

무릎골관절염(Knee Osteoarthritis) (2)

저자 최병철

약학정보원 학술자문위원

요약

최근 인간의 평균 수명 증가로 인한 고령화 사회의 진행으로 퇴행성질환이 급격하게 증가하고 있다. 이중 골관절염(osteoarthritis)은 60세 이상 노인의 약 1/3에서 발생하는 흔한 질환으로 남성에서 20.2%, 여성에서 50.1%로 여성의 남성에 비해 약 3배 높은 유병률을 보인다. 골관절염은 관절을 구성하는 여러가지 성분 중에서 관절연골과 그 주위의 뼈에 퇴행성 변화가 나타나며, 체중을 많이 받는 관절인 무릎관절(슬관절), 엉덩이관절(고관절) 등에 주로 발생한다.

무릎골관절염의 약물치료에는 연골이 소실이 없거나 초기·중기 환자의 경우 주로 경구용 약제(acetaminophen, 비스테로이드항염제, 마약성 진통제, duloxetine)가 사용되고 국소용 약제(비스테로이드항염제, capsaicin) 또는 관절강 내 주사제(스테로이드제, 히알루론산) 등도 사용되고 있다. 하지만 연골이 많이 소실된 중·말기 환자는 심한 통증과 보행장애를 겪는 경우 재생의료(regeneration medicine)가 발전하면서 획기적인 치료 옵션이 될 수 있다.

재생의료는 손상된 인체 세포와 조직 또는 장기를 대체하거나 재생함으로써 정상 기능을 복원하거나 새로 만들어내는 의료기술로 정의할 수 있다. 초기의 재생의료는 주로 체세포 또는 줄기세포를 이용하여 새로운 치료용 세포와 조직을 제작하는 기술을 의미하였지만, 현재는 다양한 약물, 소재 및 의료기기 등을 이용하여 손상된 인체 부위의 재생을 촉진하는 기술까지 포함하는 개념으로 넓혀졌으며 이에 세포치료제(cell therapeutics), 유전자치료제(gene therapeutics) 등도 포함된다.

현재 국내 개발 신약으로서 자가연골세포(autologous chondrocyte) 치료제(제품명: 콘드론, Chondron[®])와 동종제대혈유래중간엽줄기세포(allogenic umbilical cord blood derived mesenchymal stem cell, UCB-MSC) 치료제(제품명: 카티스템, Cartistem[®])가 연골재생을 촉진하는 무릎골관절염에 사용되고 있다.

이중 콘드론은 2001년 국내 생명공학 의약품 1호로서 배양한 연골세포와 생체적합성 천연접착물질인 피

브린(fibrin) 글루(glue)를 혼합한 젤 형태로 환자 자신의 세포를 이용하는 자가세포치료제이다. 또한 카티스템은 2012년 세계 최초로 UCB-MSC를 이용한 관절염 무릎연골 손상 줄기세포치료제(stem cell therapeutics)이다.

최근 2017년 7월 29번째 국내 신약 인보사-케이(Invossa-K® injection, 성분명: 토노젠콘셀, tonogenconcel)가 개발되었다. 이 약제는 TGF- β 1(transforming growth factor-beta1) 유전자가 도입된 동종 연골유래연골세포(allogenic human chondrocytes)를 주성분으로 하는 세계 최초의 무릎골관절염에 대한 유전자치료제이다.

이로서 우리나라는 무릎골관절염에 대한 세포치료제와 유전자치료제의 선두주자라 하여도 과언이 아니다. 이 약제들은 무릎골관절염 환자에서 통증을 줄이고 삶의 질을 높이는데 커다란 역할을 할 것으로 기대한다.

Regenerative medicine(재생의료)

재생의료는 ‘손상된 인체 세포와 조직, 장기를 대체하거나 재생함으로써 정상 기능을 복원하거나 새로 만들어내는 의료기술 (Regenerative medicine replaces or regenerates human cells, tissue or organs, to restore or establish normal function.)’로 정의할 수 있다.

즉 재생의료는 인체의 세포와 조직, 장기를 구조적으로 대체하거나 복원하는 것뿐만 아니라 기능적으로 대체하거나 복원하는 것도 포함하고 있으며, 이를 체외에서 제작하여 손상된 인체 부위를 대체하는 기술과 인체가 스스로 자가 재생하도록 촉진하는 기술을 모두 포함한다.

초기의 재생의료는 주로 체세포 또는 줄기세포를 이용하여 새로운 치료용 세포와 조직을 제작하는 기술을 의미하였으나, 현재는 다양한 약물, 소재 및 의료기기 등을 이용하여 손상된 인체 부위의 재생을 촉진하는 기술까지 포함하는 개념으로 이해된다.

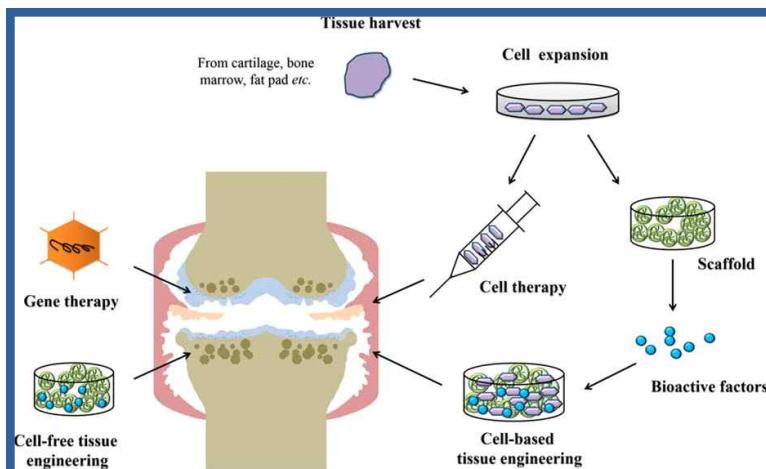


그림 5. Regenerative Therapy(출처: Bone Research 4)

▣ 세포치료법(Cell Therapy)

세포치료법은 세포와 조직의 기능을 복원하기 위하여 살아있는 자가(autologous), 동종(allogenic), 혹은 이종(xenogenic)의 세포를 체외에서 증식, 선별하거나 여러 가지 방법으로 세포의 생물학적 특성을 변화시키는 일련의 행위를 통하여 치료, 진단, 예방의 목적으로 사용하는 방법이다.

세포치료법에서 세포 자체를 약제로 활용하는 세포치료제는 환자로부터 분리한 세포를 원하는 특정 성질을 갖도록 조작 및 배양하여 그 환자에게 다시 주입하는 경우가 많아 불특정 다수를 대상으로 대량 생산되는 일반 의약품과 대비하여 ‘맞춤형 의약품’이라고 불린다.

세포치료제는 사용하는 세포의 종류 및 분화 정도에 따라 체세포치료제(somatic cell)와 줄기세포치료제(stem cell)로 나눌 수 있다.

▲ 체세포(Somatic cell)치료제

체세포치료제는 체세포를 이용한 치료로 암 치료를 위한 수지상세포(dendritic cell)가 대표적인 체세포를 이용한 세포치료제이다. 그 밖에 자가연골 재생을 위한 자가연골세포, 피부재생을 위한 표피세포, 당뇨병 치료에 이용되는 islet 세포, 파킨슨병의 fetal neuronal 세포, 암 및 면역질환의 자연살해세포(natural killer cell, NK cell), 세포독성 T 세포, 각막 이식용 세포 등이 체세포치료제로 이용된다.

연골 재생을 위한 세포치료법으로는 자가연골세포이식술(Autologous chondrocytes implantation, ACI)이 있다. ACI는 체외에서 배양된 자가연골세포의 이식함으로써 연골조직의 재생을 유도하는 치료법으로 가장 먼저 임상적으로 적용된 세포치료법이다. 이 이식술은 연골이 비교적 크게 결손된 부위에 적용이 가능하며 아주 적은 양의 연골조직을 재취하기 때문에 공여부의 손상이 매우 적다. 하지만 환자 자신의 연골을 재취하기 위한 1차 관절경 수술과 이식을 하는 2번의 수술이 필요하고, 세포이식 시 수술 난이도가 높고 적용 부위 등에 한계가 있다.

