

특집 / 백신과 예방접종 ⑤

원충병 Vaccine의 연구개발상황

백 병 결

우리나라를 비롯한 세계의 수의학 영역에 있어서 virus성, 세균성 질병을 예방하기 위한 백신이나 치료약의 개발에 상당히 성공을 하고 있지만 원충성 질병은 대부분 효과적인 면역학적 예방방법을 찾지 못하고 있는 실정이다.

우리나라 소에서 발병할 수 있는 원충병의 원인체로서는 *Theileria sergenti*, *Anaplasma centrale*, *Babesia ovata* 등을 들 수 있다. 이 중에서 우리나라에서 가장 경제적 심각성이 제시되고 있는 것은 *Theileria sergenti*임은 두말할 나위가 없다.^{1,2,3)}

Theileriosis에 의한 빈혈로 겪고 있는 경제적 손실은 지대하여, 원충이 어느 정도 감염되었었다라도 빈혈만 억제하면 되지 않는가? 그러나 theileriosis에 대한 유효한 vaccine이나, 항 치료약제의 개발은 긴 시간이 필요하다는 것이 일반적인 수의학계의 실정이다. 이로써 백신개발에 관한 기대를 도모하기 위하여 그동안 원충병 예방을 위한 백신의 개발현황을 기술하고자 한다.

오늘날 문제시되고 있는 혈액 기생성 원충성 질병 으로서는 *Trypanosoma brucei* (아메리카), *Theileria annulata* (동아시아, 북아프리카), *T. parva* (동아프리카), *T. sergenti* (한국, 일본), *Babesia bigemina* (열대, 아열대지역), *B. bovis* (유럽, 남아프리카), *B.*

equicaballi (유럽, 남아프리카) 등에서 합성 polypeptide vaccine과 recombinant vaccine 등이 새로운 예방용 vaccine을 위한 연구가 진행되고 있다.

일반적으로 원충병에 대한 예방용 vaccine의 제조는 malaria에서 연구추진되고 있는 연구동향을 근간으로 하여 우리나라에서 유행하고 있는 theileriosis의 예방대책수립을 위하여 이해되어야 할 것이며^{4,5)}, 이를 위하여 최근 일본의 小沼 操(1993)⁶⁾과 杉本千尋(1995)⁷⁾이 투고한 내용을 중심으로 하여 면역, 방어에 대한 최신정보를 기술하고자 한다.

Theileria spp.의 생활사 특성

소의 theileriosis는 *Theileridae*, *Theileria* 속 주혈 원충의 감염에 의해 일어나는 진드기 매개성 질병이고, Africa의 연안열은 *T. parva*, 열대 *Theileria* 병은 *T. annulata*, 한국과 日本의 소형 piroplasma병은 *T. sergenti*에 의한다. *Theileria* 원충의 생활사는 복잡하다. 간단히 서술하면, 진드기의 타액선 내의 sporozoite가 진드기의 흡혈하는 과정에서 소의 체내로 들어가고, 우선 lymphocyte에 침입하여 많은 핵을 가지는 schizont가 된다. 이 schizont가 적혈구내로 침입하여 merozoite 형성, 적내형 stage가 되는 것이 일반적인 생활사이다. 그러나 최근 신생송아지와 유산한 태아에서의 *T. sergenti* 항원과 DNA가 확인되어 태반을 통한 수직적 감염이 이루어짐이 보고된 바

