

국내 분리 encephalomyocarditis virus의 실험적 감염 Syrian hamster에 대한 병리학적 및 면역조직화학적 연구

尹元基·趙聲煥

忠南大學校 獸醫科大學
(1994년 4월 19일 접수)

Pathological and immunohistochemical studies in Syrian hamsters experimentally infected with encephalomyocarditis virus isolated in Korea

Won-kee Yoon, Sung-whan Cho

College of Veterinary Medicine, Chungnam National University

(Received April 19, 1994)

Abstract : To elucidate pathogenicity to hamster of encephalomyocarditis virus K₃ strain that was isolated in Korea from the swine with reproductive failures, adult male syrian hamsters were experimentally infected intraperitoneally with the virus at 10^{7.0} TCID₅₀/0.1 ml and pathological and immunohistochemical studies were performed.

The results obtained through the experiment were as follows.

1. Clinical signs such as depression, unkempt hair and bilateral paralysis of hind limbs were observed.
2. At necropsy, mild congestion was observed in the cerebrum, liver, kidney and lung, and atrophy was evident in testis.
3. In microscopic observation, degeneration and necrosis of the nervous cells and perivascular mononuclear cell infiltration were manifested in central nerve system, and various degrees of degeneration and necrosis of parenchymal cells were detected in pancreas, lacrimal gland, liver, kidney and testis.
4. In immunohistochemical observation, strong positive reactions were observed in degenerated parenchymal cell of testis, and weak positive reactions, in hepatocytes.

Key words : EMC(encephalomyocarditis), Syrian hamster, immunohistochemical

서 론

뇌심근염 바이러스 (encephalomyocarditis virus; EMC virus)는 1960년 파나마에서 치사적인 질환에 급성으로 이환된 돼지로부터 처음 분리된후,¹ 미국,² 오스트레일리아,^{3,4} 쿠바,⁵ 뉴질랜드,⁶ 이탈리아,⁷ 브라질⁸ 그

리고 캐나다⁹ 등에서 발생보고가 있었으며, 영국에서는 1977년 임상증상이 없는 돼지에서 뇌심근염 바이러스 항체를 확인한 바도 있다.¹⁰ 국내에서는 박 등¹¹이 모돈의 번식장애와 신생자돈의 폐사를 특징으로 하는 돼지 EMCV 감염증의 발병을 처음 보고 하였고, 아울러 원인 바이러스도 분리하였다.

EMCV의 숙주동물은 원숭이, 코끼리, 사자, 다람쥐, 몽구우스 (mongooses), 너구리류 및 설치류 등으로 비교적 광범위 하며 특히 돼지는 가장 감수성이 높은 동물로 알려져 있으며,^{12,13,14} 랫드, 마우스는 돼지에 대한 중요한 보균 동물로 알려져 있다.¹⁵ 이외 소 및 말에서도 EMCV가 분리 되었으며 혈청학적으로 항체가 검출 되었다고 하나 EMCV가 병원체로 작용한다는 명백한 증거는 아직 없다.^{16,17}

돼지에 있어서의 주병변은 뇌염과 심근염으로 자돈에서는 폐사율이 높고,^{12,39,18} 임신돈에서는 미이라, 유산 및 사산 등도 유발시킨다고 한다.^{19~27} 마우스에 있어서 EMCV의 M 및 D변이주는 당뇨병을 유발시키기 때문에 사람의 당뇨병 연구 모델로 이용되고 있으며,^{28~37} 마우스 보다 크기 때문에 다루기 쉬운 랫드, 기니픽, 들쥐 및 햄스터 등을 대상으로 당뇨병 유발실험이 활발히 이루어지고 있는 실정이다.^{38~40} 또한 어린 마우스에 EMCV를 접종하면 사구체신염 및 간염 등이 관찰되어, EMCV는 바이러스주에 따라서, 그리고 동일한 바이러스주에 대해서도 실험동물의 종류에 따라 병원성의 차이가 있다.^{41~44}

본 연구에서는 국내에서 번식장애를 수반한 돼지로 부터 분리한 encephalomyocarditis virus, K₃주의 햄스터에 대한 병원성을 구명하기 위해 10^{7.0} TCID₅₀/0.1 ml 역가의 분리주를 Syrian hamster의 복강 내에 실험 감염시킨 다음 병리학적 및 면역조직화학적인 방법을 이용하여 일련의 실험을 수행하였다.

재료 및 방법

실험동물 : 성숙 햄스터 (Syrian hamster) 수컷 36마리를 2주간의 순화과정을 거친 후 실험에 이용하였다. 실험동물은 랫드용 케이지에 2마리씩 분산하여 실험동물용 고품사료 (제일사료 주식회사)와 물을 자유섭취토록 하였다.

공시바이러스 : EMCV는 국내에서 분리된 K₃주를 BHK-21 (baby hamster kidney) cell line과 HmLu-1 (hamster lung) cell line에서 3~4대 계대배양하여 10^{7.0} TCID₅₀/0.1ml의 역가로 조정된 것을 중앙가축전염병 연구소에서 분양 받아 -70℃에서 냉동보관하면서 공시하였다.

EMCV 토끼 면역혈청 생산 : 건강한 토끼 2 마리를 선정하여 각 토끼의 귀정맥으로부터 10ml를 채취하여 혈청을 분리한 다음 비동화시켜 음성대조혈청으로 사용하기 위해 -20℃에 냉동보관 하였다. 그런 후 각 토

끼에 EMCV K₃주 (10^{7.0} TCID₅₀/0.1ml) 와 Freund's complete adjuvant (Difco, USA)를 동량 혼합한 것을 1ml씩 근육내로 접종하였다. 6주 후에 다시 토끼에 EMCV K₃주 (10^{7.0} TCID₅₀/0.1ml) 2.0ml를 귀정맥에 각각 투여하였다. 2차 접종 6일 후에 각 토끼로 부터 전량의 혈액을 심장으로 부터 채취하여 혈청을 분리한 다음 비동화시켜 냉동보관하면서 혈구응집억제반응을 실시하여 혈청역가를 측정한 바 항체가는 2¹³ (8192)이었다. 이 혈청을 면역조직화학적 실험에서 1차항체로 공시하였다.

접종실험 : 총 36 마리의 햄스터를 무작위로 선정하여 실험군과 대조군으로 구분하였다. 실험군을 다시 3군으로 나누어 각 군당 10 마리 씩 배치하여 역가가 10^{7.0} TCID₅₀/0.1ml인 EMCV를 0.3ml씩 복강내로 접종하였다. 접종 후 매일 3회 이상 임상증상을 관찰하면서 5, 7 및 9일째에 각각 10 마리 씩을 이용하였다. 대조군은 6마리를 배치하여 생리식염수를 각각 0.3ml 씩 복강내로 투여 하였으며, 접종 후 실험군에서와 같이 5, 7 및 9일째에 각각 2 마리 씩을 이용하였다.