현재 자가연골세포(Autologous chondrocyte)치료제에는 콘드론(Chondron[®])이 있다. 이 약제는 2001년 1월 국내 생명공학 의약품 1호로 ‘무릎관절의 부분적 연골손상의 환자(결손손상부위: 단독 병변의 경우 15cm², 다발성 병변의 경우 20cm²) 치료’에 승인되었다. 이 약제는 배양한 연골세포와 생체적합성 천연접착물질인 피브린(fibrin) 글루(glue)를 혼합한 젤 형태로 환자 자신의 세포를 이용하는 자가세포치료제로 대량생산이 어렵고 수술을 두 번 받아야 하는 단점이 있다.

▲ 줄기세포(Stem cell)치료제

줄기세포는 기원한다는 뜻의 'stem'에서 유래하며, 원기세포 또는 뿌리에서 나오는 줄기라 하여 간세포(幹細胞)라고도 한다. 줄기세포는 많은 세포원(cell source)이 있으며, 표현형이 변화되지 않으면서 증식을 할 수 있는 세포로 연골조직의 재생에 있어서 매우 매력적인 세포이다. 더욱이 이식 후 면역거부반응을 보이지 않아 동종의 세포치료제 혹은 배양조직 이식으로의 가능성이 열리고 있다.

줄기세포는 한 개의 세포가 여러 종류의 다른 세포를 생산할 수 있는 특이한 능력(다중분화능, multi-potentiality)을 가진 세포로 손상 받은 신체 부위의 세포들을 재생할 수 있다. 따라서 줄기세포는 특정한 세포로 분화가 진행되지 않은 채 유지되다가 필요할 경우 신경, 혈액, 연골 등 인체를 구성하는 모든 종류의 세포로 분화할 가능성을 갖고 있다.

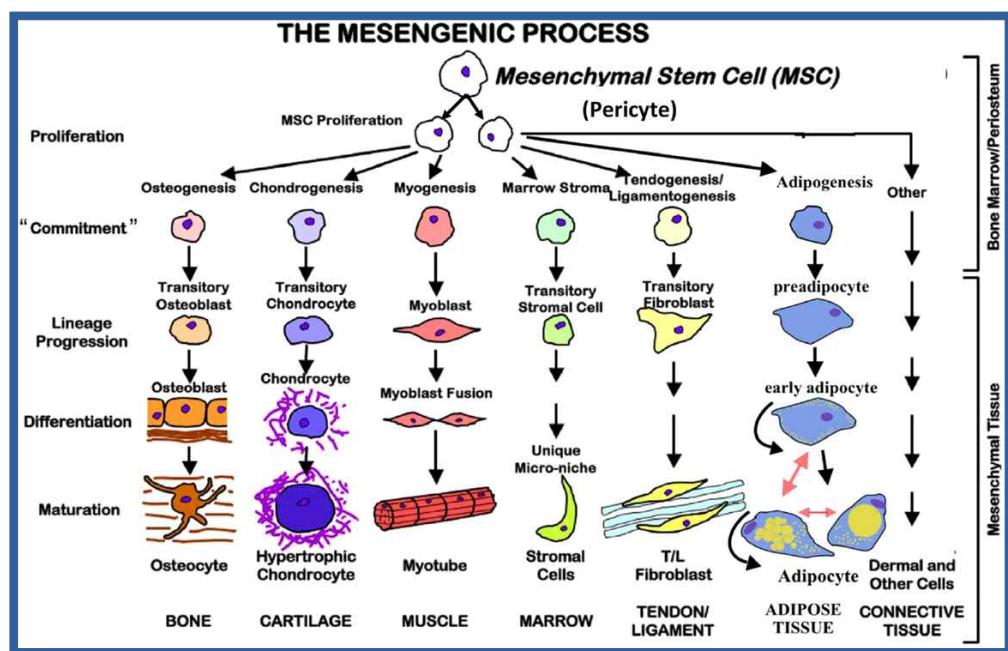


그림 6. Mesenchymal Stem Cells(출처: Front. Immunol.)

줄기세포치료제는 줄기세포가 얹어지는 장소에 따라 크게 성체줄기세포(adult stem cell)치료제, 배아줄기세포(embryonic stem cell)치료제 및 분화줄기세포(유도만능줄기세포, induced pluripotent stem cell)치료제로 분류할 수 있다. 성체줄기세포와 배아줄기세포가 모두 장기 및 조직의 재생에 응용될 수 있다는 점에서 같지만 세포학적 특성에 있어서는 매우 상반된 특징을 가지고 있다. 즉 성체줄기세포는 세포의 분화 쪽으로의 기능인 반면, 배아줄기세포는 세포의 증식 쪽으로의 기능이라 할 수 있다. 역분화 줄기세포는 일종의 유사 배아줄기세포로 체세포 생체 시계를 역으로 돌려 만든 인위적인 줄기세포이다.

■ 성체줄기세포(Adult stem cell)치료제

성체줄기세포는 신생아와 성인의 발달된 장기와 기관에서 발견되는 세포로 상처나 사고로 조직과 세포가 손상되었을 때 근육, 뼈, 지방, 신경 등의 세포로 분화돼 손상된 부위를 복구시킬 수 있는 세포이다. 성체줄기세포는 배아줄기세포에 비해 증식이 어렵다는 단점이 있으나 이식 시 종양 생성 문제, 면역 거부 반응 등의 문제는 상대적으로 적은 이점을 가지고 있다. 제대혈줄기세포도 넓은 의미에서 성체줄기세포에 속한다. 성체줄기세포는 전 세계 줄기세포치료제 시장의 99%를 차지하고 있을 정도로 산업화가 상당히 진척되어 있는 분야이다.

성체줄기세포치료제를 이용한 연골 재생의 경우, 세포를 채취하는데 그 양이 매우 제한적이며 체외 배양 시 세포의 탈분화로 인해 세포 표현형의 변화가 발생되는 한계점을 가지고 있다. 또한 동종세포를 이용할 경우에는 면역거부 반응에 의한 실패를 예상할 수 있다. 하지만 중간엽 줄기세포(mesenchymal stem cell)는 성인의 다양한 중간엽 조직에서 채취 가능하며 여러번의 계대배양(cell subculture) 후에도 분화능을 유지하면서 증식이 가능하므로 손상된 연골을 치료하기 위한 중요한 세포원이라 할 수 있다.

아울러 손상이 깊어 연골하골까지 재생이 되어야 하는 경우, 연골 뿐 아니라 뼈로도 동시에 분화되어 재생되는 장점을 갖고 있기도 하다. 줄기세포는 면역반응이 없거나 혹은 기존의 면역거부반응을 현저하게 저하시키는 기능이 있는 것으로 알려져 있다. 하지만 줄기세포는 이식후 세포비후와 관련된 유전자(hypertrophy-related genes)가 발현되어 세포 자멸사(apoptosis)과 함께 혈관 침투를 유발하여 결국 연골세포의 석회화를 초래하는 단점이 있다.

연골 재생을 위한 줄기세포치료법으로는 제대혈줄기세포, 골수유래줄기세포, 지방조직유래줄기세포 기타 활막줄기세포, 근육줄기세포 등을 이용한 방법이 있다.

1. 제대혈줄기세포(Umbilical cord blood derived stem cell)

제대혈줄기세포는 기본적으로 골수이식 수술을 필요로 하는 모든 질병에 사용할 수 있다는 장점이 있다. 다른 조직에 비해 채취가 용이하고 윤리적인 문제를 피할 수 있기 때문에 치료 목적의 좋은 세포 공급원이 될 수 있다. 골수유래줄기세포는 환자의 연령에 따라 분화능력에서 많은 차이를 보이나 제대혈 줄기세포는 연령에 크게 제한받지 않으며, 환자가 필요로 하면 언제든지 맞춤식 세포치료가 가능하다. 또한 다른 조직의 줄기세포에 비해 면역거부반응의 가능성성이 매우 낮아 다양한 많은 환자들을 대상으로 치료를 할 수 있다는 점에서 상업적인 이용 가치가 매우 높다.

현재 동종제대혈유래중간엽줄기세포(allogenic umbilical cord blood derived mesenchymal stem cell,

UCB-MSC)치료제에는 카티스템, Cartistem®)이 있다. 이 약제는 줄기세포(mesenchymal stem cell, MSC)의 일종인 동종제대혈유래중간엽줄기세포(UCB-MSC)와 히알루론산나트륨(sodium hyaluronate) 복합체로 동종 세포를 활용하므로 대량생산이 가능하다.

