

3

cm

11-1543
000-002
144-01

4cm

국내 고병원성 A I 백신접종을 위한 프로그램 및 출구전략 개발 최종보고서

2018

농림축산식품부

(견고닥 17p)

가축질병기술개발사업 R&D Report

(견고닥 25p)

발간등록번호

11-1543000-002144-01

(견고닥31p)

5cm

국내 고병원성 A I 백신접종을 위한 프로그램 및 출구전략 개발 최종보고서

(0.1cm)

2018. 02. 14.

0.15cm

(견고닥15p)

(별색바탕 : C50, M20, Y59, K0)

주관연구기관 / 서울대학교
위탁연구기관 / 건국대학교

2cm

(견고닥 15.5p)

농림축산식품부

5cm

3

cm

2. 제출문

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “국내 고병원성 AI 백신접종을 위한 프로그램 및 출구전략 개발” (개발기간 : 2016. 05. 19 ~ 2017. 12. 31) 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2018. 02. 14.

주관연구기관명 : 서울대학교
위탁연구기관명 : 건국대학교

김 재 흥
송 창 선



주관연구책임자 : 김재홍
위탁연구책임자 : 송창선

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

3. 보고서 요약서

보고서 요약서

과제고유번호	316040-2	해 당 단 계 연 구 기 간	2016.05.19. - 2017.12.31	단 계 구 분	(2단계)/ (2단계)
연구사업명	단 위 사 업	농식품기술개발사업			
	사 업 명	가축질병대응기술개발사업			
연구과제명	대 과 제 명	(해당 없음)			
	세부 과제명	국내 고병원성 AI 백신접종을 위한 프로그램 및 출구전략 개발			
연구책임자	김재홍	해당단계 참 여 연구원 수	총: 12명 내부: 2명 외부: 10명	해당단계 연 구 개 발 비	정부:80,000천원 민간: 천원 계: 80,000천원
		총 연구기간 참 여 연구원 수	총: 14명 내부: 2명 외부: 12명	총 연구개발비	정부:200,000천원 민간: 천원 계: 200,000천원
연구기관명 및 소속부서명	서울대학교 수의과대학			참여기업명	
위탁연구	연구기관명: 건국대학교 수의과대학			연구책임자: 송창선	
비상 시 대비 국내 고병원성 AI 백신주 4종을 확립하였으며 접종프로그램을 설정하였음. 비축용 AI 백신 뱅크의 타당성을 평가하였으며 구축방안을 확립하였음. 백신접종을 위한 의사결정 decision tree를 설정하였으며 백신접종 출구전략을 개발함.				보고서 면수 117 쪽	

4. 국문 요약문

		코드번호	D-01			
연구의 목적 및 내용	<ul style="list-style-type: none"> ○ 국내 고병원성 AI 백신 접종을 대비한 백신주 선정, 접종프로그램 설정, 백신접종 이후 조치방안 등 사전 준비를 통해 필요시 즉시 적용체계 구축 <ul style="list-style-type: none"> - 비상 시 국내 고병원성 AI 백신의 선택과 접종 프로그램 설정 및 효능 평가 - 비축용 고병원성 AI(HPAI) 백신 बैं크 타당성 조사 및 stockpile 구축 방안 확립 - 백신접종 의사결정 구조 및 출구전략 개발 					
연구개발성과	<ul style="list-style-type: none"> ○ 비상 시 대비 국내 고병원성 AI 백신주의 선택과 접종프로그램 설정 <ul style="list-style-type: none"> - 백신주 선정(고면역원성, 고생산성, 안전성 확보주): 예측 가능한 clade에 대응하는 최적 백신주 복수 선정, 실험실 효능 비교 및 안전성 평가 - 산란계, 육계, 토종닭, 오리 등 가금 종류별 백신 프로그램 최적화 및 실증 ○ 비축용 HPAI 백신 बैं크 타당성 조사와 비축용 백신 बैं크 구축방안 확립 <ul style="list-style-type: none"> - HPAI 백신 बैं크 적합성 및 경제성 평가: antigen bank와 strain bank 비교 - 비축용 백신의 생산, 품질관리, 보존 및 운용 시스템 확립 - 비축용 백신의 조기 등록 및 조기생산 시스템 구축을 위한 기준 설정 ○ 백신접종 의사결정 구조 개발 및 HPAI 백신접종 후 출구전략 개발 <ul style="list-style-type: none"> - 긴급 상황 발생 시 백신접종 정책 결정을 위한 decision tree 설정 - HPAI 백신접종에 따른 야외주 예찰과 관리전략 및 구체적 접근방안 수립 - 출구전략 개발 					
연구개발성과의 활용계획 (기대효과)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 활용방안 <ol style="list-style-type: none"> 1. 효과적인 백신 및 용법·용량 개발과 개선된 차단방역 기술 및 시스템 개발을 위한 자료로 활용 2. 비축용 백신뱅크의 타당성 및 구축방안 확립 3. HPAI 발생단계별 백신 수급 및 운용 전략(SOP) 설정 4. 백신접종 정책 종료를 포함하는 HPAI 근절정책 수립과 총체적 출구전략 개발 ○ 기대성과 <ol style="list-style-type: none"> 1. 기술적 측면 <ul style="list-style-type: none"> - HPAI 예방용 백신 후보주 확보 - 효과적인 HPAI 예방용 백신 제작기술 확보 - H5 HPAI 백신 평가 방법 확립 2. 경제·산업적 측면 <ul style="list-style-type: none"> - 비축용 백신뱅크의 타당성 및 출구전략 제시 - 유니버설 백신 제작을 위한 기초기술 확보로 다양한 인플루엔자 백신 개발에 활용할 수 있어 동물약품산업 발전에 기여 - 가금산업 기반 안정화 및 백신 제품 생산 기반 구축 및 경험 축적 					
중심어 (5개 이내)	가축질병	조류독감	백신	접종	출구전략	

5. 영문 요약문

< SUMMARY >

		코드번호	D-02
Purpose& Contents	<ul style="list-style-type: none"> ○ Build of emergency vaccination policy through selection and preparation for highly pathogenic avian influenza (HPAI) vaccine and establishment of HPAI vaccination program and exit plan following vaccination policy <ul style="list-style-type: none"> - Selection of HPAI vaccine, establishment of vaccination program, and evaluation of efficacy of vaccine at emergency - Studies on feasibility of stockpile for HPAI vaccine bank, and establishment of stockpile building plans - Development of decision tree for application of emergency vaccination and exit plan following vaccination policy 		
Results	<ul style="list-style-type: none"> ○ Selection of HPAI vaccine strains and setting of vaccination program at emergency <ul style="list-style-type: none"> - Selection of vaccine strains (highly immunogenic, high productive, and safe strains): Optimal vaccines corresponded to predictable clades, comparison of vaccine efficacy, and evaluation of vaccine safety - Optimization and substantiation of vaccine program for each poultry including layers, broilers, Korea native chickens, and ducks ○ Studies on feasibility of stockpile for HPAI vaccine bank, and establishment of stockpile building plans <ul style="list-style-type: none"> - Compatibility and economic evaluation of HPAI vaccine bank: comparison between antigen bank and strain bank - Production, quality management, store and building of application system of vaccine for stockpile - Setting of standard for building of early enrollment and early production system of vaccine ○ Decision tree for vaccination and development of exit plan <ul style="list-style-type: none"> - Decision tree for vaccination policy at emergency - Surveillance of wild virus, management strategy and establishment of specific approach after HPAI vaccination - Development of exit plan 		
Expected Contribution	<ul style="list-style-type: none"> ○ Application plan <ol style="list-style-type: none"> 1. Application for development of effective vaccination methods and doses and advanced biosecurity methods and system 2. Studies on feasibility of stockpile for HPAI vaccine bank, and establishment of stockpile building plans 		

	<p>3. Establishment of standard operating procedure (SOP) on each HPAI outbreak phases</p> <p>4. Development of overall exit strategy and establishment of eradication policies of HPAI including termination of vaccination policy</p> <p>○ Expected contribution</p> <p>1. Technical aspects</p> <ul style="list-style-type: none"> - Development of vaccine candidates against HPAI - Development of effective vaccine production - Establishment of evaluating methods on H5 HPAI vaccine <p>2. Economic and industrial aspects</p> <ul style="list-style-type: none"> - Suggestion of exit plan and feasibility on stockpile vaccine bank - Contribution on development of animal drug industry by various influenza vaccine development - Stabilization of poultry industry 				
Keywords	Domestic animal disease	avian influenza	vaccine	vaccination	exit plan

6. 영문목차

< **Contents** >

1. Outline of Research Project	1
2. Present Situations of Research	20
3. Methods and Results	23
4. Achievements and Contributions in Relevant Research Field	86
5. Plans of Practical Uses	89
6. Data Collections during Project	90
7. Security Rating of Research Achievement	94
8. The Present Condition of Research Facilities and Machineries	95
9. Laboratory Safety Management	96
10. Representative Research Achievements	100
11. Etc	101
12. References	103

7. 본문목차

< 목 차 >

1. 연구개발과제의개요	1
2. 국내외 기술개발 현황	20
3. 연구수행 내용 및 결과	23
4. 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	86
5. 연구결과의 활용계획 등	89
6. 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보	90
7. 연구개발성과의 보안등급	94
8. 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비현황	95
9. 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적	96
10. 연구개발과제의 대표적 연구실적	100
11. 기타사항	101
12. 참고문헌	103

< 별첨1 > 연구개발보고서 초록

< 별첨2 > 자체평가의견서

< 별첨3 > 연구성과 활용계획서

8. 뒷면지

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 가축질병대응기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 가축질병대응기술 개발사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.

1. 연구개발과제의 개요

코드번호

D-03

1 장. 연구개발 목적

1절. 비상 시 대비 국내 고병원성 조류인플루엔자 (highly pathogenic avian influenza, HPAI) 백신주의 선택과 접종 프로그램 설정

1. 백신주 선정: 고면역, 고증식성의 특성과 안전성이 확보된 백신주
 - 가. 최근의 HPAI 바이러스 유행형의 clade에 대응하는 혈구응집 (hemagglutinin, HA) subtype 유전자를 지닌 백신주 선정
 - 나. 역유전학 기법에 의한 뉴라미니다아제 (neuraminidase, NA) 유전자 및 내부 유전자 재조합을 통하여 고면역원성, 고생산성의 특성을 가지면서, 안전성이 확보된 백신주 선정
 - 다. 야외 감염 바이러스와 항체 감별이 가능한 백신주 선정
2. 가금 종류별 백신 접종 프로그램 최적화 및 실증
 - 가. 외국의 백신 접종 사례 및 실용성 평가를 통해 가금 종류별로 최적의 백신 접종 프로그램 확립
 - 나. 확립된 백신 접종 프로그램에 대한 야외 농가에서의 사용 가이드 라인 설정

2절. 비축용 HPAI 백신 뱅크 타당성 조사와 비축용 백신 뱅크 프로그램 최적화 및 실증

1. 백신 뱅크 (vaccine bank)를 이용한 백신의 비축 (stockpiling)
 - 가. 비축용 HPAI 백신 뱅크 타당성 분석과 최적화
 - (1) HPAI 백신 뱅크 적합성 및 경제성 평가: 외국 HPAI 백신 뱅크 사례 조사 및 타당성 분석에 따른 항원 뱅크 (antigen bank)와 백신주 뱅크 (strain bank) 채택 전략 수립
 - (2) 백신 뱅크의 생산, 품질 관리, 보존 및 운영 시스템 확립
 - (3) 비축용 백신 뱅크의 조기 등록 및 조기 생산 시스템 구축을 위한 기준 설정
 - 나. 백신 뱅크를 이용한 백신의 대량 생산 및 수급 방안 수립
 - 나. 백신 뱅크를 이용한 긴급 백신 대량 생산 방안 및 수급 전략 수립
2. 야외주 또는 이에 상응하는 백신주를 이용한 긴급 백신 제조 및 수급 방안 수립
 - 가. 비상 시 대비 긴급 백신주 제조 방법 및 대량 생산 방안
 - (1) 사전 예측이 매우 어려운 HPAI 바이러스 유행 특성상 확보된 백신 stockpile 외의 현 유행주를 이용한 긴급 역유전학 백신 제조 방법 개발: 초단기 백신주 제작 및 효능 검증 기술

(2) 개발 백신주를 이용한 백신의 긴급 대량 생산 및 초단기 안전성/효능 평가 방안

3. 백신 접종 의사 결정 구조 설정 및 HPAI 백신 접종 후 출구 전략 개발

가. 긴급 상황 발생 시 백신 접종 정책 결정을 위한 의사 결정 구조 (decision tree) 설정

나. HPAI 백신 접종에 따른 야외주 변이 및 순환감염 실태 예찰과 관리 전략 및 구체적 접근 방안 수립

다. 출구 전략 개발: 백신 접종 정책 실시 후 사후 관리 방안과 연계한 상황별 출구 전략 개발 및 백신 접종 후 시행하여야 할 조기 근절 정책 방안 수립.

2장. 연구개발의 필요성

1절. 국내 백신 접종 정책의 타당성

1. 백신 접종 정책 검토를 위한 배경과 전제

가. HPAI는 H5N1 HPAI 바이러스의 거듭된 변이로 인하여 인수공통전염병 중 가장 심각한 질병 중의 하나가 되었으며, 잠재적 범유행 인플루엔자 (pandemic influenza, PI)를 유발할 수 있는 질병으로 간주됨. 따라서, HPAI 바이러스에 의한 인체 감염 위험성과 신종 PI 출현 위험성을 최소화하기 위해서는 HPAI 발생과 확산을 동물 감염 단계에서 관리하고 원천적으로 차단하는 것이 매우 중요함.

나. 2007년 홍콩의 H5N1 HPAI 발생 이후, H5N1 바이러스를 비롯한 각종 HPAI 바이러스의 발생과 세계적 확산, 조류에서의 병원성은 약하지만 인체 감염 위험성은 치명적인 H7N9 AI 바이러스의 중국 출현 (2013), 2014년에 새로이 등장한 H5N8 HPAI 바이러스의 독특한 성질과 북미주까지 확산된 전파력 등 HPAI 바이러스의 지속적이고 급격한 변이와 인체 감염 능력 획득은 이미 인류에 대한 잠재적 PI 출현 우려를 기정사실화 하고 있음.

다. 부실한 국가 방역 체계를 가진 후진국에서 초동 방역의 실패로 인한 HPAI 상재화 (풍토병화)와 인체 감염 사례의 지속적 증가는 이러한 위험성을 더욱 부각시켰고, 결과적으로 조기 근절보다는 백신을 사용함으로써 피해를 최소화 할 수밖에 없는 상황을 조성함. HPAI 백신 접종국 15개국 중에서 전국적인 HPAI 접종을 실시하는 나라는 중국, 이집트, 인도네시아, 베트남, 홍콩 5개국이며, 이들 모두가 HPAI가 이미 상재화된 이후 전국적 백신을 실시했다는 것은 HPAI로 인한 위급한 국면을 타개하기 위한 수단으로 백신 접종 정책이 채택되었음을 입증하는 사례임.

라. 우리나라에서는 선진적인 국가 방역 체계로 보아 HPAI를 통제할 수 없을 정도로 상황이 악화되거나 상재화로 인하여 전국적인 백신 접종 필요성이 검토될 정도의 상황은 오지 않을 것으로 생각됨. 백신 접종을 검토해야 할 정도로 상황이 악화된다면, 어느 개인이나 집단에 의하여 백신 접종 정책을 결정하는 것보다 전문가 그룹과 관련 축산 단체와 협회, 행정 그룹의 중지를 모아서 신중하게 결정하는 것이 시행착오를 피하는 길이 될 것으로 보임. 여론의 질타나 비전문가의 단순 논리에 의하여 백신 접종 정책이 결정될 우려도 배제할 수 없는 만큼, 일시적인 감정이나 위험성에 근거한 공포심에서 결정을 하기 보다는

객관적 사실에 의하여 접근할 수 있는 백신 접종 의사 결정 구조 (decision tree)를 만들어 두는 것이 필수적임. 어떠한 경우에도 백신 접종의 이해와 득실을 충분히 검토한 후 결정되어야만 함.

2. 백신 접종 정책 시행 시의 필수 조건

가. 상황에 따라서 백신 접종 정책을 채택하여 시행할 경우 절대적으로 이를 위한 전제 조건이 충족되어야함. 현재 상황에 적합한 종합적 방제 프로그램의 일환으로서만 적용하여야 하며, 다음과 같은 질병 방제를 위한 기본 원칙 및 수단과 병행하여야만 성공적인 성과를 기대할 수 있음.

- (1) 감염 또는 감염 의심축의 인도적 살처분 및 사체의 안전한 처리와 소독, 이동통제 등을 통한 철저한 사후관리
- (2) 질병의 확산을 차단하기 위한 위험 요인에 대한 효과적 이동통제
- (3) 농장이나 소규모 사육농가, 관련 산업 및 시장에서의 철저한 차단방역 (biosecurity)
- (4) 사육 현장 및 시장 형태의 개선: 감염 위험을 최소화하기 위하여 가금 사육 형태는 물론 가금의 수송 체계 및 운반 차량에 대한 개선, 방역에 부적절한 시장 형태의 변화도 함께 도모하여야 함.
- (5) 사육 및 유통현장에 대한 철저한 능동적 감시체계 (active surveillance)와 조기 진단 시스템 유지: 가금 사육 현장이나 소규모 방사 가든형 식당은 물론 살아있는 닭이나 오리 등 생 조류를 판매하는 재래시장 (live bird market, LBM)과 여기에 동물을 공급하는 중개상인에 대한 감염실태 조사와 조치 및 조기 진단 체계의 적용이 조기 검색과 확산 방지에 매우 중요함.
- (6) 생산자/관련 단체 및 국민에 대한 정확한 정보 제공 및 소통 체계를 구축하고 질병 예방법 등 적절한 교육을 통하여 국민적 협조와 신뢰성을 확보하는 것이 필수적임.

나. 이 기본축이 가동되지 않는 상태에서 백신 접종만을 시행한다면 근절은커녕 백신 접종을 하였다는 방심에서 비롯된 방역 인식의 와해와 함께 전국적 만연을 초래하는 역작용을 초래할 우려가 있음. 게다가, 야외 바이러스의 변이를 촉진하여 동물과 인체에 해로운 HPAI 바이러스 변이형의 출현을 촉진하는 위험한 환경을 조성해 주는 치명적 오류를 범할 수 있음. 특히 백신 접종 후 야외 바이러스 변이에 대한 감시 체계는 백신의 효과를 평가하는데 결정적으로 작용하며, 이 결과에 따라 백신주의 선택이 탄력적으로 변경될 수 있어야 함. 이와 함께 감염 농장의 신속한 살처분 정책은 이 바이러스의 전파와 감염 확산을 차단하기 위한 필수적인 조치임.

3. 백신 접종 면역 획득률 (vaccination coverage)의 중요성

가. 백신 접종에 의한 면역 획득 (vaccination coverage)은 백신 접종 정책의 실효성과 밀접한 관련이 있음. 집단적 개념으로 볼 때, 백신 접종에 의한 면역 획득률이 어느 정도인가에 따라서 실제적으로 특정 집단의 가금류에 HPAI가 감염되었을 때 예방 효과와 전염에 대한 차단 효과가 결정되기 때문임. 아무리 백신 접종을 했다 하여도 그 지역 또는 특정 집단의 면역 수준이 낮다면 백신에 의한 효과적인 예방은 기대할 수 없음.

나. 효과적인 백신 접종 정책을 위해서는 백신 접종에 의한 면역 획득 수수가 최소 60%가 되어야 하지만, 감수성을 가진 감염 위험이 있는 가금류에서는 최적의 면역 효과를 위해 80% 이상이 되어야 함. 백신 1회 접종만으로는 일반적으로 이러한 기대를 충족시키기 어려움. 백신 접종은 2회 이상 실시하여야 충분한 면역 효과를 기대할 수 있으며, 백신의 공급량이 불충분하거나 백신 접종 회수가 부족할 경우 면역 획득률은 급격히 낮아지게 됨.

다. 야외 농장에서 백신과 백신 접종 실패의 가장 주된 이유는 백신 접종량이 적거나 낮은 면역 획득률로 인하여 감수성 있는 계군이 80% 이상의 면역 획득에 실패하는 것임. 이집트는 면역 획득률이 낮아서 백신 접종이 실패한 경우에 속하며, 개별 농가 단위로는 36%의 가금만이 백신을 접종하였고, 상업적 대규모 농장 단위에서는 50%~60% 만이 백신을 접종하였음.

라. 최근의 백신과 백신 접종의 국지적 실패 요인으로 항원적으로 부적절한 백신주를 사용한 오류도 지적되고 있음. H5N1 HPAI 바이러스가 야외에서 전 세계적으로 끊임없이 순환하고 있기 때문에 그만큼 돌연변이의 가능성이 높아졌고, 결과적으로 항원성 면에서 백신주가 야외주를 충분히 방어할 수 없을 정도로 변이가 지속되고 있어 기존의 백신에 의한 방어면역 획득률이 낮아지게 됨.

4. 백신 접종으로 인한 기대효과

가. HPAI 유행 국가에서의 백신 접종 정책의 기능은 직접적으로 질병을 근절하기 보다는 바이러스의 박멸이 가능한 시점이 올 때까지 감염 확산과 질병 발생을 차단하거나 최소화 하고, 궁극적으로 백신 접종 중단과 발생 농장에 대한 강력한 살처분 정책을 통하여 질병의 근절을 도모할 수 있는 유력한 수단으로 이용되고 있음. 백신 접종 프로그램 실시로 인체 감염 사례 및 가금류 발병 수가 감소한 것은 매우 긍정적 효과이며, 환경에 미치는 영향 등도 긍정적인 결과를 보였음.

나. HPAI 발생 피해가 지속되거나 상재화 된 국가에서 야외 농장에 백신을 광범위하게 사용한 경험과 현재까지의 시험 결과 및 야외 상황을 종합해 볼 때, 유행하는 야외주와 항원성이 일치하면서 방어에 충분한 함량을 가지고 있는 백신은 아래와 같이 상당한 효과를 발휘하는 것으로 평가됨.

- (1) HPAI 감염에 대한 닭의 저항성 증가
- (2) 감염 닭의 임상증상 완화 및 폐사율 감소.
- (3) 면역 획득에 의한 감염 시 HPAI 바이러스 배출 감소.
- (4) 가금의 HPAI 감염 가능성 감소로 다른 동물 및 사람의 감염 가능성을 감소시킬 수 있으며, 총체적으로 AI의 방제와 예방에 있어서 효과적인 보조적 수단으로 사용될 수 있음.

5. 가금류 백신 접종이 사람의 공중보건에 미치는 영향

가 국가 방역이 실패한 HPAI 상재국에서 가금류에 대한 백신 접종 또는 백신을 접종한 가금산물이 HPAI 인체 감염에 부정적 영향을 미친다는 증거는 없음. 국가 방역체계가

성공적으로 작동되지 않거나 통제되지 않은 상황에서는 HPAI 만연으로 인한 인체 감염 가능성이 증가한다는 사실에 견주어 보면, 백신 접종으로 인한 질병 감소와 감염계의 바이러스 배출량 감소는 오히려 공중보건에 유리한 조건을 조성함. 이런 측면에서, 또한 백신을 접종한 가금산물이 안전성에 관한 소비자의 요구에 심대한 부정적 영향을 미친다고 보기는 어려움.

2절. 비상 시에 대비한 백신(주) 은행 구축과 백신 제조기술 확립

1. 백신 접종 정책을 시행하지 않더라도 만약의 사태에 대비하여 백신 제조 기술을 개발하고 확립해두는 것이 바람직함. 백신 제조 기술은 국내에서도 각 대학이나 연구소에서 이미 단편적으로는 개발하여 확보하고 있지만 정부기관을 중심으로 기술을 결집하여 단일화된 총체적 대응 방안을 준비해 두어야함.

가. 긴급 비상조치용 백신 (emergency vaccination)의 개발과 확보 (stockpiling)

(1) 비상사태에 대비한 긴급용 백신을 제조하거나 확보하기 위해서는 백신주은행 (strain bank)을 구축할 것인지, 항원은행 (antigen bank)을 구축할 것인지에 대하여 정책적 결정 검토가 사전에 이루어져야 할 것이며, 전문가와 행정가 집단에 의한 심층적인 검토가 요구됨.

(2) 백신주은행은 사용할 수 있는 효과적인 백신주 (strain)를 모두 확보해 두는 것이고, 항원은행은 오일백신 제조 직전 단계의 항원을 미리 만들어 비축해 두는 것으로서 각각 장단점을 가지고 있음.

(3) 긴급 백신용 stockpile이라는 점을 전제로 한다면 후자가 더 바람직하지만, 사용하지 않을 경우에는 유효기간이 지난 대량의 항원은 모두 폐기해야 하며, 이에 따른 사회적 비용이 요구됨.

(4) 이러한 백신은행은 긴급 백신 접종 프로그램 준비에서 매우 중요한 부분을 차지함. H5 백신을 포함한 백신은행을 가지고 있는 국가는 모두 10개국이며, 그 중 3개국은 H5와 H7 모두를 백신 은행에 보유하고 있음. 백신의 양은 subtype별로 50만에서 5천5백만 dose로 다양하지만 대부분 국가들은 subtype별로 평균 350만 dose 정도를 보유하고 있는 것으로 조사됨.

(5) 국내에 유입된 5회의 HPAI 바이러스가 매번 다른 유전적 clade에 속하고, 교차면역원성이 부족할 정도로 변이가 많은 것이었다는 사실을 가정하면, 미래에 유입될 바이러스의 예측은 거의 불가능하므로 확보해 둔 긴급 백신용 stockpile은 주기적으로 폐기될 가능성이 매우 높음. 이에 따른 국가적 비용을 감수해야함. 백신은행을 보유하고 있는 대부분 국가들은 정부 주도의 백신 은행을 유지하는 것은 너무 큰 비용이 소요된다고 결론지음.

나. 비상용 HPAI 백신 효능 및 안전성 조기 평가와 초단기 허가 제도 (fast-track registration)의 구비

(1) 통제할 수 없을 정도로 HPAI가 확산되었을 경우에 대비한 백신의 긴급 개발과 사용을 위해서는 백신의 효능과 안전성 평가를 위한 조기 검정 시스템이 구축되어야 하며, 제조 백신에 대한 긴급 허가 제도도 구비되어야 함. 통상적 평가 시스템과 허가 제도를 긴급 백신 사용에 적용할 경우, 장기간이 소요되어 실기할 위험성이 매우 높음. 따라서 백신 접종 정책을 결정하는 전후의 수주 이내에 효과적인 백신의 개발과 허가가 될 수 있는 별도의 긴급 검정 시스템을 마련해 두는 것이 안전함.

3절. HPAI 백신 접종을 통한 교훈

1. OFFLU와 FAO, OIE이 주관하는 동물 인플루엔자 전문가들의 연합 네트워크는 2013년 12월 중국 베이징에서 HPAI 백신에 대한 기술 회의를 개최함. 그 동안의 세계 각국의 발생경험과 백신사용 득실에 대한 평가를 바탕으로 2007년 이탈리아 베로나에서 개최된 권고사항을 수정, 보완하는 작업이 진행됨. 특히, 중국, 이집트, 베트남, 인도네시아와 멕시코 등의 많은 국가에서 실제로 야외에서 HPAI 백신을 사용한 경험과 장단점, 고려사항 등에 대한 많은 경험을 제시하였고, 이들 국가의 대표들과 FAO와 OIE, WHO의 참가자들은 함께 모여서 경험을 공유하고, HPAI에 대한 백신접종의 지역적, 국가적인 수준을 높이기 위해 토론하였음.
2. 2013년 현재 HPAI H5N1은 7개 국가에서 유행하고 있고, 이 중 4개 국가 (중국, 인도네시아, 이집트, 베트남)는 상재화 된 이후 피해 최소화 수단으로서 백신 접종을 실시한 이후 아직도 백신 접종을 하고 있음. 현재까지의 결과로 보면, 철저한 살처분 박멸 정책을 병행한 홍콩의 사례 외에 어떠한 국가도 백신 정책으로 HPAI H5N1을 박멸하지는 못했음.
3. 하지만 HPAI가 상재화 된 국가에서는 백신 접종의 목표가 질병 박멸이 아니기 때문에 HPAI 근절 여부만으로 백신 접종 효과를 평가할 수는 없음. 질병의 근절을 목적으로 백신을 실시한 국가로는 프랑스, 네덜란드, 이스라엘, 코트디부아르, 러시아가 있지만, 상재화 단계의 예방접종이 아닌 초기 단계의 비상조치로서 특정 구역에 대한 제한적 예방접종이나 방역대를 중심으로 한 ring vaccination을 실시하였고, 백신 접종 정책 외에도 감염 지역에 대한 철저한 이동 통제와 살처분 박멸 정책을 병행하였기 때문에 성공 가능성이 높았다고 할 수 있음.
4. 일부 HPAI 상재국에서는 대량 백신접종 정책을 시행해 왔으나 장기간 적용하기에는 너무 재정적인 부담이 컸기 때문에 특정한 대상을 목표로 소규모, 국지적 백신 접종으로 정책을 수정함. 즉, 집단 예방접종에서 특정 목표를 타겟으로 한 예방접종으로 백신 접종 정책을 전환하는 시점에 있으며, 베트남, 이집트, 인도네시아, 중국에서도 위험 농장에 대한 타겟 접종으로 백신 정책으로 바꾸고 있는 중임.
5. HPAI가 토착화되어 끊임없이 발생하거나 인근 발생국가로부터 지속적으로 유입되는 위험성을 안고 있는 동남아시아 국가에서는 향후 잠정적으로 백신 사용을 허가하는 것도 한 방편으로 제시됨. 또한 HPAI 바이러스 유행주에 맞는 새로운 백신의 선택과 사용은 조류인플루엔자의 확산을 막고 통제하는데 필수적이지만 국제 시장에서 지속적으로 이용

가능한 백신을 만드는 것은 많은 난제에 봉착해 있는 것이 현실임.

6. 결과적으로, 백신 사용의 공과와 득실은 다음과 같이 정리되어 권고사항으로 제시됨.

가. HPAI를 통제하기 위한 도구로서의 백신접종의 긍정적인 면과 부정적인 면을 고려할 것
나. 재정적인 자원과 인적 자원의 필요성과 확보 역량이 검토되어야 함.

다. 국제적으로 지역적인 수준의 수의학적 서비스를 강화할 필요성과 OIE에 AI 보고의무에
따를 필요성

라. 백신 접종 캠페인을 위해 필요한 정책적인 약속과 이에 대한 이행의 중요성

마. 국가나 지역에서 백신 접종 정책을 시행하기 전에 백신 전략의 목적을 구체적으로
정의할 필요성과 중요성

바. 필요 시 백신 접종 전략을 주기적으로 평가하고, 탄력적으로 수정 적용할 수 있는
유연성에 대한 중요성.

7. 이와 함께, 백신접종 시의 출구전략 수립의 중요성도 매우 중요한 사항 중의 하나로 논의
됨.

8. 민간과 공공 부문 사이의 협력 또한 매우 중요한 포인트 중의 하나인데 공공 부문은
백신의 등록 사용과 효과적인 백신 정책을 결정하고 시행하는 책임을 지고 있음. 이것은
두 파트간에 열린 마음으로 접근하여야 가능한 일이라 할 수 있음. 특히 긴급 비상사태용
백신은 통상적인 방법이 아닌 조속한 등록체계를 가지고 있어야만 긴급사태 발생 시
사용이 가능해 지므로 이 부분에 대한 사전 논의와 협력도 강조되어야 함.

4절. 백신접종 출구 전략

1. 국내에서의 구체적 백신 접종 후 장기간에 걸친 전국적 만연과 상재화 사례에서 보듯이
백신 접종 후 출구전략의 중요성은 아무리 강조해도 모자란다고 할 수 있음. 적합한
출구전략이 없다면 백신 접종은 전략의 부재를 뜻하는 것이고, 결과적으로 백신 접종 후
농가의 차단 방역 인식 해이, 자율 방역 및 신고 의식의 결여 등으로 연결될 수밖에
없으며, 이것은 국가 방역이나 산업 진흥의 측면에서는 심대한 손실을 초래하는 결과로
이어질 수 있음.

2. 백신 접종 후의 효능에 대한 지속적 평가, 야외주의 변이와 이에 항원적으로 부합되는
새로운 백신의 개발과 적용, 발생 최소화 이후의 근절정책 수립과 이행, 관련 농가 및
관련단체 (stakeholder)의 설득 등의 백신접종 출구 전략이 구체적으로 짜여 있어야만
하고, 이에 대한 방역당국의 이행의지가 수반되어야만 함.

3장. 연구개발 범위

1절. 주관연구기관

1. 개발 목표

- 가. 비상 시 대비 국내 고병원성 AI 백신주의 선택
- 나. 국내 고병원성 AI 백신주의 실험실 효능 비교
- 다. 국내 고병원성 AI 백신 접종 적용체계 구축을 위한 주요 요소 설정 및 가중치 설정
- 라. 자금 종류별 백신 프로그램 최적화
- 마. 비축용 HPAI 백신 뱅크 타당성 조사와 비축용 백신 뱅크 구축방안 확립
- 바. 백신접종 의사결정 구조 개발 및 HPAI 백신접종 후 출구전략 개발

2. 개발 내용 및 범위

- 가. 백신주에 이용할 후보 바이러스 선정 및 고면역, 고증식의 안전한 후보주 재 작출
 - (1) 최근의 백신과 백신접종의 국지적 실패 요인으로 항원적으로 부적절한 백신주를 사용한 오류도 지적되고 있음. H5N1 HPAI 바이러스가 야외에서 전 세계적으로 끊임없이 순환하고 있기 때문에 그만큼 돌연변이의 가능성이 높아졌고, 결과적으로 항원성 면에서 백신주가 야외주를 충분히 방어할 수 없을 정도로 변이가 지속되고 있어 기존의 백신에 의한 방어면역 획득률이 낮아지게 됨. 따라서 질병 방어 효과 및 바이러스 배출 억제 효과가 매우 낮게 나타날 뿐만 아니라 야외바이러스의 돌연변이를 유발할 수 있음.
 - (2) 세계적 추세와 마찬가지로 국내에도 매년 다른 항원성을 가진 변이주 (clade)가 유입되고 있음. 이에 따라 지속적인 예찰과 모니터링을 통해 국내에 유입될 가능성이 높은 조류인플루엔자 바이러스에 대한 예측을 통한 백신주 선정이 매우 중요함.
 - (3) 국내에 유입된 5회의 HPAI 바이러스가 매년 다른 유전적 clade에 속하고, 교차면역원성이 부족할 정도로 변이가 많은 것이었다는 사실을 가정하면, 미래에 유입될 바이러스에 대한 예측이 매우 어려우며, 이 경우 유행 예측에 의하여 확보해둔 긴급백신용 stockpile은 주기적으로 폐기될 가능성이 매우 높음. 따라서 확보된 백신 stockpile 외의 현 유행주를 이용한 긴급 역유전학 백신 제조 방법 개발이 필요함.
 - (4) 국내에서 분리된 HPAI 바이러스의 유행형의 clade에 대응하는 HA subtype 유전자를 지닌 백신주를 선정하고, 실험실에서의 효능 평가와 안전성 평가를 통해 높은 효과를 보이는 백신주들을 선별함. 또한, 주변국에서 유행 중인 HPAI 바이러스의 경우 국내로 유입될 가능성이 높기 때문에 해당 HPAI 바이러스의 유전자를 이용한 백신주의 효능을 평가함.
 - (5) 최근의 HPAI 바이러스 유행형의 clade에 대응하는 HA subtype 유전자를 지닌 백신 후보주 선발 (예시)

백신후보주	HA	NA	PB2	PB1	PA	NP	M	NS
rPR8-HN03	clade 2.5 H5/ASGR	N1/03	PR8	PR8	PR8	PR8	PR8	PR8
rPR8-HN05	clade 2.2 H5/ASGR	N1/05	PR8	PR8	PR8	PR8	PR8	PR8
rPR8-HN08	clade 2.3.2 H5/ASGR	N1/08	PR8	PR8	PR8	PR8	PR8	PR8
rPR8-HN11	clade 2.3.2.1 H5/ASGR	N1/11	PR8	PR8	PR8	PR8	PR8	PR8
rPR8-HN14	clade 2.3.4.4 H5/ASGR	N8/14	PR8	PR8	PR8	PR8	PR8	PR8

나. 고면역원성, 고생산성의 특성을 가지면서, 안전성이 확보된 백신주의 개발 및 선정

- (1) 현재 중국에서 사용하는 Re-1, Re-4, Re-5, 그리고 Re-6 등 대부분의 상용화된 고병원성 인플루엔자 바이러스 백신의 경우 내부 유전자에 대한 고려 없이 PR8 (H1N1) 바이러스를 사용하고 있음.
- (2) 선행 연구 결과 기존의 방식대로 재조합 백신의 backbone 바이러스로 PR8 바이러스를 온전히 사용하는 것은 백신의 효과를 반감시키며, 항원성이 다른 바이러스가 출현하였을 때 효과적으로 방어할 수 없을 것으로 예측됨. 따라서 증식성 및 병원성 여부에 대한 확인이 진행된 후, 내부 유전자 역시 조류 인플루엔자 바이러스의 유전자로 일부 치환하는 작업을 통하여 체액성 면역뿐 아니라 숙주 감염 정도에 큰 영향을 미치는 세포성 면역에도 효과적으로 유도하는 백신이 생산 가능할 것으로 생각됨.
- (3) A/Hong Kong/156/1997 (HK156; HPAI H5N1) 바이러스와 내부 유전자에서 98% 정도의 유사성을 가지는 A/Quail/Hong Kong/G1/1997 (QHKG1; H9N2)을 마우스에 접종한 후 HK156을 공격접종 하였을 때 마우스 폐사를 완벽히 방어하는 것으로 나타남 (O'Neill et al., 2000). 이를 통해 볼 때 내부 유전자의 유사성이 고병원성 인플루엔자 바이러스 방어에 중요하게 작용함을 확인할 수 있음 .
- (4) 또한 본 과제의 연구자들은 선행 연구를 통해 동일한 내부 유전자를 보유하고 있을 때 같은 아형의 인플루엔자 바이러스에 대해 더 높은 방어능을 기대할 수 있음을 확인하였음. 내부 유전자를 HPAI 바이러스와 유사한 유전자를 포함한 백신주의 효능이 더 높을 것으로 예측되므로, 조류 유래의 내부 유전자를 가지는 백신 후보주를 선정함.
- (5) 선행연구 결과, 국내에서 분리된 저병원성 조류 인플루엔자 A/chicken/Korea/01301/2001 (H9N2; 이하 01310) 바이러스와 국내분리주 0028의 polymerase 유전자를 가지는 재조합 백신의 경우 계태아에서의 증식성을 유지 혹은 증가시키고, 포유류에서의 병원성은 감소시키는 것으로 확인함. 0028의 NS 유전자 역시 증식성의 변화 없이 포유류에서의 병원성을 감소시키는 것으로 확인됨.