병리학적 관찰 : EMCV를 접종 후 5, 7 및 9일째에 에테르 마취하에 부검하여 병리학적인 변화를 육안적으로 관찰한 다음, 병리조직화학적 관찰을 위하여 심장, 뇌, 소뇌, 연수, 척수, 폐, 간, 비장, 신장, 고환, 부고환, 눈물샘 및 Harderian gland 등을 10% 중성완충포름알린 용액에 고정하였다. 고정된 장기들을 통상적인 방법에 따라 탈수, 투명화를 거쳐 파라핀 포매를 하였다. 포매된 장기들을 5 μ m 두께로 박절한 후 AAS (Sigma, 2% aminoalkylsaline in dry acetone)로 처리한 슬라이드 글라스에 부착하였다. 부착된 슬라이드는 일반적인 병리학적인 변화를 관찰하기 위해 hematoxylin-eosin 염색, 심근섬유내 칼슘침착을 확인하기 위하여 von Kossa 염색 및 췌장의 췌장섬 내 인슐린분비세포의 변화를 관찰하기 위하여 Gomori 염색을 각각 행한 후 광학현미경으로 관찰하였다.

면역조직화학적 관찰 : 조직내 EMCV항원을 검출하기 위하여 각 실질장기를 Bouin's 용액에 고정한 후, avidin-biotin complex kit (Vectorstain®, Vector Lab. Inc., USA)를 이용하여 면역염색을 실시하여 관찰하였다. 조직절편을 xylene에 탈파라핀 시킨 다음 alcohol계열에 친수 조작을 거쳐 수도물에 10분간 수세하고 증류수에 5분간 수세한 다음 내인성 peroxidase의 활성을 억제하기 위하여 신선하게 제조한 0.3% H₂O₂를 포함한 메틸알콜에 30분간 반응시켰다. 반응시킨 후 0.2% Triton-X 100이 포함된 0.01M phosphate buffered saline (TPBS)에 10 분씩 2회 수세하였다. 이어서 조직과 항혈

청 사이의 비특이 반응을 억제시키기 위해 normal goat serum으로 20 분간 반응시킨 다음 1차항체인 EMCV 토끼 면역혈청을 phosphate buffered saline (PBS)을 사용하여 1:200으로 희석하여 30 분간 반응시킨 후 biotinylated goat antirabbit IgG 희석액으로 30 분간 반응시킨 다음 TPBS로 10 분간 수세하였다. 그 후 ABC Reagent로 30~60 분간 반응시킨 후 PBS로 10분간 수세하였다. 마지막으로 DAB substrate (diaminobenzidine hydrogen peroxide substrate) 용액에 2~8 분간 발색시킨 후 수도물에 5 분간 수세하고 Mayer's hematoxylin으로 대비염색을 실시한 후 수세, 탈수, 봉입하여 광학현미경으로 관찰하였으며 대조군은 토끼 음성 대조 혈청을 1차 항체로 사용하여 비교 관찰하였다.

결 과

임상증상 : 바이러스 접종 후 처음 3일간은 별다른 증상이 관찰되지 않았으며 접종 후 4일째에 약간의 침울 및 활력감소를 보였으며 피모가 약간 거칠어졌다. 접종 후 5일째부터 모든 실험동물군에서 오른쪽 후지마비가 일어났으며, 미약한 호흡증가가 관찰되었다. 접종 후 7일째부터는 양측성 후지마비가 관찰되었는데 오른쪽 후지가 더욱 심한 경향을 보였다. 이러한 증상들은 시간이 경과함에 따라 더욱 진행되었으며, 자연폐사한 예는 없었다.

부검소견 : 바이러스 접종 후 각각 5, 7 및 9일째에 실험동물들을 도살하여 부검한 결과 대뇌, 간, 신장 및 폐 등의 실질장기에 경도의 충혈소견이 관찰되었다. 고환은 양쪽 모두 위축되어 있었는데, 한쪽이 더 심하게 위축되어 있는 예도 볼 수 있었다(Fig 1). 그 외에 육안적으로 관찰된 특이한 소견은 볼 수 없었다.

광학현미경적 소견 : 대뇌, 소뇌, 척수, 누선, 폐, 심장, 간, 신장, 고환, 췌장 및 비장 등의 충출혈과 실질세포의 변성 및 괴사가 관찰되었다. 이들 병변은 접종 후 7일째부터 다소 심해지는 경향을 보였다.

중추신경계 : 대뇌 및 척수에서는 충출혈, 혈관주위 림프구 침윤(Fig 2, 3), 대뇌 피질 및 척수 회백질부위에 신경세포들의 변성 및 괴사, 신경식현상(neuropahgia)(Fig 4), 한국성 및 미만성 신경아교세포 침윤(Fig 5), 대뇌 수질 및 척수 백질부위의 해면화(spongiosis)(Fig 6) 등의 소견이 인정되었다. 이들 병변은 접종 후 5일 및 7일째는 중추신경계의 병변은 대뇌에서 보다 척수에서 다소 심하였으며, 9일째에는 대뇌의 병변이 다소 심하였다. 소뇌에서는 신경절세포의 괴

사 및 수질의 경미한 혈관주위 원형세포 침윤 등의 소견이 드물게 관찰되었다.

심장 : 심근섬유사이에 미만성 단핵염증세포 침윤 및 충출혈, 단핵염증세포의 침윤을 수반하는 심의막염, 심근섬유의 황문소실 및 단열화, 심근섬유의 변성 및 응고괴사 등의 소견이 관찰되었는데 이러한 병변들은 일반적으로 경미한 것으로 인정되었다. 심근섬유 사이의 충출혈 소견은 거의 모든 예에서 볼 수 있었다. 접종 후 5일, 7일 및 9일째에 있어서 병변의 경시적인 차이는 없었다. 심근섬유내에 칼슘침착여부를 확인하기 위하여 von Kossa염색한 결과 주로 접종 후 5 일째의 심근섬유에서 한국성으로 칼슘이 침착되어 있는 예도 관찰할 수 있었다(Fig 7).

간 : 간세포의 미만성 공포변성 및 종창, 작은 괴사소의 산재 및 단핵세포 침윤, 문맥의 확장 및 충혈, 문맥주위 임파구 침윤 등의 소견들이 관찰되었으며 (Fig 8), 이들 병변중 작은 괴사소의 산재 및 단핵세포 침윤과 문맥의 확장 소견은 전 예에서 볼 수 있었다.

신장 : 접종된 햄스터의 신장에서 관찰된 병리학적 병변은 주로 사구체, 신장세관상피 및 간질 등에 나타났으며, 접종 후 시간경과에 따른 병변의 차이는 없었다. 가장 현저한 병변은 신장세관 상피세포의 변성 및 괴사로 모든 예에서 관찰할 수 있었으며, 사구체주머니, 신장세관 및 집합관 관강내에 단백질성 물질이 관찰되기도 하였다. 피질, 수질부의 간질의 충출혈이 관찰되기도 하였다.

췌장 : 외분비부의 샘세포의 변성 및 괴사, 단핵염증세포의 미만성 침윤 및 혈관주위 침윤 등의 소견이 관찰되었다(Fig 9). 샘세포의 괴사는 소엽단위로 일어나는 경향이였으며, 괴사되어 소실된 빈 공간은 시간이 경과함에 따라 지방조직이 증가되었다(Fig 10). 내분비부의 췌장섬은 Gomori염색표본에서는 외분비성 부분의 심한 염증부위에 인접한 췌장섬에 인출된 분비세포인 베타세포의 수가 다소 감소한 경향이였고(Fig 11), 탈과립된 소견을 볼 수 있었다. 이와 같은 췌장의 외분비성 부분의 병변은 모든 실험군에서 그 정도가 매우 심하였다.