이 약제는 UCB-MSC를 이용하여 2012년 세계 최초로 관절염 무릎연골 손상 치료제로 ‘퇴행성 또는 반복적 외상으로 인한 골다공증 환자(ICRS grade IV) 무릎연골 결손의 치료’에 승인되었다. 하지만 이 약제는 단순히 MSC를 배양한 제품으로 공여자 또는 미세 환경의 변화에 따라 세포의 분화능이 다르게 나타나고 있기 때문에 이상적인 줄기세포 치료제를 개발하기 위해서는 아직도 많은 연구가 필요하다.

2. 골수유래줄기세포세포(Bone marrow stem cell, BMSC)

골수유래줄기세포는 골수에 존재하는 MSC로 가장 먼저 알려졌고, 오랫동안 연구되어 오면서 줄기세포 성질의 기준 세포(standard)로 간주되고 있다. 주로 장골농(iliac crest)에서 채취를 하며 특정 배양 조건에서 비교적 쉽고 재현성이 높게 뼈, 연골, 지방과 섬유세포로의 분화시킬 수 있어 연골 재생을 위한 세포치료제의 세포 공급원으로써 가장 널리 이용되고 있다.

3. 지방조직유래줄기세포(Adipose-derived stem cell, ADSC)

지방조직유래줄기세포는 인체의 어느 조직에서든지 쉽게 얻을 수 있다는 장점이 있다. 최근 들어 지방조직이 골수에 비해 더 많은 양의 줄기세포를 포함하고 있다고 보고되고 있다. 지방조직은 골수로부터의 수집에 비해 비교적 간단한 지방흡입 등으로 많은 양의 줄기세포를 얻을 수 있어 세포증식에 많은 시간이 소요되지 않으며, 공여부의 이환을 적게 남기고, 반복적으로 채취가 가능한 장점들을 가지고 있어 세포치료제의 재료로써 적합하다고 할 수 있다.

■ 배아줄기세포(Embryonic stem cell, ESC)치료제

배아줄기세포(ESC)는 일반적으로 수정란의 발생 초기 단계(착상 전)인 배반포(blastocyst)의 내세포괴(inner cell mass)를 분리하여 미분화상태에서 배양후 수립된 세포주(cell line)이다 즉 ESC는 분열은 활발하지만 아직 분화하지 않은 세포라 할 수 있다. 이는 불임 부부가 임신 목적으로 체외수정 한 후 남은 잔여 배아를 이용하게 된다. 이러한 수정란 ESC 이외에도 확립 방법에 따라 체세포 복제 ESC, 단성생식 ESC, 단일 할구 ESC 등이 있다. ESC는 실험실에서 무한 증식이 가능하고 신체의 모든 세포로 분화할 수 있지만 이식 시 종양이 발생 할 수 있다는 위험을 안고 있다.

ESC는 체외에서 계대배양이 가능하며, 부유배양하면 세포들이 서로 응집하여 embryoid bodies(EBs)라는 구상의 세포 덩어리를 형성한다. EBs는 배아(embryo)의 발생과 유사한 분화 양상을 나타내며 여러 형태로의 세포로 분화가 가능하다. 이러한 세포 분화체계는 지방세포연골세포, 신경세포 등 여러 형태의 세포분화 연구에 이용되고 있다.

■ 역분화줄기세포(유도 만능 줄기세포, induced pluripotent stem cell, iPS)치료제

역분화줄기세포(iPS)는 ESC와 유사한 세포로 체세포 복제 줄기세포가 갖는 생명윤리적 문제(난자를 사용하고 배아를 파괴하는 문제)와 기술적 어려움 등을 해결하며 환자로부터 직접 줄기세포를 만들 수 있다.

종류	방식 및 장·단점		
배아줄기세포	방식	정자와 난자의 인공수정을 통한 배아로부터 줄기세포 추출	
	장점	분화 능력이 뛰어나고 연구용 배아획득 용이	
	단점	배아 파괴 및 면역 거부 반응	
성체줄기세포	방식	분화가 끝난 조직 속에 섞인 극소량의 줄기세포를 분리해 사용	
	장점	배아를 사용할 필요 없고 일부 연구는 이미 실용화	
	단점	분화 능력이 상대적으로 제한적	
역분화줄기세포	방식	분화가 끝난 조직에 유전자와 단백질 등을 삽입하여 역분화 유도	
	장점	배아를 사용할 필요 없음	
	단점	유전자 사용의 안전성 확보 및 역분화 메커니즘이 불분명	

표 1. 줄기세포 종류(출처: 2010년 바이오경제연구센터 Report III)

□ 유전자치료법(Gene Therapy)

유전자치료법은 유전자(gene)를 환자에게 투여함으로써 난치 및 불치질환을 치료하는 새로운 치료방법이며, 1990년 최초로 치료목적으로 시도되었다. 유전자치료법은 기존의 화학치료법에서 화학물질이 의약품으로 사용되고 단백질치료법에서 단백질이 의약품으로 사용되는 것처럼 유전자치료법에서는 유전자(핵산 폴리머 치료적 전달체, therapeutic delivery vehicle of nucleic acid polymer)가 의약품으로 사용되는 것이다.

따라서 유전자치료제(gene therapeutics, gene medicine)는 유전물질 발현에 영향을 주기 위하여 투여하는 유전물질 또는 유전물질이 변형되거나 도입된 세포를 함유하고 있다. 아울러 결핍 및 결함이 있는 유전자를 교정 또는 교체하여 질병을 분자 수준에서 근본적으로 치료하는 치료 유전자(therapeutic gene)와 유전자 전달체(gene delivery vehicle)로 구성된 3세대 바이오의약품이라 할 수 있다.

이 치료법에서 특정 유전자 전달체인 벡터(vector)는 세포나 조직에 치료 유전자를 전달하기 위해서 반드시 필요하다. 전달 방식에는 대상 세포나 조직에 치료 유전자를 직접 주입하는 *in vivo* 방식과 체외에서 세포를 치료 유전자로 형질 전환시켜 증식시킨 후 대상 조직에 삽입하는 *ex vivo* 방식이 있다.

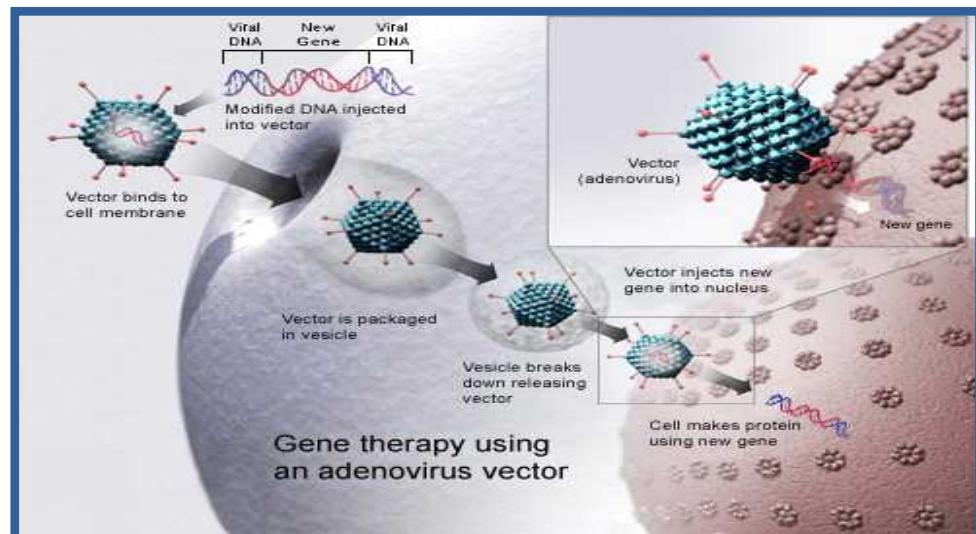


그림 7. Gene Therapy(출처: www.wikipedia.org)

또한 치료 대상에 따라 체세포 유전자치료법(somatic gene therapy)과 생식세포 유전자 치료법(germline gene therapy)으로 나눈다. 체세포 유전자치료법은 치료하고자 하는 유전자를 체세포에 삽입하는 방법으로 삽입한 대상자의 유전자만 치료가 가능하며 다음 세대로 전달되지 않는다. 하지만 생식세포 유전자치료법은 치료 유전자 또는 유전자의 변형이 이루어짐에 따라 다음 세대로 전달될 위험성이 존재한다.