* 전북대학교 수의과대학

있다.⁹⁾ *T. parva* 나 *T. annulata* 의 schizont는 숙주 lymphocyte를 활성화시키고, 분열증식(*T. parva* 감염시 lymphocyte에서는 IL-2 유사한 증식인자가 생성되어져 이것이 증식에 관여함)시킨다. 세포분열시 schizont도 분열하여 딸세포가 되고 lymphocyte와 더불어 원충도 계속 증식한다. 감염후기에 schizont는 merozoite가 되어 혈액중으로 나와서 적혈구에 침입하여 piroplasma stage가 된다. Piroplasma는 진드기에 감염성이 되어 진드기 체내에서 유성생식하여 sporozoite로 된다. *T. parva* 감염 소는 보통 진드기의 흡혈감염후 4주 이내에 폐수종을 일으키며 사망한다. 그런데 *T. parva* 에 감염된 소에서는 보통 赤內性原蟲(piroplasma)에 의한 용혈, 빈혈에 이르기 전에 사망한다. 그러나 *T. sergenti* 에서는 schizont stage가 명확하지 않고, 사망률도 훨씬 낮다. *T. sergenti* 감염 소에서의 주요한 임상증상은 piroplasma stage의 빈혈이다. 그러므로 감염된 소에 있어서의 가장 중요하게 설명되어야 할 면역응답을 일으키는 시기는 *T. parva* 에서는 schizont stage이며 *T. sergenti* 는 sporozoite(piroplasma stage) 시기이다. 더불어 이를 이해하는데 있어서 *Plasmodium* 속 원충에 의한 malaria에서의 면역응답 예를 들 수 있다.

원충의 면역과 면역회피 기전

포유동물 체내에서 세포외에 기생하는 원충류(*Trypanosoma*)와 세포내에 기생하는 원충 즉, *Theileria* spp., *Babesia* spp. 등에서는 숙주에 침입하는 원충에 대한 면역응답은 조금씩 양상을 달리한다.^{8,9)} 원충들은 여러가지 기구(機構)로서 숙주면역으로부터 회피하고 있다. 원충의 발육환, 기생부위, 감염양식 등이 복잡하기 때문에 숙주로 부터의 공격에 어떤 대항수단을 원충이 보유하고 있는가에 대한 해답을 일률적으로 기술하는 것은 가능하지 않지만 일부의 기생충에서는 분자기구까지 설명되어지고 있음을 밝혀두고자 한다. 세포외에 기생하는 원충의 대표적인 *Trypanosoma* 에서는 혈청항체나 보체가 직접 충체를 접촉하며, 그것을 회피하는 회피기구가

작동하게 된다. *Trypanosoma* 원충은 표면 당단백질의 겹데기로 피복되어 있지만 그 분자의 종류는 1,000개 이상이 존재하는 것으로 알려져 있다. *Trypanosoma* 는 숙주의 항체에 대하여 먼저 변이원충을 출현시키고 있다. 또 어떤 종의 원충은 포유동물 세포표면에 존재하는 보체 억제인자와 구조적으로 유사한 분자를 발현시키고 있어 보체에 의한 세포용해작용, opsonin화 등으로 부터 몸을 보호하고 있다.

Theileria sergenti 와 같은 세포내 기생하는 원충에 있어서도 매개동물로 부터의 포유동물 숙주에서의 침입시거나 다른 세포에의 이행시기에는 세포외로 유리된 상태가 되기 때문에 항체, 보체성분과 접촉할 수 있다. 바로 이것의 발육 stage의 충체표면에 발현되는 단백질이 감염방지에 필요한 체액성 면역을 유도하는 vaccine 후보이다.

Malaria나 theileriosis 원충에서는 숙주에 최초로 면역을 유발시키는 항원(sporozoite)과 원충이 세포내에 침입한 후 발현되는 항원(schizonte, merozoite 혹은 piroplasma 표면항원)은 분자성상이 현저히 다르게 되어 있어 교차면역반응은 별로 없다. 그 때문에 숙주로 부터의 1차 공격을 피한 원충은 능숙하게 숙주세포내에서 살아갈 수 있다. *T. parva* 에서는 schizonte에 감염된 lymphocyte 표면에 주요 조직적합성(Major Histocompatibility; MHC) 항원을 중개해 원충성 항원이 나타나고 거기에 대하여 원충항원에 대한 특이적인 killer T-cell의 공격이 시작된다. 그의 theileriosis, Babesiosis의 원충 등의 적혈구 기생 원충에 대한 세포성 면역반응은 malaria 원충에서와 같은 형태로 주로 helper T-cell과 항체가 관계하는 면역반응을 고려하여야 한다. Piroplasma 원충감염에 있어서 원충은 어떤 mechanism에 의해 숙주의 면역계로 부터의 공격을 피해 지속적인 감염이 성립되고 있다. 최근에는 piroplasma stage의 주요 표면단백질에는 어느 정도의 항원형과 거기에 대응하는 유전자형에 대하여 연구를 하여 왔다.¹⁰⁾ 일본에서 분리한 균주의 유전자형을 특이적으로 구분할 수 있는 PCR법으로 型別했을 때, 대부분의 야외주