눈물샘 및 Harderian gland : 샘상피세포의 탈락, 공포변성 및 괴사소견이 미만성 또는 한국성으로 관찰되었으며(Fig 12), 염증세포의 침윤은 볼 수 없었다. 변성된 상피세포들은 주로 공포변성이었으며, 탈락되어 샘포강내에 모여 있는 세포들은 정상세포의 형태와 거의 유사 하였다. Harderian gland의 병변도 눈물샘의 병리조직소견과 거의 유사하였다.

고환 및 부고환 : 정자형성세포의 변성 및 괴사 등이

관찰되었으며(Fig 13), 단핵염증세포의 침윤은 없었다. 일부 골수정세관내에는 변성 및 괴사된 정자발생세포가 융합된 것으로 추측되는 거대세포가 가끔 관찰되기도 하였으며(Fig 14), 정자형성세포의 형태는 거의 정상이나 골수정세관 기저막으로부터 분리된 예도 다수 볼 수 있었다. 이러한 병변들은 전 골수정세관의 약 20% 정도이었으며, 접종된 햄스터의 모든 고환에서 인정되었다. 부고환에서는 간질의 경미한 염증 및 충혈 소견 외에 특이한 병변은 관찰할 수 없었다.

기타 조직 : 비장에는 경도 또는 중등도의 충출혈 및 백색수질의 위축 또는 소실된 소견을 거의 모든 예에서 볼 수 있었으며, 부신수질에서는 충혈소견과 한국성 단핵구의 침윤소견이 관찰되었고(Fig 15), 폐에서는 간질성 폐렴소견이 관찰되었으며(Fig 16), 침샘에서는 특이한 병변을 관찰할 수 없었다.

면역조직화학적 소견 : 조직에서 EMCV항원을 검출하기 위해 ABC법으로 염색한 결과 간세포 및 고환의 정자발생세포의 세포질내에 대소부동한 양성반응 과립들이 관찰되었다(Fig 17,18). 이들 과립들은 세포질내에 미만성으로 산재해 있었으며, 간에서는 변성 및 괴사된 부위 또는 주위의 간세포에서, 고환에서는 변성 및 괴사된 골수정세관의 내강, 변성된 정자발생세포 및 거대세포에서 현저하게 관찰되었다. 이들 양성반응 과립들의 출현정도는 경시적인 큰 차이는 인정되지 않았다. 그리고 췌장의 썩세포 및 심근섬유의 근형질에서도 약한 양성반응을 나타내는 과립들을 소수 인정할 수 있는 것을 제외하고는 다른 실질장기 및 조직에서는 양성반응을 볼 수 없었다. 대조염색으로 1차항체를 정상가토혈청으로 사용한 표본에서는 양성반응을 관찰할 수 없었다.

고 찰

EMCV 감염동물들의 임상증상에 관하여 Sugawara et al⁴⁰은 햄스터에 EMCV를 복강내 접종시 체중감소, 활력감소, 피모의 거칠어짐과 후구의 편측성 마비 등을 관찰하였으며, Matsuzaki et al³⁹은 들쥐를 대상으로 실험접종 후 암 수의 폐사율 비교시 암컷이 수컷보다 폐사율이 높다고 하였으며, Watt et al⁴⁵은 돼지에서 침울과 체온의 상승, 과호흡, 후구운동실조 등을 보고 하였으며, 박 등⁴⁶은 돼지에서 접종 후 2~4일 사이에 일시적인 체온상승과 침울 및 식욕부진 등을 보고하였다. 또한 Takeda et al⁴⁷은 마우스에서 편측성 또는 양측성의 후구마비가 접종 후 6일째에 나타나기 시작하여 접

종 후 10일째에는 60%정도가 마비를 나타내었다고 보고하였다. 본 실험에서 관찰된 활력감소, 피모의 거칠어짐과 후구의 편측성 또는 양측성 마비 등의 소견은 Sugawara et al⁴⁰과 Takeda et al⁴⁷이 햄스터와 마우스에서 관찰한 임상증상과 거의 일치하였으나, Watt와 Spradbrow⁴⁵가 돼지에서 후구의 편측 및 양측성 마비를 볼 수 없었다고 보고한 점과 박 등⁴⁶이 돼지에서는 신경증상이 나타나지 않는다고 보고한 것과 차이가 있는데 이것은 실험동물의 종류에 따라 감수성의 차이가 있는 것으로 생각된다.

부검시 관찰된 육안적 소견으로 Sugawara et al⁴⁰은 햄스터에서 췌장의 피막하와 소엽간 부종이 모든 실험군에 걸쳐 현저하게 나타났으며 고환의 위축이 접종 후 5일과 7일에서 모든 실험군에서 나타났다고 보고하였으며, 기타 다른 장기에는 변화가 없다고 보고하였다. Matsuzaki et al³⁹은 들쥐에서 복강내장액성 복수의 현저한 증가와 췌장의 피막하 및 소엽간의 심한 부종과 드물게 심장의 우심실에 백색의 반점과, 조 등⁴⁸은 돼지에서 심외막의 괴사반점이 관찰되었다고 하였으나, 본 실험에서는 대뇌, 간, 신장 및 폐 등의 실질장기에 경도의 충혈소견이 관찰되었고, 고환은 양측성으로 심하게 위축되었고, 그중 한쪽이 더욱 심하게 위축되는 경향을 나타내었으며 그 외에 육안적인 특이한 소견은 볼 수 없었다. 본 실험에서 췌장 및 심장의 육안적병변을 관찰할 수 없었던 점은 국내 분리주의 병원성차이 또는 실험동물의 감수성차이 그리고 심장의 크기의 차이로 소형 실험동물에서는 실제로 괴사소가 존재하여도 육안적으로 관찰할 수 없을 정도로 작은 괴사소였기 때문이라 사료된다.

중추신경계의 광학현미경적 소견에 관하여 Sugawara et al⁴⁰은 햄스터의 뇌조직에서 한국성 괴사를 관찰하였고, 자연발생돈에서는 Murman et al¹은 경도의 뇌막염, 신경세포 변성 등의 소견, 박 등¹¹은 혈관주위 림프구 침윤, 신경아교세포종의 소견, Kim et al²⁴은 혈관주위 단핵구의 침윤소견 그리고 Acland와 Littlejohns⁴⁹는 경도의 비화농성 뇌막염, 신경아교세포종 등의 소견을 보고한 바 있으며, 실험 자돈예에서는 박 등⁴⁶과 Watt와 Spradbrow⁴⁵에 의하면 소뇌에서는 병변을 관찰할 수 없었으나 대뇌에서는 경미한 뇌막혈관과 뇌실질 혈관의 충혈과 경미한 혈관주위 림프구 침윤, 피라미드세포의 변성과 괴사, 염색질융해, 신경식현상, 신경아교세포종다증을 보고하였다. 한편 Takeda et al⁴⁷은 마우스에서 혈관주위 원형세포 침윤, 신경절세포의 변성과 신경식현상 등을 관찰하였으며, Horner와 Hunter⁵⁰은 돼지에서 심장을 제외하고는 다른 여타의

장기에서는 병변을 발견할 수 없다고 하였다. 본 실험에서 공시된 햄스터의 중추신경계 병리조직소견은 마우스 및 햄스터의 소견과는 거의 일치하였으나, 폐지에서는 중추신경계의 병변이 일어나지 않거나 경미하게 발생된 점은 EMCV주에 따른 차이 인지 또는 실험동물에 따른 차이인지는 앞으로 더 연구해야 할 과제로 사료된다.