1990년 최초의 임상시험이 시작 후 대표적으로 2012년 유럽 EMA에서 '지질분해효소결핍증(lipoprotein lipase deficiency)에 유전자치료제 '알리포젠 티파보벡(alipogene tiparvovec, 제품명: 글리베라, Glyvera®)'를 승인하였고, 2015년 미 FDA에서 흑색종(melanoma)에 사용하는 종양용해성바이러스(oncolytic virus)치료제 '탈리모젠 라히파렙벡(talimogene laherparepvec, 제품명: 임리직(Imlygic®))'을 승인한 바 있다.

▲ 유전자(Gene)

유전자는 단백질 혹은 rRNA/tRNA와 같은 기능적 RNA(functional RNA)를 세포 내에서 제조하는데 필요한 정보를 담고 있는 DNA(deoxyribonucleic acid)이다. 유전자는 세포 외에서는 DNA라는 화학물질에 불과하지만 세포 내에서는 세포 내에 내재적으로 존재하는 전사기구(transcription machinery)에 의해 RNA로 전사되고 이어 해독기구(translation machinery)에 의해 단백질로 해독되어 유전자가 암호화하고 있던 최종 산물인 단백질

혹은 RNA를 만들 수 있다. 유전자에 담겨 있던 정보에 의해 단백질 혹은 RNA가 만들어지는 과정을 유전자 발현(gene expression)이라고 한다.

따라서 유전자가 의약품으로 사용되기 위해서는 유전자가 환자의 세포 속으로 잘 전달된 후 유전자 발현 과정이 효과적으로 이루어져 유전자의 최종산물이 효과적으로 생산되어야 한다. 하지만 유전자 자체만으로는 환자 세포로의 전달 및 유전자 발현과정이 제대로 이루어지지 않기 때문에 이 과정을 효과적으로 매개할 수 있는 유전자 전달체 벡터(gene delivery vehicle 또는 gene delivery vector)가 필요하다.

▲ 유전자치료법의 투여경로

유전자치료법은 투여경로에 따라 체내(in vivo) 또는 체외(ex vivo) 유전자치료법으로 나눈다.

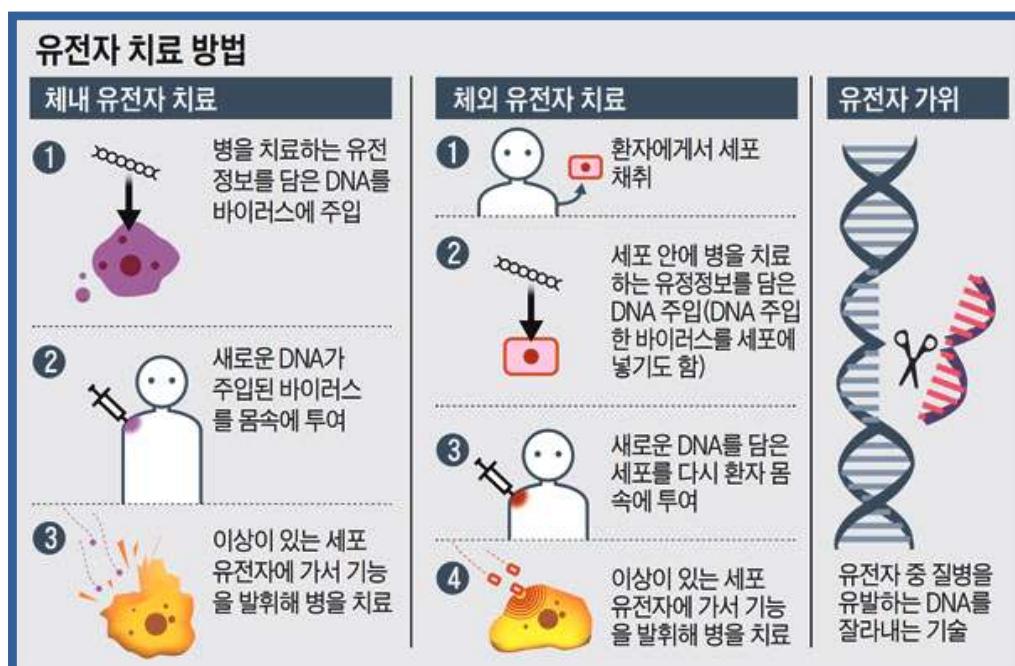


그림 8. 체내(in vivo) 또는 체외(ex vivo) 유전자치료방법(출처: 헬스조선, 2016)

■ 체내(in vivo) 유전자치료법

체내 유전자치료법은 환자의 치료에 필요한 타깃 유전자(target gene)가 포함되어 있는 전달체를 직접 주입하는 방식이다. 이 치료법은 환자의 세포를 채취한 후 치료 타깃 유전자를 투입하지 않아도 되므로 특이성이 낮으며 경제적 비용이 절약되는 이점이 있다.

하지만 오프 타깃 효과(타깃외의 조직 및 장기에서 치료 유전자가 발현되는 현상, off-target effect)의 발생 가능성이 높으며 유전자 전달체가 타깃세포에 도달하기 전 면역반응이 일어남으로써 치료효과가 저해될 수

있는 단점이 있다. 체내 유전자치료법의 대표적인 전달체로는 아데노바이러스(adenovirus) vector 혹은 아데노부속바이러스(adeno-associated virus, AAV) vector 등이 있다.

체외 유전자치료법은 환자의 세포를 채취한 후 치료 타깃 유전자를 도입세포 내에서 증식시킨 유전자 도입세포(gene-modified cell)를 다시 환자의 체내에 투입하는 방법이다. 대표적인 유전자 도입세포로는 T세포, 줄기세포, 연골세포, 수지상세포, 종양세포 등이 있다.

이 치료방법은 치료 타깃 세포를 선별할 수 있다는 이점이 있다. 이는 체내 유전자치료방법의 단점인 오프-타깃효과 및 바이러스 전달체로 인해 유발될 수 있는 면역반응을 최대한 줄일 수 있다. 또한 체외에서 타깃 유전자 전달한 후 환자에게 주입 전 형질 전환된 세포의 기능 평가(세포의 선별, 증식 및 품질 등)수행이 가능함으로 최상의 안정성 및 세포의 효능을 확보할 수 있다. 체외 유전자치료법의 대표적인 운반체로는 레트로바이러스(retrovirus) vector 혹은 렌티바이러스(lentivirus) vector 등이 있다.

위와 같은 체외 혹은 체내 유전자치료 후 치료 타깃 유전자가 세포 내로 전달된 후 핵 내로 이동 및 전사하여 mRNA가 다시 세포질로 이동하여 단백질을 발현하는 과정이 원활하게 일어나면 치료가 성공적이라 할 수 있다.

▲ 유전자치료 전달체(Gene therapeutics vehicle)

자신이 가지고 있는 유전자를 다른 숙주로 운반하여 복제 및 증식이 가능한 특성을 가지고 있다. 이러한 바이러스 특성을 이용하여 병원성을 제거하고 유전자치료에 전달체(벡터, vector)로써 이용하는 것이다. 따라서 질병 치료를 위해 유전자를 생체 내로 전달하는 물질인 전달체를 정확한 위치로 운반하고자 바이러스를 대표적으로 다양한 형태의 전달체들이 이용되고 있다.

전달체의 바이러스 이용 여부에 따라 바이러스성 vector 혹은 비바이러스성 vector로 나눌 수 있다. 다양한 질환에서 유전자치료 연구에서 절반 이상이 바이러스성 vector를 사용하고 있으며 비바이러스성 vector 등도 사용되고 있다.