혹은 실험실 보관균주는 복수의 유전자형이 혼재된 원충집단인 것이 명확하게 되어지고 있다. 또 지속적인 감염경과중에 원충이 원충집단의 구성이 변화되어 지고 있음도 밝혀졌다. 이로서 소형 piroplasma 감염증에서는 숙주의 면역반응에 대응하여 우세하고 탁월하게 출현하는 원충집단이 끊임없이 변화하여 공격을 피해왔다는 것이 현재 가설로 생각되고 있어 vaccine 예방효능을 얻는데 어려움으로 생각된다.

현행의 원충성 백신의 문제점

병원성이 강한 연안열에는 sporozoite의 소량접종에 의한 감염과 지속성 tetracycline에 의한 동시 치료, 소위 감염치료법이 동 아프리카에서 실시되고 있다. 그것은 앞에서 기술한 schizonte 감염에 대한 killer T-cell을 인공적으로 유도하는 방법이다. 이 방법으로 면역시킨 소는 야외에서 감염에 저항성을 나타내기 때문에 연안열 예방대책으로서 유효하지만 유행지역인 아프리카에서는 생산된 sporozoite제제의 수송이나 보존에 필요한 냉장시설(액체 질소)이 완비되지 않는 등의 경제적 문제가 있다. 또한 면역학상의 문제로써 vaccine주와 유행주의 항원성이 일치하지 않을 경우 교차면역이 성립되지 않는 것이 알려져 있어 예방접종 대상지역에서는 유행주와 vaccine주의 면역학적 비교가 불가피하다. 그러나 여기에는 소를 이용한 교차면역시험이 유일하게 신뢰받을 만한 방법으로 되어 있어 판정법의 개발 필요성이 있다. 또 vaccine주의 병원성과 진드기 매개는 야외균주와 동일하여 vaccine주가 야외주로 유행할 염려가 있다. 혈액 유래 vaccine를 접종받은 암소는 신생 송아지의 용혈성 질환을 가져올 단점이 있다. 즉, 혈액백신을 소에게 접종하면 폐사를 가져올 수 있는 위험이 있다.¹¹⁾ 그렇지만 2ml의 백신용량중 적혈구 용량을 0.2ml 이하로 감량하면, 이같은 용혈성 질환을 예방할 수 있으며, 호주에서는 1975년 이후로 약 6백만두에게 실시하였던 바, 한 예도 발생하지 않았다.

열대 Theileria 중에서는 schizonte 감염 lymphocyte를 장기간 계대해서 약독화시킨 주를 vaccine으로서 사용하는 방법이 중국, 러시아, 북아프리카 등의 나라에서 행해지고 있다. 이 조직배양의 vaccine의 경우 약독화의 지표가 명확치 않고 약독불충분한 재료에 의한 vaccine 접종사고도 일어나고 있고 또한 계대를 너무 많이 할 경우, 면역원성이 소실되는 등의 문제가 있다. *Babesia* 병에서는 비장적출소에서 계대하여 약독화시킨 vaccine, 이른바 독혈(毒血)이 호주 등에서 제조되어 사용되고 있지만 전파의 위험성과 제제상의 불안전성을 피할 수는 없다.

