난황에 축적된 IgY(Immunoglobulin Y) 생산 기술의 응용

– 축 · 수산물의 질병제어 및 헬리코박터 등 인체질환 적용기술 개발 동향

서론

항체 분야의 전문가가 아니더라도 항체의 중요성을 모르는 사람은 거의 없을 것이다. 사람이 특정 감염성 질병에 대한 백신을 접종받게 되면 그 병원체로부터 유래한 항원에 대한 항체가 생겨서 이후 동일 병원체가 인체 내에 들어올 경우에 방어를 유도할 수 있다. 백신은 인류의 질병 퇴치와 생명연장에 가장 큰 영향을 준 기술로 인정받고 있다. 최근, 관절염치료제나 항암제로 개발된 항체의약품 중 연간 매출이 6~7조원을 넘는 항암제 리툭산, 아바스틴, 허셉틴, 연간매출이 8조원을 넘는 엔브렐, 레미케이드, 그리고 연간 매출이 10조원을 넘는 휴미라와 같은 관절염치료제 등, 블록버스터 급 항체의약에 대해서 종종 접할 수 있다. 감염성 질병은 물론 다양한 만성질병에 대해서도 전 세계적으로 인류보건과 국가 산업 경쟁력 확보를 위해 바이오마커 target을 선점하고 관련 경쟁우위의 백신과 항체의약 개발 기술을 확보하기 위해 치열하게 무한경쟁을 벌이고 있다. 특히 개발된 항체 의약품의 경우, 대부분 인체의 IgG (Immunoglobulin G)라는 항체에 대한 것으로 단클론 항체 (Monoclonal antibody, mAb) 생산기술과 동물세포 배양기술이 그 근간을 이루고 있다. 앞서 언급한 백신산업과 항체 산업은 동전의 양면 같은 특성을 지니고 있어서 두 분야가 상호협력하며 발전하고 있다.

한편, 질병에 대한 방어기전으로서 사람 뿐만 아니라 여러 포유류와 조류도 감염성 질병으로부터 자신을 보호하거나 자손을 보호하기 위해 만들어내는 물질에 항체가 포함되어 있다. 포유류는 대부분 사람과 비슷하게 약 150 Kd의 IgG를 생산한다. 이 IgG는 2개의 중사슬(Heavy chain)과 2개의 경사슬(Light chain)로 되어 있으며, 이들은 이황화 결합 (disulfide bond)에 의해 연결되어 있다. 포유류는 IgG 이외에 그 구조나 기능이 조금씩 다른 IgA, IgD, IgE, IgM의 동종형 (isotypes)을 생산한다. 그리고 그동안 많은 전문가들의 연구를 통해 항체의 세부적인 구조와 기능이 많이 밝혀진 상태이다. 그런데 사람이나 동물들이 만드는 항체는 크기나 형태, 모양이 얼마나 유사할까? 많이 알려져 있지는 않지만, 모든 동물이 동일한 구조의 항체를 만드는 것으로 보이지 않는다. 적어도 조류인 닭과 파충류 등에서 발견되는 167 Kd 크기 정도의 IgY 항체 그리고 낙타와 라마 등과 같은 낙타과 동물에서 발견되는 약 100 Kd 크기의 나노바디(Nanobody)는 인체가 만들어 내는 항체와는 구조가 일부 다른 것으로 알려져 있다. 그리고 최근 연구개발 동향을 살펴보면, 이들 항체들이 각각의 장점이 있어 나노바디에서 유래한 single domain 항체 (sdAb)들이 지금까지 개발되어온 단클론 항체와 함께 인체의약 항체산업을 더 확장하는데 큰 역할을 할 수 있을 것으로 보인다.