- (6) 인플루엔자의 주된 항원성을 나타내는 HA 유전자 중, 비교적 보존된 구조를 가지는 HA2 단백질의 stalk region에 대한 면역원성을 높이기 위해 항원 결정기 부위의 항체 결합을 방해하는 stalk region 특정 부위의 N-glycosylation site를 제거함으로써 백신 바이러스의 교차 방어 효과를 유도함 (Ekiert et al., 2009; optional).
- (7) 바이러스 표면 단백질 대부분을 차지하는 HA, NA 단백질 중 NA 단백질의 stalk region에는 다수의 N-glycosylation site가 존재하며 이는 HA stalk region에 결합하는 항체의 접근성을 제한할 것으로 예상됨. 그리하여 NA 단백질 stalk region의 N-glycosylation site를 제거한 NA 유전자를 확보함 (optional).
- (8) M2 extracellular domain (M2e) 단백질은 인플루엔자 바이러스 표면에 존재하며 이온 채널의 기능을 함. M2e 단백질은 거의 모든 인플루엔자 바이러스에서 비슷한 구조를 가지며 HA, NA 단백질 같은 면역 우성 (immunodominant) 단백질은 아니지만 숙주의 체액성 면역을 이끌어낼 수 있음이 알려져 있음 (Neirynck et al., 1999). M2e domain의 말단 부위에 존재하는 N-glycosylation site는 HA 단백질의 stalk region에서와 마찬가지로 항체의 접근성을 제한할 것으로 예상됨에 따라 N-glycosylation site를 제거함으로써 M2e에 대한 더 높은 체액성 면역 유도과 함께 백신 바이러스의 교차 방어 효과를 유도함. 또한, M2e 부분을 포유류 유래가 아닌 조류 유래의 M2e (clade, 2.3.2, clade, 2.3.4.4 유래의 M2e)로 치환하여 조류에서의 면역원성을 높인 유전자를 확보함.
- (9) 역유전학 기법을 이용하여 NA 유전자 및 상기의 내부유전자 재조합을 통하여 고면역원성, 고생산성의 특성을 가지면서, 안전성이 확보된 백신주를 작출하여 선정함.
- (10) 고면역원성, 고생산성, 안전성 확보 백신 후보주 개발 (예시)

백신후보주	HA	NA	PB2	PB1	PA	NP	M	NS
rGM-03	clade 2.5 H5/ASGR/Ng	N1/03/Ng	01310	PR8	PR8	PR8	M2e/Av/Ng	0028
rGM-05	clade 2.2 H5/ASGR/Ng	N1/05/Ng	01310	PR8	PR8	PR8	M2e/Av/Ng	0028
rGM-08	clade 2.3.1 H5/ASGR/Ng	N1/08/Ng	01301	PR8	PR8	PR8	M2e/Av/Ng	0028
rGM-11	clade 2.3.1 H5/ASGR/Ng	N1/11/Ng	01310	PR8	PR8	PR8	M2e/Av/Ng	0028
rGM-14	clade 2.3.4.4 H5/ASGR/Ng	N8/14/Ng	01301	PR8	PR8	PR8	M2e/Av/Ng	0028

다. 야외 감염 바이러스와 항체 감별이 가능한 백신 (DIVA) 후보주 선정

- (1) 현재 백신접종을 하는 상재국에서도 전국적 백신접종 정책을 수정하여 위험성이 높은 특정 목표 또는 지역을 한정하여 집중적으로 백신접종을 하는 targeting vaccination

정책으로 변화하는 추세에 있음. 이 경우, 백신접종측과 감염측에 대한 확실한 감별 백신과 진단체계 (DIVA)를 갖추고 있지 않으면 오히려 혼란을 초래할 수 있음. 이에 대비하여 야외주과 감별 가능한 백신 후보주가 필요함.

(2) 백신항체와 감염항체를 구별하기 위한 DIVA 시스템은 크게 4가지 전략으로 분류할 수 있음.

(가) 백신 하지 않은 닭을 보초계 (sentinel)로 계사에서 합사하면서 항체검사

(나) HA 서브유닛 백신 (또는 HA 발현 벡터백신)을 접종하고 HA 이외의 내부단백질에 대한 항체유무를 조사

(다) HA 아형은 같으나 NA 아형은 야외주와 다른 아형을 갖는 백신을 접종하여 야외주 NA 아형 항체를 검출

(라) 백신 바이러스에는 포함되지 않아 항원성이 없으면서도 감염 세포에서 다량으로 발현되는 NS1 단백질에 대한 항체를 검출

(3) 이러한 전략들 중 최근에 가장 활발하게 연구되고 있는 것은 세 번째 전략으로 국가마다 백신주와 야외 바이러스의 NA 아형에 따라 적합한 조합을 선정하여 DIVA 시스템을 구축하고 있음.

(4) 국내에서는 H9N2 저병원성 조류인플루엔자에 대한 사독 오일백신을 광범위하게 접종하고 있는데 H5N1 및 H5N8형 HPAI 바이러스의 야외 감염을 검출하기 위한 DIVA 시스템을 적용하는 경우 백신주의 NA 아형은 NA1과 NA8 이외의 것으로 바꾸어야 함. 농림축산검역본부 조류질병과 인플루엔자연구실에서 개발한 국내 H9N2 사독백신주인 01310의 NA2는 바이러스의 증식성과 면역원성 향상과 관련된 중요 돌연변이가 밝혀져 H5N2 DIVA 백신 개발 시 유용하게 활용할 수 있음. 본 과제 연구자들은 선행연구를 통해 재조합 H5N2 DIVA 백신이 H5N8형 HPAi에 대한 폐사를 막고 바이러스의 배출을 억제하는 것을 확인함.

(5) 유사시 H9N2 백신을 접종한 가금에 H5N2 백신을 접종하는 경우 이미 존재하는 NA2에 대한 항체에 의해 H5N2 백신의 면역원성이 저하될 수 있는 가능성이 있어 이에 대한 평가가 필요하며 상당한 면역원성 저하가 인정되는 경우 NA1과 NA2가 아닌 제 3의 NA 아형을 결정하여 백신주를 제작해야 함.

(6) DIVA 백신 선정 시에 상기 NA 유전자 및 내부 유전자 재조합 전략을 적용한 백신 후보주를 제작, 선정함.

(7) 고면역원성, 고생산성, 안전성 확보하고 감별이 가능한 백신 후보주 개발 (예시)

백신후보주	HA	NA	PB2	PB1	PA	NP	M	NS
rGM-N2/03	clade 2.5 H5/ASGR/Ng	01310	01310	PR8	PR8	PR8	M2e/Av/Ng	0028
rGM-N2/05	clade 2.2 H5/ASGR/Ng	01310	01310	PR8	PR8	PR8	M2e/Av/Ng	0028
rGM-N2/08	clade 2.3.1 H5/ASGR/Ng	01310	01301	PR8	PR8	PR8	M2e/Av/Ng	0028
rGM-N2/11	clade 2.3.1 H5/ASGR/Ng	01310	01310	PR8	PR8	PR8	M2e/Av/Ng	0028
rGM-N2/14	clade 2.3.4.4 H5/ASGR/Ng	01310	01301	PR8	PR8	PR8	M2e/Av/Ng	0028

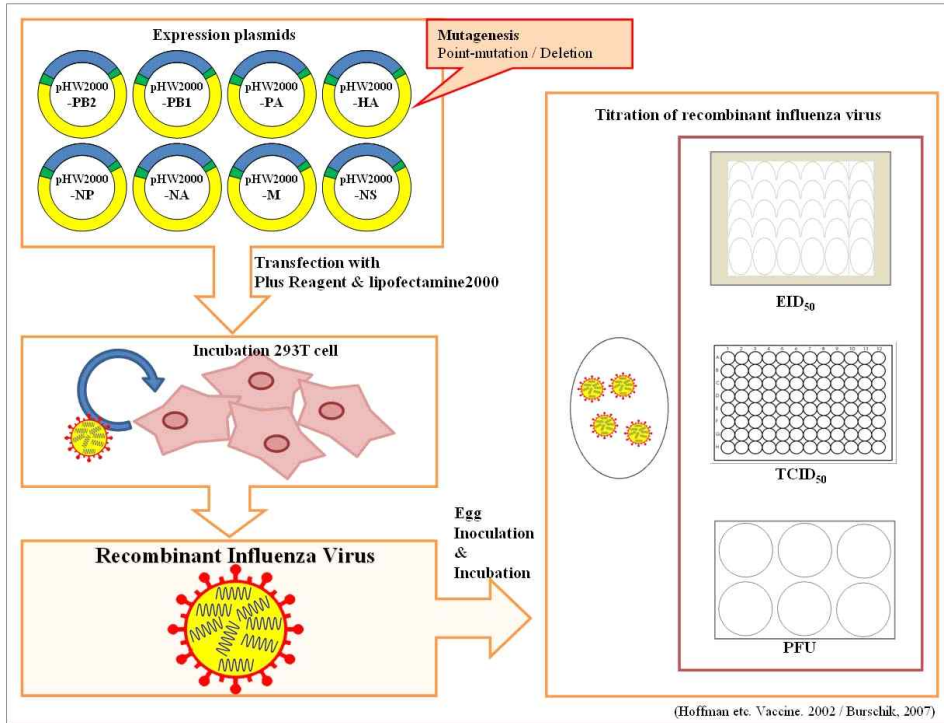
라. 백신 후보주 특성 평가

(1) 선정된 백신 후보주의 증식성, 계태아에서의 병원성 등의 특성을 비교 평가함.

마. 백신 후보주의 증식성 평가

(1) 재조합 바이러스들의 계태아에서의 증식역가 (50% embryo infection dose, EID₅₀/ml)를 측정하기 위하여, 각각의 재조합 바이러스들을 인산완충용액 (PBS)으로 10⁻¹ ~ 10⁻¹⁰까지 10진 희석하여 각 희석 배수 별로 10-11일령의 SPF 발육란 5개에 요막강 경로로 100μl씩 접종하여 72시간 배양한 후, 요막액을 수확하여 닭의 적혈구로 혈구응집여부를 확인하여 바이러스 역가 (EID₅₀/ml)를 측정 함.

(2) 재조합 바이러스들의 세포에서의 증식역가 (50% tissue culture infection dose, TCID₅₀/ml)를 측정하기 위하여, 각각의 재조합 바이러스들을 PBS으로 10⁻¹ ~ 10⁻¹²까지 10진 희석하여 각 희석 배수 별로 CEK 및 MDCK에 100μl씩 접종하여 72시간 배양한 후, 요막액을 수확하여 닭의 적혈구로 혈구응집여부를 확인하여 바이러스 역가 (TCID₅₀/ml)를 측정 함.



바. 가금 종류별 백신 프로그램 최적화

(1) 기존 연구결과를 바탕으로 가금 종류별 백신 프로그램을 최적화함

(가) 백신 접종 경로: 접종 경로에 따른 백신 효능 비교

실험동물	백신조성	접종경로	항체역가 (log ₂)			
			접종 전	7일	14일	21일
SPF 닭 (3주령)	ISA70 3:7	근육	-	-	-	-
오리 (3주령)	ISA70 3:7	근육	-	-	-	-
토종닭 (3주령)	ISA70 3:7	근육	-	-	-	-
		피하	-	-	-	-

(나) 백신 조성: Whole inactivated vaccine 또는 adjuvant 이용 백신, 백신:오일 비율 최적화

실험동물	접종경로	백신조성	항체역가 (log ₂)			
			접종 전	7일	14일	21일
SPF 닭 (3주령)	최적	WIV 3:7	-	-	-	-
오리 (3주령)	최적	WIV 3:7	-	-	-	-
토종닭 (3주령)	최적	WIV 3:7	-	-	-	-

(다) 백신 용량: 백신 및 항원량에 따른 백신 효능 비교 (Optional)

실험동물	접종경로	백신조성	접종용량	항체역가 (log ₂)			
				접종 전	7일	14일	21일
SPF 닭 (3주령)	최적	최적	0.5ml	-	-	-	-
			1ml	-	-	-	-
오리 (3주령)	최적	최적	0.5ml	-	-	-	-
			1ml	-	-	-	-
토종닭 (3주령)	최적	최적	0.5ml	-	-	-	-
			1ml	-	-	-	-

(라) 백신 접종 일령: 가금 종류에 따른 접종 일령 최적화

(마) 백신 횟수: 백신 접종 횟수 (단일 접종과 2회 이상 접종)에 따른 백신 효능 비교

실험동물	접종경로	백신조성	백신용량	백신일령	항체역가 (log ₂)			
					접종 전	7일	14일	21일
SPF 닭	최적	최적	최적	1일령/2주령	-	-	-	-
				1일령	-	-	-	-
				3주령	-	-	-	-
오리	최적	최적	최적	1일령/2주령	-	-	-	-
				1일령	-	-	-	-
				3주령	-	-	-	-
토종닭	최적	최적	최적	1일령/2주령	-	-	-	-
				1일령	-	-	-	-
				3주령	-	-	-	-

(바) 각각의 조건에 따른 항체형성 역가를 측정하여 최적의 프로그램 제안

(2) 제안된 프로그램을 사용하여 위탁연구과제에서 고병원성에 대한 방어능을 평가하여 가금 종류별 (산란계, 육계, 토종계, 오리 등) 백신 프로그램을 실증한 후 최적의 방안을 제시함.

사. HPAI 백신접종 의사결정구조 설정을 위한 주요 요소 설정 및 가중치 부여

(1) 백신접종 정책을 채택하여 시행할 경우 절대적으로 이를 위한 전제조건이 충족되어야함. 현재 상황에 적합한 종합적 방제프로그램의 일환으로서만 적용하여야 하며, 다음과 같은 질병 방제를 위한 요인이 고려되어야만 성공적인 성과를 기대할 수 있음.

(2) 이 기본축이 가동되지 않는 상태에서 백신접종만을 시행한다면 근절은커녕 백신접종을 하였다는 방심에서 비롯된 방역인식의 와해와 함께 전국적 만연을 초래하는 역작용을

초래할 우려가 있음. 게다가, 야외 바이러스의 변이를 촉진하여 동물과 인체에 해로운 HPAI 바이러스 변이형의 출현을 촉진하는 위험한 환경을 조성해 주는 치명적 오류를 범할 수 있음. 특히 백신접종 후 야외바이러스 변이에 대한 감시체계는 백신의 효과를 평가하는데 결정적으로 작용하며, 이 결과에 따라 백신주의 선택이 탄력적으로 변경될 수 있어야 함. 이와 함께 감염농장의 신속한 살처분 정책은 이 바이러스의 전파와 감염 확산을 차단하기 위한 필수적인 조치임.

(3) 기술적 요인

- (가) 이동통제 및 격리의 신속성과 완벽성: 감염 또는 감염 의심축의 인도적 살처분 및 사체의 안전한 처리와 소독, 이동통제 등의 철저한 사후관리가 필요함
- (나) 사육밀도: 감염 위험을 최소화하기 위하여 가금 사육형태는 물론 가금의 수송체계 및 운반차량에 대한 개선, 방역에 부적절한 시장 형태의 변화를 함께 도모하여야 함.
- (다) 야생 물새류와 방사 가금류, 재래시장 판매 조류의 감염 정도: 가금 사육 현장이나 소규모 방사 가든형 식당은 물론 살아있는 닭이나 오리 등 생 조류를 판매하는 재래시장 (live bird market, LBM)과 여기에 동물을 공급하는 중개상인에 대한 감염실태 조사와 조치 및 조기진단 체계의 적용이 조기 검색과 확산 방지에 매우 중요함.
- (라) 주요 유전자원의 인접성
- (마) 비가축 동물에 대한 감염 및 전파 위험성
- (바) 살처분, 방역 등 조기근절 정책에 필요한 인력 확보 용이성
- (사) 가금류에서 기인되는 인체 감염 위험성과 그 정도: 국가방역이 실패한 HPAI 상재국에서 가금류에 대한 백신접종 또는 백신을 접종한 가금산물이 HPAI 인체 감염에 부정적 영향을 미친다는 증거는 없음. 국가방역체계가 성공적으로 작동되지 않거나 통제되지 않은 상황에서는 HPAI 만연으로 인한 인체 감염 가능성이 증가한다는 사실에 견주어 보면, 백신접종으로 인한 질병 감소와 감염계의 바이러스 배출량 감소는 오히려 공중보건에 유리한 조건을 조성함.
- (아) 백신접종 타당성: 조기근절 성공 가능성, 조기근절에 실패하였을 경우에 예상되는 경제적 손실, 백신접종과 사후관리비용 등 비교

(4) 정치 사회적 요인

- (가) 국제교역에 대한 영향
- (나) 인접국가에 대한 확산 가능성
- (다) 축산물 안전성 및 동물복지와 관련된 사회정치적 요인: 백신접종축은 감염되어도 증상이 없거나 약하므로 축주는 이를 인지하지 어려움 (silent infection). 따라서, 축주의 무지 또는 고의적 미신고로 무방비 상태에서 바이러스에 오염된 가금산물이 시중에 유통될 위험성이 있음. 오염된 가금산물이 소비자의 가정 또는 도마에까지 침투한다면 인체 감염 차단에 대한 위험요인이 될 수밖에 없고, 이에 극도로 민감한 국내 소비자의 성향으로 보아 관련 산업이 손실을 초래할 우려가 있음.
- (라) 관련 산업에서의 수용 가능성: 백신접종 후에는 사육농가의 차단방역 의지가 해이해 지고, 감염되어도 증상이나 피해가 미약하여 신고의식마저 없어짐으로써 대국적으로는 국가방역에 큰 손실요인으로 작용할 수도 있음.

아. 야외주 또는 이에 상응하는 백신주를 이용한 긴급 백신 제조 및 수급 방안 수립

(1) 비상시 대비 긴급 백신주 제조방법 및 대량생산 방안

(가) 사전 예측이 매우 어려운 HPAI 바이러스 유행 특성상 확보된 백신 stockpile 외의 현 유행주를 이용한 긴급 역유전학 백신 제조 방법 개발: 초단기 백신주 제작 및 효능검증 기술

(2) 개발 백신주를 이용한 백신의 긴급 대량생산 및 초단기 안전성/효능 평가 방안

자. 비축용 HPAI 백신 뱅크 타당성 조사와 비축용 백신 뱅크 구축방안 확립

(1) HPAI 백신 뱅크 적합성 및 경제성 평가: antigen bank와 strain bank 비교

(2) 비축용 백신의 생산, 품질관리, 보존 및 운용 시스템 확립

(3) 비축용 백신의 조기 등록 및 조기생산 시스템 구축을 위한 기준 설정

차. 백신접종 의사결정 구조 개발

(1) 긴급 상황 발생 시 백신접종 정책 결정을 위한 decision tree 설정

(2) 국가별 백신접종 의사결정구조 비교 분석: 미국, 일본, EU, 호주 등

(3) 백신접종 정책 도입으로 발생 가능한 위험요소 설정 및 위험도 분석

(4) 백신 접종 목적을 위한 개념 구체화

(가) Protective vaccination (예방)

(나) Suppressive vaccination (확산 차단)

(다) Targetted vaccination (특정집단 보호)

(5) 백신접종 정책 결정에 필요한 주요 요인과 한국적 상황을 고려한 의사결정구조 설정

(6) 의사결정구조의 시뮬레이션과 이에 따른 구조의 수정

카. HPAI 발생단계별 백신 수급 및 운용 전략 (SOP) 설정

(1) 백신 긴급생산을 위한 백신 seed 선정 방안 수립 및 예상되는 유행주 (또는 clade)를 이용한 백신 stockpiling 방안과의 연계를 전제로 한 수급방안 설정

(2) 발생단계별 확산 위험요인 및 조기 근절 실패에 대비한 백신 수급 전략 수립

(3) 제조회사별 시설 및 백신생산 능력 분석: BSL-3 시설 및 기술인력 규모 등

(4) 기술적 완성도 향상을 위한 사전 제조기술 점검 및 교육 방안 수립

(5) 새로운 백신 seed 긴급 확보를 위한 기술적 접근방법 확립 및 예상되는 유행주를 이용한 백신 stockpile 구축방안과의 정책적 타당성 비교 분석: 국내 및 해외 유행 HPAI 바이러스 동향 및 유전형 분석체계 정립 등

파. 백신접종 후 사후관리 방안 수립

(1) HPAI 백신 접종에 따른 백신 접종군 또는 농장에 대한 이동 통제 등 사후 관리 방안

(2) 백신 접종 후 야외 감염과 백신 접종군을 감별할 수 있는 DIVA 프로그램 및 이를 위한 감별 백신주 개발 (또는 선정) 방법 제시

(3) 백신 접종 후 immune press에 의해 출현할 수 있는 변이주에 대하여 구체적 예찰 방법과 관리 방안 수립 등

하. 백신접종 출구전략 개발

- (1) 백신접종 정책 실시 후 사후관리 방안과 연계한 상황별 출구전략 개발이 필요하며, 백신접종 후 시행하여야 할 조기근절 정책 방안이 수립되어야 함.
- (2) 백신접종축 또는 농장에 대한 처리방안의 발생상황별 설정
- (3) 백신접종 종료를 위한 의사결정구조 설정
- (4) 백신접종 종료 후 HPAI 근절방안 확립 및 정책 제시
- (5) 관련 업종 및 단체 (stakeholder)와의 협력방안 구체화

2절. 위탁연구기관 (건국대학교)

1. 개발 목표

- 가. 비상 시 대비 국내 고병원성 AI 백신주의 면역원성 및 안전성 평가
- 나. 가금 종류별 백신 프로그램 실증

2. 개발 내용 및 범위

가. 국내 고병원성 AI 백신주의 안전성 평가

(1) 백신 후보주의 BALB/c 마우스 병원성 평가

(가) 백신 후보주를 10^4 (optional) 및 10^6 EID₅₀ 의 농도로 6주령 BALB/c 마우스 8수에 접종한 후 14일간 폐사 유무와 체중변화를 측정함. 백신 접종 3일 후 3수를 안락사 시켜 폐장 내 바이러스 역가 측정함.

(나) 백신 후보주의 마우스 폐장 증식성 비교

시험군	폐사율	마우스 폐장에서의 바이러스 재분리율	
		재분리율	재분리 바이러스 역가
백신후보주-1	-	-	-
백신후보주-2	-	-	-
백신후보주-3	-	-	-
백신후보주-4	-	-	-
백신후보주-5	-	-	-
백신후보주-6	-	-	-
양성대조군	-	-	-
음성대조군	-	-	-

나. 백신 후보주의 항원성 평가

- (1) 백신 후보주를 사용하여 사독오일 백신을 제조함. 제조된 백신을 SPF 닭, 오리에 각 5수씩 근육접종을 하고, 매주 채혈을 하여 항체역가를 측정함.

실험동물	백신조성 접종경로	백신시점	백신	HI 항체역가 (\log_2)							
				2주	3주	4주	5주	6주	7주	8주	
SPF 닭	3:7 근육	1일령	백신1	-	-	-	-	-	-	-	-
			백신2	-	-	-	-	-	-	-	-
SPF 닭	3:7 근육	3주령	백신1	-	-	-	-	-	-	-	-
			백신2	-	-	-	-	-	-	-	-
오리	3:7 근육	1일령	백신1	-	-	-	-	-	-	-	-
			백신2	-	-	-	-	-	-	-	-
오리	3:7 근육	3주령	백신1	-	-	-	-	-	-	-	-
			백신2	-	-	-	-	-	-	-	-

(2) 상기의 혈청을 사용하여 국내에서 분리된 다양한 고병원성 및 저병원성 H5N1 바이러스들과 교차 혈구응집억제법으로 항체 역가를 비교하고, 교차바이러스 중화시험을 계태아신장세포를 사용하여 실시함. 또한 국내에서 분리된 H1, H9 아형의 AIV에 대해 교차바이러스 중화시험을 계태아신장세포를 사용하여 실시함.

실험동물	백신조성 접종경로	백신시점	백신	중화항체역가 (\log_2)				
				H5N1 HPAI	H5N8 HPAI	H5 LPAI	H1	H9
SPF 닭	3:7 근육	1일령	백신1	-	-	-	-	-
			백신2	-	-	-	-	-
SPF 닭	3:7 근육	3주령	백신1	-	-	-	-	-
			백신2	-	-	-	-	-
오리	3:7 근육	1일령	백신1	-	-	-	-	-
			백신2	-	-	-	-	-
오리	3:7 근육	3주령	백신1	-	-	-	-	-
			백신2	-	-	-	-	-

다. 가금 종류별 백신 프로그램 실증

(1) 주관연구기관에서 최적화한 가금 종류별 백신 프로그램 실증함.

(가) 산란계, 육계, 토종닭, 오리 등 가금 종류별 최적화된 백신프로그램에 따라 백신을 접종함. 백신 접종 3주 후 고병원성 H5N1 및 H5N8 조류인플루엔자 바이러스를 접종하고 2주간 폐사 유무, 병원성, HPAI에 대한 방어능, 바이러스 배출 억제 능력 등을

평가함.

(나) 국내 H5N1 HPAIV 방어능/배출억제/전파억제효율 평가

시험군	백신 접종	공격접종		분비 바이러스 역가 (EID ₅₀ /sample)															
		바이 러스	폐사율	3일후			5일후			7일후									
				공격	접촉	OP	C	OP	C	OP	C								
						공격	접촉	공격	접촉	공격	접촉	공격	접촉						
백신후보1	+	H5N1																	
백신후보2	+	H5N1																	
백신후보3	+	H5N1																	
공격군	-	H5N1																	
음성대조군	-	-																	

(다) 국내 H5N8 HPAIV 방어능/배출억제/전파억제효율 평가

시험군	백신 접종	공격접종		분비 바이러스 역가 (EID ₅₀ /sample)															
		바이 러스	폐사율	3일후			5일후			7일후									
				공격	접촉	OP	C	OP	C	OP	C								
						공격	접촉	공격	접촉	공격	접촉	공격	접촉						
백신후보1	+	H5N8																	
백신후보2	+	H5N8																	
백신후보3	+	H5N8																	
공격군	-	H5N8																	
음성대조군	-	-																	

2. 국내외 기술개발 현황

코드번호

D-04

1장. 국내 기술 수준 및 시장 현황

1절. 기술현황

1. 저병원성 H9 바이러스 사독백신이 개발된 바 있고, 역유전학기술 (reverse genetics, RG)을 이용하여 PR8 6개 유전자와 국내에서 발생한 HA5, NA1의 표면항원유전자를 가지는 재조합 바이러스들이 백신주로 개발된 바 있음. 본 연구자들은 PR8 바이러스에 잔존하는 포유류 병원성 유전자 제거, HA, NA 조합에 따른 바이러스 증식성 저하문제 해소, HA2 공통 항원 결정기 (epitope)의 면역원성 향상을 위한 연구를 수행하여 새로운 H5N1, H5N2 및 H5N3 재조합 백신주 여러 종을 이미 개발하였음.
2. 백신뱅크 및 stockpling 등에 대한 정책적 조사 연구는 수행된 적이 없으며, 살처분 근절정책 사용이 불가능한 유사시의 HPAI 백신접종 의사결정과 백신접종 후 접종축의 사후관리 및 장기적 근절정책 등 출구전략이 전혀 연구된 바가 없음.

2절. 시장현황

1. 국내 HPAI 백신 제품생산 및 시장형성 전무
2. 현재까지는 HPAI 발생 시 살처분 조기 근절 정책을 유지하고 있어 백신 사용은 금지되어 있기 때문에 HPAI 백신 시장은 없음.

3절. 경쟁기관현황

1. 국내 HPAI 백신에 대한 연구는 이루어지고 있으나, 제품생산 및 시장형성은 이루어지지 않음.
2. 여러 연구자에 의하여 RG 기술 및 VLP (virus-like particle)를 이용한 HPAI 백신주 제작 연구가 진행되고 있으나, 국가정책 상 백신 사용을 금지하고 있기 때문에 제품화가 아닌 연구 수준에 그치고 있음.

4절. 지식재산권현황

1. 국내 HPAI 백신 관련 지식재산권 전무

5절. 표준화현황

1. 국내 HPAI 백신 관련 표준화 및 백신접종 정책에 대한 표준화 전무

6절. 기타현황

2장. 국외 기술 수준 및 시장 현황

1절. 기술현황

1. 모든 HPAI 바이러스를 방어해 줄 수 있는 범용 백신 (universal vaccine) 개발에 대한 연구는 아직 초기단계에 불과하며, H5, H9 등 subtype 별로 생, 사백신 개발 연구가 진행되고 있음. H5N8 HPAI의 피해가 극심한 중국, 베트남, 인도네시아, 이집트 등의 국가에서는 이미 백신접종 정책을 실시하고 있는 실정임.
2. 선진국에서는 백신 접종 정책보다 살처분에 의한 조기 근절 정책을 채택하고 있으며, 백신은 비상용으로 확보하거나 비상사태에 대비한 백신 사용정책을 준비해 두고 있음. HPAI 백신은 주로 역유전학 기술에 의한 고병원성 H5형에 대한 백신이 개발되어 후진국 또는 개발도상국에 속하는 6개국에서 전국적 또는 제한적으로 사용되고 있으며, 벡터 백신도 개발되어 사용되고 있는 실정임.
3. 중국은 PR8 바이러스의 6개 내부 유전자 (internal gene: PB2, PB1, PA, NP, M, NS)와 유행하는 바이러스로부터 약독화시킨 HA (cleavage site의 -RRRKKR-을 -RETR-로 치환하여 약독화한 HA)와 NA 유전자를 갖는 재조합 바이러스를 역 유전학 (reverse genetics) 기술로 제작하여 사독백신을 사용하고 있음.
4. HA5와 NA1 공여 바이러스들은 발육란 증식성이 낮은 것이 큰 문제점으로 부각되어 왔으나, RG기법에 의한 재조합 바이러스들의 증식성은 상당히 개선된 것으로 알려져 있음. 이들 사독백신을 접종하는 경우 오랜 기간 혈구응집억제 항체가 지속되며 오리나 거위에 대한 효과도 좋은 것으로 알려져 있음.
5. 생독백신으로는 재조합 계두 벡터 백신과 뉴캐슬병 바이러스 벡터 백신이 개발되었으나 상기의 PR8 재조합 바이러스를 이용한 사독백신들이 지속적으로 많이 사용되고 있음.
6. 미국의 D. E. Swayne 박사팀이 계두 바이러스 (fowlpox virus)를 이용한 H5형 벡터백신을 개발하여 멕시코, 동남아시아 등에서 실용적으로 사용하였음.
7. 역유전학 기법을 이용한 불활화 백신 외에 가금류에서 상업용으로 등록되어 있는 생 바이러스 벡터를 이용한 주요 유전자재조합 생독백신은 다음과 같음.
 - 가. Trovac-AI H5 (fowlpox vector) Merial
 - 나. Volvac (fowlpox vector) Boehringer Ingelheim
 - 다. Fowlpox vector-AI H5 not used Harbin Institute China
 - 라. NDV-AI H5 Avimex
 - 마. NDV-AI H5 Harbin Institute China
 - 바. Vectormune HVT-AI CEVA

2절. 시장현황

1. 중국의 경우 2008년 120억 dose가 사용 되었는데 dose 당 가격을 알 수 없으나 오일백신임을 고려하여 수당 한화 50원을 가정하면 6,000억 원에 해당함
2. Re 백신은 중국에서 주로 사용되는 백신으로 전 세계 HPAI 백신 사용량의 90% 이상을 차지하는 백신임. Volvac 백신은 남미에서 주로 사용되는 백신으로 다국적 수의약품 제조회사인 베링거인겔하임 (Boehringer Ingelheim)의 제품임. 멕시코에서 생산되어 이용되고 있으며, 남미 지역 이외에 동남아시아에 수출되고 있음.

3절. 경쟁기관현황

4절. 지식재산권현황

1. 인플루엔자 바이러스의 생산을 위한 다중 플라스미드시스템에 대한 특허 등록 (2012년, 국내)

5절. 표준화현황

1. HPAI 백신 관련 표준화현황 없음

6절. 기타현황

3. 연구수행 내용 및 결과

코드번호

D-05

1장. 고병원성 인플루엔자 백신주의 선정

1절. HA와 NA 유전자의 선정

1. HA 유전자 선정 기준

가. 조류 인플루엔자 바이러스 (avian influenza virus; AIV)는 orthomyxoviridae 그룹에 속하는 RNA 바이러스로 그 중 A형 인플루엔자 바이러스 (influenza A virus; IAV)에 속함. 표면항원인 hemagglutinin (HA)와 neuraminidase (NA) 항원에 의해 subtype이 결정되며, 현재까지 총 18종의 H 항원과 11종의 NA 항원이 보고됨. 그 중 H17N10과 H18N11은 박쥐에서만 보고됨 (Rafael et al, 2011, and Suxiang et al, 2013).

나. 현재 AIV는 ‘닭’에서의 감염 시 병원성에 따라 저병원성 조류인플루엔자 (low pathogenic avian influenza; LPAI)와 고병원성 조류인플루엔자 (highly pathogenic avian influenza; HPAI)로 구분됨. 이 중 HPAI는 H5와 H7형의 바이러스 감염에 의해서만 발생함 (Swayne et al, 2000, 2007, and 2009). 국내에서는 2003년 이후 H5형의 HPAI 발생만 보고되었으며, H7형 HPAI에 대한 발생은 아직까지 확인되지 않음.

다. 세계적 추세와 마찬가지로 국내에도 2003년 처음 HPAI가 발생한 이후 매년 다른 항원성을 가진 변이주 (clade)가 유입되고 있음.

- (1) 2003년: clade 2.5 H5N1 HPAI
- (2) 2006년: clade 2.2 H5N1 HPAI
- (3) 2008년: clade 2.3.2 H5N1 HPAI
- (4) 2010 ~ 2011년: clade 2.3.2.1 H5N1 HPAI
- (5) 2014 ~ 2015년: clade 2.3.4.4 H5N8 HPAI
- (6) 2016 ~ 2017년: clade 2.3.4.4 H5N6 & H5N8 HPAI

라. 국내에서의 H5Nx 바이러스에 의한 지속적인 HPAI의 발생은 철새와 밀접한 관련이 있으며, 대부분의 바이러스는 중국, 동남아 국가에서 발생한 HPAI 바이러스와 유전적으로 유사함 (Lee et al, 2005, The Global Consortium for H5N8 and Related Influenza Viruses, 2016, Kwon et al, 2016, and Kang et al, 2017). 또한 중국에서는 AI 바이러스의 지속적인 진화와 재조합이 발생하여 새로운 AI 바이러스가 출현할 가능성이 높음 (Qi et al, 2014). 이에 따라 지속적인 예찰과 모니터링을 통해 국내에 유입될 가능성이 높은 조류 인플루엔자 바이러스에 대한 예측을 통한 백신주 선정이 매우 중요함.