바이러스성 vector는 바이러스 고유의 증식 기전을 이용한 유전자 전달체로 adenovirus, retrovirus, adeno-associated virus(AAV) 등이 대표적이다. 바이러스성 vector는 효과적인 유전자 도입율, 바이러스별로 안정적 혹은 일시적 발현 유도 선택 가능하다는 장점이 있지만, 병원성이 있는 바이러스이므로 안전성의 문제 및 vector 내 삽입 가능한 유전자 크기에도 제한적이다. 이중 retrovirus는 최초로 유전자 치료 바이러스 vector로 사용되었다. 이외에 종양살상바이러스 벡터(oncolytic virus vector) 및 헤르페스 simplex 바이러스 벡터(herpes simplex virus vector) 등도 있다.

비바이러스성 vector는 plasmid와 liposome 등이 대표적이다. 비바이러스성 vector는 자가 복제 및 면역반응 유발을 하지 않고 바이러스 vector에 비해 제조가 용이하다는 장점이 있다. 또한 바이러스 vector에 비해 그 구조가 단순함으로 안전하다는 평가를 받고 있다. 하지만 일시적 유전자 발현 및 낮은 전달의 효율성은 임상적 도입을 위해 해결해야 할 문제이다. 이중 가장 많이 활용되고 있는 방법은 plasmid 혹은 naked DNA를 바로 투여하는 것이다. Naked DNA는 비바이러스성 유전자 전달체의 가장 단순한 형태로 다른 물질과의 결합 없이 plasmid DNA 자체가 유전자치료제로 활용되는 것으로서 가장 안전하며 대량생산이 용이하다.

벡터 종류	대상 질환	장점	단점
Adenovirus	암(전립선암, 폐암, 뇌종양 등), 협심증, 관상동맥질환	<ul style="list-style-type: none"> 우수한 유전자 전달효율 분열 및 미분열 세포에 이용가능 	<ul style="list-style-type: none"> 강한 면역반응 유도 가능성 제한적인 삽입 유전자 크기 단기 발현 유지
Retrovirus	암(피부암, 난소암, 림프종 등), ADA 결핍증, 관절염, HIV 감염	<ul style="list-style-type: none"> 장기간 발현 우수한 체외 유전자 전달 효율 임상 연구 사례 다수 낮은 항원성 	<ul style="list-style-type: none"> 저조한 체내 유전자 전달 효율 제한적인 삽입유전자 크기 활용가능 세포의 제약 (증식세포에서만 활용 가능) 삽입 유전자 돌연변이 가능성
Lentivirus	백혈병	<ul style="list-style-type: none"> 조혈모세포에 유전자 전달 가능 분열 및 미분열 세포에 이용가능 	<ul style="list-style-type: none"> 야생형 HIV 발생 가능 제한적인 삽입유전자 크기
AAV	심부전, 레버씨선천성흑암 시, LPL 결핍증, 파킨슨병	<ul style="list-style-type: none"> 우수한 체내 유전자 전달 효율 낮은 항원성 높은 면역성 다양한 세포로 유전자 전달 가능 	<ul style="list-style-type: none"> 삽입 유전자 돌연변이 가능성 제한적인 삽입유전자 크기
Herpes virus	암(피부암, 두경부암)	<ul style="list-style-type: none"> 신경 친화성 크기가 큰 유전자 삽입 가능 	유전자 조작 어려움

표 2. 바이러스 운반체의 종류 및 특성(출처: BRIC View 2016-T22)

▣ 인보사-케이(Invossa-K® injection, 성분명: 토노젠콘셀, tonogenconcel)

코오롱생명과학의 인보사-케이 주는 항염작용을 나타내는 TGF- β 1(transforming growth factor-beta1, 형질전환성장인자-베타1) 유전자가 도입된 동종연골유래연골세포(allogenic human chondrocytes)를 주성분으로 하는 세계 최초의 무릎골관절염(knee osteoarthritis)에 대한 유전자치료제(gene therapeutics)이다.

이 약제는 2017년 7월 29번째 국내 신약으로 ‘3개월 이상의 보존적 요법(약물치료, 물리치료 등)에도 불구하고 증상(통증 등)이 지속되는 중등도 무릎골관절염(Kellgren & Lawrence grade 3 ; Kellgren & Lawrence grade는 방사선학적으로 골관절염의 정도를 평가하는 기준으로 총 4단계 의심, 경증, 중등도, 중증으로 구분)의 치료’에 승인되었다.

이 약제는 TGF- β 1를 발현하는 사람 연골세포(hChonJb#7)와 정상 연골세포(hChonJ)의 형질전환연골세포를 3대1 비율로 혼합하여 수술적 방법 없이 1회 무릎의 관절강 내 주사(intraarticular)하는 약제이다.

이 약제의 승인에는 무릎골관절염의 통증과 관절의 기능개선(무릎관절 부위의 뻣뻣함, 부종 등 증상 정도, 뛰기, 테니스 등 운동 가능성, 계단 오르기, 장보기 등 일상생활에서의 활동 가능 정도 등을 종합하여 평가) 정도, 연골구조 개선효과, 이상반응 등이 참고되었다.

▲ 약리기전

선천면역세포(Innate immune cell)인 대식세포(macrophage)는 활성화 표현형에 따라 전염증(pro-inflammatory)을 특성을 가지는 활성화된 'M1 대식세포'와 면역억제(immunosuppressive) 특성을 가지는 활성화된 'M2 대식세포'로 분류된다. IFN- γ 는 M1 대식세포의 활성화와 연관된 핵심 cytokine으로 병원체 인식에 의해 유도된 TLR(T cell receptor) signal이 M1 대식세포의 분화에 기여한다.

M1 대식세포는 TNF- α , IL-12 및 IL-23의 발현을 높이고 IL-10의 발현을 낮추어 조직 손상을 초래하는 Th1 및 Th17 면역반응을 유발하는 것으로 알려져 있다. 이와 대조적으로 M2 대식세포는 IL-10의 발현을 높이고 IL-12의 발현을 낮춤으로써 염증을 감소시켜 조직 재생을 촉진시킨다.

인보사는 TGF- β 1을 분비해 백혈구의 한 종류인 단핵구를 염증반응을 억제하는 M2 대식세포로 활성화하고 연골재생을 돋는다. 정상 연골세포는 연골조직에 부착되어 연골 내 면역균형을 유지해 염증을 유발하는 M1 대식세포가 TNF- α 등을 분비를 조절한다.

따라서 연골 항상성 균형을 유지하고 무릎골관절염(퇴행성관절염)의 진행(악순환)을 차단함으로써 관절강 내 구조를 개선시키고 증상을 완화시킨다.

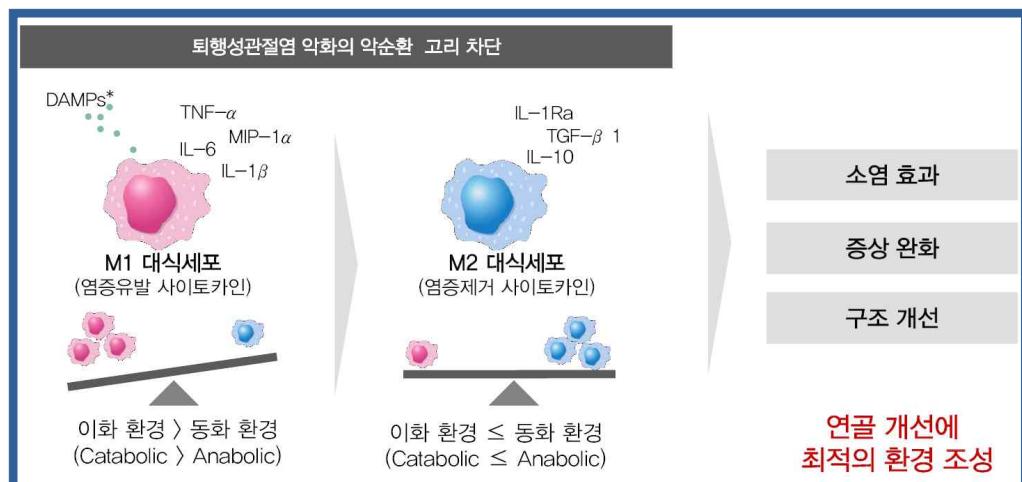


그림 9. Invossa 작용양식(출처: www.kolonls.co.kr)

▲ 약제 특성

인보사는 무릎골관절염 동종세포 유전자치료제로 관절 통증의 완화와 관절의 기능을 개선하고 관절구조 퇴행을 지연시킨다. 즉 연골 체세포와 연골세포의 성장을 촉진하는 유전자 $TGF-\beta 1$ 를 결합하여 제조한다. 이 약제는 retrovirus vector를 활용해 $TGF-\beta 1$ 유전자를 연골세포 유전자에 도입한 형질전환연골세포를 방사선 처리한 세포(hChonJb#7)와 정상 연골세포(hChonJ) 두 가지가 1대 3으로 혼합되었다.