일본에서도 소형 piroplasma의 대책으로서 같은 형태의 毒血을 이용한 감염면역법이 응용되고 있지만 그 면역작용기전은 명확하지 않았다. 그렇지만 개 *Babesia canis*의 조직배양으로 얻은 vaccine이 프랑스에서는 시판되고 있으며 돼지의 *Toxoplasma*성 유산에 대한 약독 *Toxoplasma gondii*을 이용한 vaccine이 뉴질랜드에서는 시판되고 있다.⁷⁾

원충병에 있어서 Polypeptide vaccine의 활용가능성

원충의 특이항원의 분석에 이어서 차세대 vaccine으로서 주목받고 있는 합성 polypeptide에 대한 연구는 Helper T-cell과 T-cell의 면역반응유발에 관련된 분야¹²⁾와 malaria에 있어서의 합성 polypeptide 백신실험¹³⁻¹⁵⁾ 그리고 *Babesia* 병에 있어서의 recombinant DNA를 이용한 subunit 백신의 개발을 위한 연구가 시도되고 있다.¹⁶⁾ 이의 장점이라면 완전한 유전자 분리가 쉽고, 핵산의 구조를 규명할 수 있는 점이라 하겠다. 원충병 백신에 대한 정확한 정보가 체계화되어 있지 않으나 여러 분야에서 백신개발을 위한 끊임없는 연구진행상황은 백신의 예방능력과 숙주의 면역반응 등의 관련성을 다루는 최신정보는 흥미를 일으키는데 있어서 충분하리라 생각된다.

사람 말라리아 Vaccine의 개발 실체

지구상의 질병중에 사람의 생명을 가장 많이 빼앗아 간 것은 malaria 병일 것이다. 그러한 이유로 현재까지 원충병중에서 vaccine 개발의 위한 연구가 제일 많이 진행된 것도 malaria 병이다. 1980년초 처음부터 *Plasmodium* spp. sporozoite 유전자가 cloning되어 recombinant vaccine을 개발한 이후 지금까지 10년 이상이 경과한 현재 vaccine 효과에 관한 많은 연구가 나왔지만 어느 것도 실용화 단계에 이르지 못하고 있다. 수의학 영역에서의 원충성 vaccine 개발에 있어서도 확실해진 원충병 vaccine에서 경험하고 있는 어려웠던 점 등은 다른 원충병 vaccine 개발에 있어서 배울만한 점이 많다고 생각된다.

Plasmodium spp.의 sporozoite vaccine의 당초 목적은 원충이 간세포에 침입하는 활성을 중화할 수 있는 항체를 유도하는 것에 있었다. Malaria의 sporozoite 표면항원(circum sporozoite protein : CSP)의 일부는 소수 amino acid의 반복구조를 취하고 있다. 즉, asparagine-alanine-asparagine-proline의 4개 amino acid의 반복이 10회 이상 존재하였다. 그러한 부분을 포함한 recombinant 단백질 혹은 합성 peptide를 이용한 vaccine에 대하여 어떤 사람의 집단에서는 전혀 항체반응이 없는 것이 확실하다고 하지만 여기에 class II MHC 분자의 항원표시능력이 관여해 있었다고 생각되어 진다.¹⁸⁾ 그후 이 amino acid 배열(B-cell epitope)에 helper T-cell이 반응하는 amino acid 배열에 T-cell epitope을 연결해서 다분기(多分岐) amino acid(multiple antigenic peptide : MAP)로서 합성하여 면역원성을 증강시키는 방법이 소개되고 있는 실정이다.^{19,20)} 몇 예는 감염시험에서 유효성이 있는 것으로 보고되고 있다. 더욱이 CSP 혹은 그 epitope 부분은 B형 감염 virus core 단백질, 인플루엔자 virus 입자, Salmonella균, 결핵균(BCG)에 발현시켜 세포성 면역을 유도하는 방법이 시험되고 있다. CSP에서의 epitope는 감염 간세포 표면에 도 발현되어져 있기 때문에 이것에 대한 세포성 면역도 감염방제에 유효하다. 또 이것과는 달리 적혈구내 원충에 발현하는 표면항원의 B-cell epitope을 기본으로, Csp의 T-cell epitope 등을 조합시키어 고

안한 합성 peptide vaccine(SPF 66)의 유효성도 보여지고 있다. 이 vaccine은 현재 실용화를 위하여 남미, 아프리카에서의 실험이 시행되고 있지만 아직 유효성을 최종판정 받지 못하고 있으며 이처럼 사람의 malaria에서도 이렇게 vaccine에 대한 평가가 더디게 이루어지고 있음을 참작하여야 할 것이다.