마. 최근의 백신과 백신접종의 국지적 실패 요인으로 항원적으로 부적절한 백신주를 사용한 오류도 지적되고 있음. H5Nx HPAI 바이러스가 야외에서 전 세계적으로

끊임없이 순환하고 있기 때문에 그만큼 돌연변이의 가능성이 높아졌고, 결과적으로 항원성 면에서 백신주가 야외주를 충분히 방어할 수 없을 정도로 변이가 지속되고 있어 기존의 백신에 의한 방어면역 획득률이 낮아지게 됨. 따라서 질병 방어 효과 및 바이러스 배출 억제 효과가 매우 낮게 나타날 뿐만 아니라 야외바이러스의 돌연변이를 유발할 수 있음 (Lee CW, Senne DA, and Suarez DL 2004, Smith GJD, Fan XH, Wang J, et al 2006, Grund C, Adbelwhab ESM, Arafa AS, et al. 2011).

바. 따라서 국내에서 분리된 HPAI 바이러스의 유행형의 clade에 대응하는 HA subtype 유전자를 지닌 백신주를 후보주로 선정함으로써 위험성을 낮춘 백신주를 선발.

사. 최근의 HPAI 바이러스 유행형의 clade에 대응하는 HA subtype 유전자 선발

표 1. 한국에서 발생한 고병원성 인플루엔자 바이러스의 특성 분석

Year	Subtype	Clade
2003	H5N1	Clade 2.5 H5
2006	H5N1	Clade 2.2 H5
2008	H5N1	Clade 2.3.2 H5
2010	H5N1	Clade 2.3.2.1 H5
2014	H5N8	Clade 2.3.4.4 H5
2016	H5N6	Clade 2.3.4.4 H5
Next	H5Nx HPAIV	Homologous H5

아. 국내의 경우 주변국에서 유행 중인 HPAI 바이러스의 경우 국내로 유입될 가능성이 높기 때문에 지속적인 예찰과 모니터링을 통해 국내에 유입될 가능성이 높은 AIV에 대한 예측을 통하여 해당 HPAI 바이러스의 유전자를 이용한 백신주의 선정이 필요함. 이를 위해 유전자 분석을 통하여 변이를 예측하는 생물정보학 (bioinformatics)을 이용하는 방안 (Neher RA et al., 2014, Kim HK, Jeong DG, Yoon SW, 2017) 역시 사용할 수 있음.

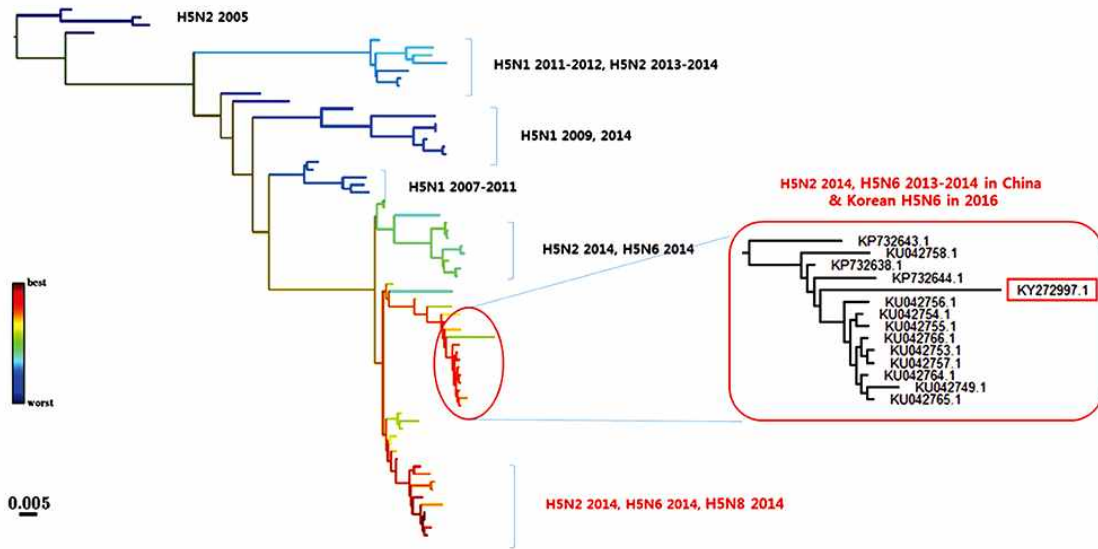


그림 1. 중국 고병원성 H5Nx 바이러스의 진화 예측도

2. NA 유전자의 선정 기준

가. 현재 백신접종을 하는 상재국에서도 전국적 백신접종 정책을 수정하여 위험성이 높은 특정 목표 또는 지역을 한정하여 집중적으로 백신접종을 하는 targeting vaccination 정책으로 변화하는 추세에 있음 (Capua I, Schmitz A, Jestin V, et al., 2009, Swayne DE, Pavade G, Hamilton K, et al. 2011) 이 경우, 백신접종축과 감염축에 대한 확실한 감별 백신과 진단체계 (DIVA)를 갖추고 있지 않으면 오히려 혼란을 초래할 수 있음. 이에 대비하여 야외주과 감별 가능한 백신 후보주가 필요함.

나. 백신항체와 감염항체를 구별하기 위한 DIVA 시스템은 4가지 전략으로 분류할 수 있음.

- (1) 백신 하지 않은 닭을 보초계 (sentinel)로 계사에서 합사하면서 항체검사 (Suarez et al, 2005, and 2012)
- (2) HA 서브유닛 백신 (또는 HA 발현 벡터백신)을 접종하고 HA 이외의 내부단백질에 대한 항체유무를 조사 (Kim SH, Paldurai A, Xiao S *et al*, 2014, Lee DH, Park JK, Lee YN *et al*, 2011, Li Y, Reddy K, Reid SM *et al*, 2011, Lozano-Dubernard B, Soto-Priante E, Sarfati-Mizrahi D *et al*, 2010, Li C, Ping J, Jing B *et al*, 2008, Ge J, Deng G, Wen Z *et al*, 2007, Bublot M, Pritchard N, Swayne DE *et al*, 2006, Veits J, Wiesner D, Fuchs W *et al*, 2006, Veits J, Luschow D, Kindermann K *et al*, 2003, Swayne DE, Beck JR, Perdue ML *et al*, 2001 and Swayne DE, Garcia M, Beck JR *et al*, 2000)
- (3) HA 아형은 같으나 NA 아형은 야외주와 다른 아형을 갖는 백신을 접종하여 야외주 NA 아형 항체를 검출 (Wang L, Qin Z, Pantin-Jackwood M *et al*, 2011, Avellaneda G, Sylte MJ, Lee CW *et al*, 2010, Kwon JS, Kim MC, Jeong OM *et al*, 2009.

Cattoli G, Milani A, Bettini F et al, 2006, Cattoli G, Terregino C, Brasola V et al, 2003 and Capua I, Terregino C, Cattoli G et al, 2002)

(4) 백신 바이러스에는 포함되지 않아 항원성이 없으면서도 감염 세포에서 다량으로 발현되는 NS1 단백질에 대한 항체를 검출

(다) 이러한 전략들 중 최근에 가장 활발하게 연구되고 있는 것은 세 번째 전략으로 국가마다 백신주와 야외 바이러스의 NA 아형에 따라 적합한 조합을 선정하여 DIVA 시스템을 구축하고 있음.

(라) 그러나 인플루엔자 치료제에 대한 치료 효능에서 알 수 있듯이 NA의 방어효능은 무시할 수 없으며 보다 나은 백신효능을 기대한다면 야외주와 동일한 조합의 HA와 NA 단백질을 사용하는 것이 상책임 (Swayne DE, Garcia M, Beck JR, et al, 2000, Lee CW, and Suarez DL 2005). 이 경우 HA와 NA가 아닌 다른 유전자를 이용하는 새로운 DIVA 시스템 적용이 필요함 (Takeyama N, Minari K, Kajihara M, et al, 2011, Wang L, Qin Z, Pantin-Jackwood M, et al, 2011, Hemmatzadeh F, Sumarningsih S, Tarigan S, et al. 2013, Hadifar F, Ignjatovic J, Tarigan S, et a, 2014, Tarigan S, Indriani R, Durr PA, et al, 2015).

표 2. 백신 후보주 선정을 위한 NA 유전자 선발

Year	Virus	NA gene
2003	2003 H5N1	NA1
2006	2006 H5N1	NA1
2008	2008 H5N1	NA1
2010	2010 H5N1	NA1
2014	2014 H5N8	NA8
2016	2016 H5N6	NA6
2001	01310 H9N2	NA2
Next	New H5Nx HPAI	Homologous NA subtype

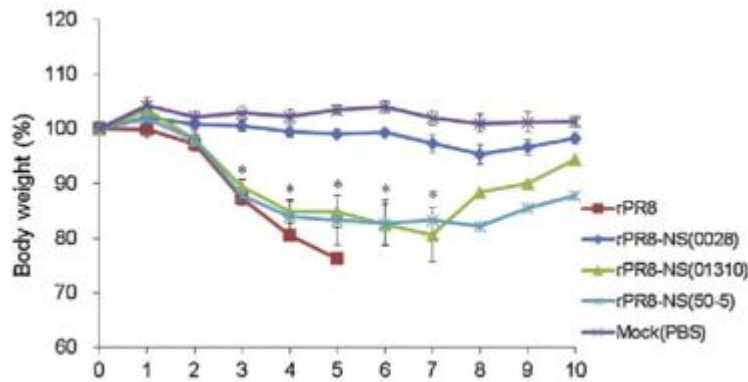
2절. 내부 유전자의 선정

1. NS 유전자

- NS 유전자는 인플루엔자 바이러스의 8번째 segment를 이루는 유전자로 NS1 단백질과 NEP 단백질을 만들어내는 인플루엔자 바이러스의 주요 내부 유전자임 (Lamb and Lai , 1980, O'Neill et al., 1998). NS1 단백질은 숙주세포내의 바이러스에 대한 항 바이러스 작용을 억제하며 바이러스의 RNA 전사를 조절하는 역할을 하며, NEP 단백질은 바이러스의 vRNP의 이동을 돕는 역할을 함 (Hale et al., 2008, Nemeroff et al., 1998, Akarsu et al.,

2003).

- 0028 바이러스의 NS 유전자의 경우, 선행 연구 결과 마우스에서의 병원성이 없는 것으로 확인되었음. PR8 바이러스의 NS 유전자를 0028 바이러스와 01310 바이러스 및 snu50-5 바이러스의 NS 유전자로 치환한 재조합 바이러스를 제작하였으며, 그 결과 마우스 접종 시 0028 바이러스의 NS 유전자를 보유한 rPR8-NS(0028)에서는 체중 감소 및 폐사가 나타나지 않아, 포유류에 대한 병원성이 없음을 알 수 있음 (Kim and Kwon et al. 2015)(그림 2).



(Kim and Kwon et al. 2015).

그림 2. NS 유전자 재조합 바이러스의 마우스 병원성 평가

- 또한 백신 후보주 바이러스에 0028 바이러스의 NS 유전자를 도입할 경우, 백신 후보주 바이러스의 포유류 병원성을 낮추면서 면역원성은 높일 수 있음을 확인하였음 (Kim et al., 2015). 특히 저병원성 H5N1 백신 후보주에 0028 바이러스의 NS 유전자를 도입할 경우 10^4 EID₅₀ 바이러스를 면역할 경우에도 50 MLD₅₀의 고병원성 H5N1 인플루엔자 바이러스를 성공적으로 방어할 수 있는 것을 확인할 수 있었음 (그림 3). 즉, 0028 바이러스의 NS 유전자를 도입할 경우, 마우스와 같은 포유류에서의 감염 위험성을 낮추면서 백신의 면역원성은 높게 유지할 수 있을 것으로 기대됨.

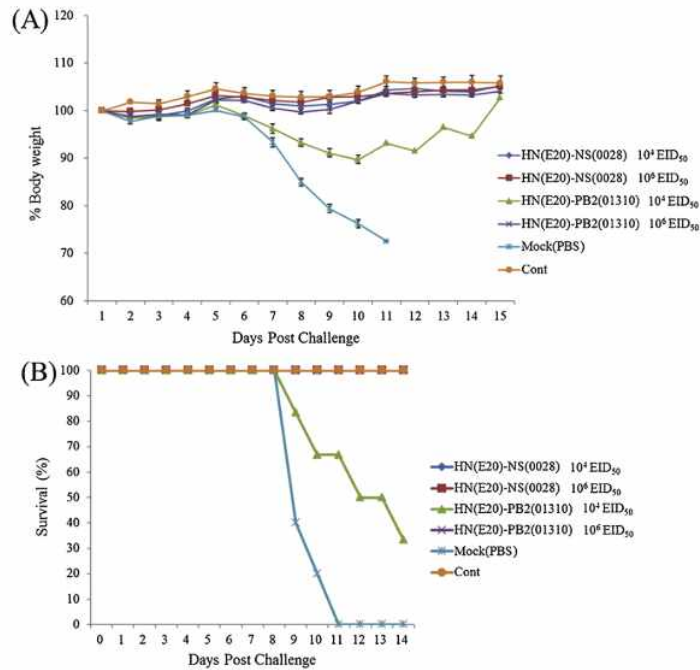


그림 3. NS 재조합 바이러스의 heterogenous 바이러스 방어능 평가

- 현재 국내에서 사독백신주로 사용되고 있는 H9N2 LPAI 01310 바이러스는 증식성을 높이기 위해서 계태아에서 여러 번 계대를 하는 방식이 사용되었음. 01310 바이러스는 계태아에서의 18번의 계대를 거치면서 01310_CE20은 01310_CE2에 비해 증식성은 매우 높아졌으나 계태아에 대한 병원성 또한 높아졌음이 이미 밝혀짐(Choi, Jun Gu, et al. 2008).

- 위의 선행 연구 결과를 이용하여, 선행 연구 과제에서 01310_CE20 바이러스의 NS 유전자를 0028 바이러스의 NS 유전자로 치환한 재조합 바이러스를 제작하여 계태아에서의 병원성을 낮추고자 하였음(IPET 유니버설백신개발 1차년도 실적계획서)(표 3).

표 3. 역유전학으로 제작한 r01310E20 바이러스와 r01310E20-NS(0028) 바이러스의 유전자 조성

재조합바이러스	NS	PB2, PB1, PA, HA, NP, NA, M
r01310E20	01310	01310_CE20
r01310E20-NS(0028)	0028	01310_CE20

- NS 유전자를 0028 바이러스의 유전자로 치환한 r01310E20-NS(0028) 바이러스의 경우, 치환하지 않은 r01310E20 바이러스와 비교해 계태아에서의 증식성이 떨어지지 않았음(IPET 유니버설백신개발 1차년도 실적계획서)(표 4).

표 4. r01310E20 바이러스와 r01310E20-NS(0028) 바이러스의 계태아에서의 역가

재조합바이러스	Virus titer (log10EID ₅₀ /ml)
r01310E20	9.17 ± 0.3
r01310E20-NS(0028)	9.36 ± 0.1

- 이 두가지의 바이러스를 계태에서의 병원성을 비교하기 위해서 바이러스의 역가를 100 EID₅₀/0.1ml로 맞춰준 후 각각 10일령 SPF 10개에 0.1ml씩 접종하였고, 12시간 간격으로 검란하여 접종한 SPF가 중사하는 시간을 측정함. 이 시간의 평균으로 계태에서의 평균 폐사 시간 (Mean Death Time, MDT) 을 측정하였음. r01310E20-NS(0028)은 r01310E20에 비해 약 2배 정도의 MDT를 나타냈으며, 이를 통해 0028의 NS 유전자가 계태아에서의 병원성을 낮춰줌을 알 수 있었음(IPET 유니버설백신개발 1차년도 실적계획서)(표 5).

표 5. r01310E20 바이러스와 r01310E20-NS(0028) 바이러스의 계태아에서의 MDT

재조합바이러스	MDT(Mean Death Time, h)
r01310E20	48.8 ± 8
r01310E20-NS(0028)	94.4 ± 5

- 또한, 계태에서의 평균 폐사 시간이 길기 때문에 더 오래 바이러스를 배양할 수 있을 것으로 생각되어, 접종 후 SPF에서 수득한 allantoic fluid 내에서의 바이러스의 양을 비교함. 이를 위해 두 바이러스를 100 EID₅₀/0.1ml 로 희석한 후, 각각 13개의 SPF에 0.1ml씩 접종했으며, 72시간 배양 후 allantoic fluid를 수득하여, 총 allantoic fluid양과 HA titer를 측정하였음. 배양하는 동안 중사하는 계란은 검란을 통해 즉시 chilling하여, fluid에 영향을 주지 못하도록 하였음. 실험 결과, r01310E20-NS(0028) 바이러스는 r01310E20 바이러스에 비해 수득되는 allantoic fluid양과 총 HA titer에서 더 높은 결과를 보이는 것을 확인함(IPET 유니버설백신개발 1차년도 실적계획서)(표 6).

표 6. r01310E20과 r01310E20-NS(0028) 바이러스의 계태아에서의 생산성 비교

r01310E20				r01310E20-NS(0028)			
N. of ECE	Vol. of allantoic fluid(ml)	HA titer	Total HA titer	N. of ECE	Vol. of allantoic fluid(ml)	HA titer	Total HA titer
1	12.60	2 ⁹	6451.2	1	11.25	2 ⁹	5760.0
2	12.50	2 ⁸	3200.0	2	12.50	2 ⁹	6400.0
3	11.75	2 ⁹	6016.0	3	14.25	2 ⁹	7296.0
4	12.00	2 ⁸	3072.0	4	14.00	2 ⁹	7168.0
5	13.00	2 ⁸	3328.0	5	15.00	2 ⁸	3840.0
6	9.75	2 ⁸	2496.0	6	13.00	2 ⁹	6656.0
6(2)	3.00	2 ⁶	192.0	7	14.75	2 ⁹	7552.0
7	11.00	2 ⁸	2816.0	8	13.00	2 ¹⁰	13312.0
8	11.00	2 ⁸	2816.0	9	11.75	2 ⁸	3008.0
9	9.75	2 ⁸	2496.0	10	11.50	2 ⁹	5888.0
10	13.00	2 ⁸	3328.0	11	13.75	2 ⁹	7040.0
11	11.80	2 ⁹	6041.6	12	13.75	2 ⁸	3520.0
12	12.00	2 ⁸	3072.0	13	14.50	2 ⁹	7424.0
13	11.50	2 ⁸	2944.0				
Total	154.65		48268.8	Total	173.00		84864.0
Average	11.00 ± 2.50		3448.0 ± 1668.0	Average	13.30 ± 1.30		6528.0 ± 2563.0

- 위와 같은 선행 연구 결과를 통해, NS 유전자가 계태아에서의 병원성을 결정하는 중요한 인자로 작용하는 것을 확인할 수 있었으며, 0028 바이러스의 NS 유전자를 적용한다면 계태아에서의 병원성이 병원성은 낮고, 생산성은 좋은 백신 후보주 바이러스를 제작할 수 있을 것으로 보여짐.

2. NP & M 유전자

- NP 단백질은 인플루엔자 바이러스의 polymerase 단백질들과 complex를 이뤄 negative sense를 띄는 viral RNA(vRNA)를 감싸 viral RNP를 형성하는 단백질이며, vRNA의 전사 및 복제에 영향을 줄 수 있음(Portela et al. 2002). M 단백질은 인플루엔자 바이러스의 membrane을 형성하고 있는 단백질로써 splicing을 통해 M1과 M2 두 가지 단백질로 전사되며, M2 단백질은 인플루엔자 감염 시 이온 채널로 기능함으로써 pH 변화를 통해 바이러스 감염이 이루어지도록 함(Schnell and Chou 2008).

- M 단백질은 HA와 NA 단백질과에 비해서 B cell에 의한 항체 형성을 주요하게 유도하지는 않지만, 바이러스의 membrane을 구성하고 있기 때문에 HA단백질과 NA단백질에 이어서 3번째로 항체가 주로 형성됨(Kreijtz, Fouchier et al. 2011). 특히, M 단백질의 경우에는 M2 extra-cellular domain (M2e) 부분이 매우 보존적이며, 이미 유니버설 백신으로 활용 가능할 것으로 예측되어지고 있음(Deng, Cho et al. 2015). 그러나, 사람과 돼지 및 조류에서의 M2e

아미노산을 비교한 결과 중간에 차이가 존재하고 있었으며(Liu, Zou et al. 2005), 이를 통하여 조류인플루엔자에서 분리한 M 유전자를 사용하는 것이 M2e 부분을 맞춰줄 수 있기 때문에 다양한 subtype의 조류인플루엔자 방어에 도움을 줄 수 있을 것으로 보임.

- NP 단백질은 CD4+ T cell과 CD8+ T cell에 의한 면역 반응을 주로 유도하며, 다양한 인플루엔자 subtype간에 보존적인 서열을 가지고 있고, 진화 과정 중 적은 변이가 발생하기 때문에 NP 유전자를 맞춰준다면 다양한 subtype에 대한 broad protection을 유도할 수 있을 것으로 보임(Seo and Webster 2001, Webby, Andreansky et al. 2003, Zheng, Luo et al. 2014, Grant, Quinones-Parra et al. 2016).

- NP 유전자와 M 유전자 내에서 알려진 T cell epitope은 대부분 마우스나 포유류에서 주로 알려져 있음. 그러나, 조류의 경우 T cell에 epitope을 제시하는 MHC cell이 다르기 때문에 T cell epitope을 다르게 예측해야할 필요가 있음. 현재 발표된 연구 결과 중 조류에서의 T cell epitope을 예측한 것을 활용하여(Hou, Guo et al. 2012, Reemers, van Haarlem et al. 2012), 바이러스 간 NP와 M 유전자 내에서의 예측된 T cell epitope 부분을 비교하였음(표 7).

표 7. 조류의 MHC haplotype에 따라서 예측되는 T cell epitopes

MHC Haplotype	Predicted Anchor Residues
B4	XDXXDXX(X)E(L/I)
B12	XXXXV(I)XX(X)V(I/L)
B15	XRXXXXX(X)Y
B19	XRXXXXXY(P/L/F)
B21	XH(K/R)XXXXX(X)E(D)XA(V/L/I/F/M)

(Hou, Guo et al. 2012, Reemers, van Haarlem et al. 2012)

- 조류에서 CD8+ T cell epitope으로 예측되는 아미노산 비교 결과, PR8의 internal gene보다 조류에서 분리된 저병원성 조류인플루엔자인 H9N2나 H5N1 바이러스의 internal gene을 사용하는 것이 T cell epitope에 대한 일치율이 높아 내부유전자를 조류유래의 바이러스로 맞춰주는 것이 방어율을 높이는데 도움이 될 수 있음(표 8).

표 8. NP 유전자 내 존재하는 예상되는 T cell epitope과 바이러스별 아미노산 비교

NP	PR8	01310 (H9N2)	0028 (H9N2)	K50-5 (H5N1)	H5N8	H5N1	H5N6
30-34 (26-34)	GKMIG	GRMVG	GRMVG	GRMVG	GRMVG	GRMVG	GRMVS
						GRMVS	GRMIS
						GRMIN	
						GRMIS	
371-375 (368-375)	METME	TETMD	TETMD	METMD	METMD	METMD	METMD
					MEAMD	MEAMD	

						MEVMD LEVMD TEAMD	MEVMD
347-354	IKGTKVLP	IRGARVVP	IRGTRVVP	IRGTRVVP	IRGTRVVP IRGTRVAP	IRGTRVVP IRGTRVAP	IRGTRVVP IRGTRMVP
127-132 (127-134)	DDATAG	EDATAG	EDATAG	EDATAG	EDATAG	EDATAG EDSTAG	EDATAG
104-109 (102-110)	WMRELI	WVRELI	WVRELI	WMRELI	WVRELI WMRELI	WVRELI WVRELV	WVRELI WIRELI WMRELI
13-17 (10-17)	METDG	METGG	METGG	METGG	METGG	METGG METSG	METGG
76-82 (76-83)	NKYLEEH	NRYLEEH	NRYLEEH	NKYLEEH	NKYLEEH	NRYLEEH NKYLEEH	NRYLEEH
124-129 (124-131)	NNGDDA	NNGEDA	NNGEDA	NNGEDA	NNGEDA NSGEDA	NNGEDA NNGEDS	NNGEDA
190-195 (190-197)	VMELVR	VMELIR	VMELIR	VMELIR	VMELIR	VMELIR VMELVR	VMELIR
252-258 (249-258)	EFEDLTF	EIEDLIF	EIEDLIF	EIEDLIF	EIEDLIF	EIEDLIF	EIEDLIF

표 9. M 유전자 내 존재하는 예상되는 T cell epitope과 바이러스별 아미노산 비교

M	PR8	01310 (H9N2)	0028 (H9N2)	K50-5 (H5N1)	H5N8	H5N1	H5N6
59-66	ILGFVFTL	ILGFVFTL	ILGFVFTL	ILGFVFTL	ILGFVFTL	ILGFVFTL ILGFVFTL	ILGFVFTL ILGFVFTL
22-28 (20-28)	AEIAQRL	AEIAQRL	AEIAQRL	AEIAQRL	AEIAQRL AEIAQKL AEIARKL	AEIAQRL AEIAQKL AEIARKL	AEIAQRL AEIAQKL
137-142 (134-142)	AVTTEV	TVTTEV	TVTTEV	TVTTEV	TVTTEV	TVTTEV	TVTAEV TVAAEG
229-236 (229-239)	LKNDLLEN	LKDDLLEN	LKDDLLEN	LKDDLLEN	LRDNLLEN	LRDNLLEN	LRDNLLEN LKNDLLEN

- 본 연구팀은 과거 과제를 통하여 PR8 바이러스의 내부 유전자는 현재 유행하고 있는 고병원성 인플루엔자 바이러스의 내부유전자와 상이하며, 이는 백신 바이러스의 방어능에 영향을 미칠 것으로 예측하였고, 이를 확인하기 위한 시험을 진행함.

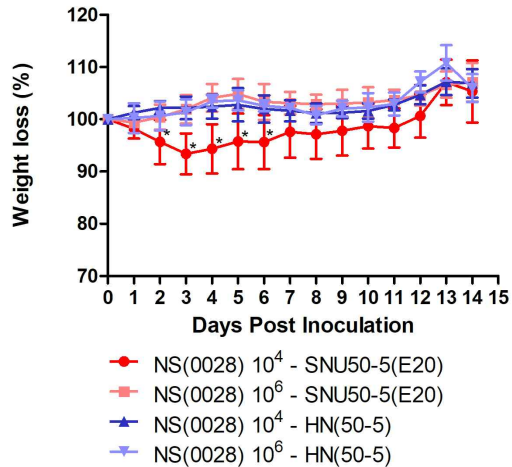


그림 4. 내부 유전자에 따른 백신 바이러스의 방어능 비교

- PR8 바이러스의 포유류 병원성을 낮추고 면역원성을 유지하기 위하여 0028바이러스의 NS유전자를 도입한 rPR-NS(0028) 바이러스는 마우스에 병원성이 없으며 성공적으로 면역원성을 유지하고 있는 백신 후보주 바이러스임 (Kim et al., 2015). 본 연구팀은 rPR-NS(0028) 백신 후보주 바이러스를 10⁴EID₅₀, 10⁶EID₅₀의 농도로 각각 BALB/c 마우스에 면역한 후, 2주 후에 마우스에서 높은 병원성을 가지고 있는 H5N1 바이러스인 snu50-5 바이러스와 snu50-5 바이러스의 HA, NA유전자와 PR8 바이러스 내부 유전자를와 재조합한 HN(50-5)를 공격 접종하여 방어능을 평가함 (그림 4).

- 10⁶EID₅₀ 농도의 rPR-NS(0028) 바이러스는 snu50-5와 HN(50-5)바이러스를 성공적으로 방어할 수 있었지만, 10⁴EID₅₀ 농도의 rPR-NS(0028) 바이러스는 내부 유전자가 다른 snu50-5를 성공적으로 방어하지 못하는 것을 확인함 (그림 4). 즉, 내부 유전자를 일치시키는 것이 백신 바이러스의 방어능에 중요한 역할을 하는 것을 확인할 수 있었음.

- M2 extracellular domain (M2e) 단백질은 인플루엔자 바이러스 표면에 존재하며 이온 채널의 기능을 함. M2e 단백질은 거의 모든 인플루엔자 바이러스에서 비슷한 구조를 가지며 HA, NA 단백질 같은 면역 우성 (immunodominant) 단백질은 아니지만 숙주의 체액성 면역을 이끌어낼 수 있음이 알려져 있음 (Ito T, Gorman OT, Kawaoka Y, et al, 1991, Black RA, Rota PA, Gorodkova N, et al., 1993, Neiryneck et al., 1999, Fiers W, De Filette M, Bakkouri KE, et al. 2009, Khurana S, Suguitan AL, Rivera Y, et al., 2009). M2e domain의 말단 부위에 존재하는 N-glycosylation site는 HA 단백질의 stalk region에서와 마찬가지로 항체의 접근성을 제한할 것으로 예상됨에 따라 N-glycosylation site를 제거함으로써 M2e에 대한 더 높은 체액성 면역 유도과 함께 백신 바이러스의 교차 방어 효과를 유도함. 또한, M2e 부분을 포유류 유래가 아닌 조류 유래의 M2e (clade, 2.3.2, clade, 2.3.4.4 유래의 M2e)로 치환하여 조류에서의 면역원성을 높인 유전자를 확보함.

3. Polymerase 유전자

- 조류 유래의 H9N2 인플루엔자 바이러스인 01310의 PB2 유전자는 인플루엔자 바이러스의 포유류 증식성을 낮추면서도 백신 바이러스의 증식성은 유지할 수 있는 특징을 가지고 있음 (Kim et al., 2013, Kim et al., 2015). 특히 clade 2.3.2.1 H5N1 조류인플루엔자 바이러스와 조합하여 사용하였을 경우 백신 후보 바이러스의 높은 증식성과 높은 항체 형성능을 유도하였으며, 마우스에서의 증식성을 억제하는 포유류 무병원성 특징을 가졌음 (Jang et al., 2017) (그림 5).

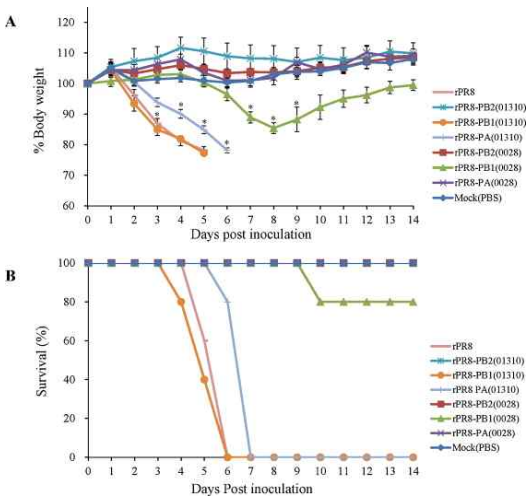


그림 5. 조류 유래 Polymerase 유전자의 포유류 병원성 평가 (Kim et al., 2013)

- 01310 PB2 유전자는 66번, 109번, 그리고 133번에 기존 대부분의 인플루엔자 바이러스가 보유하고 있는 MVV돌연변이를 보유하고 있지 않음. MVV돌연변이를 보유하고 있을 경우 조류 인플루엔자 PB2 유전자는 포유류에서 증식할 수 있는 최소의 증식능을 가지게 되며 증식함에 따라 추가적으로 627K, 591K/R, 701N과 같은 치명적인 돌연변이를 확보할 수 있다는 선행 연구를 통하여 밝혀짐 (Lee et al., 2017).
- 즉 01310 바이러스의 PB2 유전자를 백신 바이러스에 도입할 경우, 증식성이나 면역원성에는 큰 영향을 미치지 않으며 백신 바이러스의 포유류 병원성을 낮춤으로써 백신 바이러스의 안전성 향상에 기여할 것으로 기대됨.
- 또한 NP, M 유전자와 마찬가지로 PB1, PB1-F2, 그리고 PA 단백질에는 T cell epitope으로 알려져 있는 부분들이 존재하기에 NP, M 유전자와 마찬가지로 Polymerase 유전자도 백신 바이러스의 방어능에 영향을 미칠 것으로 추정됨 (Chen et al., 2001, Belz et al., 2000).

3절. 최종적인 백신 후보주의 선정 전략

표 10. 최종적인 백신 후보주 선정 전략 정리

유전자	
HA	1. clade 2.3.2.1 & clade 2.3.4.4 H5 2. Mutation on cleavage site as mono-basic amino acid (ASGR) 3. Mutation on N-glycosylation site
NA	1. NA1, NA6 and NA8 2. 01310 NA2 3. Mutation on stalk region
PB2	1. PR8 2. 01310 & 0028 PB2
PB1	1. PR8 2. 01310 & 0028 PB1
PA	1. PR8 2. 01310 & 0028 PA
NP	1. PR8 2. SNU50-5 (low pathogenic H5N1 isolated in 2009) NP
M	1. PR8 2. Avian-derived M2e gene 3. Mutation on N-glycosylation site
NS	PR8/0028 NS

- 고병원성 조류 인플루엔자 바이러스 대규모 발생에 따른 비상상황에서 긴급 백신 제작이 결정된 경우, PR8 내부 유전자와 현재 유행하는 HA, NA 유전자를 도입하는 재조합 백신 바이러스를 생산하는 것이 우선될 수 있으나, 내부 유전자의 낮은 일치율은 백신 바이러스의 방어능에 큰 영향을 미칠 것으로 생각됨. 즉, 고병원성 조류 인플루엔자 바이러스의 백신 생산을 위해서는 백신 바이러스의 안전성, 고 증식성, 고 방어능을 유도할 수 있는 조류 유래의 내부 유전자를 이용한 백신 바이러스 제작이 필요함.

2장. 고병원성 인플루엔자 백신의 평가

1절. 내부 유전자 변이에 따른 백신의 효능 평가

- 2절에서 설명한 바와 같이 백신 바이러스의 내부 유전자를 현재 field에서 유행하는

strain과 비슷한 조류 유래의 내부 유전자를 사용하였을 시, 실제 항체 형성에 어떠한 영향을 미치는지 평가하고자, 저병원성 인플루엔자 바이러스인 H9N2 바이러스를 이용하여 평가를 진행함.

- 역유전학을 이용하여 PR8 backbone의 rH9N2(p) 재조합 바이러스와 r01310E20 바이러스의 사독백신 접종 후 6주까지의 혈청 내 항체가를 비교하였음. rH9N2(p) 바이러스의 HA와 NA 유전자는 01310_CE20의 유전자를 사용하였음.
- 두 바이러스는 BEI로 불활화하고, ISA70을 adjuvant로 사용하여 IM으로 각각 열 마리의 SPF 닭에 접종하였으며, 0주, 2주, 3주, 5주, 6주에 채혈하여 혈청 내 항체가를 확인하였음. 두 바이러스 접종 계군 모두 2주만에 최고 항체가 가까이 올라가며, 3주에 가장 높은 HI titer를 나타냄. 이 항체가는 접종 후 6주까지도 비슷하게 유지되었음(그림 6) (그림 7).
- PR8 바이러스의 내부 유전자를 가지는 rH9N2 바이러스와 01310의 내부유전자를 가지는 r01310E20 바이러스는 닭에서 비슷한 수준이 Hemagglutination inhibition titer를 나타내었으며, 이는 동일한 생산성 및 항체 형성능을 의미함.

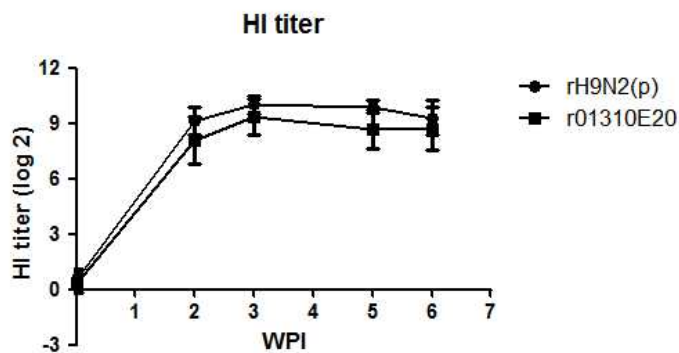


그림 6. rH9N2(p) 바이러스와 r01310E20 사독 백신 접종 계군 혈청 내 항체의 HI titer

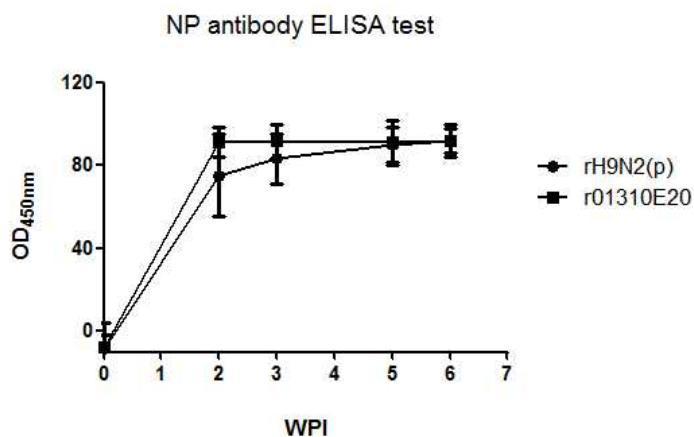


그림 7. rH9N2(p) 바이러스와 r01310E20 사독 백신 접종 계군의 NP 항체

2절. H5N1 고병원성 인플루엔자 바이러스 백신의 제작 및 특성 평가

- H5N1 바이러스의 HA 유전자와 NA 유전자는 국내 분리주인 A/mandarin duck/Korea/K10-483/2010 (H5N1) (이하 K10-483) 바이러스의 유전자를 사용하였음.