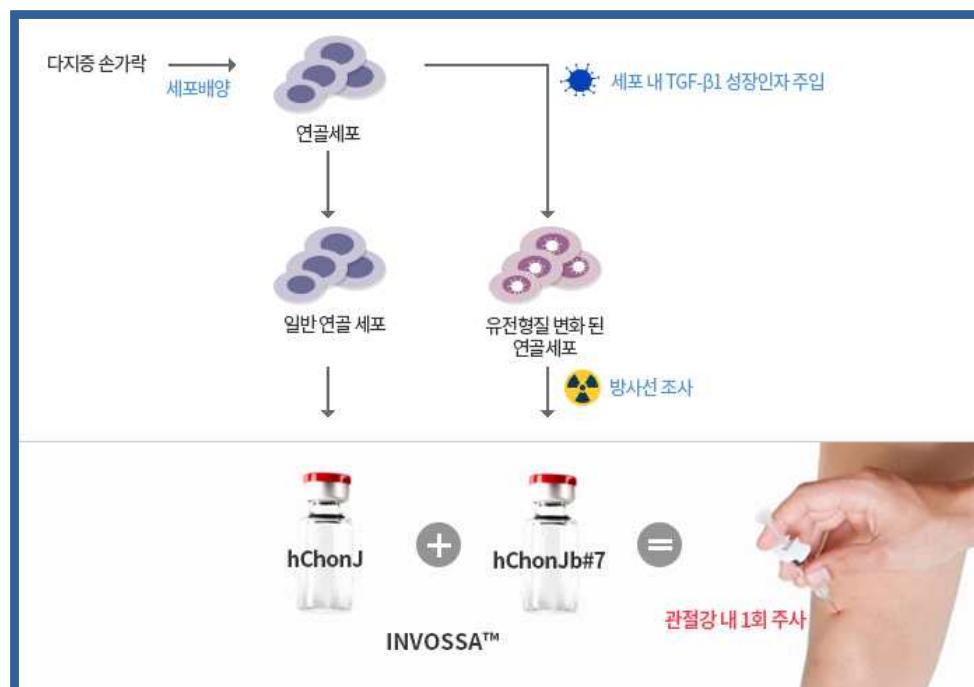


그림 10. Invossa(출처: www.kolonls.co.kr)

- $TGF-\beta 1$ (Transforming growth factor- $\beta 1$, 형질전환성장인자-베타1)

$TGF-\beta$ 는 다양한 조직에서 널리 발현되며, 발생에서부터 다양한 생리과정에 관여하는 조절인자 중 하나이다. 즉 피부재생, 세포분화, 배아발생, 면역계의 조절에 중요한 역할을 한다. $TGF-\beta$ superfamily은 prototype인 $TGF-\beta 1$ 이 1982년에 발견된 이후, 3종류의 $TGF-\beta$ isotype($TGF-\beta 1$, $TGF-\beta 2$, $TGF-\beta 3$)을 비롯해, activin, bone morphogenetic protein(BMP), growth differentiation factor(GDF) 등을 포함하여 현재 까지 30종이상의 구조적으로 유사한 ligand가 밝혀져 단일 cytokine family 계열로는 가장 많은 연구가 진행 되어왔다.

$TGF-\beta$ 는 중간엽 줄기세포(MSC)의 연골분화요소로 type I과 type II의 특정한 serine/threonine kinase 수용체를 통해 신호 전달이 활성화가 된다. $TGF-\beta$ superfamily은 $TGF-\beta$ family, BMPs(bone morphogenetic proteins), GDFs(growth and differentiation factors), activin 등 여러 성장인자들을 포함하고 있다.

TGF- β 1 신호전달과정은 우선 TGF- β 가 TGF- β R(transforming growth factor- β receptor)II에 결합한 후 TGF- β RI와 이합체를 만들면서 시작한다. 이후 Smad signal을 활성화하게 되고, 이러한 과정에서 Smad 2/3 단백질은 TGF- β RI에 의해 인산화되어 연골화를 유도하며, 반면 Smad1/5/8 단백질은 TGF- β RI에 의해 인산화되어 골화를 유도하게 된다. 이때 Smad2/3과 Smad1/5/8은 각각 Smad4와 결합한 heteromers복합체 형태로 핵으로 이동하여 서로 다른 전사인자와 표적 유전자를 활성화한다.

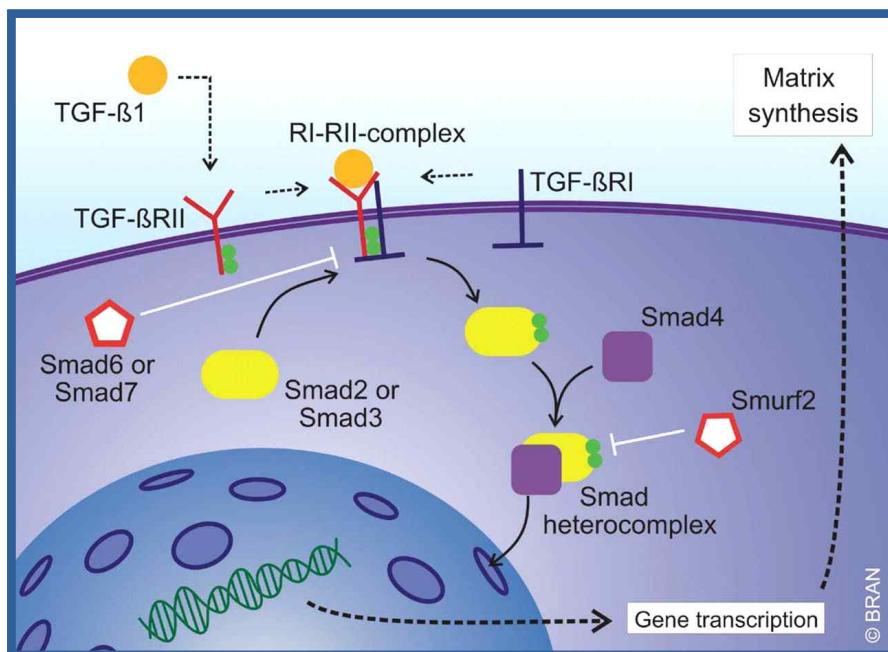


그림 11. Transforming Growth Factor- β 1(출처: www.ar.iiarjournals.org)

이러한 TGF- β 수용체의 중요성은 형질전환 마우스에서 연골형성 연구를 통해 입증되었다. 즉 TGF- β RII가 제거된 형질전환 마우스는 TGF- β 1 signal을 인지하지 못함으로써 연골순상과 연골세포 비대화가 연골 발달의 초기 단계에서 관찰되었고, 관절의 퇴행으로 골관절염이 유도되었다. 따라서 TGF- β 수용체 조절이 중간엽 줄기세포의 연골 분화(differentiation) signaling cascades 조절에 있어 중요한 역할을 한다는 것을 보여 준다.

실제로 중간엽 줄기세포에서 TGF- β 수용체 발현이 연골세포 분화 및 연골조직 재생에 밀접한 상관관계를 가지고 있어, TGF- β 수용체 발현 정도는 중간엽 줄기세포의 연골재생을 미리 예측하는 수단으로, TGF- β 수용체 발현 조절은 연골재생을 표준화하는 강력한 도구로 활용될 수 있다.

■ 레트로바이러스 전달체(Retrovirus Vector)

Retrovirus는 1990년 미국 국립보건원(NIH)에서 최초의 유전자치료 임상시험에 사용된 vector이다. Retrovirus의 생활사는 바이러스 입자(particle)가 세포막을 통과해 세포 내로 들어간 후 역전사(reverse transcription)에 의해 바이러스의 genomic RNA가 DNA로 전환된다. 전환된 genomic DNA는 인터그레이즈(integrase)에 의해 숙주세포의 genome(유전체)에 삽입되고, 이후 숙주세포의 유전자처럼 전사·해독되는 과정을 거쳐 바이러스의 genomic RNA와 바이러스 단백질을 생산한다. 만들어진 바이러스 genomic RNA는 바이러스 단백질과 세포막으로 구성된 바이러스 구조물에 packaging(충진)되어 최종적인 바이러스 입자가 만들어져 세포 밖으로 방출된다.