난황항체, IgY (immunoglobulin Y)

본고에서는 사람을 포함한 대부분의 포유류에서 생산되는 항체인 IgG와는 조금 다른 영역의 항체 중 난황에 축적된 항체, 즉 IgY 를 소개 하고자 한다. 닭은 IgA, IgM, IgY가 혈액에 함유되어 있다. 그 중 IgY만이 계란의 난황에 축적되어 배아가 발생할 때 활용되고 병아리에 일부 이전된다. 즉, 암탉의 혈액에서 발견되는 IgY, IgM, IgA 중 IgY만이 계란의 난황으로 이동되어 그 자손에게 획득면역성(Acquired immunity)을 주는 것으로 밝혀져 있다. IgY는 조류, 파충류, 그리고 폐어류(Lungfishes)의 혈액에 함유된 주요 항체인데, 계란의 난황에 고농도로 축적된다. IgY는 IgG와 기능적으로 유사한 항체이지만, IgG와 비교하여 그 형태와 기능에 있어서 다소 차이가 있다 (그림 1). 중사슬의 분자량이 65.1 Kd 정도이고 경사슬이 18.7 Kd 정도로, 총 167 Kd이 되어 IgG보다 17 Kd이 더 크다.

IgY는 IgG와는 달리 Protein A나 Protein G, 세포내 Fc 수용체에 잘 결합하지 않는다. 따라서 분리 정제시 Protein A나 Protein G를 활용한 친화성칼럼 (affinity column) 활용이 어렵다. 한편 Fc 수용체에 결합하지 않으므로 보체계 (complement system)를 활성화시키지 않는다.

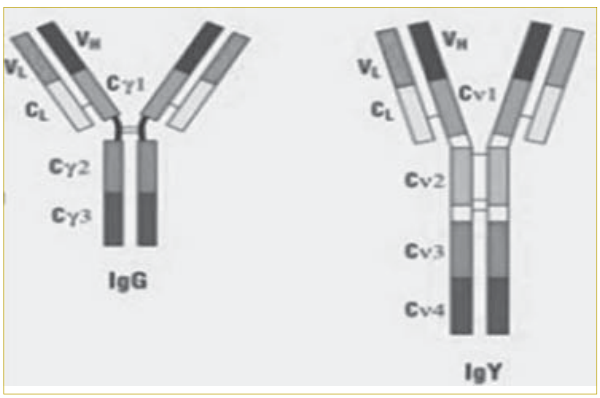


그림 1. 포유류의 IgG와 조류의 IgY의 구조적 유사성과 차이점

계란의 난황에는 IgY 만이 축적되어 있으므로 분리 · 정제할 경우에 더 유리하다. 현재 계란은 대규모 항체 생산의 도구로 각광을 받고 있다. 이러한 난황항체 생산기전을 활용하여 질병원 등 특정 항원에 대한 특이난황항체, 또는 면역난황항체를 제조하는 경우 식품 형태로 환자나 동물에게 쉽게 전달할 수 있어 축 · 수산 사료첨가제, 식품첨가물, 기능성 화장품 등 다양한 분야에 응용이 가능하다. 또한, IgY는 쉽게 분리가 가능하기 때문에 진단분야에서의 응용 가능성도 높다. 특히 국내에서는 2011년 7월 이후 사료첨가제로 항생제 사용이 전면 금지되어 세균과 바이러스 등 가축질병들에 대한 예방 및 치료효과를 가진 IgY의 개발 및 사료첨가제로의 활용이 증가하고 있다. 최근에는 인체의 질병을 일으키는 헬리코박터와 로타바이러스에 대한 예방 및 치료제로서의 개발도 활발히 시도되고 있다.