심장의 병리조직학적 병변에 관하여 Matsuzaki et al,³⁹ Sugawara et al⁴⁰은 들쥐와 햄스터에서 심근세포의 괴사, 석회화, 염증세포의 침윤 소견을 보고하였으며, 박 등⁴⁶과 Watt와 Spradbrow⁴⁵는 실험 자돈에서 염증세포의 침윤, 충출혈, 심근세포의 유리화 및 변성, 응고괴사, 근형질내의 공포변성, 황문소실 및 심근섬유의 단열화 등을 보고한 바 있다. 본 실험에서도 이와 같은 병변을 관찰할 수 있었으나 그 정도는 마우스나 폐지에서 관찰된 병변보다 다소 경미한 경향이 었다.

간장의 병변에 관해서 Harb et al⁴²은 신생마우스에 있어서 문맥의 확장 및 충혈, 간세포내의 EMCV 결정체 확인과 작은 괴사소 등을, Sugawara et al⁴⁰은 햄스터에서 간세포의 미만성 공포변성을 보고하였으며 박 등⁴⁶은 폐지에서 간세포의 미만성 수포변성과 괴사 또는 다발성 작은 괴사소 등을 보고하였다. 본 실험에서는 간세포의 미만성 공포변성 및 종창, 한국성 괴사소 산재 및 단핵세포의 침윤, 문맥의 확장 및 충혈, 문맥주위 림프구의 침윤 등이 관찰되어 이들과의 소견이 거의 일치하였다. 따라서 간세포의 미만성 수포변성 및 괴사, 문맥의 확장 및 충혈 등의 소견은 심근의 병변으로 기인된 순환장애에 의한 병변으로 생각되며, 작은 괴사소의 병변은 Harb et al⁴²이 전자현미경하에서 간세포내에서 바이러스 입자를 관찰한 점을 고려해 볼때 EMCV의 직접적인 작용에 의한 손상으로 사료된다.

신장의 병변은 Burch⁴¹은 1~2일령의 신생마우스에서 신장세포 상피세포의 변성 및 괴사, 사구체염 및 사구체의 문어발세포내 바이러스 입자 확인, 원위급술세관의 수포변성, 사구체주머니와 집합관내의 단백질성 물질 존재, 경미한 간질성 부종 등의 소견을 보고함과 동시에 사람의 신사구체염 연구모델로서 가능하다고 한바 있다. 본 실험에서는 성숙된 햄스터를 사용하였지만 신생마우스에서 관찰된 소견과 거의 일치하였으며, 이와 같은 신장의 병변도 사구체의 문어발세포내에서 바이러스 입자를 확인한 것을 고려해 볼 때 EMCV의 직접적인 작용으로 기인된 것으로 사료된다. 따라서 신생마우스 보다 다루기 쉬운 햄스터를 사용하여 사람의 신사구체염 연구에 실험모델로 활용이 가능할 것으로 사료된다.

췌장의 병변은 Burch et al⁴¹은 마우스에서 췌세포의 변성 및 괴사 단백질염증세포의 침윤, 췌장섬의 변성과 괴사, 간질성 부종 등을 보고하였으며, Sugawara et al⁴⁰은 햄스터에서 췌세포의 미만성 괴사, 췌장섬의 크기 감소, β 세포의 탈과립 및 공포변성 등을 보고하였으며, Craighead⁵²는 마우스에서 간질성 부종을 동반하고 있는 췌세포의 응고괴사, 췌장섬의 괴사와 미약한 염증세포의 침윤 소견 등을 보고하였는데 본 실험에서도 병변이 경미하지만 췌세포의 미만성 변성 및 괴사, 단백질염증세포의 미만성 침윤, 췌장섬의 위축 및 베타세포의 숫자 감소, 핵융해, 탈과립 등 소견이 관찰되었다. 특히 Sugawara et al⁴⁰은 EMCV를 접종한 햄스터에서 당뇨병을 관찰하고 마우스 보다 크기가 크기 때문에 사람의 당뇨병연구에 마우스보다 더 적당하다고 하였다. 본 실험에서 췌장의 병리조직소견으로는 병변이 인정되었으나, 혈당치를 확인하지 않았기 때문에 확실한 당뇨병이 발생되었는지는 알 수 없으나 이에 대한 추가적인 실험이 요구된다.

눈물샘 및 Haderian gland의 병변에 대해 Craighead⁵²는 마우스에서 췌상피세포의 괴사가 나타난다고 보고하였으며, 박 등⁴⁶은 폐지에서 중등도 내지 심한 미만성 췌상피세포의 수포변성과 괴사를 보고하였으며 Craighead⁵³는 췌장에서 나타난 변화와 유사하게 병변이 나타난다고 보고하였는데 본 실험에서도 췌상피세포의 탈락, 변성 및 괴사소견이 미만성 및 한국성으로 관찰되었으며 변성된 췌세포 상피세포들은 주로 공포변성을 나타내어 이들과 소견이 거의 일치하였다.

고환의 병변에 대하여 Sugawara et al⁴⁰이 햄스터에서 거대세포 형성, 공포변성, 정자발생세포의 변성과 괴사 등이 관찰되었다고 최초로 보고하였다. 본 실험에서도 정자발생세포의 변성 및 괴사, 거대세포형성, 정자발생세포의 탈락 등이 관찰되어 소견이 거의 일치하였다. 햄스터를 제외한 다른 동물에 대한 고환의 병변에 대해서는 찾아 볼 수 없었다. 따라서 앞으로 햄스터를 제외한 다른 동물에서의 고환에 대한 병변의 연구는 실험적인 가치가 있을 것으로 사료된다.

일반적으로 EMCV는 신경세포 및 심근섬유에 친화성이 있는 바이러스로 알려져 있는데 지금까지의 다른 연구자의 병리조직소견과 본 실험의 결과를 종합해 볼 때 신경세포 및 심근섬유 뿐만 아니라 상피세포와도 상당한 친화성이 있는 것으로 사료된다.