Malaria에 있어서 합성 peptide 백신(SPF 66)의 항원성을 관찰하기 위하여 사람을 포함한 쥐, 토끼 및 원숭이의 같은 실험동물에 접종하여 동물간의 면역반응 정도의 차이에 관한 연구가 이루어지고 있다.²¹⁾ 즉, 쥐와 토끼는 면역반응이 혈청학적으로 쉽게 입증되지만 사람이나 원숭이에서는 잘 나타나지 않는다고 한다.^{17,21)} *In vitro*에서 합성한 polypeptide 항원성 물질을 *in vivo* 접종시 이에 대한 면역반응기계에 있어서의 반응은 malaria에 있어서는 세포성 면역능 유발¹⁸⁾과 면역원성과 방어능력의 측면에서 설명되었지만²²⁾, 아직 소에 있어서의 합성 polypeptide의 접종을 통한 면역반응기계에 대한 관찰보고에는 접할 수 없는 실정이었지만, 우리나라 소에서 theileriosis를 예방하기 위하여 polypeptide vaccine을 생산하여 직접 소에게 항체의 형성양상을 관찰하고자 ELISA, IFA 그리고 Western immunoblot 방법으로 항체의 역가와 특이항원항체 면역반응을 관찰함은 면역형성기전을 밝히는데 중요한 자료일 것으로 사료된다.

개발도중에 있는 동물의 원충병 Vaccine

원충의 면역회피기구를 극복하여 동물에서 원충 감염에 대한 강한 면역반응을 가져올 수 있는 수단의 개발이 있어야 한다는 것은 일반적으로 vaccine의 실용화에서 피할수 없는 길이다. 그렇지만 원충병 vaccine 개발에는 virus, 세균의 vaccine 개발과는 달리 어려운 점이 많다. 첫째 일부의 원충을 제외하면 배양체계가 확립되어 있지 않는 점이다. 일부의 *Theileria*, *Trypanosoma*, *Leishmania*를 제외한 원충중에서 현재 배양가능한 것은 *Babesia*, *malaria* 등 적혈구 기생원충이다. 이것은 신선한 적혈구를 배양

계에 보충시켜 계속 유지되고 있다는 점 뿐으로 virus 등에서 처럼 증균시키지 못하고 있는 점이다. 둘째 원충의 genomic size가 세균에 비교해서 약 10 배이고 병원성에 관여하는 유전자의 동정, 해석이나 약독화의 유전 marker의 해석이 훨씬 곤란한 점을 들 수 있다. 현재에는 유전자 조작 및 단백질 공학 기술을 이용한 vaccine의 실험적 응용도 일부의 원충병에서 시험되고 있다.⁷⁾

Theileria parva sporozoite vaccine은 최근에 이르러서의 *Theileria parva* sporozoite 표면의 67KD 단백질 유전자를 cloning하여 대장균 recombinant 항원을 발현시키고 있다. 본 단백질로 소에게 면역시킨 후 공격해 올 때 감염에 저항하는 소를 볼 수 있었다. *Theileria* 병의 recombinant vaccine으로서는 처음 시험이지만 야외에서의 유효성 평가는 차후의 과제일 것이다.⁷⁾ Sporozoite가 표적세포에 접촉, 침입하는 것에 필요한 시간은 수십 초이며, 이 동안에 항체가 반응할 수 있는지가 감염저지의 결정적인 수단이다. 그 경우 항체가를 높게 유지시키기 위하여 adjuvant의 선택이 역시 중요하다. 또 본 원충의 sporozoite 표면항원에 어느 정도 항원 다양성이 존재하는가는 명확하지 않지만 어느 정도 광범위한 지역에서의 사용시 면역효과가 있는지는 확인되어야 한다. *T. annulata*에서도 같은 양상의 sporozoite 유전자가 cloning되어 vaccine으로서의 이용도 연구되고 있다. 연안열에서는 방체에 관여하는 면역을 schizonte 감염 lymphocyte에 대한 세포성 면역을 주로 작동한다. 이 표적이 되는 항원이 동정되었기 때문에 감염 lymphocyte 표면 MHC 분자에 표시된 peptide의 동정도 단백질 공학적 기술을 구사해서 진행되어지고 있다.