난황항체, IgY의 생산과정

특정질병의 예방 및 치료를 위해 난황항체를 이용한 수동면역(Passive immunization) 과정은 먼저 그림 2와 같이 적절히 면역기능을 가질수 있는 항체를 유도할 수 있도록 제조한 항원을 닭에 접종하는 과정으로 진행된다. 그림 2는 쥐와 닭에 항원을 주입하고 항체를 얻을 때, 쥐의 경우는 혈액을 채취하여 혈청에 존재하는 항

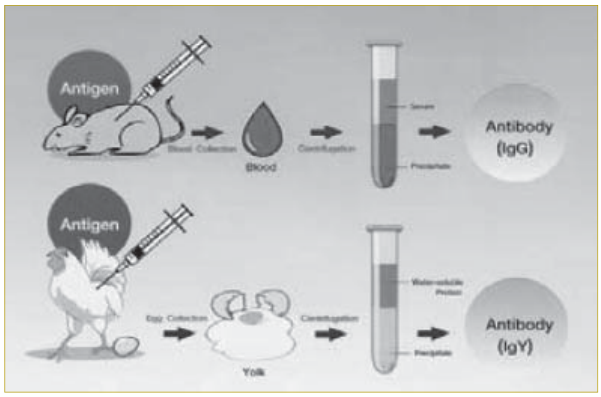


그림 2. 포유류인 쥐와 조류인 닭에 불활화한 병원체나 병원체 유래 항원 등을 면역원으로 접종하여 IgG 항체나 IgY 항체를 획득하는 과정(http://www.adbiotech.com/)

체를, 닭의 경우는 계란의 난황에 들어 있는 항체를 분리하는 과정의 차이점을 보여준다.

난황항체, IgY 활용 기술개발 및 제품 생산 동향

난황항체를 활용하여 축 · 수산 사료첨가제, 식품첨가물, 화장품 등이 다양하게 제품화 되어 있다. 최근 동향은 여기에서 나아가서 인체질병에 대한 예방 및 치료보조제로 개발이 시작되고 있는 것이 눈에 뜨인다. ClinicalTrials.gov(https://clinicaltrials.gov/)를 보면 최근에 낭포성 섬유증, 만성 치주염, 만성 위염(*Helicobacter pylori* 감염 양성), 소아 설사병 등에 대한 인체 임상시험의 식이보조제로서 난황항체의 기능성이 평가되기 시작하였다. 관련 제품을 생산 또는 개발하는 국내회사로는 단바이오텍, 바이오인디스트, 에그원 등이 있다. 해외 개발 회사로는 일본의 오르토코퍼레이션, 다이요화학, 교도유업, 겐코포레이션(IRIG: Immunology Research Institute in Gifu), 그리고 캐나다의 IgY Life Sciences사 등이 있다.

(주)애드바이오텍의 경우에도, 현재 다양한 면역난황항체를 개발하여 판매하고 있다. 양돈 관련 보조사료로서, 아이지-탑(돼지유행성설사병 바이러스와 돼지전염성위장염 바이러스에 대한 난황항체 포함), 아이지-가드S(이유후 전신성소모성증후군 관련 바이러스 항체 포함), 아이지가드 ED(돼지 부종병 F18, K99의 항원관련 면역항체 포함), 아이지 가드 토실(돼지유행성설사병바이러스, 돼지전염성위장염바이러스, 로타바이러스 예방용 사료첨가제 및 대장균, 부종병, 살모넬라, 클로스트리디움 관련 항체 포함) 등의 제품이 출시되어 있다. 축우 경우에는 아이지-가드 카프(송아지 설사 원인 세균 및 바이러스 병원체에 대한 특이 난황항체 포함), 양계 관련 제품으로는 아이지-가드 양계(항대장균증, 항살모넬라 난황항체 함유 등), 애견동물에 대한 제품으로는 아이지-가드 퍼피(애견의 소화기성 질병을 억제할 수 있는 파보바이러스, 보르데텔라, 코로나바이러스 등에 대한 난황항체 등을 함유) 등이 있다. 또한 식품첨가물로는 아이지가드(헬리코박터), 아이지가드(로타), 아이지가드(충치)와 화장품원료로서 여드름 유발균인 *Propionibacterium acnes*에 대한 항체 제품들이 출시되어 있다.