면역조직화학적 관찰에서는 Matsuzaki et al³⁹은 들쥐에 대하여 immunoperoxidase법을 이용하여 면역염색을 실시한 결과 바이러스 항원을 손상된 췌세포의

세포질내의 공포내에서, 조 등⁴⁶은 EMCV를 접종한 자돈에서 심근섬유내에서 바이러스 항원을 검출하였다고 하였다. 본 실험에서도 췌장의 손상된 외분비 샘포에서 약한 양성반응을 볼 수 있었으나, 심근섬유에서는 검출할 수 없었다. 특히 본 실험에서 고환의 변성된 정자발생세포에서 강한 양성반응 세포를 관찰할 수 있었던 점은 현재까지 최초로 검출된 소견으로 생각되며, Sugawara et al⁴⁰이 햄스터에서 고환염소견과 본 실험의 결과를 미루어 볼 때 EMCV는 정자발생세포에서도 증식한다는 사실이 면역염색으로 증명된 것으로 사료되며, 확실한 바이러스증식을 확인하기 위해서는 앞으로 고환조직에서 바이러스입자를 전자현미경적으로 증명하고 고환으로부터 바이러스를 분리하는 것 등의 연구가 수행되어야 할 것이다.

결 론

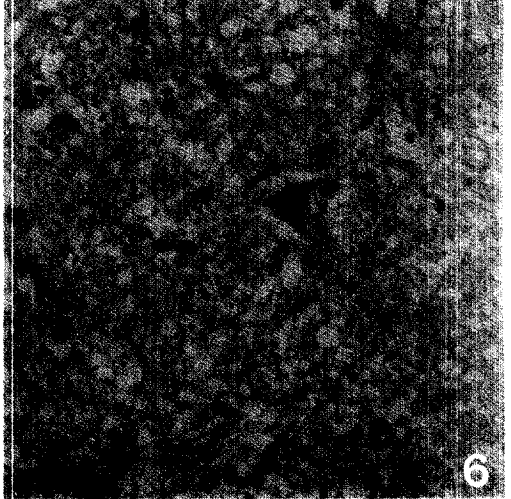
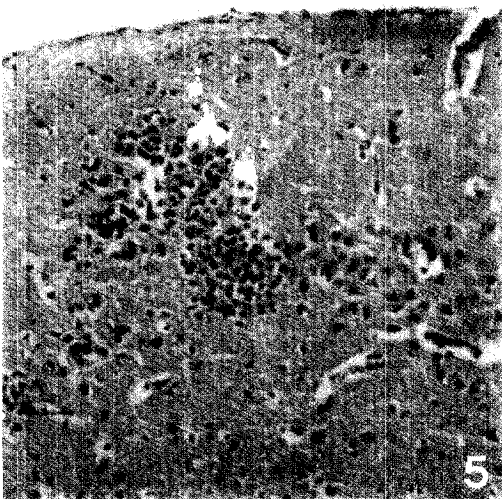
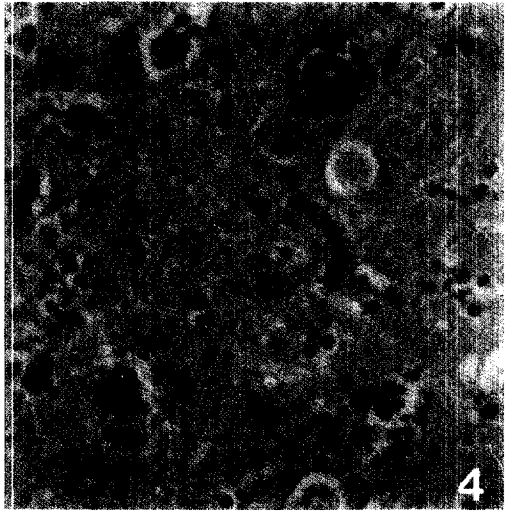
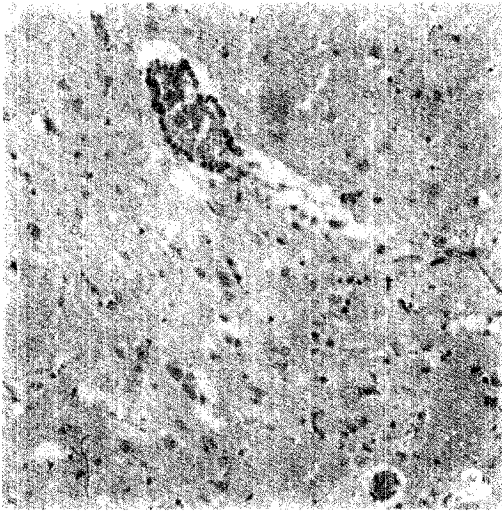
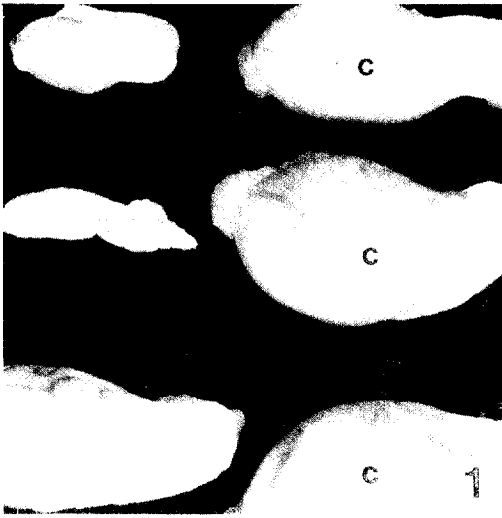
국내에서 번식장애를 수반한 돼지로 부터 분리한