1. 고병원성 인플루엔자 바이러스의 저병원성 치환 전략

- HA 유전자의 병원성을 없애기 위해서 cleavage site를 REKRRRKR에서 선행 연구 결과 계태아와 마우스에 병원성이 없는 A/chicken/Korea/KBNP-0028/2000 (H9N2; 이하 0028) 바이러스의 cleavage site와 동일하게 ASGR로 바꿔주었음.

2. H5N1 바이러스의 진화 양상 추적

가. H5N1 고병원성 인플루엔자 바이러스의 진화 패턴 분석

- 선행 과제에서 진행된 연구 결과 H5 clade 2.3.2.1c의 경우, 2.3.2에서 2.3.2.1c로 진화하면서 다양한 아미노산 변이가 나타났음을 확인하였고, 확인된 변이들 중에서 HA의 globular head의 Receptor Binding Site(RBS) 내에 존재하는 144번과 223번 아미노산에 주목하였음 (그림 8).



그림 8. H5N1 야외분리주의 clade별 HA 유전자 비교

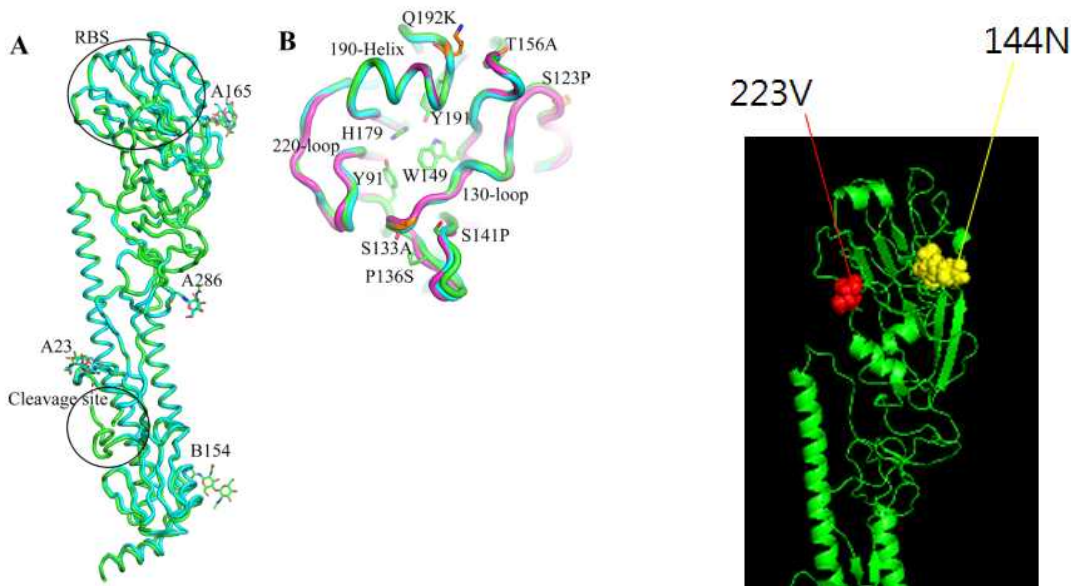
- 특히, HA에 존재하는 N-glycan은 HA의 receptor binding specificity 및 affinity에 영향을 주며, 그 중에서도 158번 N-glycan은 host의 α 2,3 receptor와 α 2,6 receptor에 대한 결합 능력을 달라지게 함으로써 감염 가능한 host specificity가 달라질 수 있음이 널리 알려져 있음

(Wang, Lu et al. 2010).

- 항체가 결합할 수 있는 곳을 가림으로써 항체 형성을 방해해 면역 회피를 할 수 있게 함. 면역 항체 외에도 숙주 체내나 alltoic fluid 내에 존재하는 β -inhibitor나 γ -inhibitor 같은 비특이적인 HA inhibitor에 대한 회피능에서 주요한 역할을 하는 것은 이미 많은 선행 연구들로 밝혀져 왔음(Tate, Job et al. 2014, Anders et al. 1990, Hardy et al. 1948, Svedmyr, A. 1949).

- 이와 같은 선행 연구 결과를 토대로 144번 아미노산이 아스파라긴(Asparagine, N)으로 변하는 경우 N-X-T가 되어 N-glycan이 형성될 수 있기 때문에 HA 단백질의 receptor binding affinity 및 면역 회피에 큰 영향을 줄 것으로 추측됨.

- H5 단백질 3차 구조에서 두 아미노산 변이의 위치를 예측한 결과, HA 단백질의 RBS에 부분에 존재하고 있음을 알 수 있음(그림 9).



(Yang, Carney et al. 2016)

그림 9. HA단백질 3차 구조에서의 144번 아미노산과 223번 아미노산의 위치

나. 패턴 분석을 바탕으로 한 H5N1 인플루엔자 바이러스의 제작 및 특성 분석

- 위와 같은 가설을 토대로 K10-483의 H5 유전자에 두 가지의 아미노산을 각각 변이시킨 H5 유전자와 두 가지 모두 변이시킨 H5 유전자를 제작함(표 11). 각각의 유전자는 모두 cleavage site를 ASGR로 가지고 있음.

표 11. H5N1(K10-483)의 유전자 및 변이 유전자 클로닝 플라스미드 목록

	segment	제작 플라스미드 목록
H5N1(2.3.2.1c)	HA	H5(K10-483) H5(K10-483)_144TGT H5(K10-483)_I223V H5(K10-483)_144TGT, I223V
	NA	N1(K10-483)

- 역유전학을 이용하여 위의 HA와 NA 유전자 가지고 있으며, PR8의 6개 내부 유전자를 지니고 있는 PR8 backbone 재조합 H5N1 바이러스들을 제작함(표 12).

표 12. H5N1(K10-483) 바이러스의 HA와 및 NA유전자를 이용하여 제작한 PR8 backbone 바이러스

재조합바이러스	HA	NA	PB2, PB1, PA, NP, M, NS
rH5N1(P)	H5(K10-483)-ASGR	N1(K10-483)	PR8
rH5N1(P)-m1	H5(K10-483)-ASGR_I223V	N1(K10-483)	PR8
rH5N1(P)-m2	H5(K10-483)-ASGR_d144N	N1(K10-483)	PR8
rH5N1(P)-m7	H5(K10-483)-ASGR_I223V,d144N	N1(K10-483)	PR8

- 제작한 재조합 H5N1바이러스의 역가를 측정하기 위해서 10진 희석하여 10일령 SPF 발육란에 접종하였으며, 3일간 배양한 뒤 allatioc fluid를 HA test하여 50% Egg Infectious Dose(EID50)를 측정함(표 13).

표 13. 제작한 재조합 H5N1 바이러스의 계태아에서의 역가

재조합바이러스	HA	Virus titer (log10EID ₅₀ /ml)
rH5N1(P)	H5(K10-483)-ASGR	6.54 ± 0.39
rH5N1(P)-m1	H5(K10-483)-ASGR_I223V	6.83 ± 0.38
rH5N1(P)-m2	H5(K10-483)-ASGR_d144N	6.08 ± 0.14
rH5N1(P)-m7	H5(K10-483)-ASGR_I223V,d144N	6.25 ± 0.54

- 재조합 바이러스들의 MDCK에서의 증식성을 평가하여, 실제로 두 아미노산 변이가 포유류에서의 바이러스 증식에 영향을 주는지 확인하고자 함. 이 실험에서는 계태아에서의 측정된 증식 역가인 EID₅₀/ml을 기준으로 하여, 1 Multiplicity of infection (MOI)로 MDCK cell에 접종하고 3일간 37도에서 배양한 뒤 HA test를 이용하여 Tissue Culture Infectious Dose(TCID₅₀/ml)를 측정하였음.

- H5N1 바이러스에 144번에 존재하는 N-glycan과 223번의 isoleucine을 valine으로 변경한 단일 돌연변이 바이러스의 경우 MDCK에서의 증식성이 감소하였으나, 두 가지 모두를 변이시킨 돌연변이 바이러스의 증식성은 오히려 증가하는 것을 확인할 수 있었음. 이 두 가지 변이가 H5N1 바이러스의 증식성에 영향을 미치는 요인임을 확인할 수 있었음.(그림 10).

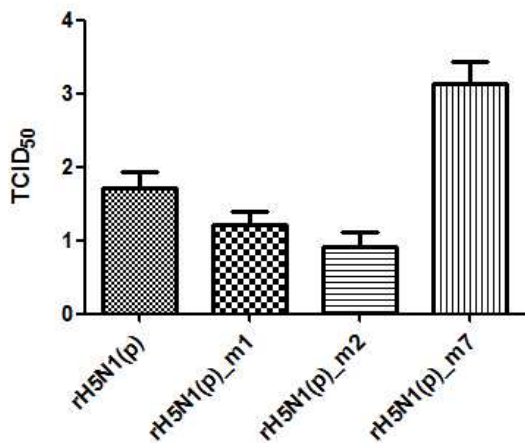


그림 10. MDCK 세포에서의 재조합 H5N1 바이러스의 증식성 평가

- 즉 Clade 2.3.2에 속하는 H5N1 고병원성 인플루엔자 바이러스는 숙주세포의 바이러스 방어기전을 회피하기 위하여 Receptor binding site 인근의 돌연변이를 유도하였으며, 그렇게 유도된 돌연변이는 바이러스의 항원성 및 증식성에 영향을 미쳐 숙주에 성공적으로 적응할 수 있게 하는 인자임을 추정할 수 있음.

- 고병원성 인플루엔자 바이러스 상재국에서 사용되는 고병원성 인플루엔자 바이러스의 백신 정책은 endemic 발생하는 바이러스의 전파를 효과적으로 막지 못할 뿐 아니라 바이러스의 숙주면역에 대한 회피기전을 유도할 수 있음 (Peyre et al., 2009, Watanabe et al., 2012, Leung et al., 2013)). Clade 2.3.2 바이러스에서 clade 2.3.2.1c 바이러스로 변화됨에 따라 형성된 돌연변이는 바이러스 항원성의 변이를 야기할 뿐 아니라 바이러스의 증식성에 영향을 미칠 수 있으며, 또한 포유류와 같은 다른 숙주에 대한 증식성 변화도 유도할 수 있음. 즉 고병원성 인플루엔자 바이러스 백신 제작 및 배포를 위해서는 효과적인 백신의 제작 뿐 아니라 그로 인한 바이러스의 변이양상까지 같이 추적하는 것이 필요함.

- 중국을 비롯한 고병원성 인플루엔자 바이러스 상재국에서는 고병원성 인플루엔자 바이러

스의 지속적인 항원성 다양화를 통하여 다양한 clade의 바이러스들이 동시 발생하고 있음 (Peng et al., 2016). 대한민국은 지정학적 위치상 고병원성 인플루엔자 바이러스 상재국과 인접해 있기에 다양한 항원성을 가진 고병원성 인플루엔자 바이러스가 유입될 위험성이 큼. 그러므로 중국을 비롯한 전세계의 고병원성 인플루엔자 바이러스 발생과 그 바이러스의 항원적 특징을 꾸준히 감시하고 같은 항원성을 가지는 유전자를 지속적으로 확보하여 위험을 대비하는 것이 필요함.

3. 조류 내부 유전자를 적용한 H5N1 백신주의 제작 및 평가

- 2011년 분리된 clade 2.3.2.1c H5N1 HPAI의 경우 PR8 내부 유전자를 사용하여 재조합 바이러스를 제작할 경우 계태아에서의 증식성이 유의적으로 감소하는 것을 확인할 수 있음. 이와 같이 계태아에서의 증식성이 매우 낮을 경우 생산성이 낮고 면역을 위한 항체 형성능력이 떨어지기에 바로 백신주로 쓰기에는 부적합함. 따라서 내부 유전자를 바꾸는 등 (01310 또는 0028 바이러스의 PB2 유전자) 새로운 조합을 이용하여 증식성을 높인 백신 후보주를 제작하여야 함.

가. 백신 후보주 바이러스의 안전성 평가

- 01310과 0028 바이러스의 PB2 유전자를 가진 rH5N1 백신 후보주 (rK10-483-PB2(01310), rK10-483-PB2(0028)) 는 이전 연구와 마찬가지로 백신 후보주 바이러스의 증식성을 향상시킬 수 있는 것을 관찰할 수 있었음 (표 14). 또한 01310과 0028 바이러스의 PB2 유전자를 도입하였을 경우, MDCK 세포에서의 증식성이 상대적으로 감소되는 것을 관찰할 수 있었음.

표 14. 조류의 PB2 유전자를 적용한 H5N1 백신 후보주 바이러스의 증식성 비교

Virus	Viral titer	
	ECE (log ₁₀ EID ₅₀ /mL)*	MDCK (log ₁₀ TCID ₅₀ /mL)*
rPR8	8.95 ± 0.62	7.38 ± 0.85
rK10-483	7.70 ± 0.28 [†]	5.25 ± 0.87 [†]
rK10-483-PB2(01310)	9.15 ± 0.30	4.63 ± 0.63 [†]
rK10-483-PB2(0028)	8.90 ± 0.40	5.38 ± 0.25 [†]

- 각 백신 후보주 바이러스를 10⁶ EID₅₀ 의 농도로 BALB/c 마우스에 접종하였을 때, 마우스에서의 병원성은 관찰되지 않았음 (그림 11). 하지만 PR8 바이러스의 backbone으로 만들어진 rK10-483 바이러스의 경우 마우스 폐장에서 상당한 역가로 증식할 수 있는 것을 관찰할 수 있었음 (표 15). 즉 적당한 조류의 PB2 유전자를 백신주에 도입할 경우 포유류에 대한 병원성은 억제된 상태로 바이러스의 계태아 증식성은 유지, 또는 증가되는 것을

확인할 수 있었음.

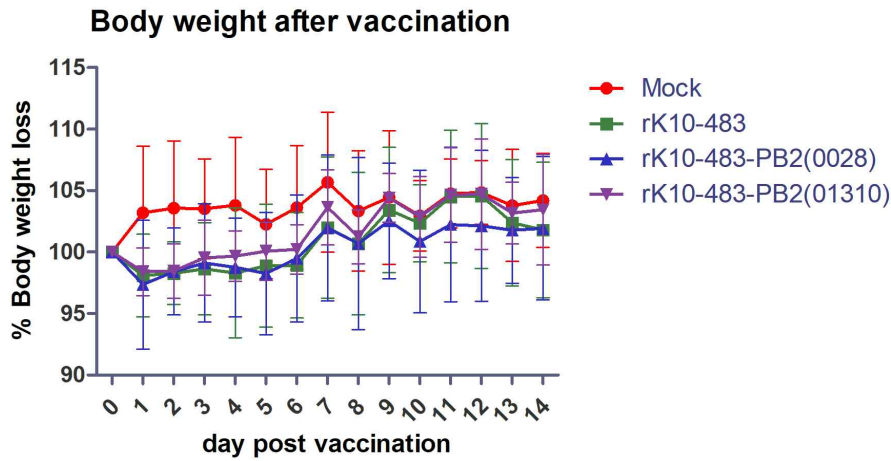


그림 11. H5N1 백신 후보주 바이러스의 마우스 병원성 평가

표 15. H5N1 백신 후보주 바이러스의 마우스 폐내 증식성

Virus*	Virus re-isolation in mouse lung [†]			
	3 DPI		6 DPI	
rPR8	3/3 [‡]	4.3 [§]	3/3	4.1
rK10-483	3/3	3.1	0/3	1.9
rK10-483-PB2(01310)	0/3	< 0.5 [†]	0/3	< 0.5 [†]
rK10-483-PB2(0028)	0/3	< 0.5 [†]	0/3	< 0.5 [†]
Mock (PBS)	0/3	< 0.5 [†]	0/3	< 0.5 [†]

나. 백신 후보주 바이러스의 방어능 평가

- H5N1 백신 후보주 바이러스의 실제 방어능을 평가하고자, 5주령 BALB/c 마우스에 각 백신주 바이러스로 면역한 후, 2주후에 K10-483 (H5N1) 바이러스를 공격집중하여 방어능을 평가하였음 (그림 12).

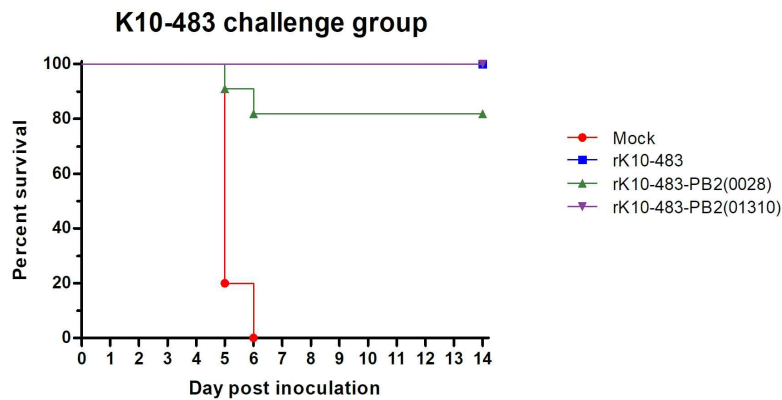
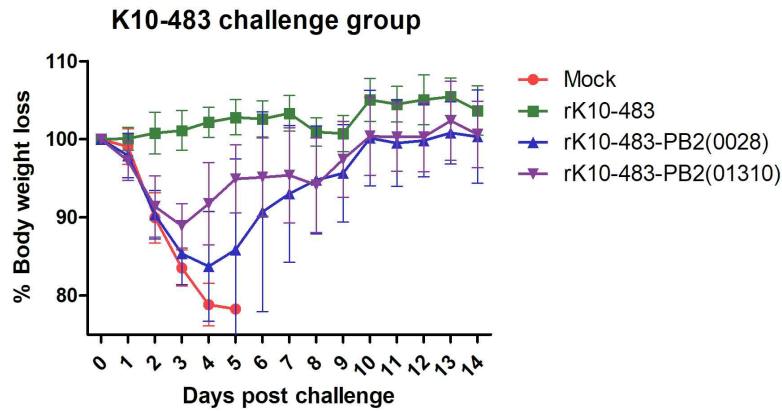


그림 12. H5N1 백신 후보주 바이러스의 homologous 바이러스(H5N1)에 대한 방어능

- rK10-483-PB2(0028) 바이러스의 경우는 5마리 중 1 마리가 폐사 (폐사율=20%)을 나타내 었지만, rK10-483-PB2(01310) 바이러스의 경우는 폐사 없이 약간의 임상증상만이 관찰되 었음 (그림 12).
- 5주령 BALB/c 마우스에 각 백신주 바이러스를 면역한 후, 2주 후에 2015년도 한국에서 유행했던 H5N8 고병원성 인플루엔자 바이러스인 KU3-2 바이러스를 공격접종하여 heterognous 바이러스에 대한 교차 방어능을 평가하였음 (그림 13).

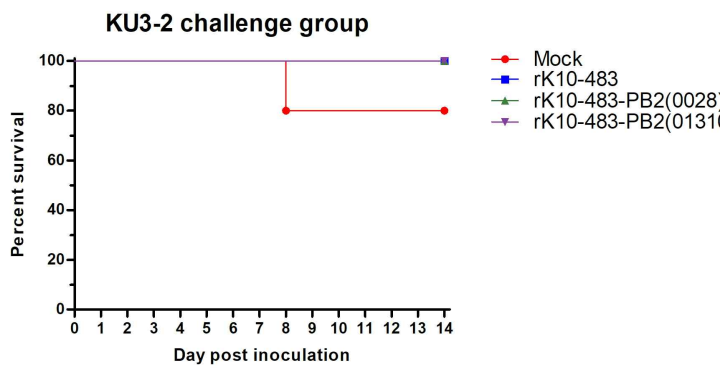
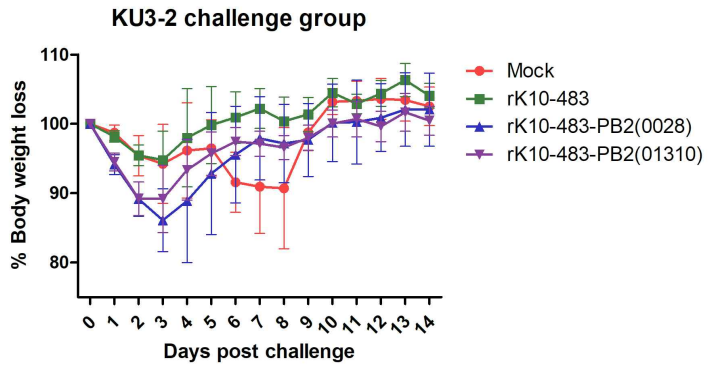


그림 13. H5N1 백신 후보주 바이러스의 heterogenous 바이러스(H5N8)에 대한 방어능

- H5N8 바이러스인 KU3-2 바이러스는 마우스에 경도에서 중도의 임상증상을 나타내는 바이러스로 그림과 같이 Mock 로 면역한 그룹에서는 20%의 폐사율이 나타나는 것을 확인할 수 있음. 하지만 H5N1 백신 후보주 바이러스는 마우스의 폐사를 성공적으로 방어할 수 있는 것을 확인할 수 있었음 (그림 13).

다. 백신 후보주 바이러스의 항체 형성능 평가

- H5N1 백신 후보주 바이러스의 닭에 대한 항체 형성능을 평가하고자 BEI를 통하여 백신 후보주 바이러스를 불활화한 후, 6마리의 SPF닭에 1ml씩 oil-adjuvant 백신을 접종함. 백신 항체는 1주일 간격으로 측정하여 항체 형성능을 평가함.
- PR8바이러스의 내부 유전자를 가진 rK10-483 바이러스 대비 더 높은 항체 역가를 확인할 수 있었으며, 이는 H5N1 백신 후보주 바이러스가 SPF 닭에 대해 훌륭한 항체 역가를 유도할 수 있다는 것을 의미함 (표 16).

표 16. H5N1 백신 후보주 바이러스들의 항체 형성능 평가

Virus*	HI titer (log ₂) [†]				
	0 DPI	7 DPI	14 DPI	21 DPI	28 DPI
rK10-483	0.0	0.4 ± 0.9	6.0 ± 1.7	9.0 ± 1.9	8.8 ± 1.5
rK10-483-PB2(01310)	0.0	3.4 ± 1.5 [‡]	8.2 ± 1.3	10.2 ± 1.6	10.4 ± 1.5
rK10-483-PB2(0028)	0.0	1.6 ± 0.5	7.2 ± 1.3	10.4 ± 1.8	9.2 ± 1.7

- 합성된 H5N1 백신 후보주 바이러스들은 기존 PR8 유래의 내부 유전자를 가지는 방식의 백신 생산보다 더 높은 증식성을 나타내며, 포유류 병원성은 낮은 특징을 지니는 것을 확인함. 이는 가금산업에 좀더 안전하고 효율적으로 적용할 수 있는 백신으로 사용 가능할 것으로 기대됨.

3절. H5N1 고병원성 인플루엔자 바이러스 백신을 이용한 야외 감염 바이러스와 항체 감별이 가능한 백신 (DIVA) 가능성 평가

1. DIVA 백신의 제작

- 국내에서는 H9N2 저병원성 조류인플루엔자에 대한 사독오일백신을 광범위하게 접종하고 있는데 (Choi et al, 2010) H5N1, H5N6 및 H5N8형 HPAI 바이러스의 야외 감염을 검출하기 위한 DIVA 시스템을 적용하는 경우 백신주의 NA 아형은 NA1, NA6, NA8 이외의 것으로 바꾸어야 함. 농림축산검역본부 조류질병과 인플루엔자연구실에서 개발한 국내 H9N2 사독 백신주인 01310의 NA2는 바이러스의 증식성과 면역원성 향상과 관련된 중요 돌연변이가 밝혀져 H5N2 DIVA 백신 개발 시 유용하게 활용할 수 있음.

- 본 연구팀은 01310 바이러스의 NA 유전자를 H5N1 바이러스에 도입한 재조합 H5N2 바이러스를 합성함으로써 DIVA 가능성을 평가함. DIVA의 가능성 평가 뿐 아니라, H5N1 백신 후보주에 적용하였던 01310, 0028 바이러스의 PB2를 도입함으로써 낮은 포유류 병원성, 높은 증식성을 유도하였으며, M2e부분의 서열을 고병원성 인플루엔자 바이러스의 서열과 일치 시킴으로써 M2e에 대한 항체 형성도 고려함 (표 17).

표 17. H5N2 기반의 DIVA 백신의 제작

Recombinant virus	PB2*	PB1*	PA*	HA*	NA*	M*	NP*	NS*
rPR8	PR8	PR8	PR8	PR8	PR8	PR8	PR8	PR8
rH5N2(K/310)	PR8	PR8	PR8	K10-483/	01310	PR8	PR8	PR8

rH5N2(K/310)-PB2 (01310)	01310	PR8	PR8	ASGR K10-483/ ASGR [†]	01310	PR8	PR8	PR8
rH5N2(K/310)-PB2 (0028)	0028	PR8	PR8	K10-483/ ASGR	01310	PR8	PR8	PR8
rH5N2(K/310)-PB2 (01310)-M(Av)	01310	PR8	PR8	K10-483/ ASGR	01310	PR8 (M2e/Av) ‡	PR8	PR8
rH5N2(K/310)-PB2 (0028)-M(Av)	0028	PR8	PR8	K10-483/ ASGR	01310	PR8 (M2e/Av)	PR8	PR8

- 제작된 DIVA용 백신은 계태아 증식성에 영향을 미치지 않는 것을 확인할 수 있었음 (표 18).

표 18. 제작된 DIVA백신 바이러스의 증식성 평가

Virus	Virus Titer	
	ECE (log ₁₀ EID ₅₀ /ml)*	MDCK (log ₁₀ TCID ₅₀ /ml) [†]
rPR8	8.70 ± 0.77	7.38 ± 0.85
rH5N2(K/310)	9.34 ± 0.26	8.19 ± 0.69
rH5N2(K/310)-PB2(01310)	9.08 ± 1.15	4.69 ± 0.90 ‡
rH5N2(K/310)-PB2(0028)	8.50 ± 0.69	5.13 ± 0.48 ‡
rH5N2(K/310)-PB2(01310)-M(Av)	8.78 ± 0.42	5.17 ± 0.95 ‡
rH5N2(K/310)-PB2(0028)-M(Av)	8.20 ± 0.50	4.33 ± 0.52 ‡

2. DIVA 백신의 방어능 평가

- DIVA 백신의 경우 H5N1 백신 후보주 바이러스에서 사용한 K10-483 (H5N1) 바이러스를 사용하였기에 백신의 안전성 평가, 즉 마우스에서의 병원성 평가는 생략하였음. 01310, 0028 바이러스의 PB2 유전자 도입한 것을 고려하고 과거 실험을 토대로 평가하였을 때 낮은 포유류 병원성을 가질 것으로 예상됨.

- DIVA백신의 방어능을 평가하고자 3주령 SPF 닭에 각 백신 후보주 바이러스를 IM을 접종하여 면역한 후, 3주 후에 A/mallard/Korea/KU3-2/2015 (KU3-2) 바이러스를 10⁶ EID₅₀

의 농도로 공격접종하여 방어능을 평가함 (표 19).

표 19. H5N8 공격접종에 따른 DIVA백신 후보주 바이러스의 방어능 평가

Vaccine ^a	Challenge ^a										
	Mortality ^b	Titer of shed virus (EID ₅₀ /sample) ^c									
		2 DPC ^d		3 DPC ^d		5 DPC ^d		7 DPC ^d		9 DPC ^d	
		OP ^e	C ^e	OP ^e	C ^e	OP ^e	C ^e	OP ^e	C ^e	OP ^e	C ^e
Re-6 ^a	0/9 (0) ^b	2.06 ± 0.13 (3/9) ^b	- (0/9) ^b	2.25 ± 0.65 (4/9) ^b	2.05 (1/9) ^b	2.35 ± 1.13 (2/9) ^b	-(0/9) ^b	4.05 (1/9) ^b	-(0/9) ^b	5.26 (1/9) ^b	5.22 (1/9) ^b
rH5N2(K/310)- PB2(01310)-M(Av) ^a	0/9 (0) ^b	2.51 ± 0.45 (3/9) ^b	- (0/9) ^b	2.56 ± 0.93 (3/9) ^b	1.66 (1/9) ^b	2.14 ± 0.36 (4/9) ^b	1.71 ± 0.12 (2/9) ^b	-(0/9) ^b	2.34 (1/9) ^b	- (0/9) ^b	-(0/9) ^b
rH5N2(K/310)- PB2(0028)-M(Av) ^a	0/9 (0) ^b	3.59 ± 1.24 (7/9) ^b	2.02 (1/9) ^b	3.18 ± 1.33 (8/9) ^b	- (0/9) ^b	3.42 ± 0.95 (7/9) ^b	3.52 (1/9) ^b (2/9) ^b	1.57 ± 0.10 (2/9) ^b	1.53 (1/9) ^b	- (0/9) ^b	-(0/9) ^b
Mock (PBS) ^a	6/7 (85.7) ^b	3.60 ± 0.76 (6/7) ^b	3.17 ± 0.89 (5/7) ^b	4.02 ± 0.70 (7/7) ^b	3.30 ± 0.34 (7/7) ^b	5.59 ± 0.62 (7/7) ^b	5.01 ± 0.75 (7/7) ^b	4.96 ± 1.17 (5/5) ^b	4.43 ± 2.15 (5/5) ^b	3.02 (1/1) ^b	-(0/1) ^b

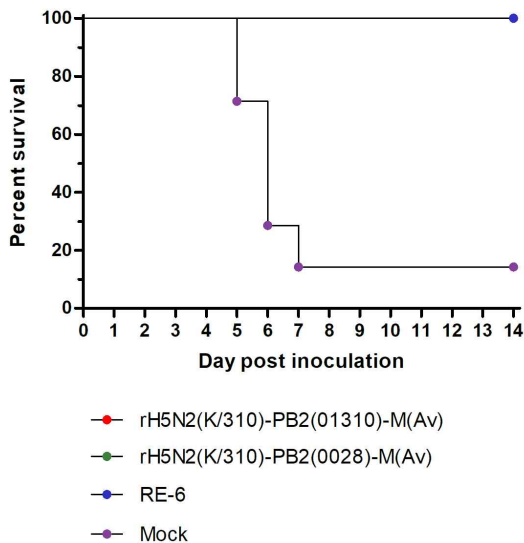


그림 14. DIVA백신 후보주의 H5N8 방어능 평가

- DIVA 백신은 H5N8 공격접종에 대해서 완전히 방어 (폐사율 0%)하였지만, 바이러스의 배출을 완전히 방어하지는 못함 (그림 14, 표 19). 그러나 현재 중국에서 사용되는 백신주인 RE-6에 비하여 바이러스의 배출기간이 다소 감소되는 것이 관찰되었음 (표 19).

3. DIVA 백신의 항체 형성능 평가

- DIVA백신 바이러스를 BEI를 통하여 불활화시킨 후 ISA70과 섞은 Oil-adjuvant 백신을 제작하였으며, 각 제작된 백신을 3주령 SPF닭에 접종하여 항체 형성능을 평가함.

표 20. DIVA 백신의 항체 형성능

Virus	HI titer (log2)				
	0 DPI	7 DPI	14 DPI	21 DPI	28 DPI
rH5N2(K/310)	0.0	0.4 ± 0.9	6.0 ± 1.7	9.0 ± 1.9	8.6 ± 1.7
rH5N2(K/310)-PB2(01310)	0.0	3.0 ± 0.7	8.2 ± 0.5	10.4 ± 0.5	10.0 ± 1.2
rH5N2(K/310)-PB2(0028)	0.0	1.6 ± 1.1	6.4 ± 0.5	9.8 ± 1.1	9.4 ± 1.3
rH5N2(K/310)-PB2(01310)-M(Av)	0.0	1.6 ± 0.9	7.2 ± 1.1	10.4 ± 1.3	9.6 ± 0.9
rH5N2(K/310)-PB2(0028)-M(Av)	0.0	3.5 ± 1.9	7.3 ± 1.3	8.8 ± 1.5	9.0 ± 1.4

- DIVA 백신의 경우, 바이러스의 계태아 증식성도 높은 수준으로 유지되는 것을 확인할 수 있었으며 항체 형성능도 상당히 우수한 것을 확인할 수 있었음 (표 20). 즉 다른 subtype의 NA 유전자를 도입한 rH5N2 DIVA 백신은 H5N8 바이러스의 공격접종도 효과적으로 방어할 수 있으며 높은 항체형성능을 가지고 있는 것을 확인할 수 있었음.

4. DIVA 백신의 항체 감별 가능성 평가

- 다른 NA subtype을 이용한 DIVA 전략은 NA 단백질에 대한 항체 차이에 따라 구분할 수 있는 전략임. 본 연구팀이 개발한 DIVA백신의 감별 가능성을 평가하기 위하여 백신을 접종하여 얻은 항혈청내의 NA 항체를 통한 감별 방법을 개발함.
- Neuraminidase inhibition assay를 활용하여 항혈청과 01310 (H9N2), K10-483 (H5N1), H5N8 바이러스를 반응시킨 후 각 바이러스에 대한 Neuraminidase activity를 측정함으로써 반응성을 평가함 (그림 15).

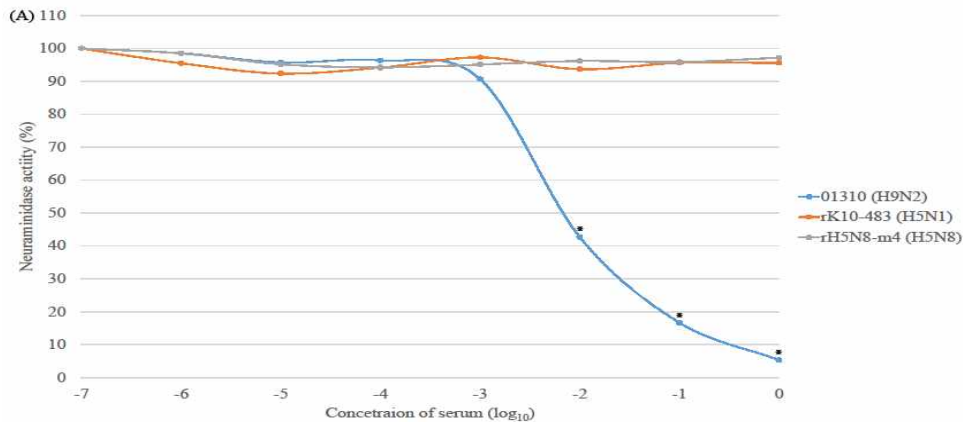


그림 15. Neuraminidase inhibition assay를 이용한 항혈청의 NA 반응성 비교

- 01310 바이러스의 NA 유전자를 활용한 H5N2 DIVA백신을 접종한 항혈청은 01310바이러스의 대한 Neuraminidase activity의 감소를 유도하였으나, NA subtype이 다른 rK10-483이나 rH5N8바이러스의 경우에는 Neuraminidase activity의 감소가 관찰되지 않음. 즉 다른 subtype의 NA를 활용한 경우 Neuraminidase activity 측정을 통해서 평가할 수 있는 것을 확인할 수 있었음 (그림 15).

4절. H5N8 고병원성 인플루엔자 바이러스 백신의 제작 및 특성 평가

1. H5N8 백신 후보주의 제작

- 최근 좀더 광범위한 HA 단백질에 대한 면역을 유도하는 방법으로 여러 바이러스들의 ‘consensus’ 서열을 인공적으로 합성하여 백신으로 사용하는 전략이 제시되고 있음 (Kim H, Webster RG, Webby RJ, 2018).
- 2014년 이후로 국내에서는 H5 clade2.3.4.4 고병원성 조류인플루엔자 (Highly Pathogenic Avian Influenza, HPAI) 바이러스에 해당하는 H5N8 바이러스가 전국적으로 유행하였고, database를 통해 국내·외에서의 분리된 야외주의 HA, NA 유전자 정보를 수집하여, 가장 빈도가 높은 아미노산 및 염기서열로 H5 유전자 및 N8 유전자를 합성함. 국내 분리주와 국외분리주가 차이가 나는 아미노산의 경우 국내분리주의 아미노산 서열로 맞춰주었음.
- 병원성을 낮추기 위해서 H5 cleavage site의 경우, REKRRKR에서 0028 바이러스의 cleavage site와 동일하게 ASGR로 변경하여 합성함.

- H5와 N8의 합성 유전자와 PR8 바이러스의 6개의 internal gene을 이용하여 제작한 바이러스의 경우 1ml 당 바이러스의 역가가 $10^{8.3}$ /ml 로 상대적인 증식성이 떨어지는 것을 확인할 수 있었음.