항헬리코박터 IgY 생산 및 임상시험 동향

헬리코박터는 인체에서 위염, 위궤양, 위암 등의 주요 원인인자이며 아직까지 백신은 상품화되어 있지 않은 상태이다. 현재, 항생제에 기반한 삼제병합

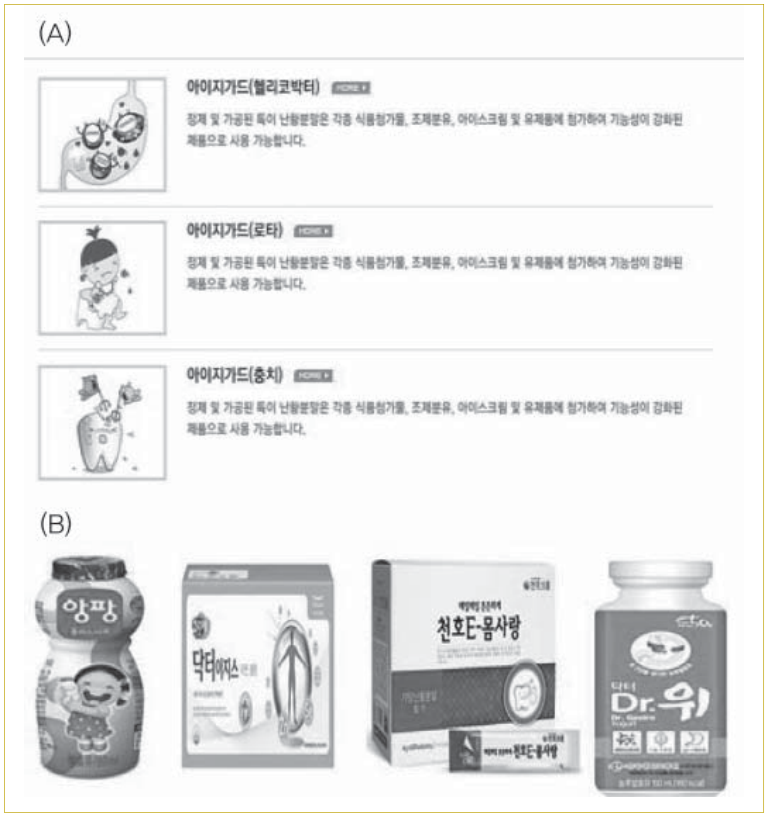


그림 3. (주)애드바이오텍에서 출시한 특이 난황분말 원료(A)와 난황항체 원료가 활용된 국내 유통 제품(B) 중 일부

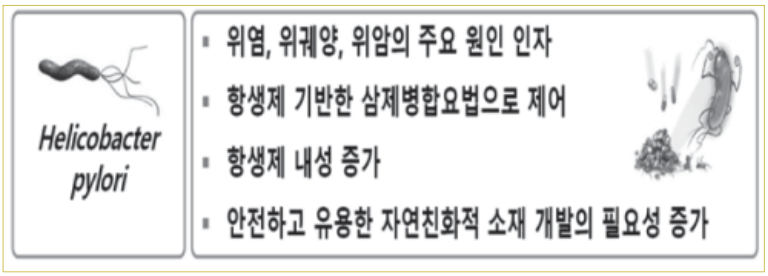
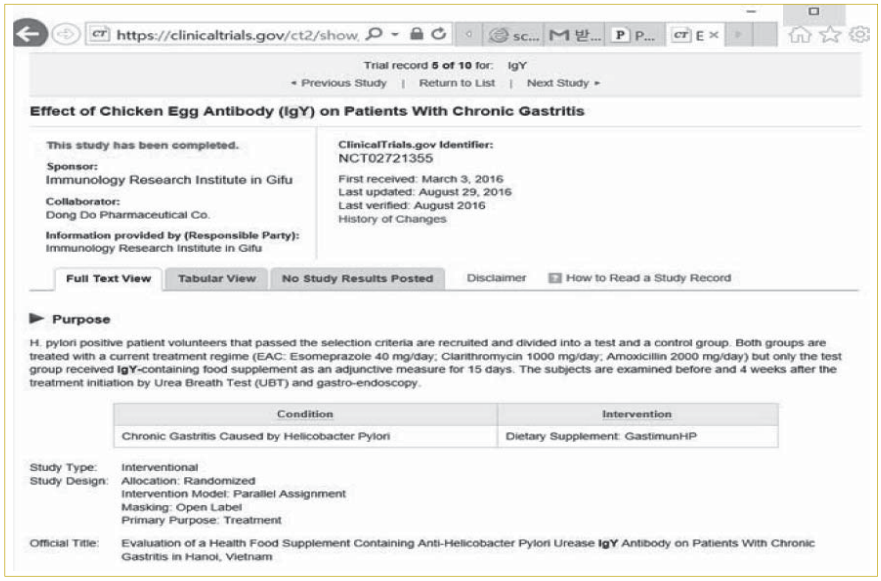


