층촬영 현미경***을 이용해 **세계 최초로 직접적 규명에도 성공했다.**

* 굴절률 기반 3차원 홀로그래피 단층촬영 현미경: 세포 내 단층촬영이 가능한 현미경. 서로 다른 굴절률을 가진 세포막과 세포질, 세포소기관을 실시간 모니터링해 연속적 이미지로 얻어낼 수 있다.

서지원 교수는 “이번에 발굴한 **다중타겟 메커니즘 기반의 항균 펩토이드는 향후 다제내성균 치료제 개발 연구로 이어질 수 있을 것으로 기대하고 있다.**”고 밝혔다.



(그림3) 저널 커버아트 (프론트 인사이드 커버) 대표 이미지

항균 펩토이드 (분홍색) 의 다중 타겟 메커니즘 통한 박테리아 사멸을 이미지화. Advanced Science 속표지 (inside front cover) 선정.

과학기술정보통신부와 한국연구재단이 추진하는 **중견연구자 지원사업의 지원**으로 수행된 이번 연구의 성과는 국제학술지 ‘어드밴스드 사이언스(Advanced Science)’에 2023년 6월 21일자로 온라인판에 **저널 커버** 게재되었다.

주요내용 설명

<작성 : 광주과학기술원 교수 서지원>

논문명	Real-Time Monitoring of Multitarget Antimicrobial Mechanisms of Peptoids Using Label-Free Imaging with Optical Diffraction Tomography
저널명	Advanced Science
키워드	Antimicrobial (항균), peptide (펩타이드), peptoid (펩토이드) Multi-drug resistance (다약제 내성), Live-cell imaging (실시간 이미징), Tomography (단층촬영)
DOI	doi.org/10.1002/advs.202302483
저자	서지원 교수(교신저자/광주과학기술원), 이성수 박사 (공동교신저자/기초과학지원연구원), 김민상 (제1저자/광주과학기술원), 천영미 (공동제1저자/기초과학지원연구원), 신동민 (공동제1저자/광주과학기술원), 최지은 (공동저자/광주과학기술원), 요세피나 니얼슨 (Josefine Eilso Nielsen) (공동저자/로스킬데 대학교), 정명선 (공동저자/기초과학지원연구원), 남호연 (공동저자/광주과학기술원), 김성학 (공동저자/전남대학교), 라이더 룬트 (Reidar Lund) (공동저자/오슬로 대학교), 호바 엔슨 (Håvard Jenssen) (공동저자/로스킬데 대학교), 애널리스 배런 (Annelise E. Barron) (공동저자/스탠포드 대학교)

1. 연구의 필요성

- 세계보건기구(WHO)는 2050년, 다제내성균*에 의한 사망자가 연간 1000만 명에 이를 것으로 추산하고 있고, 이는 작년 암으로 인한 사망자 수와 맞먹는 수치이다. 2016년 미국 네바다 주에서, 인간이 갖고 있는 모든 항생제에 내성을 갖는 다제내성균 감염으로 인한 사망자 발생이 미국 질병통제예방센터(CDC)에 의해 보고되었다.

* **다제내성균:** 자연선택이나 돌연변이를 통해 여러 항생제에 내성을 가지고 있어, 임상에서 감염병 치료를 위해 사용할 수 있는 항생제가 제한적인 세균을 의미한다.

- 새로운 항생제의 개발이 절실히 요구되는 상황 속에, 다국적 제약사들은 항생제가 크게 돈이 되지 않는다는 이유로, 항생제 개발을 소홀히 하고 있다. 주로 학교나 정부연구소 등 비영리 기관이나 중소기업의 제약사에서 항생제 개발 연구를 수행하고 있다.
- 항생제 내성 박테리아 감염은 코로나 바이러스와 비교하여 매우 천천히 퍼지고 있는 팬데믹으로, 감염시 치명율이 바이러스보다 훨씬 높다. 2019년에 보고된 다약제 내성균에 의한 사망자는 70만 명 수준이지만, WHO 보고서에 따르면 2050년 내성균주에 의한 감염병 사망자가 연간 1000만 명 수준에 이를 것으로 예측되고 있다.

2. 연구내용

- 대부분의 생명체는 숙주를 외부 세균 침입으로부터 보호하기 위한 자기 방어 면역시스템으로서, 진화에 의해 최적화된 고유한 항균 펩타이드를 갖고 있다. 천연 항균 펩타이드를 포함해 이를 인공적으로 모방한 유도체에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 특히 펩토이드*는 펩타이드의 구조를 모사한 대표적인 인공 펩타이드로, 펩타이드처럼 서열 특이적 2차 구조 형성을 하면서도 천연 펩타이드의 가장 큰 단점인 체내 가수분해 효소에 의한 빠른 분해 및 안정성 문제를 개선해, 의약품 및 다양한 소재 분야에서 많은 연구가 진행되고 있다.