- 선행연구 결과, 저병원성 H5N1 바이러스인 A/wild duck/Korea/SNU50-5/2009(H5N1) (이하 snu50-5)의 경우, 계태아에서의 20번 이상의 계대를 거치면서 계태아에서의 증식성과 병원성이 높아졌으며, 전체 유전자 중에 PA에 1개, HA에 4개, NA에 1개, M1에 1개, M2dp 1개 아미노산 변이가 있음을 알 수 있음(Kim and Kwon et al. 2013).

- PR8 Backbone으로 snu50-5의 E2와 E20의 HA와 NA 재조합 바이러스의 증식성을 평가한 결과, 내부 유전자 없이도 snu50-5 E20의 HA와 NA만 치환한 경우, CEK와 MDCK에서의 증식성이 snu50-5 E20과 유사한 것을 확인하였음. 이를 통해, 내부 유전자가 아닌 HA와 NA에 생긴 변이가 50-5 바이러스의 증식성과 병원성에 가장 큰 영향을 주는 것을 알 수 있음(Kim and Kwon et al. 2013)(표 21).

표 21. snu50-5 바이러스의 E2와 E20 및 PR8재조합 바이러스의 계태아 증식성 및 CEK, MDCK cell에서의 증식성 비교(Kim and Kwon et al. 2013)

Virus	MDT ^a (hpi)	EID ₅₀ /ml ^b (log ₁₀)	TCID ₅₀ /ml (log ₁₀) ^c					
			CEK ^d			MDCK ^d		
			37 °C			32 °C	37 °C	42 °C
50-5-E2	35.0 ± 4.0	7.9 ± 0.3	6.4 ± 0.1	6.8 ± 0.5	3.8 ± 0.1	5.4 ± 0.4	6.7 ± 0.1	3.9 ± 0.0
50-5-E20	38.0 ± 4.2	10.0 ± 0.1	7.3 ± 0.3	7.8 ± 0.3	5.5 ± 0.1	6.0 ± 0.2	7.2 ± 0.1	5.3 ± 0.0
rPR8-HN(E2)	104.0 ± 31.7	7.6 ± 0.3	6.6 ± 0.3	7.0 ± 0.3	2.8 ± 0.0	5.7 ± 0.2	6.8 ± 0.1	< 2.25
rPR8-HN(E20)	120 ± 0	9.2 ± 0.3	7.3 ± 0.3	7.9 ± 0.6	3.8 ± 0.0	6.0 ± 0.2	7.8 ± 0.3	3.8 ± 0.0
rPR8-H(E2)N(E20)	NT ^e	7.8 ± 0.6	NT	6.3 ± 0.3	NT	NT	NT	NT
rPR8-H(E20)N(E2)	NT	8.6 ± 0.3	NT	7.3 ± 0.4	NT	NT	NT	NT
rPR8	NT	9.4 ± 0.3	8.3 ± 0.1	8.6 ± 0.3	4.3 ± 0.0	7.9 ± 0.3	8.7 ± 0.2	3.8 ± 0.0

^a Mean death time of 10-day-old SPF chicken embryos with standard deviation; hpi; hours post inoculation.

^b 50% of chicken embryo infection dose, EID₅₀/ml, geometric mean log₁₀ titer with standard deviation.

^c 50% of tissue cell infection dose, TCID₅₀/ml, geometric mean log₁₀ titer with standard deviation.

^d CEK: chicken embryo kidney cell; MDCK: Mardin-Darby canine kidney cell line.

^e NT: not tested.

- 위의 연구결과를 적용하여, H5N8 바이러스의 증식성을 높이기 위해 snu50-5 E20의 HA와 NA 유전자에 생긴 아미노산 변이를 적용하여 증식성을 평가하고자 함. 합성한 H5와 N8 유전자에 단일 변이 및 중첩 변이를 만든 H5와 N8 유전자를 각각 제작하였고, 이 유전자를 이용해 변이를 가진 PR8 backbone의 재조합 H5N8 바이러스를 제작하였음(표 22).

표 22. H5N8 바이러스의 HA와 및 NA유전자를 이용하여 제작한 PR8 backbone 바이러스

재조합바이러스	HA	NA	PB2, PB1, PA, NP, M, NS
rH5N8(P)	H5(clade2.3.4.4)	N8	PR8
rH5N8(P)-m8	H5(clade2.3.4.4)_H103Y	N8	PR8
rH5N8(P)-m9	H5(clade2.3.4.4)_K161E	N8	PR8
rH5N8(P)-m10	H5(clade2.3.4.4)_L317P	N8	PR8
rH5N8(P)-m11	H5(clade2.3.4.4)	N8_S369N	PR8
rH5N8(P)-m12	H5(clade2.3.4.4)_H103Y,K161E,L317P	N8_S369N	PR8

2. H5N8 백신 후보주의 증식성 평가

- 제작한 바이러스의 계태아에서의 증식성 평가 결과, H103Y 돌연변이는 단일 변화만으로 H5N8 인플루엔자 바이러스의 증식성을 증가시킬 수 있는 인자임을 확인할 수 있었으며, 모든 변이를 적용한 경우에도 약간의 역가 상승이 보였음. 이 결과를 통해 저병원성 H5N1 인플루엔자 바이러스 연구를 통하여 확보한 변이들을 인플루엔자 바이러스 백신주의 증식성을 높이기 위해 적용할 수 있음을 알 수 있었음(표 23).

표 23. 제작한 H5N8 바이러스의 계태아에서의 역가

재조합바이러스	HA	NA	Virus titer (log ₁₀ EID ₅₀ /ml)
rH5N8(P)	H5(clade2.3.4.4)	N8	8.33 ± 0.14
rH5N8(P)-m8	H5(clade2.3.4.4)_H103Y	N8	9.17 ± 0.14
rH5N8(P)-m9	H5(clade2.3.4.4)_K161E	N8	8.25 ± 0.25
rH5N8(P)-m10	H5(clade2.3.4.4)_L317P	N8	7.33 ± 0.14
rH5N8(P)-m11	H5(clade2.3.4.4)	N8_S369N	7.63 ± 0.32
rH5N8(P)-m12	H5(clade2.3.4.4)_H103Y,K161E,L317P	N8_S369N	8.83 ± 0.38

3. H5N8 백신 후보주의 항체 형성능 평가

- H103Y 단일 돌연변이를 통하여 낮은 증식성 문제를 해결한 rH5N8(P)-m8 백신 후보주에 대한 항체 형성능을 평가함.

- 백신 후보주 바이러스를 BEI를 통하여 불활화한 후, ISA70 Oil과 7:3으로 섞어서 Oil-adjuvant inactivated 백신을 제작함. 제작된 백신은 6주령 SPF닭에 1.5ml씩 근육접종하여 항체 형성능을 평가하였음 (그림 16).

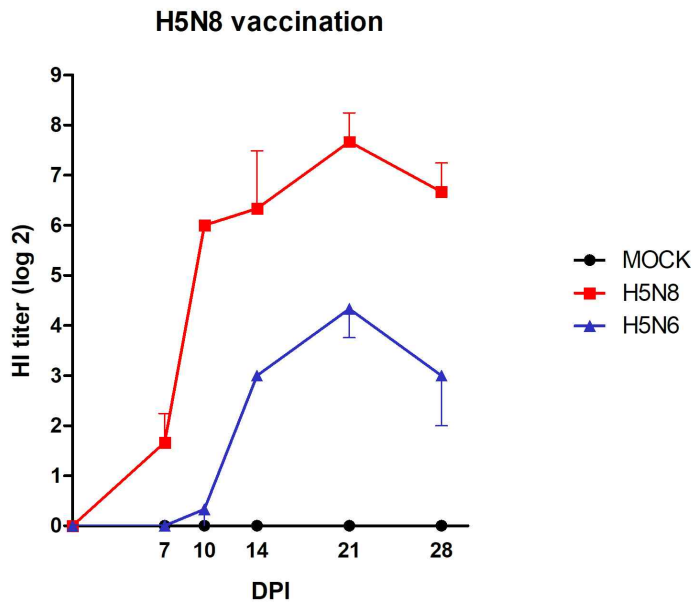


그림 16. H5N8 백신 접종 항혈청에 대한 항체 형성능 평가

- homogenous virus인 H5N8 항원에 대해서는 상대적으로 높은 항체역가를 확인할 수 있었으며, heterogenous virus인 H5N6 항원에 대해서도 약 16 titer 정도의 의미있는 항체역가를 확인할 수 있었음 (그림 16). 즉 H5N8 백신 후보주는 homogenous한 바이러스 뿐만 아니라, heterogenous한 H5N6 바이러스에 대해서도 일부 방어능을 가질 수 있음을 확인함.

5절. H5N6 고병원성 인플루엔자 바이러스 백신의 제작 및 특성 평가

1. H5N6 백신 후보주 바이러스의 제작 및 증식성 평가

- 가장 최근에는 clade 2.3.4.4.의 HPAI인 H5N6 바이러스가 중국으로부터 유입되어 전국적으로 유행하였고, 이에 대응하는 HA와 NA 유전자를 선정할 필요성이 있음.
- H5N6 바이러스는 같은 clade 2.3.4.4 임에도 불구하고 H5N8바이러스와의 아미노산 차이가 다수 존재하기 때문에 H5N8의 HA 유전자를 사용하지 않고, 국내·외에서 분리된 H5N6 서열을 모아 가장 빈도가 높은 염기 서열로 HA와 NA 유전자를 합성하였음. 합성한 HA 유전

자는 병원성을 제거하기 위해 cleavage site를 ASGR로 치환하였음.

- 합성한 H5 유전자와 N6 유전자를 이용하여, PR8 바이러스의 6개 internal gene을 가진 PR8 backbone의 재조합 바이러스를 제작함(표 24).

표 24. 합성한 H5 유전자와 및 N6 유전자를 이용하여 제작한 PR8 backbone의 재조합 H5N6 바이러스

재조합바이러스	HA	NA	PB2, PB1, PA, NP, M, NS
rH5N6(P)	H5(clade2.3.4.4)	N6	PR8

- H5N8과 달리 rH5N6(p) 재조합 바이러스는 HA유전자 조작 없이도 계태아에서의 증식성이 매우 높아 그대로 백신주 바이러스로 사용 가능함(표 25).

표 25. 제작한 H5N6 바이러스의 계태아에서의 역가

재조합바이러스	HA	NA	Virus titer (log10EID ₅₀ /ml)
rH5N6(P)	H5(clade2.3.4.4)	N6	9.17 ± 0.14

2. H5N6 백신 후보주 바이러스의 항체 형성능 평가

- rH5N6(P) 백신 후보주 바이러스는 HA 유전자 조작 없이도 계태아에서 상당히 높은 증식성을 보였음. 이를 바탕으로 rH5N6(P) 백신에 따른 항체 형성능을 평가함.

- rH5N6(P) 백신을 BEI를 이용하여 불활화 진행한 후, ISA70 오일과 7:3으로 희석하여 Oil-adjuvant inactivated 백신을 제작함. 제작된 백신은 6주령 SPF 닭에 1.5ml씩 접종하여 항체 형성능을 HI test를 통하여 평가하였음.

- HI test의 항원은 homogenous 항원인 H5N6항원, heterogenous 항원인 H5N8항원을 이용하여서 혈청내 항체값을 평가함 (그림 17).

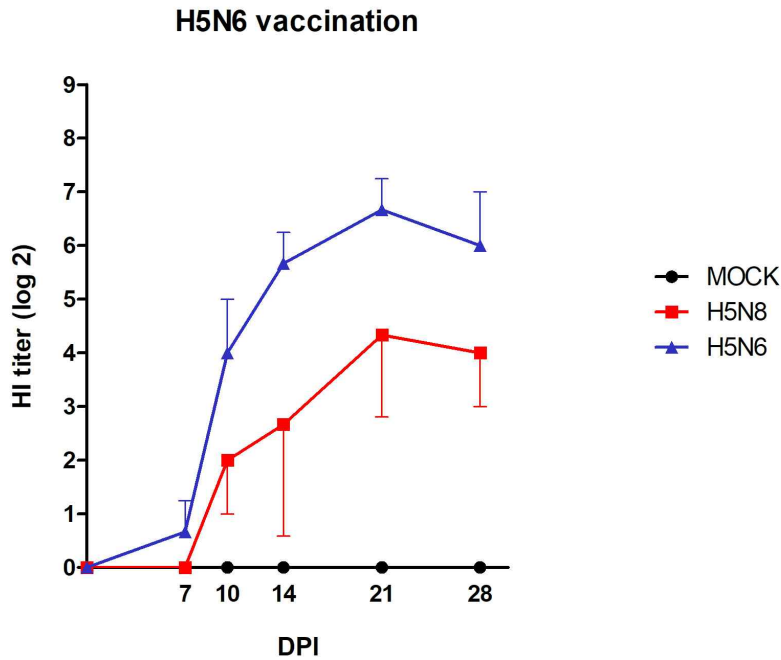


그림 17. H5N6 백신 접종 항혈청에 대한 항체 형성능 평가

- H5N6 백신 후보주는 증식성에 비하여 상대적으로 낮은 항체 역가를 확인할 수 있었음 (그림 17). 그러나 H5N8 백신 후보주와 마찬가지로 heterogenous 항원에 대해서도 일부 방어능을 가지고 있는 것을 확인할 수 있었음.

3장. 가금 백신 프로그램 최적화

1절. 불활화 제제의 선택

- 국내 저병원성 조류 인플루엔자 바이러스는 일반적으로 0.1% formalin을 이용하여 20도에서 10시간이상 반응시키는 방법을 사용함 (Choi et al., 2008). formalin의 경우 반응하는 단백질에 cross-linking을 유도함으로써 표면 단백질의 변성을 유도할 수 있으며, 이는 항체 결합력에 영향을 미칠 가능성이 높음 (Jagt et al., 2010). 마찬가지로 많이 사용되는 시약인 BPL (b-propiolactone)은 주로 핵산을 공격함으로써 항원을 inactivation 시키는 것으로 알려져 있음. 1
- Binary ethylenimine (BEI)는 aziridine 합성물로 바이러스의 핵산과 반응함으로써 epitope의 형태학적 변이나 접근성을 formalin이나 BPL 보다 높은 정도로 보존할 수 있는 것이 알려져 있음 (Razmaraii et al., 2012, Bahnemann et al., 1990). 즉 BEI를 이용하면 전체 바이러스의 형태학적인 변이를 유도하지 않은 상황에서 안전하게 불활화할 수 있을 것으로 기대됨.

2절. 백신의 조성

- 백신의 효능을 높이기 위해서는 적당량 이상의 항원도 중요하지만, 높은 면역을 유도하기

위해서는 적당한 adjuvant를 선택하여 면역반응을 유도하여야 함. 일반적으로 adjuvant는 화학적인 물질, 미생물내의 요소 또는 단백질로 이루어져 있으며 숙주의 면역반응을 향상시켜 높은 수준의 항체 형성을 유도함 (Lone et al., 2017). 10여 종류의 adjuvant에 대한 고병원성 인플루엔자 바이러스 항체 형성능을 비교한 결과, Montanide ISA 71VG, ISA70VG 그리고 GEL01 이 가장 높은 수준의 항체 형성능을 나타냄 (그림 18).

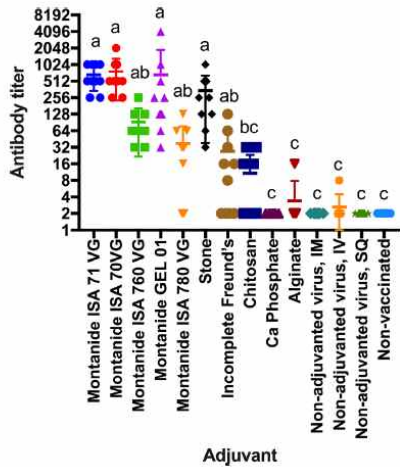


그림 18. adjuvant 차이에 따른 조류 인플루엔자 항체 형성능 비교 (Lone et al., 2017)

- 현재 국내에서 사용되고 있는 Montanide ISA70 제품은 가장 높은 평균 항체 형성능을 나타내었으며, 개체간 편차도 작은 것을 확인할 수 있음 (Lone et al., 2017). 또한 adjuvant를 사용하지 않고 inactivated vaccine만을 사용한 경우는 충분한 양의 항체가 형성되지 않는 것을 확인할 수 있었음.

표 26. 백신 조성에 따른 SPF 닭 항체 형성능

실험동물	접종경로	백신구성	동물수	항체역가 (log2)					
				6일 후		10일 후		14일 후	
				HI	VN	HI	VN	HI	VN
SPF 닭 (3주령)	근육	WIV 1ml	6	1.60	nt	6.33	nt	6.50	nt
		WIV 0.5ml	6	0.17	nt	3.50	nt	3.67	nt
		ISA70 1ml	6	0	nt	8.20	nt	9.83	nt
		PBS	5	0	nt	0	nt	0	nt

- 이는 본 연구실에서 SPF 닭을 대상으로 진행한 백신구성 실험에서도 비슷하게 확인됨 (표 26). 즉 ISA70같은 oil adjuvant를 사용한 백신의 경우 시간이 지남에 따라 항체 형성이 확연하게 증가하여 방어 역가 이상으로 올라가는 반면, adjuvant를 사용하지 않을 경우 항체 증가율이 현저하게 낮음을 확인할 수 있었음 (표 26).

- 위의 데이터를 바탕으로 현재 국내에서 저병원성 인플루엔자 바이러스 백신을 위해 사용

하는 Montanide ISA70 제품이 가장 적당한 oil을 기반으로 한 adjuvant임을 확인할 수 있었음. 즉 ISA70을 항원과 7:3으로 섞은 후 접종하는 것이 가장 효율적인 방법임을 확인할 수 있었음.

3 절. 백신 접종 적정 일령의 선택

- 병아리 내에 존재하는 모체 이행항체는 interference로 인하여 인플루엔자 백신의 효능을 감소시킬 수 있음 (Gharaibeh et al., 2013). 조류 인플루엔자 바이러스에 대한 모체 이행항체의 반감기는 약 4.2일 정도이며 10일 정도가 지나면 거의 측정불가 수치 이하로 떨어지는 것을 확인할 수 있음 (Gharaibeh et al., 2013). 위의 데이터를 기반으로 최근 연구에 따르면 조류 인플루엔자 바이러스 접종 추천 일수는 대략 10일에서 20일 사이로 추천하고 있음 (Gharaibeh et al., 2013).
- 일령 및 주령에 따른 항체형성능을 비교 평가한 결과, 4주령의 병아리에 백신 접종 결과가 항체 형성능이 가장 우수함을 확인할 수 있었음 (그림 19) (Stone et al., 1987).

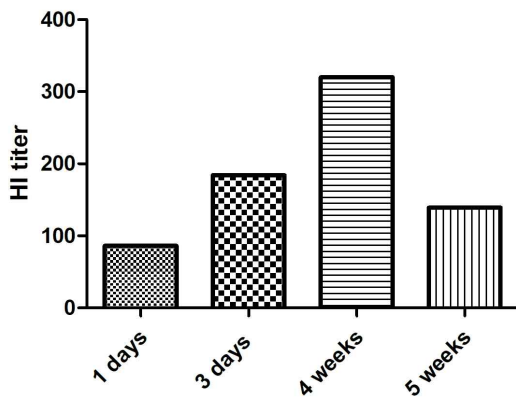


그림 19. 백신 접종 일령에 따른 항체 형성능 (Stone et al., 1987)

- 즉 모체이행항체가 간섭하지 못하는 10-20일령 사이와 항체 형성능이 가장 좋았던 4주령의 중간지점인 3주령의 병아리를 대상으로 백신 접종하는 것이 가장 좋은 항체형성능을 유도할 수 있을 것으로 기대됨.

4장. HPAI 발생단계별 백신 적용 전략 및 운용방안 (SOP)

1절. HPAI 발생단계별 백신 적용 전략 및 운용방안 (SOP) 목적

- 고병원성 조류인플루엔자(highly pathogenic avian influenza, HPAI) 방제 및 근절을 위한 긴급 백신접종(emergency vaccination) 정책 수립에 있어서 의사결정 과정, 전략 수립, 접근 방안 및 운용방안 수립 과정의 과학적 타당성을 확보할 수 있도록 기술적으로 규정하고자 하는 것임.
- 비상시에 대비한 긴급 백신접종 정책을 시행할 때 필요한 총체적 적용방법, 감염계의 모니터링, 감염농장에 대한 예방적 차원의 살처분 및 처리 등에 관하여 거시적 운용방안과 지침을 설정하고자 함.

2절. 백신 적용 지침 수립 전략

1. 조기검색 및 조기근절 정책의 전략적 유효성

- HPAI 유입시 초기단계의 전파 확산 차단과 조기근절을 위해서 OIE 및 FAO 등에서 권고하는 대로 다음의 방역원칙이 준수되어야 하며, 이를 위한 세부 방역정책을 수립하여 정확하게 시행하는 것이 필수적인 사항임.

가. 조기검색 및 조기경보 시스템 정립 (Early detection and early warning)

- 유입 위험요인에 대한 광범위하고 과학적인 예찰이 전제되어야 함.

나. 정부 차원의 신속 투명한 공지 및 홍보(Rapid and transparent notification)

다. 조기 진단 및 확진체계 수립(Rapid confirmation of suspects)

- 라. 신속하고 정확한 방역대책의 시행: 양성농장 및 위험농장에 대한 신속한 예방적 살처분, 사체 처리 및 추가 확산 차단을 위한 엄정한 사후관리

2. 긴급 백신적용 정책의 불가피한 선택과 운용 전략

- 국제기구의 권장과 선진국의 선례에 따라 최대한 살처분/조기근절 정책으로 초기발생 단계에서 HPAI 확산을 차단하고, 조기에 근절하는 방안이 산업보호나 국민 건강보호의 측면에서 최선의 방안으로 평가되고 있음.

- 그러나 아래 조건에 해당되는 경우, 불가피하게 긴급 백신접종 정책과 살처분/조기근절 정책으로 선회할 수 있는 차선택을 수립해 두어야 할 것임.

가. 살처분/조기근절 정책의 수행에도 불구하고 초기방역 실패 또는 광범위한 전국적 확산 추세로 인하여 살처분/조기근절 정책만으로 방제가 어렵다고 판단될 경우

나. 가금산업계가 수용하기 어려울 정도로 살처분 규모의 확대가 예상될 경우

다. 밀집사육 특정지역 또는 특정 희귀종을 보호하기 위한 정책적 백신접종이 필요할 경우

3절. 백신접종 기대효과

- HPAI에 대한 백신접종은 여러 가지 면에서 장/단점이 있기 때문에 지향하는 목적에 따라서 다양하게 검토되어야 하며, 단기적 측면뿐만 아니라 장기적, 종합적 측면에서 함께 검토하고 신중히 선택되어야 함.

1. 동물에 대한 영향

가. 긍정적 측면

- HPAI 상재국에서 백신접종 정책 실시로 가금류 발생 규모와 인체 감염사례가 감소한 것은 매우 긍정적 효과이며, 환경에 미치는 영향 등도 긍정적인 결과를 보였음.

- HPAI 발생 피해가 지속되거나 상재화된 국가에서 야외농장에 백신을 광범위하게 사용한 경험과 현재까지의 시험 결과 및 야외 상황을 종합해 볼 때, 유행하는 야외주와 항원성이 일치하면서 방어에 충분한 함량을 가지고 있는 백신은 높은 효과를 발휘하는 것으로 평가됨.

*** HPAI 상재국에서의 백신접종의 효과와 의의는 아래와 같이 요약할 수 있음.**

(1) 백신접종 개체에 HPAI에 대한 면역을 형성시켜 질병에 대한 저항성을 높여 줌으로써 감염율과 임상증상을 완화하고 폐사율의 격감을 유도함.

(2) 백신접종 개체는 면역획득으로 인하여 감염 시에도 체외로 바이러스 배출량이 적어서 환경오염 감소와 질병의 전파/확산 차단에 큰 기여를 할 수 있음.

(3) 살처분/조기근절 정책의 시행시의 예방 살처분 두수가 감소하므로 외형적으로 가금 산업의 연속성을 유지할 수 있음.

(4) 가금의 HPAI 감염건수 감소로 다른 동물 및 사람의 감염 위험성을 감소시킬 수 있으며, 총체적으로 AI의 방제와 예방에 있어서 효과적인 보조적 수단으로 사용되고 있음.

나. 부정적 측면

- 베트남, 중국 등 HPAI 상재국에서는 피해 최소화 차원에서 백신접종 정책의 채택이 어렵지 않겠으나 일시적 발생국에서는 백신접종 정책 채택후의 문제 때문에 정책결정이 매우 어려움.

- 특히 비상재국 지위에서 발생시마다 매번 새로운 HPAI 바이러스가 유입되는 우리나라의 경우, 통상적으로 초기 발생 1개월 ~ 1.5개월 내에 질병의 확산에 대한 통제(진정세)가 이루

어저 왔음.

- 그런 상황에서 백신접종 정책 채택 시 항원뱅크 등의 준비가 완료된 상태에서도 적어도 2개월 이후에야 본격적인 예방접종이 시작될 수 있을 것으로 예상되므로 실제적인 백신접종 정책의 효용성이 의문시되고 있음.

*** 긴급 백신접종 정책 채택시의 부정적 측면을 기술적으로 요약하자면 다음과 같이 정리할 수 있음.**

(1) 백신접종 시 감염되어도 임상증상이나 폐사가 잘 드러나지 않지만(silent infection), 여전히 일부 감염계로부터 배출농도는 낮으나 바이러스가 체외로 배출되어 질병확산과 환경오염을 일으킬 수 있음.

(2) 이로 인하여 농가의 자발적 발생신고를 기대할 수 없으며, 살처분/이동통제 등의 국가방역의 수단도 적용하기 곤란하기 때문에 방역당국이 인지하지 못하는 상태에서 전국적 확산이 초래될 우려가 있음.

(3) 결과적으로 백신접종 시 조기근절이 어렵거나 지연될 수 밖에 없으며, 1~2년 간격으로 다른 종류의 AI 바이러스가 지속적으로 유입되는 상황에서는 최악의 경우 중국, 동남아와 같이 다양한 종류의 바이러스가 유행하면서 근절이 불가능한 상황에 처할 가능성도 있음.

- 2010년 구제역 백신 접종 이후 2018년까지 구제역이 지속적으로 발생하는 상황이 전형적인 사례이며, 국제기구에서도 백신접종시 조기근절이 어려움을 적시하고 있음.

(4) 백신 역가가 낮거나 항원성이 맞지 않는 백신을 사용할 시, 질병 방어효과 및 바이러스 배출 억제 효과가 낮으므로 오히려 야외바이러스의 돌연변이를 촉발할 수 있다는 연구보고 다수 존재함.

(5) 주요 피해종이 오리이지만 HPAI 백신은 오리에서의 방어력이 낮기 때문에 닭에서보다 고농도의 백신을 투여해야 유사한 효과를 기대할 수 있으나 현실적으로 야외에서 방어력이 뛰어난 오리백신은 아직 실용화되지 않았음.

(6) HPAI 상재국에서는 백신접종으로써 가금류 발생과 인체 감염을 감소시키지만 비상재국의 백신접종은 미인지 감염이나 은폐로 인하여 오히려 인체 감염 사례가 발생할 위험성 증폭.

(7) 장기적으로는, 전국적 백신접종 비용과 관리비용, 진단에 소요되는 추가 비용, 근절 지연으로 인한 산업적, 사회적 피해 등 종합적인 면을 고려하면 국가방역에 있어서 훨씬 더 많은 비용이 요구될 것임.

- 최근 중국의 연구 결과, 백신접종의 긍정적 효과보다 부정적 효과가 크다는 논문 발표: 백신접종 시 피해는 대폭 감소하나 질병 근절이 어렵고, 장기적으로 살처분 근절정책 비용이 백신접종 비용의 1.36% 불과하여 정책전환이 필요함을 제안함(Nature Scientific Report, 2017)

2. 공중보건에 미치는 영향

가. 긍정적 측면

- 국가방역이 실패한 HPAI 상재국에서 가금류에 대한 백신접종은 인체 감염 위험성을 감소시키며 통계상으로도 입증되고 있음.

- 국가방역체계가 성공적으로 작동되지 않거나 통제되지 않은 상황에서는 HPAI 만연으로 인한 인체 감염 가능성이 증가한다는 사실에 견주어 보면, 백신접종으로 인한 질병 감소와 감염체의 바이러스 배출량 감소는 공중보건에 유리한 조건을 조성하고 있는 것으로 평가.

나. 부정적 측면

- HPAI 비상재국 지위에서 HPAI 예방 또는 피해 감소를 위하여 신중한 검토 없이 백신을 접종한다면, 공중보건 면에서 인체감염 조건을 조장할 우려 상존함.

- 백신접종축은 감염되어도 증상이 없거나 약하므로 축주의 미인지 또는 고의적 미신고로 방역당국의 미인지 상태에서 바이러스에 오염된 가금산물이 시중에 유통될 위험성 증가 → 오염 가금산물이 소비자의 가정이나 재래시장 등에 돌고 있다면 인체 감염 사례가 발생할 위험성이 오히려 증가할 수 있음.

- 백신접종 후 조기근절 곤란으로 인하여 HPAI 상재국이 된다면 재래시장 등 방역 사각지대에서 언젠가 인체 감염이 발생할 위험성을 내재하고 있음.

4절. 주변국 및 선진국의 백신접종 상황에 대한 분석

1. HPAI 발생 상재국(endemic disease)의 백신접종

- HPAI 백신접종 경험이 있거나 연중 백신을 접종하고 있는 15개국 중에서 전국적인 백신접종 정책 채택국은 중국, 이집트, 인도네시아, 베트남, 홍콩 5개국이며, 모두 HPAI가 이미 상재화된 이후 전국적 백신을 실시함으로써 HPAI 피해 최소화 정책 목표를 설정해 왔음.

- 2018년 3월 현재 HPAI는 H5N1, H5N2, H5N6, H5N8 등 다양한 종류의 바이러스에 의하여 발생하고 있고, HPAI 연중 발생 4개국 (중국, 인도네시아, 이집트, 베트남)은 상재화 이후 백신접종을 실시한 이래 연중 전국적 백신접종 실시 중.

- 백신정책으로 HPAI를 박멸한 국가는 홍콩이 유일함: 홍콩은 도시국가로서 방역정책 시행이 비교적 용이하였고, 철저한 살처분 박멸정책 병행함으로써 근절 달성.

- 백신접종 상재국에서도 과도한 장기적 백신접종 비용으로 인하여 전국적 백신접종 정책을 수정하는 추세에 있으며, 위험성이 높은 특정 목표에 한정하여 백신접종을 하는 표적 백신접종(targeting vaccination) 정책으로 전환을 모색하고 있음.

- 백신접종 시 피해는 대폭 감소하나 질병 근절이 어렵고, 장기적으로 볼 때 살처분 조기근절정책 비용이 백신접종과 살처분 병행시 비용의 1.36% 불과하여 정책적 전환 필요성 역설(중국, Nature Scientific Report, 2017)

2. HPAI 조기근절 목적의 긴급 백신접종 국가

- EU 및 미국, 일본 등의 국가에서는 AI 백신의 통상적 사용 금지 기조를 유지하면서 비상용 긴급 백신(emergency vaccination)과 한정된 농장이나 조류에 대하여 한시적으로 접종하는 예방적 백신(preventive vaccination) 접종은 조건부로 인정하고 있음.

- 프랑스, 네덜란드, 이스라엘 등이 HPAI에 대하여 긴급백신을 사용한 경험이 있지만, 비상 조치로서 특정구역에 대한 제한적 예방접종이나 방역대를 중심으로 한 환상 예방접종(ring vaccination)을 실시하였음.

- 백신접종 정책과 함께 감염농장 및 지역에 대한 철저한 살처분/박멸 정책 병행
- 비발생 시 백신접종축에 대한 살처분 실시로 조기근절 기간을 단축하였음.

3. 백신접종 계군과 야외감염 계군의 감별

- 실험실적으로 감별 가능한 DIVA 백신과 혈청학적 감별법은 개발되었으나 광범위한 대량의 야외 가검물을 대상으로 한 용이한 항체 감별 검사방법은 현실적으로 정립되지 못하였음.
- 백신접종 계군 또는 개체의 감염에 대하여는 항원 또는 바이러스 분리에 의하여 야외감염을 진단하여야 하나 전국의 양계장과 오리농장을 대상으로 실시하는 것은 현실적으로 불가능.
- 백신접종축과 감염축에 대한 확실한 감별 백신과 혈청학적 진단체계 (DIVA)를 실용화하기 전에 사전 준비없이 시행할 경우 혼란을 초래할 우려가 있음.

5절. 국내 백신접종 정책 시행시의 전제조건 및 필요조건

1. 백신접종 정책 시행단계의 필수조건

- 백신접종 시에는 HPAI 야외감염이 있어도 임상증상과 폐사가 전형적으로 나타나지 않으며(silent infection), 사육농가의 신고 기피나 의도적 은폐를 비롯한 도덕적 해이가 질병근절의 큰 장애요인이 될 것으로 예상됨 .
- 백신을 접종하여도 감염시 바이러스 배출이 일어날 수 있으므로 이에 대한 철저한 대비책이 없으면 백신접종으로 인하여 오히려 중국 및 동남아국가와 같이 전국적 만연 초래 → 결과적으로 전국적 상시 백신접종국으로 전락할 우려가 높아짐.
- 따라서 긴급 백신접종과 함께 아래와 같이 조기근절을 위한 철저한 방역조치 병행 필수.

가. 양성농장 및 발생 위험농장에 대한 살처분 및 이동통제 정책의 철저한 병행

- 그렇지 않을 경우 조기근절이 불가하고, 오히려 질병이 상재화될 위험성이 높음.

나. 철저한 예찰과 검색 시스템 구축 및 적용

- 장기적으로 전국적 만연을 초래하는 역작용을 초래할 우려가 있으므로 이를 차단하기 위한 필수적 조치임.

다. 백신접종 후 야외바이러스 변이에 대한 감시체계 구축 및 주기적인 백신의 효능 평가

- 장기간의 백신접종은 야외 바이러스의 변이를 촉진하여 질병의 통제가 어려움.

라. 백신접종 시 적용하여야 할 구체적인 방역 수단은 아래와 같이 요약할 수 있음.

- ① 조기근절을 목표로 백신접종 농장 및 살처분 농장에 대한 철저한 사후관리

- ② 질병의 확산을 차단하기 위한 위험요인에 대한 효과적 이동통제
- ③ 농장이나 소규모 사육농가, 관련 산업 및 시장에서의 철저한 차단방역 (biosecurity)
- ④ 사육현장 및 시장 형태의 개선: 감염 위험을 최소화 하기 위하여 가금 사육형태는 물론 가금의 수송체계 및 운반차량에 대한 개선, 방역에 부적절한 시장 형태의 변화를 함께 도모하여야 함.
- ⑤ 사육 및 유통현장에 대한 철저한 능동적 감시체계 (active surveillance)와 조기진단 시스템 유지

- 가금 사육 현장이나 소규모 방사 가든형 식당을 포함하여 생닭이나 오리 등 살아있는 조류를 판매하는 재래시장 (live bird market, LBM)과 관련 중개상인에 대한 감염실태 조사와 조치 및 조기진단 체계의 적용.

- 생산자/관련 단체 및 국민에 대한 정확한 정보제공 및 소통체계를 구축하고 질병 예방법 등 적절한 교육을 통하여 국민적 협조와 신뢰성을 확보하는 것이 필수적임.

2. 조기면역 및 고도 면역획득률 (vaccination coverage) 확보를 위한 백신접종 전략 수립

가. 면역획득율은 백신접종 정책의 실효성과 밀접한 관련이 있으므로 실제적인 가금농장의 백신접종률을 검증하기 위하여 백신접종축에 대한 항체검사는 필수적이며 HPAI에 대한 최적의 예방효과를 발휘하기 위하여는 면역획득율을 80% 이상으로 유지하여야 함.

- 야외 농장에서 백신과 백신접종 실패의 가장 주된 이유는 백신 접종량이 적거나 낮은 면역획득률로 인하여 감수성 있는 계군의 면역획득 실패 때문임.
- 이집트의 경우, vaccination coverage가 낮아서 백신접종 정책이 실패한 사례이며, 개별 농가 단위로는 36%의 가금만이 백신을 접종하였고, 상업적 대규모 농장 단위에서는 50%~60% 정도가 백신을 접종한 것으로 분석되고 있음.

나. 백신접종에 의한 면역획득율을 감소시키는 또 하나의 요인으로서 항원적으로 부적절한 백신을 사용한 오류도 지적되고 있기 때문에 현재 유행하는 바이러스의 항원성과 정확하게 일치하는 백신의 선정과 사용이 필수적임.

- 항원성 면에서 백신주가 야외주를 충분히 방어할 수 없을 정도로 야외주의 변이가 급속하게 진행되어 왔기 때문에 기존의 백신에 의한 방어면역 획득률이 낮아지게 됨.