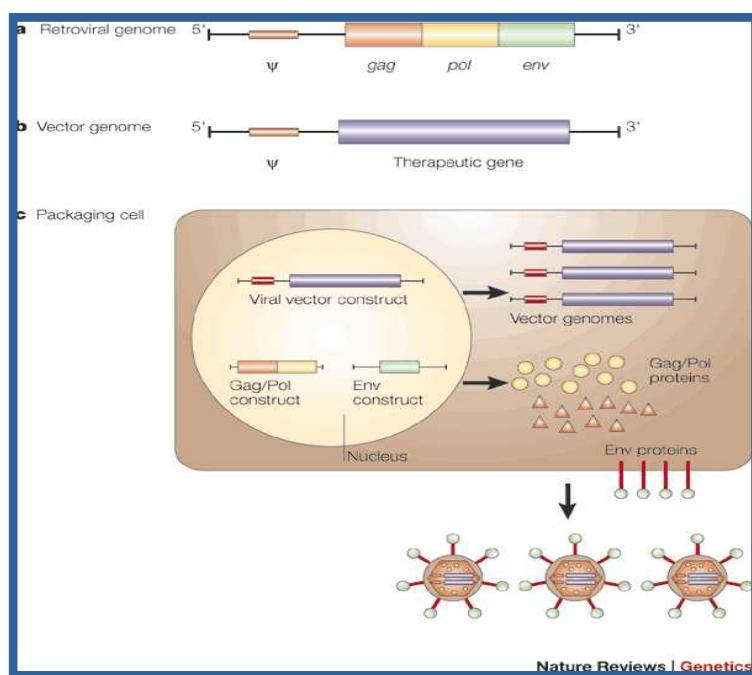


그림 12. Retrovirus Vector(출처: www.nature.com)

이러한 바이러스 genomic RNA의 packaging되는 과정에는 genomic RNA에 존재하는 특정 염기서열 부위가 packaging signal 역할을 수행한다. 이는 바이러스 genome의 다른 부분이 모두 존재하더라도 packaging signal 부분이 결손 되어 있으면 그 RNA는 packaging될 수 없고 반대로 바이러스 genome의 다른 부분은 모두 없더라도 packaging signal을 가지고 있는 RNA는 바이러스 입자에 packaging될 수 있다.

이러한 특성을 활용하여 retrovirus의 genome에서 바이러스 단백질을 암호화하는 부위를 제거한 후 이 부분에 치료 유전자를 삽입하면 치료 유전자를 가진 재조합 바이러스가 만들어진다. 이 재조합 바이러스를 표적세포에 접촉시키면 바이러스는 세포 내로 들어간 후 역전사 과정에 의해 바이러스의 genomic RNA(치료 유전자가 포함되어 있음)가 DNA로 전환되고 이후 숙주세포의 염색체에 삽입되어 치료 유전자가 발현되게 된다.

이와 같은 방법을 통해 치료 유전자를 포함하는 재조합 retrovirus를 만들 수 있고, 이를 통해 치료 유전자를 표적세포에 전달할 수 있다. 아울러 retrovirus는 분열하는 세포에만 감염할 수 있기 때문에 표적세포를 체외 배양하면서 유전자를 전달하는 ex vivo 방법을 통한 유전자 전달에 주로 활용되고 있으며, 주요 표적세포로는 혈액 줄기세포를 포함한 다양한 줄기세포들, 면역세포, 섬유아세포 등이 있다.

특히 retrovirus의 genome은 표적세포의 염색체에 삽입되기 때문에 표적세포가 분열하는 만큼 복제되어 딸세포의 염색체에 유지되며 이론적으로는 영구히 유전자를 발현할 수 있다. 하지만 염색체로의 삽입과정에서 유전자 삽입에 따른 돌연변이(insertional mutagenesis)가 일어날 수 있다는 이론적인 위험을 지니고 있다. 현재 retrovirus vector는 유전질환, 암 질환 및 류마티스관절염 등에 대한 유전자치료 임상에도 활용되고 있다.

▲ 용법용량

인보사는 키트 중 제1액 1바이알(2mL)은 동종연골유래연골세포를 함유하고 있고, 제2액 1바이알(1mL)에는 TGF- β 1 유전자 도입 동종연골유래연골세포를 함유하고 있다.

성인의 대상 무릎 관절강 내에 제 1액과 제 2액을 혼합한 1키트(1.8×10^7 cells/3mL)를 투여한다. 이 약은 무릎 강 내에 투여되는 주사제이므로, 철저한 소독을 통해 감염에 주의하여 조제하고 투여한다. 자세한 투여 방법은 다음과 같다.

- 1) 제1액과 제2액 바이알 각각을 35 ~ 37°C (항온수조, 항온 블록, 항온 배양기 등 이용 가능)에서 3 ~ 5분간 두어 해동시킨다.
- 2) 바이알 상부 캡을 제거하고 고무전 부위를 베탠 또는 유사 소독제를 이용하여 소독한다.
- 3) 5mL 주사기 한 개와 새로운 주사침(18~21G) 2개를 별도로 준비한다.
- 4) 제1액을 5mL 주사기에 전량 충진한다.
- 5) 장착된 주사침을 제거한 후 새로운 주사침(18~21G)을 제1액이 충진된 주사기에 장착한다.
- 6) 제1액이 충진된 5mL 주사기로 제2액을 전량 충진한다.
- 7) 주사기를 손으로 조심스럽게 텁핑하여 세포가 고르게 부유될 수 있도록 하며, 가급적 거품이 나지 않게 조심 한다.
- 8) 장착된 주사침을 제거한 후 새로운 주사침(18~21G)을 장착한다.
- 9) 전체 충진량 중에서 3mL만 남기고 나머지는 버린다.
- 10) 이렇게 준비된 인보사®-케이주(INVOSSA®-K inj.) 3mL를 무릎 관절강 내에 천천히 주사한다.
- 11) 하루 입원을 하면서 경과를 지켜보는 것을 권장하며, 입원 여건이 안되는 경우, 최소한 2시간은 휴식을 취하면서 신중히 관찰해야 한다.

이 약제는 무릎연골 부위에 주사하고 나서 30분~1시간 고정한 후 일상생활로 복귀가 가능해 기존 세포치료제와 달리 수술 과정이 필요 없어 투여가 간편하다. 다른 약물치료에 실패하거나 수술하기 어려운 초·중기 환자를 위해 효과적일 것이다.

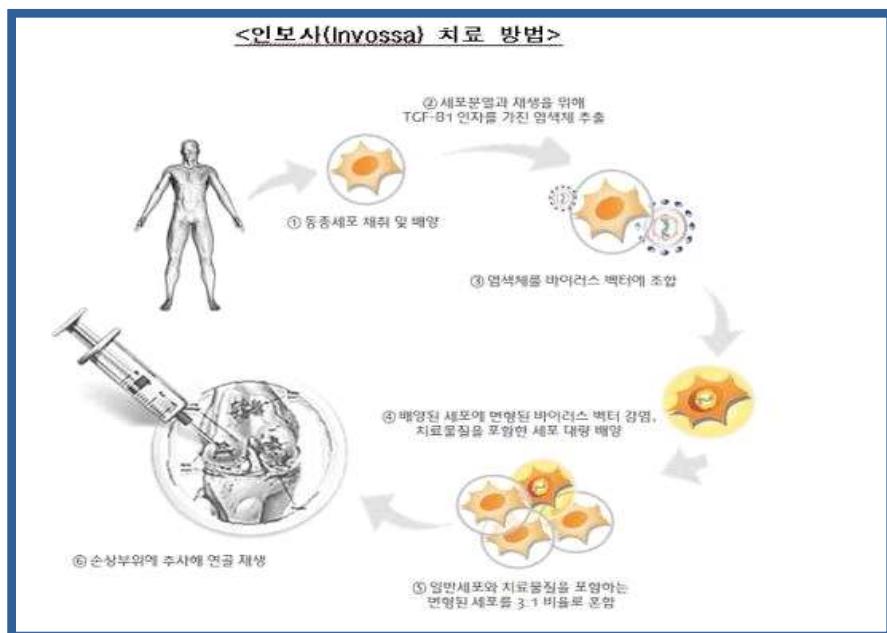


그림 13. 인보사 치료방법(출처: 국민일보, 2016)

▲ 허가임상

인보사의 3상 임상은 국내 무릎관절염 환자 163명을 대상으로 이 약제 1회 주사하고 1년 후 환자가 느끼는 무릎 통증 개선 정도와 운동이나 일상생활 등에서의 기능 개선 정도를 대조군(생리식염수 투여군)과 비교하였다.