그림 4. 위염, 위궤양, 위암의 주요 원인 인자인 헬리코박터에 대한 난황항체 개발 필요성

요법(EAC: Esomeprazole 40 mg/day; Clarithromycin 1000 mg/day; Amoxicillin 2000 mg/day 등)으로 치료되고 있는데 많은 경우 재감염과 재발이 되고 있다. 특히, 문제가 되는 것은 최근에 항생제 다제내성균의 검출빈도가 크게 증가하고 있어서, 헬리코박터에 대해 항생제 처방을 좀 더 제한적으로 조절해야만 한다는 의견들이 나오고 있다. 따라서 헬리코박터 치료보조제로서의 난황항체 개발 필요성이 크게 증가하였다 (그림 4).

또한, 면역원성을 증가시키기 위해 헬리코박터를 불활화시킨 사균을 면역원으로 사용할 뿐만 아니라, 병원성과 관련되는 다양한 항원에 대한 재조합단백질을 생산, 활용하여 방어능이 우수한 항체제조를 위한 많은 시도가 진행되고 임상시험에 적용되고 있다(그림 5). 여러 *in vivo* 효능시험과 *in vivo* 동물실험에서 성공적인 결과가 보고되고 있다. 그러나 항헬리코 항체의 효능평가 경우, 현재 주로 사용하고 있는 생쥐 등 헬리코박터의 동물모델과 인체 사이의 연관성에 대해 더 많은 고찰이 필요한 것으로 알려져 있다. 인체의 경우, 위의 점막층 내에 기생하는 헬리코박터의 생태를 고려하면 경구로 투여하는 항


https://clinicaltrials.gov/ct2/show

Trial record 5 of 10 for: IgY
◂ Previous Study | Return to List | Next Study ▸

Effect of Chicken Egg Antibody (IgY) on Patients With Chronic Gastritis

This study has been completed.

Sponsor:
Immunology Research Institute in Gifu

Collaborator:
Dong Do Pharmaceutical Co.

Information provided by (Responsible Party):
Immunology Research Institute in Gifu

ClinicalTrials.gov Identifier:
NCT02721355

First received: March 3, 2016
Last updated: August 29, 2016
Last verified: August 2016
History of Changes

Full Text View | Tabular View | No Study Results Posted | Disclaimer | How to Read a Study Record

Purpose

H. pylori positive patient volunteers that passed the selection criteria are recruited and divided into a test and a control group. Both groups are treated with a current treatment regime (EAC: Esomeprazole 40 mg/day; Clarithromycin 1000 mg/day; Amoxicillin 2000 mg/day) but only the test group received **IgY**-containing food supplement as an adjunctive measure for 15 days. The subjects are examined before and 4 weeks after the treatment initiation by Urea Breath Test (UBT) and gastro-endoscopy.