다. 백신접종팀 구성 및 관리체계 확립

- 긴급백신 접종시 백신접종팀의 구성과 운영 및 이들에 의한 HPAI 확산을 차단하기 위한 고도의 차단방역(biosecurity) 매뉴얼이 작성되어야 할 것임.

3. 백신접종축에 대한 예찰 및 모니터링 방안 및 야외감염축과의 감별방안 확립(별도 기술)

4. 출구전략(Exit strategy) 수립(별도 기술)

6절. 비상 시에 대비한 항원뱅크 구축/백신 생산기술 확립

- 비상용 백신 사전 확보를 위한 접근방법은 백신후보주 뱅크(strain bank) 확보, 항원뱅크(antigen bank) 구축, 백신 완제품 물량 비축(vaccine stockpiling)으로 크게 세가지 방향에서 접근할 수 있음.

- 사전 확보한 백신 물량이 유입된 백신주와 항원성이 일치하지 않을 경우에 대비하여 야외주를 이용한 긴급 사독백신(inactivated vaccine) 제조 방안과 항원성이 가장 유사한 주변국의 백신을 긴급 도입하는 방안이 검토되어야 함.

- 사전 예측이 매우 어려운 HPAI 바이러스 유행 특성상 확보된 백신뱅크가 방어력을 발휘하지 못할 경우 역유전학 방법에 의한 초단기 긴급 백신 제조방법 확립 및 효능검증 기술 확보가 권장됨: 야외주를 이용한 긴급 사독백신 제조 및 사용은 3~4개월 이상이 소요될 것으로 예상됨.
- 긴급 백신 도입 및 면역원성 및 안전성 검증에도 상당한 시일이 소요될 것이며, 백신의 조기검정 방안이 수립되어야 함.

1. 비상용 긴급백신(emergency vaccine) 확보를 위한 방법 간의 장단점

가. 백신 seed 뱅크 구축

- 향후 유입이 예상되는 바이러스에 대하여 백신 후보주(seed)를 미리 확보해 두는 방법으로서 예산이 가장 절약될 수 있지만 백신 대량생산에 장시간이 소요되므로 비상시 대비책으로는 부적절한 것으로 평가됨.

나. 항원뱅크 구축

- 유사시 백신 완제품 제조를 위하여 면역보조제(adjuvant) 첨가 등 추가 공정이 필요하지만 1주일 이내에 이를 완료할 수 있고, 다양한 종류의 항원뱅크 구축이 가능하며, 미사용 시 준비에서 폐기까지의 총예산도 완제품 폐기에 비하여 대폭 절감될 수 있어 국내 현실에서는 최선책으로 평가할 수 있음.

다. 백신뱅크(vaccine bank, 백신 완제품) 비축(stockpiling)

- 비상시 즉각 사용할 수 있는 장점이 있으나 다양한 바이러스 종류별 확보에 많은 예산과 넓은 비축시설이 별도로 필요하고, 항원성이 다른 종류의 HPAI가 들어왔을 때 사용이 불가하거나 살처분 정책에 의한 조기근절로 미사용 시에는 생산에서 폐기까지의 비용이 가장 높아 예산 낭비 지적을 유발할 수 있음.

- 백신뱅크는 긴급 백신접종 프로그램 준비에서 매우 중요한 부분을 차지하며, H5 백신을 포함한 백신은행을 가지고 있는 국가는 모두 10개국임: 3개국은 H5와 H7형 모두에 대하여

백신은행 구축.

- 백신뱅크의 양은 subtype별로 50만에서 5천5백만 수로 다양하지만 대부분 국가들은 subtype별로 평균 350만 dose 정도를 보유하고 있는 것으로 조사됨.

<기술적 판단>

- 국내에 유입된 5회의 HPAI 바이러스가 매년 다른 유전적 clade에 속하고, 교차면역원성이 부족할 정도의 변이주라는 사실을 근거하면, 미래에 유입될 바이러스의 예측은 매우 어려우므로 긴급백신용 stockpile은 주기적으로 폐기될 가능성이 매우 높음.
- 선진국의 사례로 볼 때, 방역시스템이 정립된 국가의 경우 살처분 조기근절 정책의 효율성이 훨씬 높기 때문에 항원성이 일치한다고 가정하여도 완제품을 실제로 사용할 가능성은 매우 낮고, 따라서 소요 예산에 비하여 정책적 효용성은 매우 낮은 것으로 평가되고 있음.

2. 항원뱅크 구축

가. 백신주 선정

- 백신접종 정책을 시행하지 않더라도 비상 상황에 대비한 백신 제조기술과 백신 물량확보는 필수적이며, 백신주(vaccine seed)는 검역본부에서 세계적 유행주와 국내 상황을 종합적으로 분석하여 단일화된 백신주를 선정, 공급함이 국가방역의 목적에 부합됨.

- 백신 제조기술은 국내 여러 대학이나 연구소에서 이미 단편적으로는 개발되거나 준비된 상태지만 검역본부를 중심으로 종합적으로 검토하여 세계적으로 통용될 수 있는 단일화된 백신을 선정, 운용하는 것이 혼선을 예방할 수 있음.

나. Clade 별 항원뱅크 비축

- 7차에 걸친 국내 유입 바이러스의 유전자 유형(clade)과 중국 및 동남아 등 주변국에서 유행하는 유형을 중심으로 병원성이 높거나 광범위한 분포를 보이는 유형, 인체 감염 위험성 등의 면에서 새로운 대비가 필요한 후보주를 중심으로 선정하는 전략이 유효함.

- 우선적으로 clade 2.3.2.1(C) 1종과 2.3.4.4. 2종(C 및 A)을 생산 비축하고 향후 발생 추이에 따라 2.3.4.4(B)와 2.3.4.4(D) 및 H7N9과 항원성이 부합되는 백신을 후보주로 선정하여 확보 또는 개발하는 전략이 가장 유효할 것으로 판단됨.

(1) clade 2.3.2.1(C)

- H5N1에 속하는 clade 2.3.2.1(A, B, C, D)가 중국 및 동남아시아 국가에 유행하고 있고, 그 중 2.3.2.1(C) 현재도 가장 우세한 유전자형이므로 이 유형의 유입에 대비하여 선정 필요함.

(2) clade 2.3.4.4(C)

- H5N2, H5N6, H5N8 등 현재 중국을 비롯하여 세계적으로 유행하고 있는 유전자 그룹

으로서 국내에도 2014(H5N8), 2016(H5N6)년에 유입되어 큰 피해를 초래한 유형이며, 현재도 세계적으로 확산되면서 지속적으로 변이되고 있는 유형임.

(3) clade 2.3.4.4(A)

- clade 2.3.4.4. 유형간에는 상당한 교차면역원성이 있는 것으로 평가되고 있으나 2.3.4.4(C)와 2.3.4.4(A)간에는 교차면역원성이 상대적으로 부족하므로 2.3.4.4(A) 형이 재 유입 될 경우 또는 이와 유사한 유전자 그룹이 유입될 경우에 대비하여 선정 필요함.

(4) clade 2.3.4.4(B) 및 clade 2.3.4.4(D)

- 중국 및 동남아 등 인근국가에서 광범위하게 유행하고 있어 앞으로 변이주로서 새롭게 출현한 가능성이 있음.

(5) H7N9

- 2014년 이후 중국 남부에서 시작한 H7N9 바이러스는 가금류에는 저병원성의 특성을 지녔으나 인체 감염이 대량으로 발생하고 있고, 2017년에는 가금류에도 고병원성의 특성으로 변이되고 인체 감염도 지속되고 있음. 따라서 야생조류 또는 기타 요인에 의한 국내 유입이 가장 위협적인 요인이 되고 있음.

다. 항원뱅크의 제조, 평가 및 백신 생산 관리

- 백신 제조업체에 대하여 백신주 및 백신제조 기술의 전수, 교육이 필요하며, 매년 이에 대한 예산 확보와 훈련 방식 수립 필요: 기술적 완성도 향상을 위한 제조기술 점검 및 정기교육 시스템 구축 등이 필요함.

- 제조회사별 시설 및 백신생산 능력 분석으로 실질적 제조역량 및 공급방안 평가와 보완이 지속되어야 함: BSL-3 시설 및 기술인력 규모 등

- 긴급백신 사용 정책 결정시에 대비하여 HPAI 최초 발생단계에서 유행주와 항원뱅크의 항원성 연구 착수 필요함.

- 항원뱅크의 관리를 위해서는 다음과 같은 세부적 절차와 방법이 규정되어야 함.

(1) 생물학적 제제 생산업체 기술전수 및 백신후보주 분양

(2) 제조된 항원뱅크의 면역원성 및 안전성 평가

(3) 백신 완제품에 대한 면역원성 및 안전성 평가

- 항원뱅크로부터 긴급 백신제조 착수: 항원뱅크의 항원과 면역보조제(adjuvant)로 사용하는 mineral oil을 혼합한 백신 완제품 제조

- 최종 백신에 대한 면역원성 평가는 항원뱅크 구축 단계에서 완료해 두도록 권장함.

(4) 항원뱅크의 면역지속성 및 안정성 관리

3. 백신뱅크의 교차방어력 확장을 위한 기술 확보

가. 2가백신의 조합에 의한 교차면역원성 확장

나. 2회접종 시 백신주를 달리한 백신접종법의 교차면역원성 조사 및 기술 확보

7절. 비상용 HPAI 백신 효능 및 안전성 조기평가와 단기 허가제도 (fast-track registration)의 정립

- 비상용 백신의 사용에 대한 조기허가 제도의 별도 구비
- 비상시 대비 긴급백신 접종이 가능할 수 있도록 항원뱅크 또는 역유전학 기술을 통하여 긴급 제조한 백신 및 긴급도입 백신의 효능과 안전성 평가를 위하여 조기검정 시스템이 구축되어야 함.
 - 제조 백신에 대한 정부의 허가에 수개월 이상이 소요되므로 긴급백신에 대하여는 정책 결정후 2주 이내에 백신의 품질에 대한 검정이 가능하도록 별도의 긴급 검정시스템 마련 필수.
- 비상용 백신의 제조허가를 조기에 완료하기 위한 허가체계(platform-based vaccine 또는 별도의 비상백신 허가체계) 사전 정립 필요함.
- 유입 HPAI 바이러스에 대한 항원뱅크의 안전성 • 유효성 시험 실시: 최초 발생과 함께 분리된 HPAI 바이러스에 대하여 기존의 항원뱅크 백신주가 효력을 발휘하는데 항원성 일치 여부에 대한 긴급 시험 수행이 필수적임.
- 유입된 HPAI가 새로운 유형 또는 변이주여서 항원 뱅크의 백신주가 효력을 발휘하지 못할 경우, 새로운 야외주를 이용하여 역유전학 기술(reverse genetics)을 긴급 백신주 작성 시험에 착수함.

8절. 백신접종 의사결정구조 설정을 위한 주요 요소

- 백신접종 정책 검토 시 최우선적 고려사항은 HPAI 백신접종의 정확한 목적과 방향설정에 두어야 할 것임.
- 목표가 조기근절인지 피해 최소화인지 분명해야 방향설정이 가능하며, 전자일 경우 비발생 단계에서 백신접종축의 살처분이 필수적이고, 후자일 경우 중국과 동남아국가와 같이 질병의 상재화 및 백신 상시접종국으로 전략하지 않도록 특별관리 필요함.
- 백신접종을 하였다는 방심에서 비롯된 농가의 방역인식 해이로 국가방역시스템이 와해될 우려 상존.

- 비상재국은 대부분 백신접종 없이 살처분 조기박멸 정책을 채택하고 있으며, 특별한 상황에 한하여 한시적으로 백신접종 정책 시행.
- 2017년 10년만에 H5N6에 의하여 HPAI가 발생한 필리핀, 말레이시아에서도 살처분 조기박멸 정책을 실시하여 근절단계에 있음.
- 결론적으로, 긴급 백신접종 정책 결정시 조기근절에 대한 고려가 가장 우선적이고 비중있게 검토되지 않으면 백신접종 정책이 HPAI 상재화를 초래하는 우를 범할 수 있음.
- 상재화 시 새로운 바이러스의 유입 여부와 무관하게 연중 발생국으로 전락하므로 인체감염 발생을 예측하기 곤란하며, 방역의 사각지대에서 인체감염 발생 가능성 증대.
- 따라서, 백신접종 정책을 채택하여 시행할 경우 상기 위험성을 최소화할 수 있는 전제조건을 충족시키면서 현재 상황에 적합한 종합적 방제프로그램의 부분적 수단으로서만 적용하여야 하며, 다음과 같은 질병 방제를 위한 요인이 고려되어야만 성공적인 성과를 기대할 수 있음.

1. 현 발생상황 및 살처분 조기근절 정책 성공 가능성에 대한 정확한 분석과 판단

- 과거 6차례의 HPAI 유입시 방역 성공에 의한 조기근절 목표가 달성된 1~4차의 경우 최초 발생 1개월 전후에 확장세가 진정세로 전환되어 근절의 기반이 조성되었음.
- 초동방역이 실패한 2016~17년도의 경우 최초발생 1.5개월이 지나서도 확산 추세가 꺾이지 않았고, 이러한 상황은 전국적 백신접종 정책 결정 여부의 경계선에 처한 상황으로 설정할 수 있음.
- 초동방역 상의 허점을 보완해서 1개월이 지난 시점의 확산세가 진정세로 돌아설 수 있다면 백신접종 정책 검토가 불필요 하므로 정책적, 기술적으로 백신접종 없는 살처분/조기근절 정책의 성공 가능성을 정확하게 분석하고, 냉정하게 검토하여야 함.
- 조기근절 성공 가능성과 조기근절에 실패하였을 경우에 예상되는 경제적 손실 및 장기적 백신접종과 사후관리비용 등을 면밀히 비교한 후 과학적, 경제적, 사회적 타당성이 인정될 경우 백신접종 정책을 결정함이 타당함.
 - 정치적 고려에 의한 백신접종 정책 결정은 장기적으로 국가와 산업의 큰 부담으로 작용.
- 비상상황에 대비한 긴급백신 접종은 확산과 대량발생을 방지할 수 있으나 반드시 살처분 박멸정책과 병행하여야 하며, 백신접종 후의 사후관리와 출구전략의 성공 여부에 따라 청정국 또는 상재국으로 상황이 극명하게 엇갈릴 수 있음이 정책적 판단의 기초가 되어야 함.

2. 감염농장 및 위험농장에 대한 신속한 살처분/조기근절 정책 병행

- OIE, FAO 등 국제기구의 권고사항으로서 백신접종 정책 채택시에도 감염농장 가금류 살처분 및 반경 500m 이내 가금류의 신속한 예방 살처분 정책은 이 바이러스의 전파와 감염 확산을 차단하기 위한 필수적인 조치임.
- 중국의 경우에도 예방접종 정책과 함께 감염농장 반경 3km이내 예방 살처분 정책 병행 실시하고 있으나 현장에서의 미수행으로 조기근절 불가.

3. 백신주의 항원 적합성 평가 및 지속적인 야외 바이러스의 변이 모니터링

- 조기근절을 위한 단기적 백신접종이 아닌 장기간의 백신접종은 야외 바이러스의 변이를 촉진하여 동물과 인체에 위협을 초래하는 변이형의 출현 위험성을 조장할 수 있음.
- 백신접종 후 야외바이러스의 항원성 변이에 대한 감시체계는 백신의 방어효능을 유지하는데 결정적 요인이며, 이 결과에 따라 백신주의 선택이 탄력적으로 변경될 수 있어야 함.

4. 백신 접종축과 야외 감염축 감별진단 시스템 확립

- 백신접종 항체와 야외감염 항체를 감별하기 어려우므로 질병의 모니터링 단계에서 이를 감별하기 위한 기술과 전략 확립 필요.
- DIVA (differentiating infected from vaccinated animal) 전략에 의한 백신 및 진단기술이 실험실 단계에서는 개발되어 있으나 광범위한 야외 시료에 대한 실용화 단계의 기술 미확보

5. 방역 기술적 요인

가. 이동통제 및 격리의 신속성과 정확성

(1) 살처분 및 사후관리

- 지자체 및 그 방역기관을 통하여 감염 및 감염 의심축의 신속한 인도적 살처분 및 사체의 안전한 처리와 소독, 이동통제 등의 철저한 사후관리가 준수되어야 함.
- 감염농장에 대한 살처분 조치가 지연될수록 AI의 전파 확산 위험성은 높아지며, 초기단계의 신속성이 방역의 성공 여부를 결정할 수 있음.
- 감염농장 가금류의 살처분 후 소독, 이동통제 등 사후관리가 추가적 전파를 예방하는데 매우 중요하므로 지자체의 방역기능이 빈틈없이 작동될 수 있어야 함.

(2) 살처분 인력의 방역관리 및 안전관리

- 살처분 동원인력에 대한 안전성 확보 조치 및 질병 전파 위험요인 차단을 위한 방역조치 (작업완료 후 귀가시 탈의 또는 갱의 및 소독조치 등)가 준수되어야 함.

- 살처분 동원인력에 대한 임상증상 발현 조사 및 농장 방문 금지 등 체계적 관리체계 구축 필요

(3) 가금 사육농가 분포와 사육밀도 및 감염현황 사전 파악

- 대상지역의 오리사육 농장의 밀도 조사 및 감염현황 사전 조사는 긴급 백신접종 정책의 승패를 결정하는 중요한 요소이며, 백신접종 범위를 정하는데 필요한 요소임.

- 대상지역의 닭과 기타 가금류(방사 포함), 재래시장 판매조류 현황 및 야생 물새류의 현황 파악도 필수적 요소임.

(4) 주요 유전자원의 인접성

- 긴급 백신접종 정책이 채택되면 대상지역에 있는 희귀조류, 동물원 조류 및 원종계와 특정품종의 종계와 같은 유전자원에 대하여 특별 조치가 고려되어야 하며, 위험성 증가시 이들 조류에 우선적인 긴급 백신접종 필요성 검토.

(5) 백신접종에 따른 인체 감염 위험성

- 국가방역이 실패한 HPAI 상재국에서도 가금류에 대한 백신접종 또는 백신을 접종한 가금 산물이 HPAI 인체 감염에 부정적 영향을 미친다는 증거는 없음.

- 국가방역체계가 후진형이거나 통제되지 않은 상황에 있는 HPAI 상재국에서는 HPAI 만연으로 인하여 인체 감염 위험성이 증가한다는 사실에 견주어 보면, 접종으로 인한 질병 감소와 감염계의 바이러스 배출량 감소는 오히려 인체감염을 감소시키는 공중보건에 유리한 여건을 조성함.

- 다만, 상재국이 아닌 국가에서 백신을 접종한다면, 무증상 감염으로 인하여 위험요인을 인지하기 곤란하기 때문에 질병이 토착화될 우려가 있고, 재래시장 등 위험요인이 존재하는 사각지대에서 인체 감염이 초래될 위험성이 상존함.

(HPAI가 근절된 청정국 상황에서는 인체감염이 발생할 소지가 근원적으로 없음)

6. 정치 사회적 요인

가. 국제교역에 대한 영향

- HPAI 발생시 가금류 및 가금산물과 조류의 수출이 전면 금지되므로 태국과 같이 가금산업이 수출에 차지하는 비중이 높은 국가는 살처분 박멸에 의한 조기근절 정책을 채택하고 있음.

- 태국의 경우, 중국, 베트남 등 인접국이 모두 HPAI 상재국이고, 감염된 칠새나 야생조류에 의한 유입 위험성이 매우 높은 상태이지만 백신접종 시 감염 여부를 탐지하기 곤란하여 수출이 봉쇄되기 때문에 백신접종 금지와 살처분/조기근절 정책 유지.

- 우리나라의 경우, 가금의 수출산업이 미미하므로 수출에 대한 산업적 영향은 크지 않겠음

나 HPAI 백신을 접종할 경우, 백신접종국인 중국의 가금산물 수입 압력이 커지고 이를 거부할 과학적 명분이 사라지는 부정적 효과를 초래할 것임.

나. 축산물 안전성 및 동물복지와 관련된 사회정치적 요인

- 백신접종축은 감염되어도 증상이 없거나 약하므로 축주는 이를 인지하지 어렵기 때문에 (silent infection) 축주의 무지 또는 고의적 미신고로 바이러스에 오염된 가금산물이 시중에 유통될 위험성이 있음.

- 오염된 가금을 통하여 HPAI 바이러스가 소비자의 가정에까지 침투한다면 인체 감염 차단에 대한 큰 위협요인이 될 것이며, 이에 극도로 민감한 국내 소비자의 성향으로 보아 국내산 가금류를 기피할 우려가 높아져 가금산업이 붕괴되는 상황도 예상할 수 있음.

다. 관련 산업에서의 수용 가능성 및 농가의 협조

- 백신접종 후에는 사육농가의 차단방역 의지가 해이해 지고, 감염되어도 증상이나 피해가 미약하여 신고의식마저 실종될 수 있기 때문에 대국적으로는 국가방역에 큰 손실요인으로 작용할 수도 있음.

- 가금농장 및 가금산업과 관련된 협회, 단체(stakeholder), 언론매체 등의 협조가 매우 중요하며, 백신접종에 대한 공감대가 형성되어야 할 것임.

- 가금산업계의 동의나 수용없이 정책적으로 결정할 경우, 질병의 특성상 AI 백신접종 후에도 AI에 감염되거나 바이러스가 배출되어 환경오염과 인체 감염이 초래되는 상황에서는 국민적 비판에 직면할 수 있음.

9절. HPAI 발생단계별 백신 운용 전략 및 지침(SOP) 설정

1. 백신접종 목표 및 방식 결정

- 긴급 백신접종은 발생농장을 중심으로 한 제한된 범위의 대상농장에 대한 접종(ring vaccination, 접종농장으로부터 반경 10km 이내)과 위험성이 높은 특정한 대상이나 지역 또는 농장을 대상으로 접종(targetted vaccination)하는 부분적 접종방식과 전국적으로 접종하는 방식(mass vaccination)으로 구분되고 있음.

- 발생상황이나 확산의 속도, 전파 위험성 등에 따라 결정하여 발생초기일 경우 부분적 백신이 바람직하지만, 확산이 만연되었다면 전국적 백신접종을 고려해야 함.

2. 접종방식에 따른 활용성 검토

가. 링 백신접종(Ring Vaccination)

- 확산 차단을 위한 발생농장 외곽으로부터의 긴급백신 접종 정책: 최초 발생농장으로부터

3km 살처분 지역을 중심으로 하여 10km 이내 농장에 대하여 외곽으로부터 발생농장 방향으로 신속한 백신접종을 실시하는 방법임.

- 감염 위험지역에 긴급백신을 접종하여 면역을 부여함으로써 외부로 추가 확산을 막는다는 개념으로서 대규모 양계단지나 사육밀도가 높은 지역에서 처음 발생했을 때 적용 가능한 방법임.

- 오리 사육밀도가 높은 지역은 발생신고 시점에 이미 주변 농가에 광범위하게 확산된 경우가 많고, 2010년, 2014년, 2016년 발생 때와 같이 겨울 철새에 광범위한 감염시에는 철새 도래지를 중심으로 동시다발적으로 발생하므로 최초 발생단계에서 적용하는 이 방식은 국내 상황에서는 유효성이 낮은 것으로 판단됨.

- 잠복기에 있는 농장을 방문한 백신 접종팀에 의한 질병 확산 위험성 내포하고 있음.

- 긴급 백신접종 후 완전한 면역획득을 위해서는 2~3주의 간격으로 2회의 백신접종 후 약 2주간의 기간이 필요하여 완전 면역에는 최소 1개월이 필요할 것임.

- 과거 국내 유입·발생 사례에서는 최초 발생후 4주 이내에 백신접종을 하지 않고도 살처분/조기근절 정책만으로도 이미 진정세에 접어들기 때문에 긴급 백신접종의 타당성이 낮은 것으로 평가할 수 있음.

- 특정지역을 중심으로 한 질병의 확산을 예상된다면 ring vaccination 이 유효할 것이나 광범위한 철새의 감염으로 인하여 전국적, 산발적으로 발생하는 상황에서는 ring vaccination은 적합하지 않은 것으로 판단됨.

나. 표적 백신접종(Targetted Vaccination)

- 특정 가금농장 또는 지역이나 조류 집단을 보호하기 위한 긴급백신 접종 정책으로서 국내 적용에 대한 타당성 확보 용이함.

- 고위험 지역 내에 있는 천연기념물 등의 희귀조류, 동물원, 유전자원, 원종계 및 종계농장 등이나 특정 구역에 대하여 중점적으로 백신을 접종하는 방식이므로 국내 적용시 특정지역의 종계장이나 대규모 산란계농장에 대하여도 적용 가능한 방법으로 판단됨.

- 발생농장을 중심으로 하여 접종하는 방식이 아니므로 백신 접종팀에 의한 전파, 확산 위험성은 상대적으로 덜함.

다. 전국적 백신접종(mass vaccination, preventive vaccination)

- 질병 감염 예방 목적의 전국적, 상시적 백신접종 정책으로서 한정된 지역이 아닌 전국적 만연 시 피해 감소를 위하여 접종함으로써 상시적 백신접종국으로 전환될 가능성이 높아짐.

- 중국, 베트남, 인도네시아, 이집트 등 HPAI 상재국에서 실시하는 방식으로서 최근에 중국을 중심으로 mass vaccination 효과에 대한 연구결과가 발표되었음.

- 백신접종에 의한 가금의 발생 피해 감소와 인체 감염 감소 등의 효과가 탁월하지만, 질병 근절이 지연하여 장기적 백신접종과 그에 따른 비용, 지속적 인체 감염 발생으로 인하여 백신접종 중단 및 살처분 박멸정책으로 전환해야 한다고 제안함(Nature Scientific Reports 7, 2017).

3. 백신접종팀 조달계획 사전 확립

가. 백신접종팀 규모 산정

- 숙달된 백신 접종자는 1일 2,000수(최대 3,000수) 접종이 가능하며 신속성이 최대 관건이므로 이를 기준으로 산정 필요.

- 예) 10km 이내 60만수를 사육하고 있고, 3일내에 백신접종을 완료할 계획이라면 백신접종팀 100명 필요: 백신접종에 1주일이 소요된다면 면역형성 기간까지 합하여 적어도 1차 접종 3주 후에야 최소 방어능 발휘를 기대할 수 있으며, 완전한 방어는 2차 접종 2주후에 기대할 수 있음.

- 백신접종팀 구성과 인력은 사전에 검토되어 비상시 동원 가능한 인력으로 확보되어 있어야 비상 대비 백신접종 정책을 뒷받침 할 수 있음.

4. 백신 운용 전략

- 긴급 제조백신의 물량과 백신접종팀의 인력이 제한적이므로 중요성에 따라 단계적으로 백신을 접종할 필요가 있음.

가. 1단계: 희귀조류, 동물원 조류 및 원종계와 특정품종의 종계와 같은 유전자원에 대하여 우선적 백신접종 필요.

나. 2단계: 산란계에 대한 백신접종이 검토되어야 하며, 위험성이 큰 대규모 산란계 농장에 대하여는 특별관리하는 조건으로 백신접종 가능성을 충분히 검토후 우선적으로 시행 가능할 것임.

다. 육계의 경우 조기 출하(30일령 전후)의 특성이 있어 백신접종 효과를 기대하기 어려우며, 오리는 백신에 의한 면역형성능이 상대적으로 약하여 충분한 방어효과를 기대하기 어려우므로 현 기술 단계에서는 백신접종 대상에서 제외하고 기존의 살처분/조기근절 방식을 유지하는 것이 타당할 것임.

5. 구체적 백신접종 프로그램

- 가금의 품종별 백신접종 프로그램과 백신접종 프로토콜 개발이 필요하며, 긴급백신 접종이 필요할 시 항원뱅크로부터 백신을 제조하여 공급함과 동시에 유행하는 HPAI 바이러스에 대한 면역원성 평가와 구체적 백신접종 프로토콜 보완이 병행되어야 함.

- 백신접종 프로그램에 있어서의 국가별 프로토콜 설정 현황: 14개국에서 2회(2 shots) 접종 방식의 프로토콜을 설정하고 있으며, 일부 국가(이디오피아 등)는 종계와 산란계를 대상으로 3회 접종방식을 설정하고 있음.

- 국내에서 운용 가능한 불활화 오일백신 접종프로그램으로서 아래와 같이 제안하며, 생백신(live vaccine)은 방어효력이 상대적으로 미흡하여 검토대상에서 배제함.

- ▶ 1차 백신접종: 2주령 이후의 종계 및 산란계 접종
- ▶ 2차 백신접종: 1차 백신접종 3주후 2차 접종
- ▶ 3차 백신접종: 발생 위험성과 상황에 따라 2차 접종 6개월 후 3차 접종을 검토할 수 있으며, 기본적으로는 2차 접종으로 종료.
- ▶ 희귀조류와 동물원 조류는 종류가 매우 많으므로 전문가 협의에 의하여 조류 종류별로 접종방식 별도 결정하는 것이 바람직함.

10절. 백신접종 의사결정 구조(decision tree) 개발

1. 백신접종 정책 의사결정 모식도 개발을 위한 주요 요소 설정

가. HPAI 확산세 지속 여부

- 역대 발생 사례에서 볼 때, 2016~17년도를 제외하면 HPAI 확산세는 살처분 조기근절 정책 시행으로 최초 발생 1개월 여가 경과하면 감소 추세를 나타내었고, 근절의 기반이 조성되는 전환점이 되어 왔음.

- 약 3천9백만수의 가금류가 살처분되어 최악의 피해를 초래하였던 6번째 유입(2016~17년) 발생의 경우 최초 발생 1.5개월 경과시점까지 확산세가 지속되어 초동방역 실패와 백신접종 필요성을 부각시키는 계기가 되었음.

- 효율적인 살처분/조기근절 정책 시행에도 불구하고 확산세가 1개월 이상 지속된다면 백신접종 정책 시행을 검토할 시점으로 추정됨.

나. 철새에 의한 동시다발적 확산 위험성

- 2016~17년 HPAI 발생시 철새의 감염률이 가장 높았던 시기였으며, 철새에 의한 확산과 초동방역 부실로 인한 지역 내 전파가 겹쳐 피해가 막대하였음.

- 철새에 의한 광범위한 전파는 효율적인 방역에 가장 지장을 초래하는 요소이고, 위험요인이 지속되는 결과를 유발하므로 철새 등 야생조류의 항원, 항체 검출률이 6번째 유입 발생 시보다 높을 시 백신접종 정책 검토의 요건으로 설정.

다. 오리농가의 감염률

- 7회의 국내 유입시 최초 신고농장은 닭 사육농장이었으나 역학조사 결과, 그 전에 오리농

장의 감염이 먼저 시작되었다는 결과가 다수이었음.

- 전국적 전파확산의 주요인이 오리농가에 있었음을 고려할 때 오리농가의 감염율은 살처분/조기근절 정책 성공의 결정적 요소로 작용해 왔음.

라. 지자체의 방역시스템 작동

- 6차 유입시 국가방역의 가장 큰 문제점의 하나로서 지자체의 초동방역과 살처분 농장의 사후관리 등 방역시스템이 원활하게 작동하지 않는 현장 방역과 전문성 결여가 지적되었음.

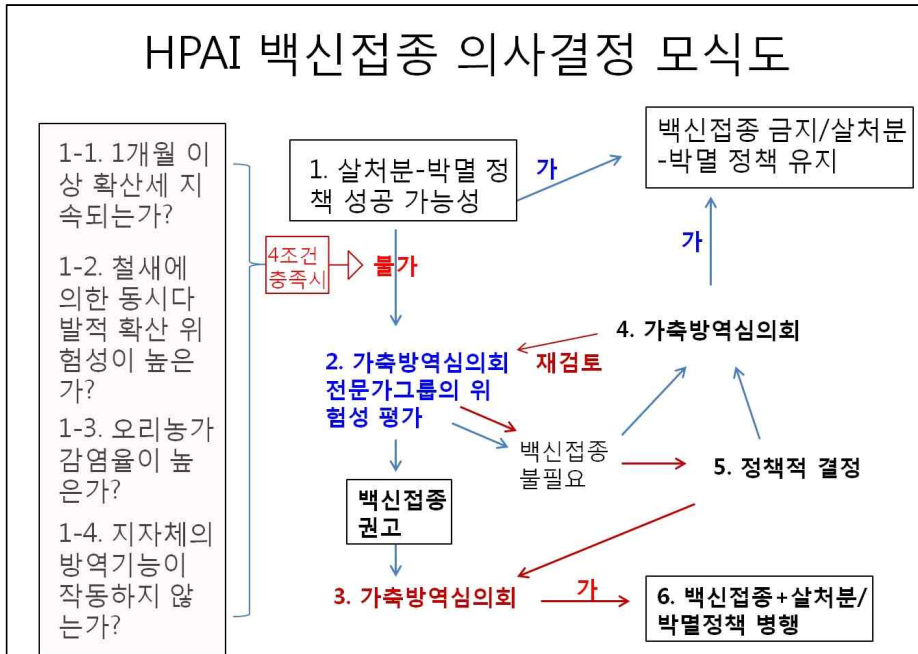
- 지자체는 현장 방역의 주체이고, 정책을 현장에서 실현하는 조직이므로 현장에서의 방역시스템이 원활하게 작동되지 않으면 방역정책이 실패할 우려가 증가함.

- 지자체의 원활한 방역시스템 작동과 전문성은 질병의 조기근절에 중요한 요소임.

마. 백신접종 정책 의사결정 모식도

- 백신접종 정책 의사결정에는 여러 요인을 검토하여야 하지만 우선적으로 아래 요건이 충족된다면 백신접종 정책의 검토가 개시되는 것이 바람직하며, 아래 그림과 같은 절차를 통하여 의사결정을 하도록 함.

- ① 상기 4가지 요인에 대한 요건이 충족되었을 때
- ② 살처분/조기근절 정책의 성공 가능성이 희박하다고 판단될 때



2. 의사결정구조의 시물레이션

- 시물레이션 결과, 다음 표와 같이 '03~'18년까지의 국내 7차례 HPAI 유입사례 중 위 그림에서 제시한 전제조건 4종을 충족시킨 경우는 6번째 유입사례임: 2016~17년도 H5N6 및 H5N8 바이러스가 동시 유입되어 216일간 416건이 발생하였으며, 약 3900만수의 가금류를 살처분하였음.

< 2003~2018년도까지의 국내 HPAI 발생상황표 >

발생기간	발생일수	양성건수	Subtype (혈청형 아형)	Clade	살처분(천수)	재정지출 (직접방역비, 억)	야생조류 분리건수	비고
1차 '03/'04(031210~040320)	102	19	H5N1	2.5	5,285	874		국내최초발생
2차 '06/'07(061122~070306)	104	13	H5N1	2.2	2,800	339		오리집중발생
3차 '08(080401~080512)	42	98	H5N1	2.3.2	10,204	1,817		재래시장 통한 대량발생
4차 '10/'11(101229~110516)	139	90	H5N1	2.3.2.1	6,473	807	20 (101129 최초 분리)	철새와 야조 대량발생
5차 '14/'16	(140116~140729)	195	212	H5N8	2.3.4.4	13,961		신종 아형, 상대적 약병원성
	(140924~150610)	260	162	H5N8		5,110		
	(150924~151115)	62	17	H5N8		301		
	(160323~160405)	13	2			12		
	소계	811	393	H5N8		19,384	2,385	58
6차 '16/'17	(161116~170302)	107	343	H5N6	2.3.4.4 C		52	
	(170206~170629)	134	76	H5N8	2.3.4.4 C		13	
	소계	216	419	2종		약 39,000	?	65
7차 '17/'18(171118~)		17(2.12. 현재)	H5N6	2.3.4.4 C				

3. 국가별 백신접종 의사결정구조 비교 분석: 미국, 일본, EU, 호주 등

- 의사결정 구조는 국가별 상황에 따라 차이가 있으며, 개념도 수준의 의사결정구조를 설정하고 매 요인별로 검토하여 결정하는 체계임

가. 미국의 HPAI 의사결정 기준과 모식도

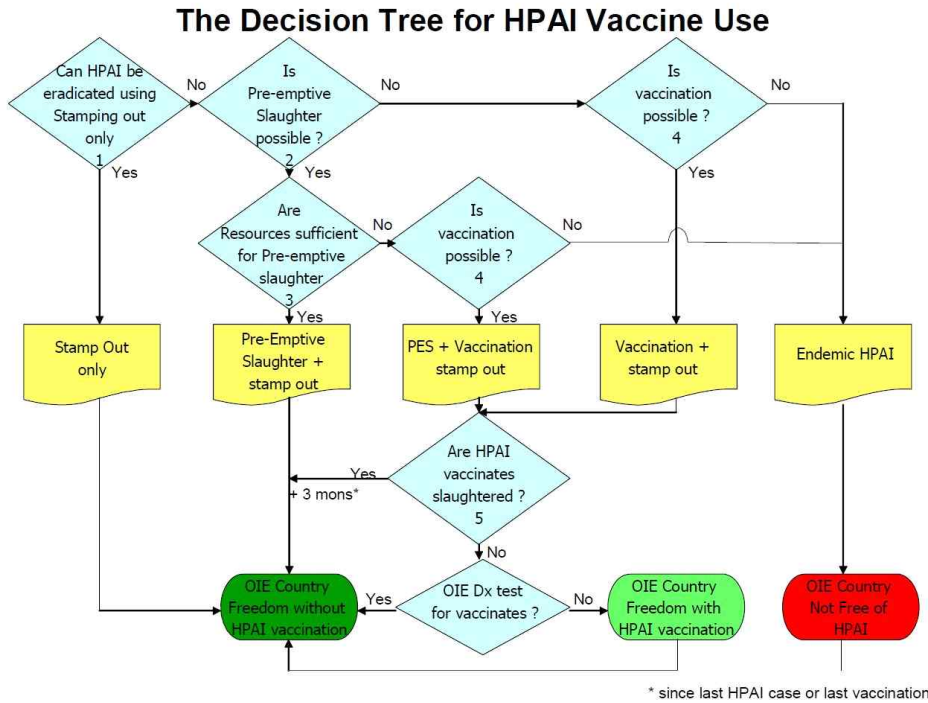
- 여러 요인 중 아래에 열거한 요인을 중심으로 다음 그림과 같이 아래 의사결정 구조를 설정함.