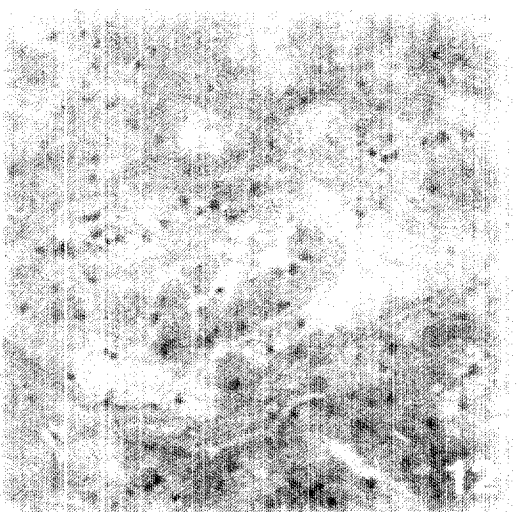
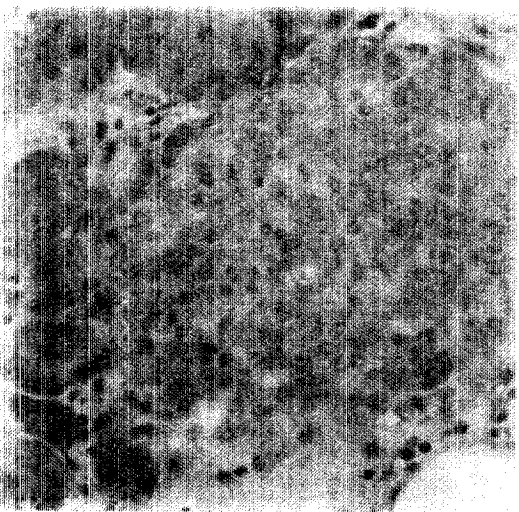
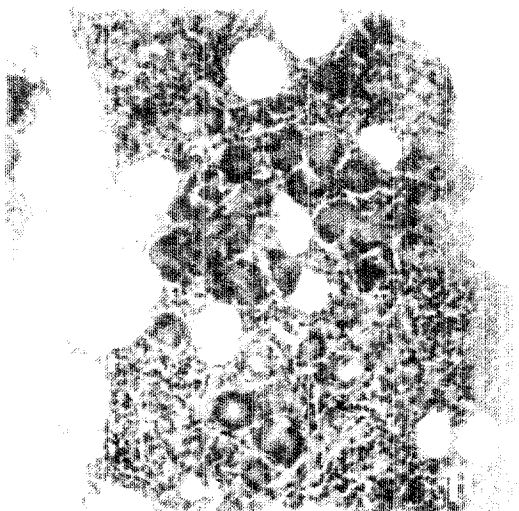
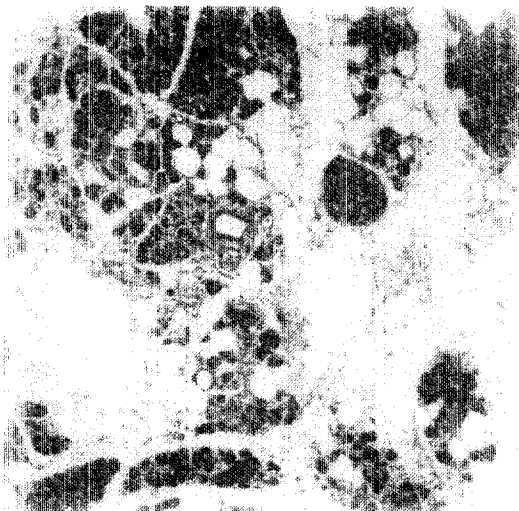
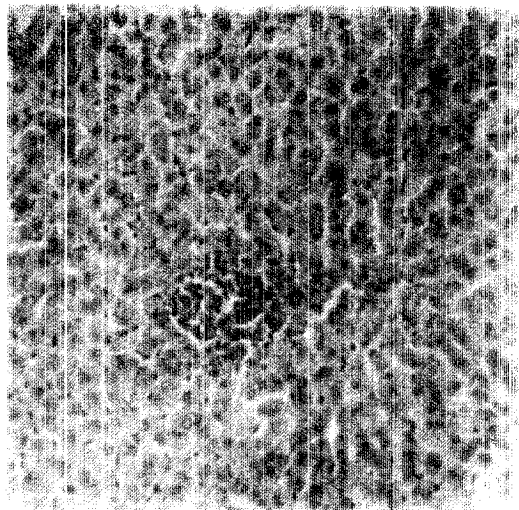
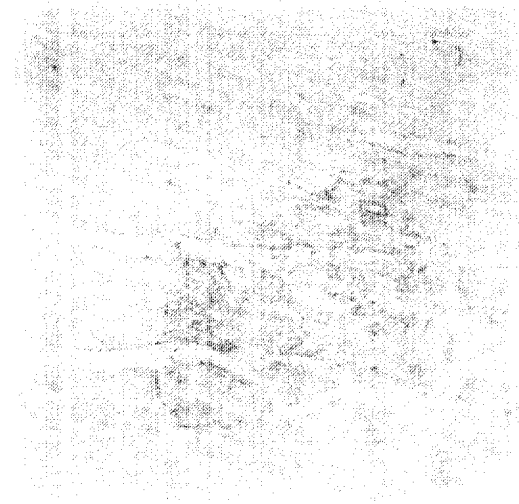
encephalomyocarditis virus, K₃주의 햄스터에 대한 병원성을 구명하기 위해 10^{7.0} TCID₅₀/0.1ml 역가의 분리주를 Syrian hamster의 복강내에 실험감염 시킨 다음 병리학적 및 면역조직화학적 방법을 이용하여 일련의 실험을 수행하였던 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

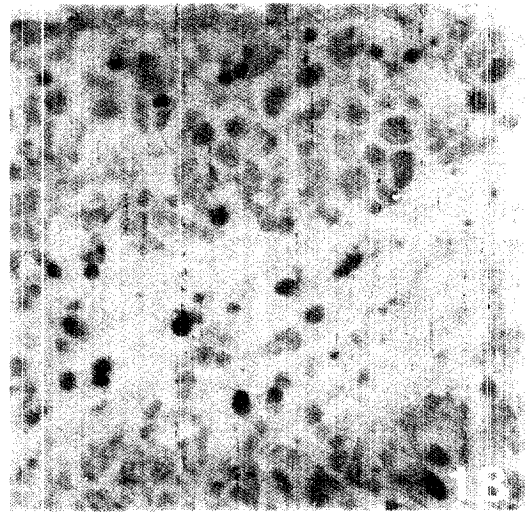
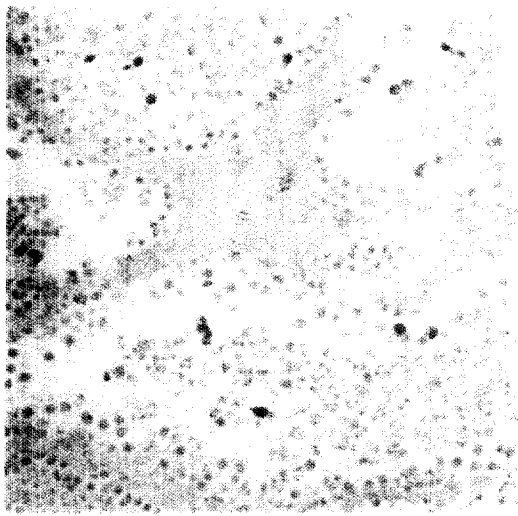
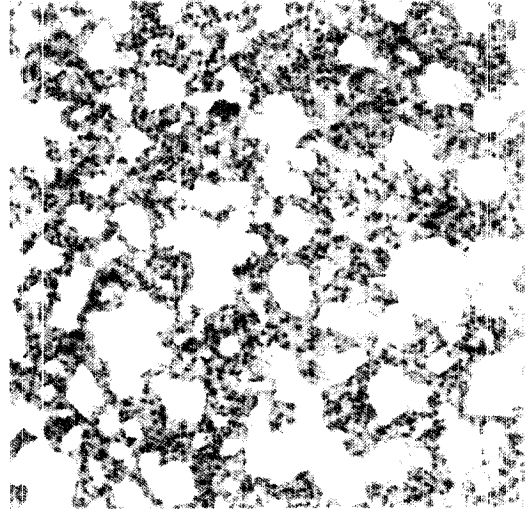
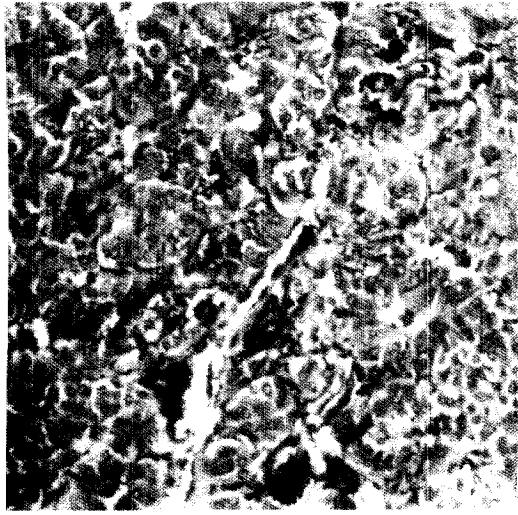
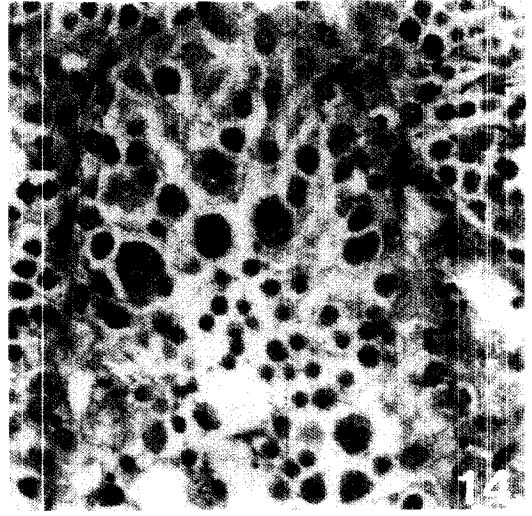
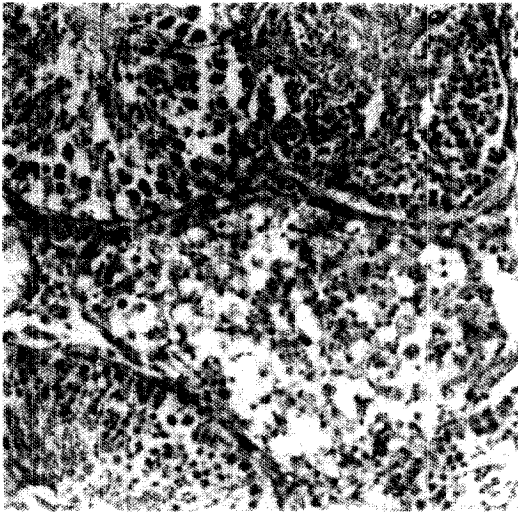
1. 임상적으로 활력이 감소되었고 피모가 거칠었으며 양측성 후구 마비가 관찰되었다.
2. 육안적 소견으로는 대뇌, 간, 신장 및 폐의 경도의 충혈 소견과 고환의 위축 소견을 관찰하였다.
3. 광학현미경적인 소견으로는 중추신경계에서는 신경세포의 변성 및 괴사와 혈관주위 세포침윤 소견이 관찰되었고 췌장, 눈물샘, 간, 신장 및 고환에서 다양한 정도의 실질세포의 변성 및 괴사가 관찰되었다.
4. 면역조직화화적인 소견으로는 고환의 변성된 정자발생 세포에서는 강한 양성반응이 관찰되었으며, 간 세포에서는 미약한 양성반응을 볼 수 있었다.