* **펩토이드**: 대표적 생체분자인 펩타이드의 구조를 인공적으로 모사한 유도체.

- 연구팀이 개발한 항균 펩토이드는 세균의 세포막과 특이적으로 잘 결합한다고 알려진 작용기를 도입한 펩토이드로, 적혈구 및 포유류 세포에 대한 낮은 독성을 보이면서도 다제내성균을 포함한 다양한 박테리아 균주에 대해서 광범위한 활성을 보였다. 또한 다양한 메커니즘 연구를 통해 세포막 파괴와 더불어 세포 내 단백질, 리보솜, 핵산의 응집을 유도하는 것을 밝혀내었다. 이러한 다중타겟 메커니즘* 기반의 항균 펩토이드가 향후 다제내성균 치료제 개발 연구에 기여할 수 있을 것으로 기대하고 있다.

* **다중타겟 메커니즘**: 박테리아의 생존과 번식에 필수적인 타겟 여러 개를 동시에 공격해 사멸시키는 원리를 말하며, 내성 발현 억제에 효과적이라고 알려져 있다.

- 본 연구팀은 80여종의 펩토이드 라이브러리를 합성하고, 항균활성 및 독성 스크리닝을 통해, 펩토이드 29를 유효물질로 발굴하였다. 구조-활성 상관관계 분석과 메커니즘 연구를 통해 펩토이드 29가 박테리아 세포막과의 상호작용은 물론, 세포 내에서 단백질 및 핵산과 비특이적 응집을 일으켜 단시간에 세균을 죽이는 것을 확인하였다.

- 특히, 이 과정에서 기존에 간접적인 증명만 가능했던 세포 내 비특이적 응집 메커니즘을 별도의 전처리 과정이 필요 없는 굴절률 기반 3차원 홀로그래피 단층촬영 현미경*을 이용해 세계 최초로 직접적 규명에 성공하였으며, 향후 내성균 치료제 메커니즘 규명 연구에 크게 기여할 것으로 기대하고 있다.

* **굴절률 기반 3차원 홀로그래피 단층 촬영 현미경**: 매질의 고유한 값인 굴절률을 기반으로 3차원 이미징을 하는 기술로, 세포 내 단층촬영이 가능한 현미경이다. 예를 들어, 세포의 경우 세포막과 세포질, 세포소기관이 모두 다른 고유 굴절률을 갖고 있으며, 이 차이를 실시간 모니터링하여, 연속적 이미지로 얻어낼 수 있다.

3. 연구성과 및 기대효과

- 서지원 교수는 "본 연구성과를 통해 신규 항생제 물질이 박테리아에 작용하는 영향을 실시간으로 모니터링 하여, 항균 메커니즘에 대한 보다 정확한 이해에 도움이 될 수 있게 되었다"며, "향후 다제내성균으로 인한 감염병 치료제 개발에 기여할 수 있을 것으로 기대된다"고 말했다.

- 공동교신저자인 KBSI 이성수 박사는 “이번 연구는 토종기술로 개발된 신개념, 전문분석 성격의 대표적인 국산 연구장비인 3차원 실시간 홀로토모그래피 기술을 활용한 연구로 내성균 치료제 개발연구의 지름길을 제시하였다” 면서, “차후 유해인자로 인한 질병의 발병기작을 이해하고 치료방법을 개발하는데 선도적으로 응용될 수 있을 것”이라고 밝혔다.

연구 이야기

<작성 : 광주과학기술원 서지원 교수>

□ 연구를 시작한 계기나 배경은?

평소 진화를 통하여 생명체들이 만들어 내는 화학무기들에 관심이 있었습니다. 그 중 많은 분자들이 임상에서 항생제나 항암제로 사용되고 있습니다. 자연에서 찾아낸 항생제에 대해, 그 공격을 받는 미생물들이 자신의 유전정보 내에 방어시스템 (=내성) 정보를 저장하여 갖고 있습니다. 혹은 어떤 세균이 특정 항생제에 내성 유전자를 갖고 있지 못해도, 다른 종의 세균에게서 필요한 방어 유전자를 전달을 받아 내성을 발현하게 됩니다. 다른 종들의 세균들은 이처럼 서로 죽이기 위해 화학 무기를 만들어 내기도 하고, 서로 돕기 위해 방어 시스템을 원조하기도 합니다.