- ① 살처분/조기근절 정책의 성공 가능성
- ② 예방 살처분 용이성: 예방 살처분에 필요한 예산, 인력, 자원 확보 여부
- ③ 비상 대비 백신의 확보 여부와 백신접종 준비체계 구축
- ④ 백신접종축에 대한 살처분 용이성
- ⑤ 백신접종 및 야외감염 항체 감별진단법 확보

- 그 중 ①번은 중요한 판단이며, ②번과 ③번은 이미 확보된 것을 전제로 정책 결정 검토에 착수하기 때문에 배제해도 무방하며, ④번은 선택의 여지가 있음.

- 백신접종 및 야외감염 항체 감별진단법은 소규모 실험실적으로는 개발되어 있으나 야외시료에 대한 대량검사체계는 아직 미구축 상태이므로 백신접종측의 살처분이 대안임.

<미국의 의사결정구조>



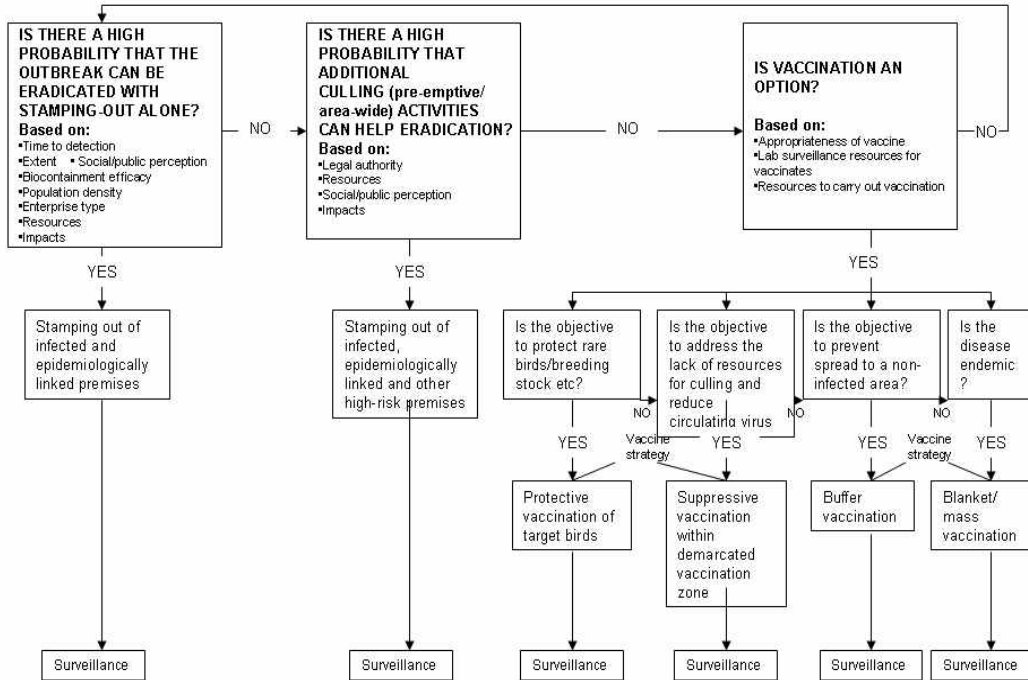
나. 호주의 HPAI 통제전략 결정을 위한 의사결정 기준과 모식도

<HPAI 백신접종을 위한 의사결정 기준>

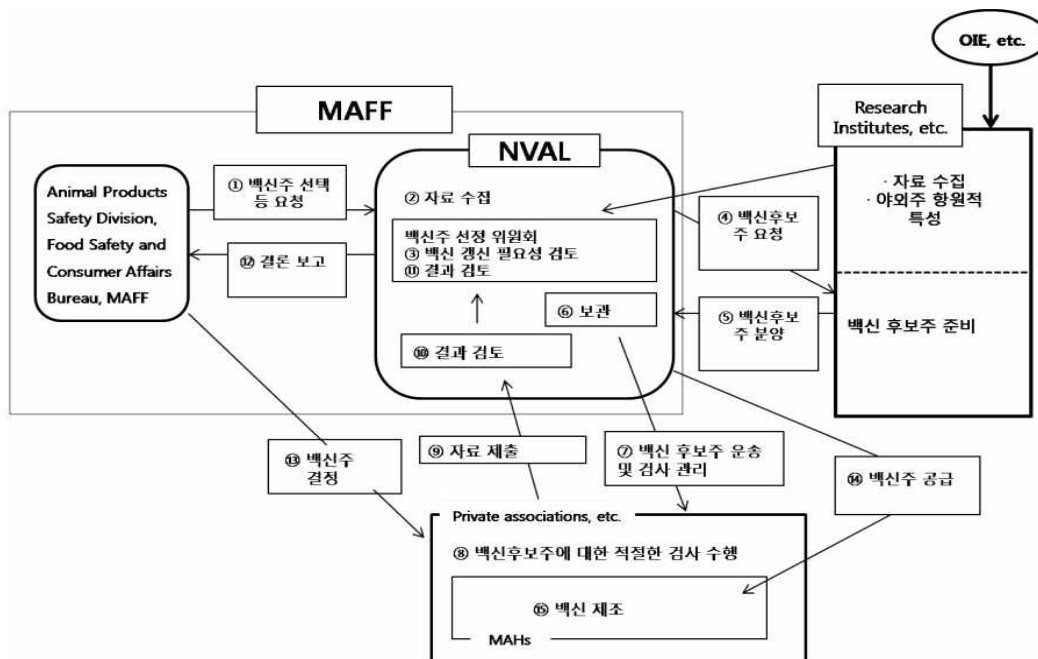
Criteria	For vaccination	Against vaccination
Location	In significant poultry producing area	Isolated farm
Poultry density (numbers of establishments and birds in immediate vicinity)	High	Low
Clinical impact	Significant number of sick and dead birds	Mortality low
Extent of movements (bird/product/fomites) that have occurred in and around infected premises	Extensive	Limited
Evidence of spread	Multiple outbreaks involving different industry sectors (compartments)	Little evidence
Likelihood of spread	Potential to enter multiple properties in different compartments	Extensive spread unlikely
history of spread in similar situations	Spread to multiple properties in different compartments	Spread was very limited
Spatial distribution of outbreaks	Widespread	Restricted
Suitable vaccine	Available	Not available
Resource availability (for stamping	Adequate	Limited

< HPAI 백신접종 의사결정 구조 모식도 >

Avian Influenza Control Strategy Decision Support Tool



다. 일본의 AI 백신균주 선정위원회 업무처리 흐름도 (출처: 검역본부)



11절. 백신접종 정책 도입으로 발생 가능한 위험요소 설정 및 위험도 분석

1. 백신접종 정책 결정에 있어서의 전제 조건

- 살처분 박멸정책의 보조적 수단으로만 사용하여야 하며, 발생농장과 인근농가(500~3km)에 대한 살처분 박멸정책이 수행되지 않을 경우 중국 및 동남아시아국가와 같이 상재적 발생국이 될 위험성이 높음.(OIE, FAO 강력 권고사항)
- 야외감염 바이러스와 백신주의 감별이 가능한 DIVA(Differentiating Infected from Vaccinated Animals) 백신 개발 및 사용 가능: DIVA 백신 사용후 HPAI 발생 예찰과 야외주의 유전자 변이 상황을 모니터링을 위한 검사도 포함되어야 함.
- 원활한 백신의 공급정책과 항원적 부합성 등 백신의 품질관리가 수반되어야 함.
- 제한지역에 대한 한시적 백신접종 후 비발생 조건에서 백신을 중단하고, 근절정책을 시행하는 출구전략(Exit strategy) 개발 및 적기 시행이 전제되지 않으면 HPAI 발생 상재국으로 전락할 우려가 높음.

2. 백신접종 정책 시행으로 인한 주요 위험요소 및 위험도 분석

가. 닭에 대한 백신접종 시 무증상 감염 유발

- 폐사 등의 피해는 대폭 감소하나 폐사와 증상이 불확실하여 감염농장이 은폐된 채 감염(silent infection)이 확산될 우려가 있으며, 이 경우 농가의 발생신고보다는 방역당국의 능동적 예찰(active surveillance)에 의해 검색하여야 함.
- 오리에서 나타나는 현상과 유사하여 예찰 및 방역작업에 훨씬 많은 노력과 비용 소요: 현재의 백신접종 비용에는 이 부분도 포함되어야 할 것임.
- 백신접종 시에도 폐사는 방어할 수 있으나 감염축으로부터 바이러스가 체외가 배출되는 것은 완벽히 막을 수 없어 바이러스 전파의 위험요인으로 작용.

나. 백신접종 후의 야외주 변이

- 장기간의 백신접종은 바이러스의 면역회피 기전(immune escapr)에 의해 백신주 저항성 변이주의 출현 위험성이 증가한다는 연구보고가 많으며, 이에 대한 구체적 예찰방법과 관리 방안 수립 필요함.

다. 농가의 방역인식 해이와 HPAI 상재국으로 전락 우려 증대

- 백신접종은 국가방역의 한 축으로 활용해야 하지만 백신접종 정책 채택 후에는 방역인식이 와해되거나 해이해 질 우려가 매우 높아짐.

- 백신접종 자체만으로 AI 바이러스를 완전히 제거하거나 단기적으로 질병을 근절하기는 어렵.

- 백신접종으로 인하여 HPAI가 근절되지 않은 상태에서 다른 종류의 HPAI가 지속적으로 유입된다면 중국과 같이 여러 종류의 백신을 사용해야 하고, 결과적으로 질병의 토착화로 인하여 상재적 발생국(endemic)으로 전락할 우려가 높아짐.

라. 인체 감염 우려 증가

- HPAI 상재국에서의 백신접종은 인체감염을 줄여 주지만, 국내와 같이 토착화되지 않은 상황에서의 백신접종은 조기근절의 장애요인으로 작용하고, 발생을 은폐하여 오히려 상재국으로 전락함으로써 인체감염이 발생할 우려가 높아질 것을 경고하고 있음(WHO 및 질병관리본부).

마. 장기적 관점에서 백신접종 예산의 과다

- 전국적 백신접종 비용과 관리비용, 진단에 소요되는 추가 비용, 근절 지연으로 인한 산업적, 사회적 피해 등 종합적인 면을 고려하면 국가방역에 있어서 훨씬 더 많은 비용이 요구될 것임.

- 현재 백신접종을 하는 상재국에서도 전국적 백신접종 정책을 수정하여 위험성이 높은 특정 목표 또는 지역을 한정하여 집중적으로 백신접종을 하는 targeting vaccination 정책으로 변화하는 추세에 있음. 이 경우, 백신접종축과 감염축에 대한 확실한 감별 백신과 진단체계(DIVA)를 갖추고 있지 않으면 오히려 혼란을 초래할 수 있음.

- 이것은 미국, 일본, EU 등의 선진국에서 비상용 백신 확보정책을 실시하고 있지만 HPAI 발생시 최대한 살처분 조기근절 정책을 채택하고 있으며, 백신접종은 최후의 수단으로서 최대한 회피하고자 하는 이유가 되고 있음.

<사례 분석>

- 중국의 상시백신 접종정책을 분석한 최근의 논문에서 백신접종으로 살처분을 91% 감소, 발생 지속기간 감소(17→12일), 발생 가능성 51.5% 감소 등의 긍정적 효과에도 불구하고 백신접종 이후 근절 불가 요인이 된다고 함.

- 백신접종 이후 상재화로 인한 인체감염은 감소하였으나 지속적 발생을 하고 있으며, 장기적으로 살처분 조기근절 정책 비용이 백신접종 비용의 1.36%에 불과하여 백신접종 정책보다 출구전략 시행을 통하여 살처분 근절정책으로 전환해야 함을 권고함(Nature Scientific Reports, 2017)

바. 부적합한 백신 유통 및 변이주 출현시 백신 및 방역정책에 대한 불신 초래

사. 백신접종 상재국(중국 등)으로부터의 가금 또는 가금산물 수입 압력 증가

- HPAI 백신접종국끼리는 HPAI 발생을 이유로 해서 기술적 무역장벽을 설정하기 어려우므로 중국의 압력으로 HPAI 연중 발생국인 중국의 가금산물을 수입해야 하는 상황이 올 가능

성이 높으며, 이는 국내 축산업계의 강력한 반발을 초래할 수 있음.

- 항간에서 주장하는 수출금지 피해보다 중국 등 백신접종국의 가금산물의 수입 허용으로 인한 국내 산업의 피해가 심화될 개연성이 높음.

12절. 백신접종 후 사후관리 방안 수립

- 백신접종 후 사후관리 방안이 없이 방치한다면 HPAI 근절이 불가하여 필연적으로 HPAI 상재국으로 전락하게 됨.

- 따라서 HPAI 백신 접종에 따른 백신 접종군 또는 농장에 대한 이동 통제 등 사후 관리 방안 수립이 필수적이며, 다음과 같이 구체적 방안이 수립되어 있어야 함.

1. 백신접종 후 야외 감염과 백신접종군을 대량으로 감별할 수 있는 감별진단기술 (DIVA) 및 이를 위한 감별 백신주 개발 (또는 선정).

2. 백신 접종 후 immune press에 의해 출현할 수 있는 변이주에 대하여 지속적 모니터링 실시.

3. 백신주의 방어효과에 대한 지속적 검증

4. 백신접종 농장에 대한 야외감염 발생시 조기검색을 위한 광범위한 예찰체계 가동

- 백신접종 농장에 SPF 닭 또는 AI 항체음성계를 투입함으로써 항원 감시계 활용 시스템 구축 등.

5. 감별 진단법, 야외감염 예찰법 등의 기술에 대한 진단법 보급 및 지방방역기관 요원 교육 병행.

13절. HPAI 백신접종에 대한 교훈

- OFFLU와 FAO, OIE이 주관하는 동물 인플루엔자 전문가들의 연합 네트워크는 2013년 12월 중국 베이징에서 HPAI 백신에 대한 기술 회의를 개최함. 그 동안의 세계 각국의 발생경험과 백신사용 득실에 대한 평가를 바탕으로 2007년 이탈리아 베로나에서 개최된 권고사항을 수정, 보완하는 작업이 진행됨. 특히, 중국, 이집트, 베트남, 인도네시아와 멕시코 등의 많은 국가에서 실제로 야외에서 HPAI 백신을 사용한 경험과 장단점, 고려사항 등에 대한 많은 경험을 제시하였고, 이들 국가의 대표들과 FAO와 OIE, WHO의 참가자들은 함께 모여서 경험을 공유하고, HPAI에 대한 백신접종의 지역적, 국가적인 수준을 높이기 위해 토론하였음.

1. 2013년 현재 HPAI H5N1은 7개 국가에서 유행하고 있고, 이 중 4개 국가 (중국, 인도네시아, 이집트, 베트남)는 상재화 된 이후 피해 최소화 수단으로서 백신접종을 실시한 이후

아직도 백신접종을 하고 있음. 현재까지의 결과로 보면, 철저한 살처분 박멸정책을 병행한 홍콩의 사례 외에 어떠한 국가도 백신정책으로 HPAI H5N1을 박멸하지는 못했음.

2. 하지만 HPAI가 상재화 된 국가에서는 백신접종의 목표가 질병 박멸이 아니기 때문에 HPAI 근절 여부만으로 백신접종 효과를 평가할 수는 없음. 질병의 근절을 목적으로 백신을 실시한 국가로는 프랑스, 네덜란드, 이스라엘, 코트디부아르, 러시아가 있지만, 상재화 단계의 예방접종이 아닌 초기 단계의 비상조치로서 특정구역에 대한 제한적 예방접종이나 방역대를 중심으로 한 ring vaccination을 실시하였고, 백신접종 정책 외에도 감염지역에 대한 철저한 이동통제와 살처분 박멸정책을 병행하였기 때문에 성공 가능성이 높았다고 할 수 있음.

3. 일부 HPAI 상재국에서는 대량 백신접종 정책을 시행해 왔으나 장기간 적용하기에는 너무 재정적인 부담이 컸기 때문에 특정한 타겟을 대상으로 한 소규모, 국지적 백신접종으로 정책을 수정함. 즉, 집단 예방접종에서 특정 목표를 타겟으로 한 예방접종으로 백신접종 정책을 전환하는 시점에 있으며, 베트남, 이집트, 인도네시아, 중국에서도 위험농장에 대한 타겟 접종으로 백신정책으로 바꾸고 있는 중임.

4. HPAI가 토착화되어 끊임없이 발생하거나 인근 발생국가로부터 지속적으로 유입되는 위험성을 안고 있는 동남아시아 국가에서는 향후 잠정적으로 백신 사용을 허가하는 것도 한 방편으로 제시됨. 또한 HPAI 바이러스 유행주에 맞는 새로운 백신의 선택과 사용은 조류인플루엔자의 확산을 막고 통제하는데 필수적이지만 국제 시장에서 지속적으로 이용 가능한 백신을 만드는 것은 많은 난제에 봉착해 있는 것이 현실임.

5. 결과적으로, 백신사용의 공과와 득실은 다음과 같이 정리되어 권고사항으로 제시됨.

가. HPAI를 통제하기 위한 도구로서의 백신접종의 긍정적인 면과 부정적인 면을 고려할 것

나. 재정적인 자원과 인적 자원의 필요성과 확보 역량이 검토되어야 함.

다. 국제적으로 지역적인 수준의 수의학적 서비스를 강화할 필요성과 OIE에 AI 보고의무에 따른 필요성

라. 백신접종 캠페인을 위해 필요한 정책적인 약속과 이에 대한 이행의 중요성

마. 국가나 지역에서 백신접종 정책을 시행하기 전에 백신 전략의 목적을 구체적으로 정의할 필요성과 중요성

바. 필요시 백신접종 전략을 주기적으로 평가하고, 탄력적으로 수정 적용할 수 있는 유연성에 대한 중요성.

6. 이와 함께, 백신접종 시의 출구전략 수립의 중요성도 매우 중요한 사항 중의 하나로 논의 됨.

7. 민간과 공공 부문 사이의 협력 또한 매우 중요한 포인트 중의 하나인데 공공 부문은 백신의 등록 사용과 효과적인 백신 정책을 결정하고 시행하는 책임을 지고 있음. 이것은 두 파

트간에 열린 마음으로 접근하여야 가능한 일이라 할 수 있음. 특히 긴급 비상사태용 백신은 통상적인 방법이 아닌 조속한 등록체계를 가지고 있어야만 긴급사태 발생 시 사용이 가능해 지므로 이 부분에 대한 사전 논의와 협력도 강조되어야 함.

5장. 백신접종 중단 및 근절을 위한 출구전략

- 백신접종 정책 실시 후 사후관리 방안과 연계한 상황별 출구전략 개발이 필요하며, 백신접종 후 시행하여야 할 조기근절 정책 방안이 수립되어야 함.

1절. 출구전략 수립 및 시행

1. 출구전략 시행 전 검토사항

- 백신접종 비용 및 살처분 비용 등 백신접종 정책에 따른 총체적 방역 예산
- 백신접종에 의한 효과와 추가 발생/유입 위험요인에 대한 과학적 분석: 오리농장 및 야생조류에 대한 집중적 예찰 포함
- 백신접종 종료를 위한 의사결정 기준 설정
- 백신접종 중단 후의 근절 가능성
- 백신접종 중단 후의 예찰계획 수립 및 HPAI 바이러스의 비존재 증명 방안
- 근절정책 수행을 위한 로드맵 준비 등

2. 과학적 방법에 의한 추가 발생 위험성 평가

가. 신뢰도 95%를 충족시킬 수 있는 통계학적 방법에 의거한 가금농장에 대한 광범위한 바이러스 항원검사 실시.

나. DIVA 프로그램에 의한 야외농장 항체검사 확대 및 감염항체 부재 증명.

3. 긴급 백신접종 정책 시행 후 백신접종 중단시점 결정

- 백신접종 정책 시행후 언제 백신접종을 중단하고 근절정책을 도입할 것인가 라는 문제는 출구전략의 핵심이므로 추가적 발생 위험성이 없는 시점이 최적의 시점이 될 것임.

- 따라서, 과학적 분석에 의한 추가 발생 위험성 평가가 우선적이며, 전체적으로는 다음과 같은 기준에서 중단시점 결정 바람직.

- ① 최종 발생후 2개월간(잠복기 21일 x 안전계수 3) 추가발생이 없을 시
 - 미국의 경우, 잠복기 21일에 안전계수 2를 곱한 42일의 기간을 설정함.
- ② 겨울 철새가 북상한 5월 이후 1개월간 추가발생이 없을 시

4. 백신접종축 또는 농장에 대한 처리방안

- 백신접종 중단 이후 기존의 백신접종축에 대한 처리방안은 출구전략 시행에 있어서 매우 중요한 고려사항이 되어야 할 것임.

가. 백신접종축의 도태

- HPAI 조기근절을 위해서는 백신접종축의 살처분/도태가 필수적이며, 가장 바람직한 방안으로 평가되고 있음.

- 백신접종 중단 및 조기근절 정책 도입 이후 백신접종축에 대하여 도태를 실시하고 이에

대한 보상금 지급.

나. 백신접종축 유지 및 관리

- 백신접종 농가 축의 반발로 백신접종축의 살처분이 어려울 경우 백신접종농장에 대한 특별관리 조치로 살처분 미실시 및 이에 따른 이동금지 적용이 대안일 될 수 있음.
- 백신접종축의 자연도태 기간까지 농장 외 이동금지 시행: 이동시에는 방역당국의 승인과 추적관리가 필수적으로 수행되어야 함.
- 백신접종 조류에서 유래한 부화란 및 초생추의 이동 제한은 없으나 지속적 추적 대상에 포함되어야 하고 추적이 가능토록 해야 함.
- 백신접종축의 표시는 비현실적이므로 백신접종 농장에 대한 관리로 이를 대신함.

2절. 백신접종 종료 후 HPAI 근절방안 확립 및 정책 로드맵 작성

- 발생지역을 중심으로 하여 항원 및 항체 검출에 의한 예찰 시스템 구축이 필수적이며, 통계학적 예찰(statistical surveillance)과 표적예찰(targetted surveillance)로 나누어 접근하여야 함.

1. 통계학적 예찰

- 현행 전국적 예찰방법에 의하여 항원 및 항체 검사 실시와 병행하여 육용오리에 대한 도축장 출하전 검사를 실시하여 오리농가에 대한 감염 부재를 증명하여야 함.
- 닭에 대하여는 현행대로 임상증상 발현 또는 외견상 허약한 닭을 대상으로 도축장 검사를 실시하여 계열 주체 및 사육농가의 방역인식 제고 필요.

2. 표적 예찰

- 상시적 발생지역의 농장, 재입식 농장, 채래시장 조류 등을 대상으로 정밀검사(항원, 항체 검사)를 실시하고, 감염 부재를 증명토록 함.
- 채래시장 가금류 중개상인 관리 및 그 계류장에 대한 전국적 검사 실시

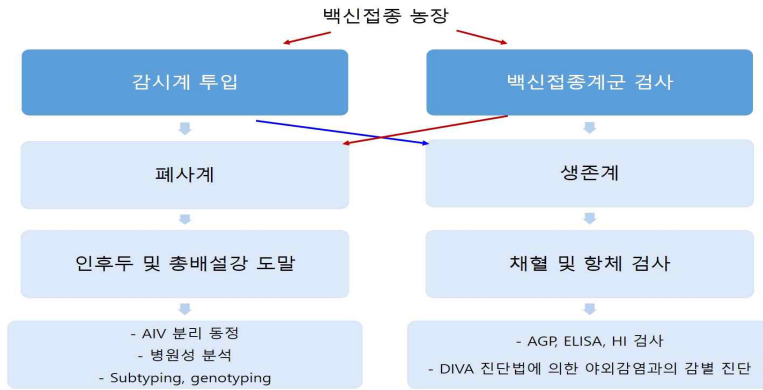
3절. 항원 및 항체에 대한 예찰 검사방법

- 백신접종 농장에 대하여 SPF 감시계를 투입하여 DIVA 프로그램에 의한 항체 예찰 검사법과 병행해서 항원 및 항체 검출을 실시함(아래 개요도 참고).
- 항체검사는 통상적으로 혈구응집억제반응(HI test)을 실시하고, 야외감염 여부에 대하여

대하여는 AGP 검사를 병행함.

- 야생조류에 대한 항체검사가 필요할 때는 ELISA 검사 실시.

백신접종 후 예찰검사 방법 개요도



4절. 관련 업종 및 단체 (stakeholder)와의 협력방안 구체화 추진

- 출구전략의 성공 여부는 사육농가와 관련 협회/단체의 협조와 자율적 방역노력이 필수적이며, 정부의 정밀한 예찰체계와 함께 의심축에 대한 농가의 신고의식이 매우 중요한 요소임.
- 정기적 회동과 협력체계 구축을 통하여 농가 및 관련단체와의 소통 유지

4. 목표달성도 및 관련분야 기여도

코드번호

D-06

4-1. 목표달성도

○ 비상 시 대비 국내 고병원성 AI 백신주가 작성 또는 선정 (3종 이상)되었는가?

1) HA, NA 유전자 선정

- clade2.3.2.1c H5N1의 HA, NA 유전자 선정 완료

-> 야외분리주로부터 HA, NA유전자 클로닝

- clade2.3.4.4 H5N8와 H5N6의 HA, NA 유전자 선정 완료

-> 가장 최근 유행했던 H5 HPAI에 대하여 국내·외 분리주에 대한 유전자 정보 database (Influenza Research Database;IRD 및 Global Initiative on Sharing All Influenza Data;GISAID)를 통하여 consensus한 HA, NA유전자 확보

2) 내부 유전자 선정

- 계대아 및 포유류에 대한 병원성이 낮고, 계란에서의 증식성과 생산성이 우수한 NS 유전자 선정 완료

- 포유류에 대한 병원성이 없는 PB2 유전자 선정 및 관련 PB2 아미노산 변이 확인 완료

- CD8+ T Cell epitope에 대한 일치율을 높여 broad protection에 대해 기존 백신보다 더 우수한 NP, M 유전자 선정 완료

3) H5 HPAI 백신주 선정

- 1)에서 선정된 HA, NA 유전자를 토대로 한 PR8 backbone의 H5N1, H5N8, H5N6의 HA, NA 유전자 보유한 재조합 백신주 (3종 이상) 선정 완료

- 2)에서 선정된 내부 유전자를 포함한 H5N1, H5N8, H5N6 재조합 바이러스 선정 완료

○ 선정된 AI 백신주에 대한 효능평가가 완료되었는가?

1) 증식성 평가

- 10일령 SPF 발육란에서의 증식성 측정 (EID₅₀/ml) 완료

- MDCK cell에서의 증식성 측정 (TCID₅₀/ml) 완료

2) 항원성 평가

- HPAI (H5N8, H5N6) 사독백신주 접종 SPF에서의 항체가 평가 완료

○ 선정된 AI 백신주에 대한 안전성 평가가 완료되었는가?

1) 안전성 평가

- HPAI (H5N1, H5N2) 백신주에 대한 마우스 병원성 평가 완료

2) 항체 형성능 및 방어능 평가

- HPAI (H5N1, H5N2) 백신주에 대한 방어능 및 항체 형성능 평가 완료

○ 선정된 AI 백신주에 대한 가금 종류별 (4종 이상) 접종 프로그램이 제시되었는가?

- 문헌 조사 및 접종 평가를 통하여 최적 접종 일령, 접종 방법, 불활화 제제의 선택, 그리고

백신의 구성에 대한 평가가 완료됨.

○ 비축용 HPAI 백신 뱅크 타당성 조사가 완료되었는가?

- 본 연구를 통하여 선정된 3종(clade2.3.2.1c 및 clade2.3.4.4c에 속하는 H5N8와 H5N6)의 백신주 중 2종(Clade 2.3.2.1c H5N1형과 Clade 2.3.4.4c H5N6형)에 대하여 농림축산검역본부(검역본부) 주관의 AI 백신대응 T/F팀의 논의를 거쳐 타당성 평가가 완료되었음.

○ 비축용 백신 뱅크 구축방안이 제시되었는가?

- 본 연구를 통하여 선정된 3종(clade2.3.2.1c 및 clade2.3.4.4c에 속하는 H5N8와 H5N6)의 백신주 중 2종(Clade 2.3.2.1c H5N1형과 Clade 2.3.4.4c H5N6형)에 대하여 농림축산검역본부(AI 백신대응 T/F팀)와 중앙가축방역심의회를 통하여 항원뱅크 구축용으로 선정되었음.

- 선정된 2종의 백신주에 대하여 검역본부에서 안전성 및 방어 효능 평가가 완료되었고, 이 결과를 바탕으로 검역본부에서 조달청을 통한 항원뱅크 제조용 항원 구매를 국가방역사업의 일환으로 요청하여 진행중에 있음 → 추후 백신 제조업체에서 입찰을 통하여 항원뱅크 구축 목적의 항원 제조 예정임.

- 연구결과에 따른 항원뱅크 3종 외에 검역본부에서 주관한 AI 백신대응 T/F팀의 논의를 통하여 백신주 3종을 추가로 선정하였고, 이들에 대한 항원뱅크 비축을 추가하기로 하였음.

○ 백신접종 의사결정 구조가 개발 및 제시 되었는가?

- 긴급백신(emergency vaccination) 또는 상시백신(mass vaccination) 접종정책 채택을 위한 의사결정구조(decision tree)가 개발되고 제시되었음.

- 추후 농식품부의 논의를 거친 후 수정, 보완 후 국가방역 상의 백신접종을 위한 의사결정에 활용될 예정임.

○ HPAI 백신접종 후 출구전략이 개발 및 제시되었는가?

- 긴급백신(emergency vaccination) 또는 상시백신(mass vaccination) 접종 후 백신접종 중단 조건을 설정하고, 백신접종 중단 후의 질병 근절을 위한 접근방법을 포함하여 출구전략을 개발하여 제시하고 있음. 또한 출구전략 시행을 위한 의사결정구조(decision tree)를 개발하였음.

- 추후 농식품부의 논의를 거친 후 수정, 보완 후 국가방역 상의 백신접종 의사결정 구조 및 출구전략 의사결정 구조가 방역정책에 활용되도록 종합적으로 건의할 예정임.

4-2. 관련분야 기여도

○ PR8 기반 백신주의 개선

1) 포유류 병원성 제거

- H9N2 01310 주 유래의 PB2 유전자를 통한 PB2 유전자 내의 포유류 병원성 인자 확인
- 기존의 백신제작 시스템인 PR8 기반 백신주의 PB2 유전자 조작 혹은 PB2 유전자 교체를 통한 포유류 병원성 제거 가능

2) 계태아 병원성 제거를 통한 생산성 향상

- H9N2 0028 주 유래의 NS 유전자를 통한 NS 유전자 내의 포유류 및 계태아 병원성 인자 확인
- NS 유전자 내의 병원성 인자 제거 혹은 교체를 통한 계태아와 포유류에 대한 병원성 제거 가능 -> 계태아 병원성 제거로 인한 SPF 발육란에서의 백신 생산성 향상

○ 백신주의 항원성 변이주 교차 방어 효능 향상

HA와 NA subtype이 다른 변이주의 국내 유입 시 교차 방어가 가능한 백신 개발

- 본 연구팀이 보유한 HA2와 M2e에 존재하는 universal epitopes 면역원성 향상 기술 적용 백신주 개발
- 서로 다른 subtype 바이러스도 방어(heterosubtypic protection)할 수 있도록 하는데 중요한 내부 유전자를 국내 유행 HPAIV와 일치시키는 자체 기술 적용하여 백신주 개발

5. 연구결과의 활용계획

코드번호	D-07
<p>○ 활용방안</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 효과적인 백신 및 용법·용량 개발과 개선된 차단방역 기술 및 시스템 개발을 위한 자료로 활용 2. 비축용 백신뱅크의 타당성 및 구축방안 확립 3. HPAI 발생단계별 백신 수급 및 운용 전략(SOP) 설정 4. 백신접종 정책 종료를 포함하는 HPAI 근절정책 수립과 총체적 출구전략 개발 <p>○ 기대성과</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 기술적 측면 <ul style="list-style-type: none"> - HPAI 예방용 백신 후보주 확보 - 효과적인 HPAI 예방용 백신 제작기술 확보 - H5 HPAI 백신 평가 방법 확립 2. 경제·산업적 측면 <ul style="list-style-type: none"> - 비축용 백신뱅크의 타당성 및 출구전략 제시 - 유니버설 백신 제작을 위한 기초기술 확보로 다양한 인플루엔자 백신 개발에 활용할 수 있어 동물약품산업 발전에 기여 - 가금산업 기반 안정화 및 백신 제품 생산 기반 구축 및 경험 축적 	

6. 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보

코드번호	D-08
<p>○ 고병원성 인플루엔자 바이러스 발생 역사</p> <ul style="list-style-type: none"> - 1959년 처음으로 고병원성 인플루엔자 바이러스가 발생하였으며, 1996년 중국의 광둥지방에서 광범위하게 시작하여 현재까지도 아시아, 아프리카, 유럽을 포함한 약 63개 나라에 발생하는 중임. - 고병원성 인플루엔자 바이러스는 가금류에서 발생하는 H5 또는 H7의 저병원성 인플루엔자 바이러스에 특정 돌연변이가 발생하여 저병원성에서 고병원성으로 치환된 바이러스로 추정되며, 이 바이러스가 가금에서 야생조류로 퍼지게 되면서 급속도로 전파하게 되었음 (Feare, 2010). H5N1 고병원성 인플루엔자 바이러스의 주된 저장고는 사람들이 사육하는 집오리로 추정되며, 많은 아시아 나라에서 집오리를 사육하는 것이 야생 물새류에서 가금류로 전파되는 주요 경로로 추정되고 있음 (Swayne, Spackman, Pantin-Jackwood, 2014). - 2003년 여러나라에서 고병원성 인플루엔자 바이러스가 enzootic 하게 발생함에 따라 각 나라에서 질병을 통제하는데 2가지 방식이 주로 활용됨. <ol style="list-style-type: none"> 1. 빠른 진단으로 통한 Stamp-Out 2. 임상증상, 사람 감염, 그리고 식량안전을 위하여 백신의 사용 <p>○ 가금류에서의 백신사용</p> <ul style="list-style-type: none"> - 2002년부터 2010년 사이에 15개 나라에서 113십억 분량의 인플루엔자 백신이 사용되어 왔음. 그 중 중국에서 사용한 분량이 90.99%, 이집트가 4.65%, 인도네시아가 2.32%, 베트남이 1.43%를 이루고 있음 (Swayne, Spackman, Pantin-Jackwood, 2014). - 고병원성 조류 인플루엔자 바이러스 백신으로 사용되는 백신의 주된 형태는 oil-emulsified whole AIV vaccine으로 이는 전체 시장의 95.5%를 차지하고 있으며, live recombinant virus vaccine이 제한적으로 사용되고 있음 (4.5%) (Swayne et al., 2011). - spray백신으로 적용가능한 뉴캐슬 바이러스의 인플루엔자 바이러스 HA 유전자를 삽입한 live recombinant ND-vectored vaccine with H5 (rNDV-H5-AIV)와 1일령에 적용가능한 폭스 바이러스에 H5 유전자를 삽입한 백신 (rFPV)-vectored vaccine 역시 개발되어 있음. - 현재 주되게 연구되고 있는 백신 제작 기술은 아래의 5가지와 같음 (표 1). <ul style="list-style-type: none"> ▪ inactivated whole AIV ▪ live AIV ▪ live vectors ▪ in vitro produced hemagglutinin ▪ DNA vaccine 	

- 하지만 그중 실제 field에 사용 허가된 백신은 inactivated whole AIV vaccine과 live vectored vaccines뿐임. inactivated vaccine의 경우는 개체별 접종을 진행해야되는 단점이 있으나, rNDV와 같은 ND백터 백신은 spray로 적용가능한 점, rHVT의 경우 1일령 병아리 또는 in ovo 적용이 가능한 점과 같은 장점이 존재하기에 새로운 기술들을 잘 적용하여 고병원성 인플루엔자 바이러스 피해를 줄여야 할 것으로 생각됨.