Legends for figures

- Fig 1. Atrophied testis of Syrian hamsters infected with EMCV K₃.
- Fig 2. Perivascular cuffing of the spinal cord. H&E, X50.
- Fig 3. Perivascular cuffing of the brain. H&E, X50.
- Fig 4. Congestion, gliosis, neurophagia, necrosis and degeneration of nervous cell in the brain. H&E, X100.
- Fig 5. Focal gliosis of the brain. H&E, X 50.
- Fig 6. Spongiosis of the brain. H&E, X100.
- Fig 7. Calcification of the cardiac muscle fiber at 5 post inoculation day. von Kossa, X50.
- Fig 8. Focal necrosis of the liver. H&E, X50.
- Fig 9. Diffuse degeneration and necrosis of the acinar cells and mononuclear inflammatory cell infiltration in the pancreas. H&E, X20.
- Fig 10. Lobular necrosis and inflammation of the pancreas, and replaced necrotic tissue by adipose tissue in pancreas. H &E, X50.
- Fig 11. Degranulation, degeneration and necrosis of the pancreatic islets. Gomori, X100.
- Fig 12. Degeneration and necrosis of the acina cells in the lacrimal gland. H&E, X50.
- Fig 13. Degeneration and necrosis of the spermatogenic cells. H&E, X20.
- Fig 14. Giant cell in the tubules of the testis. H&E, X50.
- Fig 15. Congestion and focal mononuclear cell infiltration in the adrenal medullar. H&E, X50.
- Fig 16. Interstitial pneumonia and congestion of the lung. H&E, X50.
- Fig 17. Positive reaction cells in the tubules of the testis. ABC, X50.
- Fig 18. Positive reaction cells in the tubules of the testis. ABC, X100.







참 고 문 헌

1. Murnane TG, Craighead JE, Mondragon H, et al. Fetal disease of swine due to encephalomyocarditis virus. *Science* 1960; 131:489-499.
2. Gainer JH. Encephalomyocarditis virus infection in Florida, 1960-1966. *J Am vet Med Assoc* 1967; 151: 421-425.
3. Littlejohns IR, Acland HM. Encephalomyocarditis Virus infection of pigs 2. Experimental disease. *Aus Vet J* 1975; 51:416-422.
4. Seman JT, Rowlands DJ, Crigan MJ. Encephalomyocarditis virus disease of pigs associated with a plague of rodents. *Aust Vet J* 1986; 63:292-294.
5. Ramos JR, Gomez L, Mayo M, et al. Infection due to encephalomyocarditis virus in swine and other species over the 1975-1981 period. *Rvta Cub Cienc Vet* 1983; 14:71-77.
6. Sautherland RJ, Honer GW, Hunter R, et al. An outbreak of viral Encephalomyocarditis in pigs. *NZ Vet J* 1977; 25:225.
7. Sidoli L, Barigazzi G, Foni E, et al. Encephalomyocarditis due to cardiovirus in Po Valley swine. Preliminary observations. *Proc Ital Soc Swine Pathol* 1988; 249-260.
8. Roehle PM, Rodrigues NC, Oliveira SJ, et al. Encephalomyocarditis virus (EMCV) in swine in the state of Rio Grande Do Sul, Brazil. *Rev Microbiol* 1985; 16:117-120.
9. Sanford SE, Josephson GKA, Rehmtulla AJ, et al. Antibodies to encephalomyocarditis virus in aborted and still born pigs. *Can Vet J* 1989; 30:757.
10. Sanger DV, Rowlands DJ, Brown F. Encephalomyocarditis antibodies in sera from apparently normal pigs. *Vet Rec* 1977; 100:240-241.
11. 박남용, 정치영, 이창영 등. 번식장애를 수반한 돼지의 뇌심근염 바이러스 감염증. *대한수의학회지* 1990; 30:441-446.
12. Leman AD, Straw BE, Mengeling WL, et al. Encephalomyocarditis virus in *Disease of Swine*, 7th ed. Iowa State Univ press, 1992; 257-262.
13. Kilham H, Mason P, Davies JNP. Host-virus relations in encephalomyocarditis (EMC) virus infections II. Myocarditis in Mongooses. *Am J Trop Med* 1956; 5:655-663.
14. Simpson CF, Lewis AL, Gaskin JM. Encephalomyocarditis Virus Infection of Captive Elephants. *J Am Vet Med Assoc* 1977; 171:902-905.
15. Tesh RB, Wallace GD. Observations on the natural history of encephalomyocarditis virus. *Am J Trop Med Hyg* 1977; 27:133-143.
16. Gainer JH. Viral myocarditis in animals. *Advances in Cardiology* 1974; 13:94-105.
17. Spradbrow PB, Chung YS. Hemagglutination-inhibition antibodies to Encephalomyocarditis Virus in Queensland cattle. *Aus Vet J* 1970; 46:126-128.
18. Craighead JE, Peralta PH, Murnane TG, et al. Oral infection of swine with the encephalomyocarditis virus. *J Infect Dis* 1963; 112:205-212.
19. Gomez L, Lorenzo M, Ramos JR, et al. Isolation of the encephalomyocarditis virus in a sow and her fetus. *Rvta Cub Cienc Vet* 1982; 13:21-24.
20. Links IJ, Whittington RJ, Kennedy DJ, et al. An association between encephalomyocarditis virus infection and reproductive failure in pigs. *Aus Vet J* 1986; 63:150-152.
21. Littlejohns IR. Encephalomyocarditis virus from stillborn pigs. *Aust Vet J* 1984; 61:93.
22. Love RJ, Grewal AS. Reproductive failure in pigs caused by encephalomyocarditis virus. *Aust Vet J* 1986; 63:128-129.
23. Joo HS, Kim HS, Leman AD. Detection of antibody to encephalomyocarditis virus in mummified or stillborn pigs. *Arch Virol* 1988; 100:131-134.
24. Kim HS, Joo HS, Bergeland ME. Serologic, virologic and histopathologic observations of encephalomyocarditis virus infection in mummified and stillborn pigs. *J Vet Diagn Invest* 1989; 1:101-104.
25. Christianson WT, Kim HS, Joo HS, et al. Porcine reproductive and neonatal losses associated with possible encephalomyocarditis virus infection. *Vet Rec* 1990; 126:54-57.
26. Kim HS, Christianson WT, Joo HS. Pathogenic properties of encephalomyocarditis virus isolates in swine fetuses. *Arch Virol* 1989; 109:51-57.
27. Christianson WT, Kim HS, Yoon IJ, et al. Transplacental infection of porcine fetuses following experimental challenge inoculation with encephalomyocarditis following experimental challenge inoculation with encephalomyocarditis virus. *Am J Vet Res* 1992;