임상결과, 1차 평가변수인 무릎 통증, 기능성 및 활동성지수(International Knee Documentation Committee, IKDC; 점수가 높을수록 증상 개선)의 향상 폭이 15.1점(투여 전 40.3점에서 치료 12개월 후 55.4점으로 증가)으로 위약군 5점(39.6점에서 44.6점으로 증가) 대비 약 3배 증가하였다. 인보사 투여군의 통증시각척도(visual analog scale, VAS; 0~100점, 점수가 높을수록 통증이 심함)가 감소한 정도는 24.5점으로 위약군 0.3점에 비해 개선되었다.

2차 평가변수 중 하나인 골관절염 증상지수(Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index, WOMAC)는 투여 전 대비 13.9점 줄어 위약군의 6.2점보다 2배가량 호전되었다. 인보사의 흔한 이상 반응은 관절강 내 주입과 관련돼 있었다. 심각한 부작용은 2건으로 한 환자에서 관절통(arthralgia)과 관절종창(joint swelling)이 나타났는데 10일 이내에 소실되었다.

따라서 임상적 유효성의 경우 주사하고 1년 후 환자가 느끼는 무릎 통증 개선 정도와 운동이나 일상생활 등에서의 기능 개선 정도를 대조군과 비교하여 우수성이 입증되었다. 또한 안전성의 경우 주사부위 국소반응(통증, 부종 등)과 전신반응(열감, 두드러기 등)을 평가하여 안전하였으며, 이 약제 투여한 환자를 3-10년간 별도로 추적한 입상연구에서 지연반응(종양, TGF- β 1 농도 상승 등) 등이 안전한 것으로 평가되었다.

다만 손상된 연골재생 등 구조개선 효과는 MRI 등을 통해 확인 시 대조군과 차이가 보이지 않았다.

결론

유전자치료제는 21세기의 새로운 치료법으로서 기존의 치료제들이 지닌 한계점을 극복할 하나의 대안으로 기대되고 있다. 유전자치료제는 현재 치료 방법이 없는 희귀·유전 질환이나 기존 치료제에 대한 unmet needs가 높은 퇴행성·난치성 질환의 근본적 치료에 도전할 수 있다. 이를 위해 질병의 원인이 되는 유전자의 발굴, 분자 진단 기술 및 유전자 전달체에 대한 계속적인 연구가 필요할 것이라 예상한다.

현재 무릎골관절염에 사용하는 세포치료제에는 연골재생을 촉진하는 자가연골세포(autologous chondrocyte) 치료제와 동종제대혈유래중간엽줄기세포(allogenic umbilical cord blood derived mesenchymal stem cell, UCB-MSC) 치료제가 있다.

이중 국내에서 개발한 UCB-MSC를 이용한 세계 최초 관절염 무릎연골 손상치료제(제품명: 카티스템)는 단순히 중간엽줄기세포를 배양한 제품으로 공여자 또는 미세 환경의 변화에 따라 세포의 분화능이 다르게 나타나고 있기 때문에 이상적인 줄기세포치료제를 개발하기 위해서 많은 연구가 더 필요하다.

따라서 현재 세포치료제 분야에서 그 치료효과를 증진시키기 위해 많은 연구가 활발히 진행되고 있지만 불행히도 수많은 연구결과들은 아직까지 *in vitro*내 성공적인 줄기세포 배양을 위한 최적의 조건을 확립하는 데 한계점이 있고, *in vivo* 환경 또한 표준화된 방법을 제시하지 못하고 있다. 줄기세포법의 경우에도 여러 공여자로 부터 분리된 중간엽줄기세포는 세포의 표현형, 성장, 생존, 분화능 등이 일정하지 않는 문제가 있어 세포치료제로서 사용되기에 많은 어려움이 있다. 그러므로 중간엽줄기세포의 연골분화를 예측하고 표준화하기 위한 유전자 조절 방법(전사인자와 표면수용체 등)들의 확립이 필요하다.

세포치료제와는 달리 유전자치료제는 세포 및 핵 내로 전달을 촉진하는 기술이 필수적이다. 현재 유전자 치료의 운반체로 흔히 사용되고 있는 바이러스 벡터는 유전자 조작 후 표적세포에 감염되어 최종적으로 유전물질을 전달하게 된다. 따라서 안전하고 효율적인 치료를 위해서는 바이러스의 세포내 감염 기작 및 바이러스 입자의 유전자 존재 기작 등의 계속적인 연구가 필요하다.

현재 세계적으로 성공적이라 평가되는 유전자치료제는 2012년 '지질분해효소결핍증(lipoprotein lipase deficiency) 유전자치료제 '알리포젠 티파보벡(alipogene tiparvovec, 제품명: 글리베라, Glyvera®)'와 2015년 흑색종에 사용하는 종양용해성바이러스(oncolytic virus)치료제 '탈리모젠 라허파렙벡(talimogene laherparepvec, 제품명: 임리직(Imlygic®))'이 대표적이다. 이 약제들의 가격은 글리베라는 1회 주사에 약 11억 1천만원이고 임리직은 1회 주사에 약 7500만원이라고 한다.

우리나라에서는 인보사-케이(Invossa-K®, 성분명: 토노젠콘셀, tonogenconcel)가 있다. 이 약제는 국내 29번째 신약이며 세계 최초의 무릎골관절염 유전자치료제로서 무릎관절강 내 1회 주사하여 무릎골관절염 환자의 통증과 관절의 기능개선, 연골 구조 개선효과, 이상반응 등에서 효과적이라는 점이 입증되었다. 특히 이 약제는 무릎연골 부위에 주사한 후 30분~1시간 정도면 일상생활로 복귀가 가능하므로 기존의 세포치료제와 달리 수술 과정이 필요 없다는 장점도 있다.

앞으로 인보사가 국내를 넘어 미 FDA, 유럽 EMA 등의 승인을 받기 위해서는 무릎골관절염 증상을 지속적으로 억제하고 관절의 구조변화를 멈추거나 늦춰 질병을 근원적으로 치료하는 질병완화골관절염약제(DMOAD)로서의 치료적 위치를 확보하는 것이 중요하다.

그러기 위해서는 X-ray와 MRI, 체액 내의 바이오마커 분석을 통해 인보사가 단순히 통증 경감 효과를 가진 항염증제가 아니라 관절 구조의 퇴행을 억제하고 질환의 호전이 가능하다는 점이 입증되어야 한다. 특히 MRI 지표 뿐만 아니라 연골, 뼈가 손상되면서 나오는 부산물인 CTx-I, CTx-II를 각각 혈청과 소변에서 검출해서 1년 이상의 기간에서 감소되는 수치가 확인되어야 할 것이다.

현재 카티스템, 인보사를 포함하여 현재 국내에서 진행되고 있는 많은 줄기세포치료제 및 유전자치료제들의 임상연구들이 계속 진행되어 좋은 결과들이 많이 발표될 것으로 기대한다.

참고자료

- 국내 허가사항
BRIC View 2016-T22
BIOSAFETY Vol.8 No.3(www.biosafety.or.kr)
Bone Research 4, Article number: 15040 (2016)
Journal of Pain Research 2015, 8:105-118
Osteoarthritis and Cartilage 22 (2014) 363e388
Front. Immunol., 04 September 2013
British Journal of Anaesthesia 107 (4): 490-02 (2011)
J Korean Med Assoc 2013 December; 56(12): 1123-1131
대한내과학회지: 제 82 권 제 2 호 2012
J Korean Med Assoc 2009; 52(11): 1077 - 1089
각종 인터넷 자료