표 1. 상용화되었거나 실험중인 고병원성 인플루엔자 바이러스 백신

Vaccine category	Vaccine	Species	Route	AI subtypes	HPAIV challenge tested	Licensed	Comments	Additional references
Inactivated AIV	Adjuvanted whole AIV	Chicken (layer and broiler), turkey, duck, goose, other poultry, zoo birds	SQ, IM, in ovo	H5, H7	Yes	Yes	Mostly oil-emulsified; some with aluminum hydroxide. Includes H5 and H7 LPAIV, H5 and H7 HPAIV, and H7 reverse genetic LPAIV seed strains. Requires parenteral administration	
Live AIV	Live wild-type LPAIV	Chicken	IM, IT spray	H5, H7	Yes	No	Rumors of intentional exposure with LPAIV to protect from HPAIV have been reported in H5N1 and H5N2 HPAI outbreaks in 1990s and 2000s	(Swayne, unpublished information)
	Attenuated LPAIV	Chicken	Spray	H5, H7	Yes	No	Temperature sensitive mutant or replace HA with ectodomain of NDV HN gene; risk assessment needed for reassortment potential	Park et al. (2006), Zhang et al. (2012)
Live vector	rd-Adenovirus	Chicken	SQ, IN, in ovo	H5	Yes	No	rd = Replication defective, only 1 round of replication occurs after injection. SQ and in ovo protected	Gao et al. (2006)
	Avian leukosis virus	Chicken	IM	H7	Yes	No		Hunt et al. (1988)
	Avian paramyxovirus type 1 (rNDV)	Chicken	Eye, IN	H5, H7	Yes	Yes	Licensed in Mexico and China	Ge et al. (2007), Swayne et al. (2003)
	Duck enteritis virus (rDVE)	Duck	IM	H5	Yes	No	Submitted for license in mid-2012 for ducks (China)	Liu et al. (2011)
	Fowlpox virus (rFPV)	Chicken (layer and broiler), goose, Muscovy ducks	SQ, WW	H5, N1	Yes	Yes	Licensed 1997 for chickens (USA, Mexico); used primarily in Central America against H5N2 LPAI; limited use in China	

Table 1. continued

Vaccine category	Vaccine	Species	Route	AI subtypes	HPAIV challenge tested	Licensed	Comments	Additional references
In vitro produced hemagglutinin	Herpesvirus Turkey (rHVT)	Chickens	SQ	H5, N1	Yes	Yes	Licensed 2012 for chickens (USA, Egypt). Used Egypt	CEVA (2013), Rauw et al. (2011)
	Infectious laryngotracheitis virus vector	Chicken	Eye	H7, H5, N1	Yes	No	N1 did not protect	Pavlova et al. (2009), Veits et al. (2003)
	att-Salmonella typhimurium	Chicken	OR	H5, M2e	Yes	No	Attenuated vaccine strain. Failed to protect from HPAIV challenge with single oral immunization	Layton et al. (2009), Pan et al. (2009)
	Vaccinia rd-Venezuelan Equine Encephalitis virus	Chicken	IM, IP SQ, in ovo	H5 H5	Yes Yes	No No	Low to no antibody response rd = Replication defective, only 1 round of replication occurs after injection	Chambers et al. (1988) Schulz-Cherry et al. (2000)
DNA	Baculovirus in insect cell culture	Chicken, Muscovy duck	SQ	H5, H7	Yes	No		Crawford et al. (1999)
	Eukaryotic systems (plants or cells cultures)	Chicken	IM	H5	Yes	No	<i>Nicotiana</i> sp.	Kalthoff et al. (2010)
	Naked DNA	Chicken	IM	H5	Yes	No	Not financially viable. Improvements needed in promoters and adjuvants to decrease quantity of nucleic acid needed and reduce number doses for protection	Rao et al. (2008), Suarez and Schulz-Cherry (2000)

(Swayne, Spackman, Pantin-Jackwood, 2014)

○ 중국에서 시행되는 백신 전략

- 1996년 중국에서 처음으로 고병원성 인플루엔자 바이러스가 분리됨 (A/goose/Guangdong/1/1996). 처음 발생한 이래로 H5N1 바이러스는 지속적인 진화를 통하여 항원성을 변화시켰으며, 숙주의 범위를 넓혀 나갔음 (Fan et al., 2015).

- 중국에서 가금류에 사용되는 백신은 중국에서 발생하는 epizootic한 H5N1에 대해서 개발되었음. 2004년부터는 PR8 바이러스의 내부 유전자를 가지면서 HA와 NA 유전자만을 현재 유

행하는 strain으로 치환하는 역유전학 기법을 이용한 백신을 생산하기 시작하였으며, 2005년 A/goose/Guangdong/1/1996 바이러스의 HA, NA 유전자를 가지는 Re-1 백신이 제작됨. 그 이후로 현재 유행하는 HA, NA 유전자를 치환하는 기법을 통하여 지속적인 백신생산이 진행되고 있음 (표 2).

- 역유전학 기법을 이용한 Re-1 바이러스 이후로 지속적인 Re 계통의 백신주들이 확립되었고, 최근에는 Re-8까지 개발되었음 (Zeng et al., 2016). 뉴캐슬 바이러스나 폭스 바이러스를 벡토로 이용한 vectored vaccine역시 개발되었으나, 역유전학 기법을 이용한 Re백신주들이 여전히 많이 사용되고 있음.

표 2. 중국에서 사용 및 개발된 백신

Subtype	Commercial name	Strain	Laboratory	Vaccine category
H5N1	Re-1	A/goose/Guangdong/1/1996 (0) [†]	Harbin Veterinary Research Institute	Reverse genetic, oil adjuvant
H5N1	Re-4	A/chicken/Shanxi/2/2006 (7.2) [†]	Harbin Veterinary Research Institute	Reverse genetic, oil adjuvant
H5N1	Re-5	A/duck/Anhui/1/2006 (2.3.4) [†]	Harbin Veterinary Research Institute	Reverse genetic, oil adjuvant
H5N1	Re-6	A/duck/Guangdong/S1322/2010 (2.3.2) [†]	Harbin Veterinary Research Institute	Reverse genetic, oil adjuvant
H5N1	Re-7	A/chicken/Liaoning/S4092/2011 (7.2) [†]	Harbin Veterinary Research Institute	Reverse genetic, oil adjuvant
H5N1	rLH5-1	A/goose/Guangdong/1/1996 (0) [†]	Harbin Veterinary Research Institute	Live recombinant NDV-vectored H5, freeze dried
H5N1	rLH5-5	A/duck/Anhui/1/2006 (2.3.4) [†]	Harbin Veterinary Research Institute	Live recombinant NDV-vectored H5, freeze dried
H5N1	rLH5-6	A/duck/Guangdong/S1322/2010 (2.3.2) [†]	Harbin Veterinary Research Institute	Live recombinant NDV-vectored H5, freeze dried
H5N1	Re-1 + Re-4		Harbin Veterinary Research Institute	Reverse genetic, oil adjuvant
H5N1	Re-4 + Re-5		Harbin Veterinary Research Institute	Reverse genetic, oil adjuvant
H5N1	Re-4 + Re-6		Harbin Veterinary Research Institute	Reverse genetic, oil adjuvant
H5N1+H9N2	Re-5 + Re-2		Harbin Veterinary Research Institute	Reverse genetic, oil adjuvant
H5N1+H9N2	Re-6 + Re-2		Harbin Veterinary Research Institute	Reverse genetic, oil adjuvant
H5N2		A/turkey/England/N28/1973	Harbin Veterinary Research Institute	Inactivated, oil adjuvant
H5N2	D7	A/duck/Guangdong/D7/2007	Guangdong Dahuanong Animal Health Products Co., Ltd	Inactivated, oil adjuvant
H9N2	Re-2	A/chicken/Guangxi/10/1999	Harbin Veterinary Research Institute	Reverse genetic, oil adjuvant
H9N2	SS/94	A/chicken/Guangdong/SS/1994	South China Agricultural University	Inactivated, oil adjuvant
H9N2	F	A/chicken/Shanghai/F/1998	Yangzhou University	Reverse genetic, oil adjuvant
H9N2	YBF003		Qingdao Yebio Bioengineering Co., Ltd	Inactivated, oil adjuvant
H9N2	SD696	A/chicken/Shangdong/6/1996	Harbin Veterinary Research Institute	Inactivated, oil adjuvant
H9N2	HL		Pulike Biological Engineering, Inc.	Inactivated, oil adjuvant
H9N2	HP		Poultry Institute, Henan Agricultural University	Inactivated, oil adjuvant
H9N2	L		Qingdao Oland-better Bioengineering Co., Ltd	Inactivated, oil adjuvant
H9N2	S2		Poultry Institute, Shandong Academy of Agricultural Science	Inactivated, oil adjuvant
H9N2	NJ02		Poultry Institute, Jiangsu Academy of Agricultural Science	Inactivated, oil adjuvant
H9N2	WD		Institute of Animal Science of CAAS	Inactivated, oil adjuvant
H9N2	HN106		Beijing Veterinary Biopharmaceutical Manufacturing Company	Inactivated, oil adjuvant
H9N2	Jing911		Beijing Ceva Huadu Biological Co., Ltd	Inactivated, oil adjuvant
H9N2	Sy		Northwest Agricultural and Forest University	Inactivated, oil adjuvant
H9N2	LG1	A/chicken/Shandong/LG1/2000	Qilu Animal Health Co., Ltd	Inactivated, oil adjuvant
H9N2	JY		Harbin Pharmaceutical Group Holding Co., Ltd	Inactivated, oil adjuvant

[†]Indicates clades of H5N1 avian influenza viruses.

(Fan et al., 2015)

○ 이집트에서 시행되는 백신 전략과 그 한계

- 이집트는 2006년부터 H5N1 고병원성 인플루엔자 바이러스가 발생하기 시작하였으며, 첫

발생시에는 살처분, 방역 감시, 그리고 약간의 이동 통제 정책을 시행하였음 (처음 발생지역의 3km반경). 2006년 3월부터는 모든 양계에 백신을 하는 정책이 채택되었으며, 2007년 5월부터 시행되었음.

- 하지만 2008년 7월 계속적인 H5N1 발생으로 인하여 정부는 H5N1바이러스의 endemic을 선언하였음 (Peyre et al., 2009). 하지만 백신접종은 고병원성 인플루엔자 근절에 큰 영향을 미치지 않았으며 양계와 사람에서의 감염 사례가 꾸준히 발생하였음 (EMPRES/GLEWS, 2009).
- 가금류에 대한 백신 사용은 초기 전파시에 바이러스의 전파를 제한하는 효율적이었으나, 그 효율은 항원 변이주가 발생함에 따라 계속적으로 감소하였음. 또한 이런 다양한 변이주의 발생은 효과적인 백신 후보주 선별을 더 어렵게 하고 있음.

표 3. 이집트에서 사용되는 백신주

Vaccine strain	Abbreviation	Clade	Accession number
A/chicken/Mexico/232/94/CPA (H5N2)	Mex/94	-	AY497096
A/turkey/England/N28/1973 (H5N2)	N28/73	-	CY030993
A/turkey/Minnesota/3689-1551/1981 (H5N2)	Potsdam/86	-	AB558457
A/duck/Potsdam/1402-6/86 (H5N2)	MN/81	-	AF082042
A/TY/California/20902/2002 (H5N2)	-	-	Not available ^a
A/goose/Guangdong/1/1996 (H5N1)	Re-1/96	0	NC_007362
A/duck/Anhui/1/06 (H5N1)	Re-5/06	2.3	HM172115
A/mute swan/Hungary/4999/2006 (H5N1)	Hungary/06	2.2	KP969039
A/chicken/Egypt/18-H/2009 (H5N1)	H18/09	2.2.1.1	CY062601
A/chicken/Egypt/Q1995D/2010 (H5N1)	2583-V/10	2.2.1.1	CY099579
A/duck/Egypt/M2583D/2010 (H5N1)	1955-V/10	2.2.1.2	CY099580
A/Egypt/2321-NAMRU3/2007 (H5N1)	2321-H/07	2.2.1 ^b	EF535822
A/Egypt/N03072/2010 (H5N1)	3300-H/08	2.2.1.2 ^b	CY062484
A/Egypt/3300-NAMRU3/2008 (H5N1)	3072-H/10	2.2.1.1 ^b	FJ226061

^a No genetic information available for this vaccine strain.

^b Strains selected by the WHO as vaccines for human.

(Abdelwhab et al., 2016)

7. 연구개발결과의 보안등급

코드번호	D-09
<input type="radio"/> 보안 과제 아님.	

8. 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

구입 기관	연구시설/ 연구장비명	규격 (모델명)	수량	구입 연월일	코드번호		비고 (설치 장소)	NTIS장비 등록번호
					구입 가격 (천원)	구입처 (전화번호)		

9. 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적

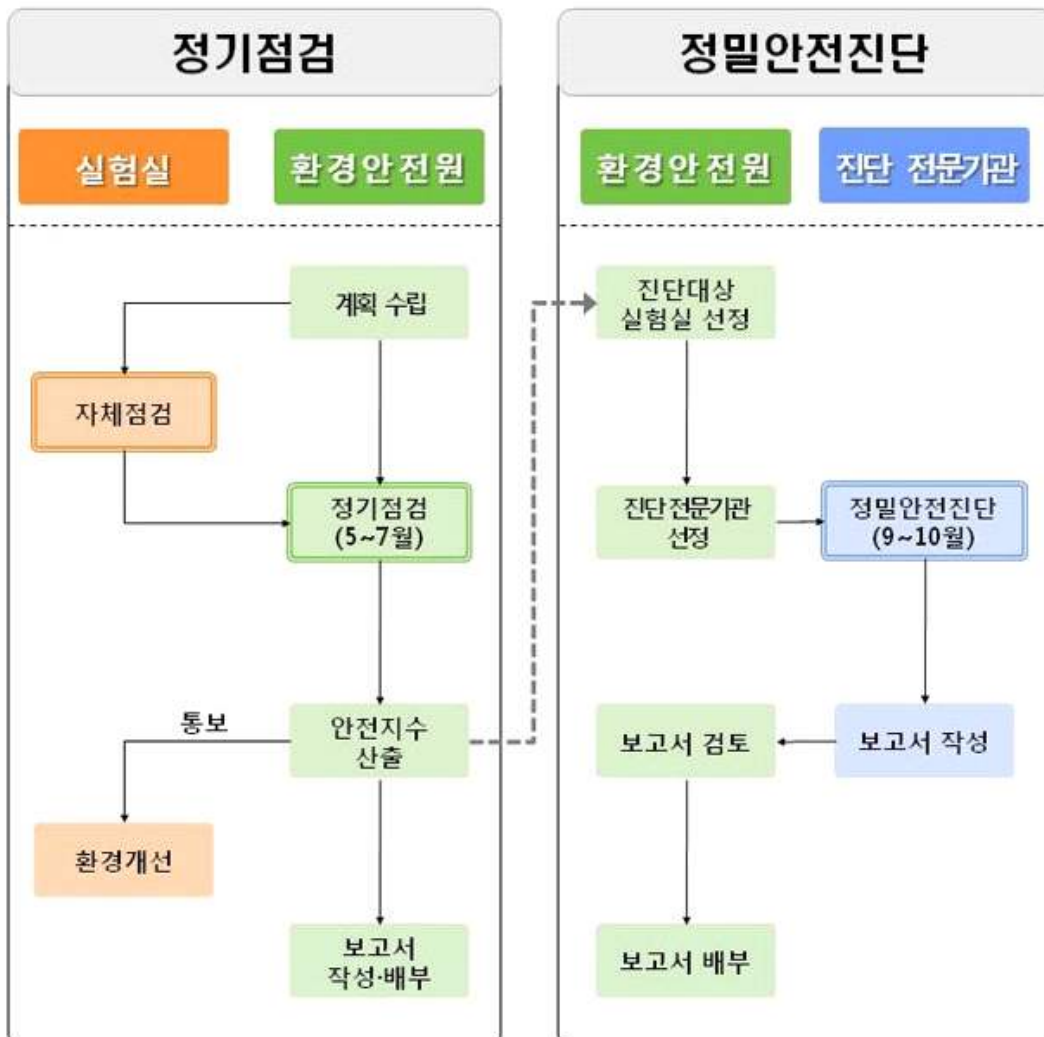
코드번호	D-11
------	------

○○ 기술적 위험요소 분석

1) 실험실 안전점검 실시

- ‘서울대학교 연구실 안전 환경 관리규정’에 의거 실험, 실습실 안전자체점검을 분기 1회 이상 실시하고, 실험, 실습실 안전관리실태점검을 년 1회 이상 실시함
- 안전점검 실시 결과 안전지수가 낮은 연구실과 ‘연구실 안전환경 조성에 관한 법률’에서 규정한 연구실에 대하여 정밀안전진단을 실시하여야 함.

2) 실험실 안전점검 흐름표



○ 안전관리대책

1) 교육 훈련

■ 배경

- 안전한 연구환경 조성을 위해 ‘연구실 안전 환경 조성에 관한 법률’(이하 ‘연안법’) 제18조(교육, 훈련 등)에서는 연구활동종사자에게 신규교육을 실시하고 이후 매 6개월마다 6시간의 정기교육을 의무적으로 실시할 것을 명시하고 있음.
- 이에 따라 ‘연안법’에서 요구하는 연구활동종사자 교육이수 의무사항을 ‘서울대학교 연구실 안전 환경 관리규정’을 개정을 통하여 반영하였음.

■ 안전환경 교육 대상자

- 실험, 실습을 수행하는 대학(원), 연구소, 부속기관 및 대학, 연구기관 등이 과학기술분야 연구 개발 활동을 위하여 시설, 장비, 연구재료 등을 갖추어 설치한 실험실, 실습실, 실습준비실의 교직원, 학생 및 연구원
- 의무교육 대상자: 학생 및 연구원
- 희망교육 대상자: 교직원

■ 교육 대상자별 교육시간 및 방법

대상	신규 교육		정기 교육	
	시간(년)	교육방법	시간(반기)	교육방법
대학원생 연구원	2	환경안전원 주관 집체교육 • 신입생을 대상으로 2시간의 신규교육을 포함하여 총 14시간의 교육을 진행 • 이를 이수한 자는 신규교육 2시간과 정기교육 12시간을 이수한 것으로 같음	6	연구실 주관 온라인교육 또는 자체교육 [온라인교육] 환경안전원 홈페이지 (http://ieps.snu.ac.kr) [자체교육] 담당교수 중심의 연구실별 교육 • 교육결과 : 실험실안전 통합관리시스템에 입력 (http://snulab.snu.ac.kr)
학부생	2	기관주관 신입생 오리엔테이션 안전교육 또는 학부(과)주관 실험 전 안전교육 • 환경안전원 홈페이지 자료 활용 • 교육결과 : 표준양식에 기록 환경안전원에 제출	6	환경안전원 주관 온라인교육 [온라인교육] 환경안전원 홈페이지 (http://ieps.snu.ac.kr)
교직원	2	환경안전원 주관 집체교육 • 관리기관안전담당자 워크숍 (1회/년)	6	환경안전원 주관 온라인교육 [온라인교육] 환경안전원 홈페이지 (http://ieps.snu.ac.kr)

※ 인턴생 : 연구실을 일시적으로 출입하는 경우, 연구실 주관으로 2시간의 신규교육을 이수하여야 하며, 장기적(6개월 이상)으로 출입하는 경우에는 환경안전원 주관 온라인교육(6시간/반기)을 이수하여야 한다.

■ 안전교육 과정

- 전공특성에 따라 A, B, C 반으로 구분하여 교육 실시
- A 반: 화학약품, 동물, 미생물 취급
- B 반: 화학약품 취급
- C 반: 기계, 전기, 컴퓨터 취급

■ 안전교육 절차



○ 기술적 위험요소 분석

1) 실험실 안전 점검

위험등급	점검주기	분류 기준
A등급	분기 1회	가연성가스, 인화성 시약, 유해화학물질, 다량의 폐액배출, 독극물, 생물 및 동물의 취급, 방사성 동위원소, 위험성이 높은 기계장비가 설치된 실험실
B등급	반기 1회	일반시약, 소규모 인화성 시약, 불연성가스, 소량의 폐수발생 실험실
C등급	연 1회	이화학실험을 수행하지 않는 전기, 설계, 컴퓨터 관련 실험실

2) 실험실 정밀안전진단 실시

실험실안전관리규정에 의거 실험실의 위험정도에 따라, A,B,C로 관리등급을 분류하여, 실험실환경안전점검을 실시하고 있으며, 안전점검실시 결과 실험실의 재해예방과 안전성 확보 등을 위하여 필요하다고 인정되는 경우에는 전무기관에 의뢰하여 정밀 안전진단을 실시함.

○ 안전관리대책

1) 교육 훈련

a. 관련근거 : 연구실 안전환경 조성에 관한 법령 제 18조, 동법 시행령 제 17조 및 동법 실행규칙 제 9조, 실험실 안전관리 규정 제 16조(안전교육), 제 17조(안전교육의 관리)

b. 교육대상 : 실험실을 출입하는 모든 이용자 (교수, 대학원생, 실험조교, 전문직원, 소속연구원, 실험참여 학부생 및 업체직원 등

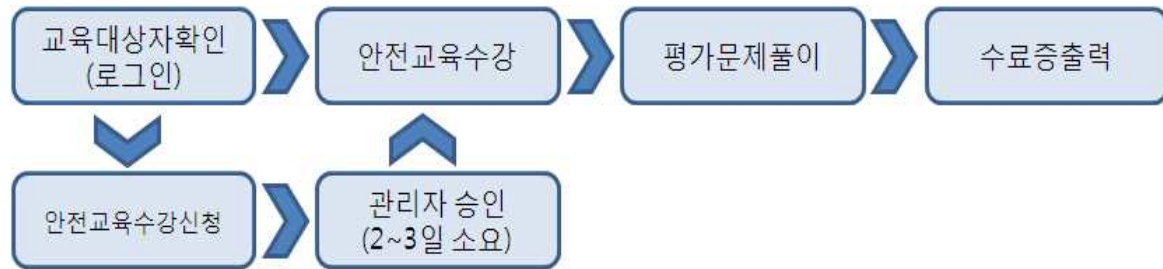
c. 안전교육 시간 및 수료인정기간

- 출입하는 실험실의 위험등급(A,B,C등급) 및 전공특성에 따라 안전교육을 받아야 하며, 1년에 8시간 이상 교육이수 필수
- 수료인정기간은 수료증의 수료인정기간 까지(유효기간이 지나면 재교육 이수)

d. 안전교육 과정

- 전공특성에 따라 A,B,C 코스로 구분하여 교육 실시
- A코스 : 생물·방사선 취급
- B코스 : 화학·가스 취급
- C코스 : 전기·기계 취급

e. 안전교육절차



2) 안전관리추진계획

- 각 실험 단과대학별 안전관리실무위원회 구성 및 운영
- 교내 전체 건물 소방시설 통합관리체계(FMS) 구성
- 실험실 내부 점검실시 후 실험등급 지정표찰 부착
- 건물별 복도 및 비상계단 통로 확보와 불법 사무실 철거
- 사이버 안전 교육 훈련

3) 2015년도 연구실 안전공제 증권

- 공제가입기간 : 2015.05.04 15시 ~ 2016.05.04. 15시(366일)
- 공제가입금액 : 사망/후유장해(1급시) : 100,000,000원, 상해 : 10,000,000원
- 총 공제료 : 53,391,000원

10. 연구개발과제의 대표적 연구실적

번호	구분 (논문/특허/기타)	논문명/특허명/기타	소속 기관명	역할	논문게재지/ 특허등록국 가	코드번호		D-12	
						Impact Factor	논문게재일 /특허등록일	사사여부 (단독사사 또는 중복사사)	특기사항 (SCI여부/인 용횟수 등)
1	논문	Development of H5N2 vaccine strains for DIVA strategy against H5 highly pathogenic avian influenza (HPAI) in Korea	서울대학교	제1저자	영국	2.099	yyyy.mm.dd		(Journal of Applied Microbiology) Revision중
2	기타	고병원성 AI 백신접종 추진방향 검토	서울대학교	위원			'17.4.4.		농식품부 기술자문
3	기타	AI,구제역 방역 개선대책 심의	서울대학교	심의위원			'17.04.10		농식품부 가축방역심의회 항원뱅크 필요성 건의
4	기타	고병원성 AI 방역 개선대책 토론회	서울대학교	좌장			'17.04.14		경기도 주관, AI백신뱅크 필요성 강조
5	기타	HPAI 백신대응 T/F팀 소그룹(학계) 전문가 자문회의	서울대학교	위원			'17.6.15		검역본부 AI 백신대응 T/F팀 전문가 자문
6	기타	AI 항원뱅크 및 긴급백신접종시스템 구축 계획 검토	서울대학교	위원			'17.6.30		검역본부 AI 백신대응 T/F팀 본회의
7	기타	AI 긴급 백신접종 시스템 구축 계획 회의	서울대학교	위원			'18.8.2		농식품부 AI 백신대응 전문가 자문
8	기타	긴급상황 대비, HPAI 항원뱅크 구축계획 보고 검토회의	서울대학교	위원			'17.9.27		농식품부 AI 백신대응 전문가협의 회 자문
9	기타	고병원성 AI 항원뱅크 비축 및 백신접종 시스템 구축방안 공청회	서울대학교	좌장			'17.10.19		항원뱅크 구축에 대한 업계, 학계 등 전체의견 토의, 수렴
10	기타	고병원성 AI 항원뱅크 비축 및 긴급 백신접종 시스템 구축방안 심의회	서울대학교	좌장			'17.11.17		농식품부 가축방역심의회 항원뱅크 정책 심의

11. 기타사항

코드번호

D-13

“국내 고병원성 AI 백신접종을 위한 프로그램 및 출구전략 개발” 과제 관련 정책 회의 참여 및 의견 개선

- 농식품부 및 농림축산검역본부의 AI 긴급백신 사용 정책 또는 항원뱅크 구축 정책에 관한 가축방역심의회, AI 백신대응 T/F팀 협의회, 전문가 협의회 등을 통하여 정책 제안을 하였고, 토론회 및 공청회를 좌장으로서 주관함으로써 관학산연에 대한 의견 수렴과 백신접종에 대한 기술적 타당성과 장단점을 교육 하였음.

○ AI, 구제역 방역 개선대책

일시: 2017.04.10.

주관: 농림축산식품부

역할: 정책 반영 의견 제시

○ 고병원성 AI 방역 개선대책 토론회

일시: 2017.04.14.

주관: 경기연구원

역할: 토론 좌장으로 토론 주도 및 의견 수렴

○ 고병원성 AI 백신접종 추진 방향 검토

일시: 2017.04

주관: 농림축산식품부

역할: 정책 반영 의견 제안

○ HPAI 백신대응 TF팀 소그룹 (학계) 회의자료

일시: 2017.06.15.

주관: 농림축산검역본부

역할: 정책 반영 의견 제안

○ HPAI 백신대응 TF팀 소그룹 (학계) 회의자료

일시: 2017.06.22.

주관: 농림축산검역본부

역할: 정책 반영 의견 제안

○ [긴급상황대비] AI 항원뱅크 및 긴급백신접종시스템 구축 계획

일시: 2017.06.30.

주관: AI 백신대응 T/F팀

역할: 정책 반영 의견 제시

○ AI 긴급 백신접종 시스템 구축 계획

일시: 2017.08.02.

주관: 농림축산식품부

역할: 정책 반영 의견 제시

○ [긴급상황 대비] 고병원성 AI 항원뱅크 구축계획 보고

일시: 2017.09.27.

주관: 농림축산식품부

역할: 정책 반영 의견 제시

○ AI 긴급백신 접종시스템 구축 관련 전문가협의회

일시: 2017.09.27.

주관: 질병관리본부

역할: 정책 반영 의견 제시

○ 고병원성 AI 항원뱅크 비축 및 백신접종 시스템 구축방안 공청회

일시: 2017.10.19.

주관: 농림축산식품부 방역정책국

역할: 좌장으로 토론 진행 및 의견 수렴

○ 고병원성 AI 항원뱅크 비축 및 긴급 백신접종 시스템 구축방안

일시: 2017.11.17.

주관: 농림축산식품부 방역정책국

역할: 정책 반영 의견 개진

12. 참고문헌

코드번호	D-14
<p>Chen, W., et al. (2001). "A novel influenza A virus mitochondrial protein that induces cell death." <u>NatMed</u>7(12): 1306-1312.</p>	
<p>Akarsu, H., et al. (2003). "Crystal structure of the M1 protein-binding domain of the influenza A virus nuclear export protein (NEP/NS2)." <u>EMBOJ</u>22(18): 4646-4655.</p>	
<p>Nemeroff, M. E., et al. (1998). "Influenza Virus NS1 Protein Interacts with the Cellular 30 kDa Subunit of CPSF and Inhibits 3' End Formation of Cellular Pre-mRNAs." <u>MolecularCell</u>1(7): 991-1000.</p>	
<p>Hale, B. G., et al. (2008). "The multifunctional NS1 protein of influenza A viruses." <u>JGenViro</u>89(Pt 10): 2359-2376.</p>	
<p>Connie Leung, Y. H., et al. (2013). "Experimental challenge of chicken vaccinated with commercially available H5 vaccines reveals loss of protection to some highly pathogenic avian influenza H5N1 strains circulating in Hong Kong/China." <u>Vaccine</u>31(35): 3536-3542.</p>	
<p>Watanabe, Y., et al. (2012). "Antigenic analysis of highly pathogenic avian influenza virus H5N1 sublineages co-circulating in Egypt." <u>JGenViro</u>93(Pt 10): 2215-2226.</p>	
<p>Peyre, M., et al. (2009). "Avian influenza vaccination in Egypt: Limitations of the current strategy." <u>JournalofMolecularandGeneticMedicine:AnInternationalJournalofBiomedicalResearch</u>3(2): 198-204.</p>	
<p>Peng, Y., et al. (2017). "Continual Antigenic Diversification in China Leads to Global Antigenic Complexity of Avian Influenza H5N1 Viruses." <u>SciRep</u>7: 43566.</p>	
<p>Wu, Chung-Yi, et al. "Influenza A surface glycosylation and vaccine design." <u>Proceedings of the National Academy of Sciences</u> 114.2 (2017): 280-285.</p>	
<p>Wang, Weijia, et al. "Glycosylation at 158N of the hemagglutinin protein and receptor binding specificity synergistically affect the antigenicity and immunogenicity of a live attenuated H5N1 A/Vietnam/1203/2004 vaccine virus in ferrets." <u>Journal of virology</u> 84.13 (2010): 6570-6577.</p>	
<p>Byrd-Leotis, Lauren, Richard D. Cummings, and David A. Steinhauer. "The interplay between the host receptor and influenza virus hemagglutinin and neuraminidase." <u>International journal of molecular sciences</u> 18.7 (2017): 1541.</p>	
<p>Anders, E. Margot, Carol A. Hartley, and David C. Jackson. "Bovine and mouse serum beta inhibitors of influenza A viruses are mannose-binding lectins." <u>Proceedings of the National Academy of Sciences</u> 87.12 (1990): 4485-4489.</p>	
<p>Hardy, Paul H., and Frank L. Horsfall. "Reactions between influenza virus and a component of allantoic fluid." <u>Journal of experimental Medicine</u> 88.4 (1948): 463-484.</p>	
<p>Svedmyr, A. "Studies on a Factor in Normal Allantoic Fluid Inhibiting Influenza Virus Haemagglutination. The Effect of Active Virus, Proteolytic Enzymes and Periodate on the Inhibitor." <u>British journal of experimental pathology</u> 30.4 (1949): 254.</p>	
<p>Yang, H., et al. (2016). "Molecular Characterizations of Surface Proteins Hemagglutinin and Neuraminidase from Recent H5Nx Avian Influenza Viruses." <u>JViro</u>90(12): 5770-5784</p>	

Kim, Il-Hwan, et al. "Characterization of mutations associated with the adaptation of a low-pathogenic H5N1 avian influenza virus to chicken embryos." *Veterinary microbiology* 162.2-4 (2013): 471-478.

Kim, Il-Hwan, et al. "Effects of different NS genes of avian influenza viruses and amino acid changes on pathogenicity of recombinant A/Puerto Rico/8/34 viruses." *Veterinary microbiology* 175.1 (2015): 17-25.

Seo, Sang Heui, and Robert G. Webster. "Cross-reactive, cell-mediated immunity and protection of chickens from lethal H5N1 influenza virus infection in Hong Kong poultry markets." *Journal of Virology* 75.6 (2001): 2516-2525.

Portela, Agustín, and Paul Digard. "The influenza virus nucleoprotein: a multifunctional RNA-binding protein pivotal to virus replication." *Journal of general virology* 83.4 (2002): 723-734.

Schnell, J. R. and J. J. Chou (2008). "Structure and mechanism of the M2 proton channel of influenza A virus." *Nature* **451**(7178): 591-595

Deng, L., et al. (2015). "M2e-Based Universal Influenza A Vaccines." *Vaccines(Basel)* **3**(1): 105-136.

Liu, W., et al. (2005). "Sequence comparison between the extracellular domain of M2 protein human and avian influenza A virus provides new information for bivalent influenza vaccine design." *MicrobesInfect* **7**(2): 171-177

Zheng, M., J. Luo, and Z. Chen. "Development of universal influenza vaccines based on influenza virus M and NP genes." *Infection* 42.2 (2014): 251-262.

Kreijtz, J. H., et al. (2011). "Immune responses to influenza virus infection." *VirusRes* **162**(1-2): 19-30

Grant, Emma J., et al. "Human influenza viruses and CD8+ T cell responses." *Current opinion in virology* 16 (2016): 132-142.

Webby, Richard J., et al. "Protection and compensation in the influenza virus-specific CD8+ T cell response." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 100.12 (2003): 7235-7240.

Hou, Y., et al. (2012). "Prediction and identification of T cell epitopes in the H5N1 influenza virus nucleoprotein in chicken." *PLoSOne* **7**(6): e39344

Reemers, S. S., et al. (2012). "Identification of novel avian influenza virus derived CD8+ T-cell epitopes." *PLoSOne* **7**(2): e31953

Choi, Jun Gu, et al. "An inactivated vaccine to control the current H9N2 low pathogenic

avian influenza in Korea." Journal of veterinary science 9.1 (2008): 67-74.

첨부 1. 건국대학교 생물안전 3등급 연구시설 재확인 기한 연장에 대한 회신

힘이되는 평생친구, 보건복지부



질병관리본부



수 신 자 건국대학교총장(산학기획감사팀장)
(경유)

제 목 생물안전 3등급 연구시설 3년 재확인 기한 연장 요청에 대한 회신

1. 귀 기관의 무궁한 발전을 기원합니다.

2. 관련

가. 「유전자변형생물체의 국가간 이동 등에 관한 법률」 제22조, 제36조, 같은 법 통합고시 제9-8조

- 나. 연구윤리센터-160275(2016.12.26.)호 : 재확인 기한연기 요청
- 산학기획감사팀-568(2017.05.25.)호 : 재확인 기한 연장 요청
- 산학기획감사팀-1195(2017.08.31.)호 : 재확인 기한 연장 요청
- 산학기획감사팀-1923(2017.12.22.)호 : 재확인 기한 연장 요청
- 산학기획감사팀-1952(2017.12.27.)호 : 재확인 기한 연장 요청

- 다. 생물안전평가과-2981(2016.12.27.)호 : 재확인 기한 연장 요청 수리
- 생물안전평가과-1103(2017.05.29.)호 : 재확인 기한 연장 요청 수리
- 생물안전평가과-2008(2017.08.31.)호 : 재확인 기한 연장 요청 수리

3. 위 호와 관련하여 귀 기관에서 설치·운영 중인 생물안전 3등급 연구시설의 3년 재확인 신청 기한 **연장 요청**해 온 바, 아래와 같이 제출기한 연장 요청을 수리하오니 관련신청 자료를 연장 기일 내에 제출하여 주시기 바랍니다.

- 아 래 -

허가번호	신청 기관	연장사유	재확인 기한				
			당초	1차	2차	3차	4차
제KCDC-09-3-01호 (최초허가: 09.02.10.)	건국 대학교	검증과정 중 추가보완사항 발생 (UPS, 양문형고압증기멸 균기)	18.02.09	17.05.31.	17.08.31.	17.12.31.	18.03.31.
제KCDC-10-3-06호 (최초허가: 10.12.20.)			16.12.19	17.05.31.	17.08.31.	17.12.31.	18.03.31.

* 제KCDC-10-3-06호 : 차기 재확인 신청 기한 : 2019.12.19.(최초 허가일로부터 매 3년)

끝.

질병관리본부장



위험할 땐 119, 힘겨울 땐 129

소 시 자