

수온의 변화가 넙치, *Paralichthys olivaceus*의 면역 반응과 VHSV 감염에 미치는 영향

김은전 · 김수미 · 박수일
부경대학교 수산생명의학과

서론

우리 나라 양식 넙치에서 Viral hemorrhagic septicemia virus (VHSV) 질병이 저수온기에 넙치의 치어에서 성어까지 크기에 상관없이 발병하며 수온 15°C 이하의 겨울동안 폐사하여 경제적 손실이 심각하다. Polyinosinic polycytidylic acid (Poly I:C)는 synthetic double-stranded RNA polymer로 항바이러스 활성을 유도할 수 있는 자극 물질로서 바이러스 dsRNA 구조와 유사하여 바이러스에 대한 면역 반응 시험에 널리 이용되고 있다. 경골어류에서 leucocyte의 cytolytic activity는 NCCs의 다양한 effector cells이 관여하는 것으로 보인다 (Evans *et al.*, 1998). NCCs의 세포 독성 특성은 포유류의 natural killer (NK) cells과 비교할 수 있는데, NCCs는 포유류의 NK cells에 대해 진화학적으로 선구세포이며 하등 척추동물의 것과 같다고 표현할 수 있다 (Evans *et al.*, 1984; Jaso-Friedmann *et al.*, 2001). NCCs는 차벨메기, 자리돔, 무지개송어와 잉어를 포함한 여러 어종에서 보고된 바 있다. 본 연구의 목적은 겨울철에 발생하는 양식 넙치의 질병 원인체인 VHSV 감염에 의한 질병 발생과 관련하여 수온이 끼치는 영향을 파악하고자 하였다. VHSV의 병원성과 수온의 관계, 넙치와 수온과의 관계를 다양한 면역 인자를 통해 알아보하고자 하였다.

재료 및 방법

시험어 : 포항의 육상 수조식 양어장으로부터 질병에 감염된 병력이 없는 건강한 넙치(평균 체중 35±7.5 g)를 실험에 사용하였다. 1주일간 수온은 18~20°C에서 순치를 하였으며 실험온도에서 4주간 순치하였다.

Virus : VHSV 주는 2001년 12월부터 2002년 4월까지 경북 동해안 지역의 넙치 양식장에서 VHSV 감염증에 감염된 넙치로부터 분리하였다.

Cell line : 단층 배양된 EPC를 사용하였다.

VHSV의 온도 감수성 : *in vitro* 와 *in vivo* 에서 다양한 온도 (4~30°C)에 실험하였다.

온도별 넙치의 면역인자 발현 조사 : 12°C와 20°C의 수온에 순치한 넙치의 두신을 이용하여 비특이면역과 특이면역 유전자의 발현을 RT-PCR를 통해 발현을 확인하였다.

Cytotoxicity 측정 : effector cell 은 넙치 두신 비부착 세포를 사용하였고 target cell 은 L1210을 사용하였다. lactate dehydrogenase (LDH) activity의 검출에 기초한 cytotoxic detection Kit (Promega)를 사용하여 시행했다.

결과 및 요약

VHSV는 EPC cell line에서 10~20°C에서 증식한다. VHSV의 수온에 따른 해수 내의 생존 기간을 조사한 결과 4~20°C에서 생존하며 25°C이상의 해수에서는 접종 후에 급격하게 비리온이 감소하였으나 약하게 활성을 나타냈다. 넙치에 감염을 일으키는 VHSV가 15°C 이하의 수온에서는 감염력이 강하지만 18°C에서는 감염력이 나타나지 않았으며 바이러스도 검출되지 않았다. 수온별 어체내 생존 기간 조사 시험 결과, 20°C에서는 3일째 이후로 CPE가 관찰되지 않았으며, 12°C에서는 1일째부터 CPE가 나타나 3일째는 접종 역가보다 높은 TCID₅₀을 나타내며 어체내에서 7일째 이후까지 높은 virus titer를 나타냈다. Poly I:C를 주사했을 때 항바이러스 면역 유전자의 발현이 12°C보다 20°C가 높았다. Target cell과 conjugation을 일으키는 effector cell은 lymphocyte-like cell로 넙치의 NCCs가 lymphocyte-like cell로 여겨진다. 바이러스 감염 시 넙치의 비특이 면역 중 cytotoxic activity가 effector : target cell ratio가 100:1일 때 20°C 시험구에서 15.29±6.12%이며 12°C 시험구는 4.8±2.23%이며 12°C보다 20°C가 유의적으로 증가하였다. 이상의 결과를 종합해 보면, 우리 나라 VHSV 감염증은 저수온기 (10-12°C)에 강한 병원성을 나타내며, 이와는 달리 넙치는 비특이적 면역능이 약해지는 것이 겨울철 넙치의 VHSV 감염증 발생과 관련이 깊을 것으로 생각하였다.

참고문헌

- Evans, D.L., J.H. Leary and L. Jaso-Friedmann (1988). Nonspecific cytotoxic cell receptor protein-1: a novel (predicted) type III membrane receptor on the teleost equivalent of natural killer cells recognizes conventional antigen.
- Evans, D.L., K.T. Hogan, S.S. Graves, J.R. Carlson, R.L. Floyd and E. Dawe (1984). Nonspecific cytotoxic cells in fish (*Ictalurus punctatus*): III. Biophysical and biochemical properties affecting cytolysis. Dev. Comp. Immunol., 8, 599-610.
- Jaso-Friedmann, L., III. Leary and D.L. Evans (1997). The non-specific cytotoxic cell receptor (NCCRP-1): molecular organization and signaling properties. Dev. Comp. Immunol., 25, 701-711.