자연에서는 미생물과 미생물, 식물과 동물, 식물과 미생물, 그리고 동물과 미생물 간의 전쟁이 오랜 시간 이어져 왔습니다. 인간과 세균의 전쟁의 역사에서 인간은 항상 무기력하게 패하여 왔었는데, 1928년 알렉산더 플레임이 페니실린을 발견한 이후, 인간이 세균과의 전쟁에서 승리해 왔습니다. 다양한 항생제들이 개발되었고, 항생제 황금기를 맞이하게 됩니다. 하지만, 인류의 항생제 오남용으로 내성균들이 많이 세상에 나타나게 되었고, 동시에 거대 제약사들은 항생제가 크게 이윤을 가져다 주지 않는다는 이유로, 항생제 개발을 소홀히 하였습니다. 페니실린 발견 이후 불과 100년이 안된 시점에서 세균은 다시 인류와의 전쟁에서 승기를 잡고 인류를 위협하고 있습니다.

항생제 개발 분야에 있는 연구자들은, 인간이 어떤 항생제를 만들건 간에, 결국은 세균이 자신의 유전자 내에 있는 방어시스템 (항생제 내성)을 발현해 낼 것이라는 생각을 갖고 있는 것 같습니다. 그러면서 자연스럽게 내성균 출현이 원천적으로 불가능한 메커니즘은 무엇일지를 생각하게 되었습니다. 자연에서 많이 사용해 왔고, 인류가 사용해 온 성공적 항생제들이 갖고 있는 다중 타겟 메커니즘, 동시 다발적으로 여러 타겟을 공격하는 메커니즘의 항생제가 내성균 출현을 막을 수 있는 전략이 아닐까 생각하고 연구를 수행하게 되었습니다.

□ 연구 전개 과정에 대한 소개

세균의 첫번째 방어막인 세포막을 공격하면서, 동시에 세포 내로 들어가서, 세균에게 가장 중요한 유전자와 세포내 단백질인 리보솜을 응집시켜서 세균을 빠른 시간에 사멸시키는 항균 유효물질을 발굴하게 되었습니다. 이러한 작용 기전이 다양한 항균 펩타이드에서 알려져 있었는데, 이 작용기전을 3차원 홀로그래피 단층 촬영 현미경을 통해 실시간으로 관찰할 수 있었고, 과학적으로 명확하게 증명할 수 있었습니다. 3차원 홀로그래피 단층 촬영 현미경 기법을 항생제 작용 기전에 활용한 최초 연구로서 전 세계 연구자들의 미생물 연구에 많이 도움을 줄 수 있게 되기를 기대합니다.

□ 이번 성과, 무엇이 다른가?

차세대 항생제로 관심을 받고 있는 항균 펩타이드는 자연에서 거의 대부분의 동물들이 세균의 침입에 바로 대응할 수 있도록 갖고 있는 면역 물질입니다. 펩타이드는 우리 몸에서 다양한 효소에 의해 분해가 되는데, 이에 펩타이드가 우리 몸 속에서 너무 빨리 분해가 되어 버리는 문제가 개선되어야 할 점으로 지적되어 왔습니다. 본 연구의 성과에서는 펩타이드를 인공적으로 모사한 펩토이드라는 분자를 사용하여 항균 유효물질을 발굴하였으며, 인체 내에서 효소에 의한 분해가 현저하게 느려져서, 펩타이드의 짧은 생체내 반감기 문제를 개선할 수 있었습니다.

□ 실용화된다면 어떻게 활용될 수 있나? 실용화를 위한 과제는?

실용화 된다면 다양한 내성균 감염질환 치료제로 사용될 수 있습니다. 국소 감염 (귀, 폐, 피부 등)에 사용될 수도 있고, 실제 병원에서 많은 생명을 앗아가는 혈액 감염 (패혈증) 치료제로 사용될 수도 있습니다. 이를 위하여 동물과 인체에서 유효성과 안전성 검증이 필요합니다.

□ 꼭 이루고 싶은 목표나 후속 연구계획은?

내성균이 나올 수 없는 항생제를 개발하는 것이 목표입니다. 인류와 세균과의 전쟁의 역사에 종지부를 찍을 수 있는 최종병기 화학무기를 인류의 손에 쥐어줄 수 있다면, 하는 생각을 하면서 하루하루 연구를 진행하고 있습니다. 새로운 후속 물질 개발과 함께, 기존에 발굴한 항균 유효물질들의 동물모델 유효성/안전성 검증을 해 나갈 계획입니다.