Condition	Intervention
Chronic Gastritis Caused by Helicobacter Pylori	Dietary Supplement: GastimunHP

Study Type: Interventional
Study Design: Allocation: Randomized
Intervention Model: Parallel Assignment
Masking: Open Label
Primary Purpose: Treatment

Official Title: Evaluation of a Health Food Supplement Containing Anti-Helicobacter Pylori Urease **IgY** Antibody on Patients With Chronic Gastritis in Hanoi, Vietnam

그림 5. 만성 위염환자에 있어서 *Helicobacter pylori* 에 대한 닭 계란의 난황항체(IgY)의 건강보조식품으로서의 효능 평가 임상시험
(https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02721355?term=IgY&rank=5)

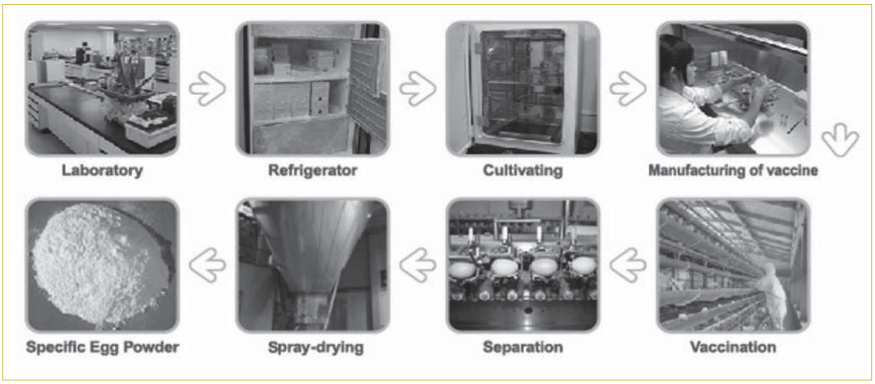


그림 6. 항 헬리코박터 난황항체 함유 난황분말 제조과정 모식도

체의 경우 항생제 포함 일반의약품 등보다 훨씬 더 접근성(Accessibility)이 제한될 수 있다. 그리고 동물마다 위장관 조직의 형태가 달라서 동물모델을 사용할 경우에 인체에 적용을 고려 적절성 · 한계점을 잘 판단해야 한다. 동물실험 디자인, 인체 적용시험 및 인체 임상실험 시 항체 뿐만 아니라 함께 첨가하는 물질들의IgY와의 상호작용을 잘 분석하여 적용해야 한다.

항헬리코박터 IgY 함유 난황분말 제조 모식도

그림 6은 (주)애드바이오텍에서 헬리코박터를 배양하여 산란계 접종용 백신을 제조하고 접종을 통하여 생산된 난황을 분무 · 건조하여 분말을 제조하는 과정을 간단하게 제시한 것이다. 포유동물의 혈청에서 항체를 획득하는 대신에 헬리코박터 균을 불활화시켜서 제조한 항원 단독군과 재조합단백질 항원을 포함한 복합면역원으로 사용하여 닭에 접종할 수 있다. 현재 수거한 계란의 난황에서 분리한 항체의 *in vitro* 효능평가 시험계와 *in vivo* 효능평가 동물실험 및 안전성 평가 동

물시험 결과, 그리고 안정성 시험 결과에 근거하여 인체적용시험을 준비 중이다. 현재 수립된 공정은 약 3천마리의 닭에서 15일 동안 면역하여 계란 5만개 정도를 수거하고 자동할란기로 계란을 파쇄하여 여기서 확보한 난황을 균질, 여과, 살균처리, 충전 및 포장 과정을 거쳐 출고가 가능하다. 면역처리 된 닭의 계란 5만개에서 분리한 약 750리터 규모의 난황을 처리하여 대규모의 항체를 생산하는 것 또한 가능하게 되었다. 단클론 항체 생산기술을 활용한 IgG 생산성과 비교해서 장점들이 있으나 향후 직접적인 (head-to-head) 생산성 비교를 통해서 지속적으로 경쟁력을 갖춘 기술로 업그레이드해야할 것이다. 특히 동물세포에서 수 천톤 씩 생산이 가능한 품질이 우수한 단클론항체들에 비교하여 경쟁력을 유지하기 위해서는 항원의 면역원성을 증진시키고 친화력(affinity)이 좋은 IgY 단클론 항체를 선별하는 등 우수한 기술들의 개발이 필요한 것으로 보인다.