- 53:44-47.
28. Craighead JE, Maclane MF. Diabetes mellitus: induction in mice by encephalomyocarditis virus. *Science* 1968; 162:913-914.
 29. Doi K, Matsuzaki H, Tsuda T, et al. Rapid development of renal lesions in diabetic DBA mice infected with the D variant of the encephalomyocarditis virus (EMC-D). *Br J Exp Pathol* 1989; 70:275-281.
 30. Yoon JM, Rodinguize MM, Currier C, et al. Long-term complication of virus-induced diabetes mellitus in mice. *Nature* 1982; 296:566-569.
 31. Craighead JE, Steinke J. Diabetes Mellitus-like syndrome in Mice infected with Encephalomyocarditis Virus. *Am J Pathol* 1971; 63:119-129.
 32. Boucher DW, Notkins AL. Virus-induced diabetes Mellitus I. Hyperglycemia and hypoinsulinemia in mice infected with encephalomyocarditis virus. *J Exp Med* 1973; 137:1226-1239.
 33. Craighead JE, Kanich RE, Kessler JB. Lesions of the islets of Langerhans in encephalomyocarditis virus-infected mice with Diabetes Mellitus-like disease. *Am J Pathol* 1974; 74:287-300.
 34. Hayashi K, Boucher W, Notkins AL. Virus-induced Diabetes Mellitus II. Relationship between beta cell damage and hyperglycemia in mice infected with encephalomyocarditis virus. *Am J Pathol* 1974; 75:91-102.
 35. Craighead JE, Higgins DA. Genetic influences affecting the occurrence of a diabetes mellitus-like disease in mice infected with the encephalomyocarditis virus. *J Exp Med* 1974; 139:414-426.
 36. Kruppenbacher JP, Mertens T, Muntefering H, et al. Encephalomyocarditis virus and Diabetes Mellitus: Studies on virus mutants in susceptible and non-susceptible mice. *J gen Virol* 1985; 66:727-732.
 37. Baek HS, Yoon JW. Role of macrophages in the pathogenesis of encephalomyocarditis virus-induced Diabetes in mice. *J Virol* 1990; 64:5708-5715.
 38. Matsuzaki H, Doi K, Doi C, et al. Susceptibility of four species of small rodent to encephalomyocarditis (EMC) virus. *Exp Anim* 1989; 38:357-361.
 39. Matsuzaki H, Doi K, Mitusuoka T, et al. Experimental encephalomyocarditis virus infection in Mongolian gerbils(*Meriones unguiculatus*). *Vet Pathol* 1989; 26:11-17.
 40. Sugawara G, Hirasawa K, Takeda M, et al. Acute infection of encephalomyocarditis(EMC) virus in Syrian Hamsters. *J Vet Med Sci* 1991; 53:463-468.
 41. Burch GE, Tsui GY, Harb JM. The early renal lesions of mice infected with encephalomyocarditis virus. *Lab Invest* 1972; 26:136-172.
 42. Harb JM, Hiramoto and Burch GE. Viral hepatitis in encephalomyocarditis virus-infected mice. *Path Microbiol* 1974; 40:65-78.
 43. Acland HM. Virus infections of vertebrates. Amsterdam: Elsevier Science Publishers BV, 1989; 259-264.
 44. Craighead JE. Pathogenicity of the M and E variants of the encephalomyocarditis (EMC) virus. *Am J Pathol* 1966; 48:333-343.
 45. Watt DA, Spradbrow PB. Experimental encephalomyocarditis virus infection of pigs. *Aus Vet J* 1974; 50:316-319.
 46. 박남용. 돼지 뇌심근염 바이러스의 실험적 감염에 의한 병리학적 관찰. 대한수의학회지 1992; 28: 726-735.
 47. Takeda M, Hirasawa K, Doi K. Lesions in the Central Nervous System of DBA/2 Mice Infected with the D Variant of Encephalomyocarditis virus(EMC-D). *J Vet Med Sci* 1991; 53:1013-1017.
 48. 조성환, 주한수, 김현수. 뇌심근염바이러스의 실험적 감염자돈에 대한 병리학적 소견과 바이러스 항원의 면역조직화학적 검출. 대한수의학회지 1993; 33:301-308.
 49. Acland HM, Littlejohns IR. Encephalomyocarditis virus infection of pigs I. An Outbreak in New South Wales. *Aus Vet J* 1975; 51:409-415.
 50. Horner GW, Hunter R. Experimental infection in pigs with encephalomyocarditis virus. *NZ Vet J* 1979; 27:202-203.
 51. Burch GE, Tsui CY, Harb JM. Pancreatitis of Mice Infected with Encephalomyocarditis Virus. *Path Microbiol* 1974; 40:281-296.
 52. Craighead JE. Pathogenicity of the M and E variants of the encephalomyocarditis(EMC) virus II. Lesions of the pancreas, parotid and lacrimal glands. *Am J Pathol* 1966; 48:375-386.
 53. Craighead JE. Necrosis of the pancreas, parotid and lacrimal glands associated with encephalomyocarditis virus infection. *Nature* 1965; 207:1268-1269.