결어

쥐, 토끼, 염소 등 면역처리 된 동물의 혈청으로부터 얻어진 특이항체(Specific IgG)는 진단과 순수 과학 분야에서 광범위하게 사용되어 왔다. 또한, 관절염, 암 등 만성질병은 물론 감염성 질병에 대한 인간화한 단클론 항체의 효율적인 생산공정 개발 기술과 의약품으로서 유용한 다양한 특성을 부여하는 첨단기술들이 개발되고 있다. 나아가서 IgG를 사용할 수 있는 또 하나의 중요한 분야는 수동면역(Passive immunization)이다. 이러한 수동면역 분야에 닭의 계란에서 분리한 난황항체, IgY 뿐만 아니라 낙타, 라마 등에서 생산되는 나노바디 항체의 유용성들이 밝혀지면서 이들 또한 축·수산물의 사료첨가물, 식품, 화장품 그리고 건강기능식품은 물론 나아가서 바이오의약품 등 치료항체 분야에 접목도 시도되고 있다. 과학기술분야는 끊임없이 개별 기술의 장점을 더 개선하고 단점을 보완해 나가면서 그 경쟁력을 지속적으로 유지, 발전시켜가고 있다. 이러한 발전은 IgY를 포함한 항체 활용분야에서도 예외는 아니다. 따라서 국내 관련 제조회사들도 보유 기술의 장점을 살리면서 단점을 보완하는 협력체계를 구축하여 국제경쟁력을 가진 기술로 지속적으로 개발해 나아가서 단클론 항체 선진 시장을 포함 난황항체 (IgY)와 나노바디의 활용시장도 확대해 갈 것을 기대해 본다.

참고 문헌

1. 바이오마커 기반 암면역치료제 개발 국제 동향과 개발 전략, 범부처신약개발사업단, 박순희, 2016
2. VLP, 성공적 바이오의약품 생산 플랫폼 전략적 구축, 범부처신약개발사업단, 박순희. 2013,
3. 백신 개발과 BT-CT 융합, 접합백신(Conjugate vaccine)의 개발, J. PhamTech., 박순희, 2014
4. Oral passive IgY-based immunotherapeutics, A novel solution for prevention and treatment of alimentary tract infection, Human Vaccines and Immunotherapeutics, S. Rahman et al., 209:5, 1039-1048, 2013
5. An update on antibody-based immunotherapies for Clostridim difficile infection, Clinical and Experimental

Gastroenterology, G. Hussack & j. Tanha, 9:209-224, 2016

6. A robust pipeline for rapid production of versatile nanobody repertoires, Nature Methods, P.C., Fridy et al.,1-12, DOI:10.1038/NMETH.3170, 2014.

7. IgY antibodies in human nutrition for disease prevention, Nutrition Journal, Müller et al., 14:109, 2015

8. Anti-Helicobacter pylori effects of IgY from egg yolk of immunized hens. Lab. Yun-Hui Yang et. al., Lab. Anim. Res. 2012: 28(1), 55-60, 2012

9. Inhibitory effects of rHP-NAP IgY against Helicobacter pylori attachment to AGS cell line, Microb Pathog. Bohani K. et. al., (doi: 10.1016/j.micpath.2016.06.004. Epub 2016 Jun 2.), Aug;97:231-5. 2016

10. ClinicalTrials.gov Identifier:NCT02721355H. Effect of Chicken Egg Antibody (IgY) on Patients With Chronic Gastritis in Helicobacter pylori positive patient volunteers, Immunology Research Institute in Gifu(Sponsor); Dong Do Pharmaceutical Co., Completed by August 2016.

박순희
(주)애드바이오텍 부대표/연구소장
Institute of Adbiotech, Chuncheon 24232, Korea
Tel: +82-33-258-6500, Fax: +82-33-261-4920,
E-mail: suenie@adbiotech.com