우리나라와 외국에서의 *Theileria sergenti* vaccine 개발 접근

우리나라에 분포하는 *Theileria sergenti*는 *T. parva*에 비교하여 병원성이 약하지만 빈혈을 수반한 증체량 감소, 폐사 등의 원인으로 심한 경제적 손실을 겪고 있다. 과거 우리나라에서는 균체를 소에게 계대함으로써 약독화된 독혈을 접종한 후, 치료하는 면역방

법으로 방역대책을 세워나아갔으나 계속적으로 사용하는데는 성공치 못하였다.

Theileria sergenti merozoite의 수용성 항원을 SDS-PAGE하였을 경우 다수의 항원성 단백질이 인정되지만²⁴⁻²⁶⁾ 감염혈청을 이용한 Western blot 법에서는 抗體價가 상승후의 혈청중의 항체는 분자량 34,000과 70,000의 특정 크기의 항원만이 반응하고 이들의 감염경과에 다른 변화는 인정되지 않았다. 이러한 항원의 특성을 파악하여 냉동건조한 수용성 항원을 진드기가 밀집서식하고 있는 제주도의 K목장과 충남 성환 J목장의 1년 미만의 한우와 젓소를 상대로 예방접종한 바, 대조군(적혈구내 기생율 5%)에 의하여 적혈구내 원충의 기생율이 현저히 감소되었으며(0.5%) 빈혈에 있어서도 유의적 차이로 나타나므로서 유효면역원을 활용가치를 인정, 보고하였다. 그렇지만 항원을 생산하기 위하여는 소의 비장적출후 균주의 접종 그리고 항원성 단백질의 분리에는 많은 시간과 절차가 필요하여 SDS-PAGE와 western blot에서 가장 항원력 및 면역성이 강하게 인정되었던 34KD를 중심으로 몇개의 merozoite 항원의 구조 즉, amino acid 구조를 밝힌 후²⁷⁾, 이를 합성하여 생산한 polypeptide의 항원성을 높여 소에게 접종하였던 바, western blot에서 면역반응을 나타내었으며 이를 야외방목장에 사육되고 있는 소에게 접종한 후 방목을 하였던 바, 혈청학적 면역반응은 일으키지만 자연감염되는 충체의 증식이나 생존을 억제할 수는 없는 실험결과를 얻고 있다. *Theileria sergenti* merozoite 수용성 항원을 이용한 백신의 생산에는 항원준비과정이 복잡할 뿐만아니라 감염혈액으로 부터 질병의 전파 등과 같은 불리한 요소가 있어 사람의 malaria병 연구에서처럼 특이항원의 아미노산 서열구조를 밝혀 이를 합성하는 연구가 이루어지게 되었다.^{14,15)} 이처럼 기생충병의 예방을 위한 polypeptide의 합성은 균체로부터 얻은 단백질보다 더욱 많은 단백질 양을 얻을 수 있어 theileriosis 예방에 있어서도 관심을 끌게 되었다.¹⁷⁾

Theileria sergenti vaccine의 면역기전

*Theileria*의 예방을 위하여 약독화한 원충을 감염,

치료하는 방법이 사용되었으나³⁰⁾ 치료가 완전치 못한 경우 원충주의 전파위험과 더불어 타 혈액 유래성 전염병의 전파위험성이 있다. 저자는 *T. sergenti* merozoite 수용성 항원을 제조하여 실험실 및 야외 목장에서 예방효과를 관찰하였던 바, 일반 혈액학적 소견과 증체량에 있어서 그 예방효과를 인정할 수 있었다.^{26, 28)}

Theileria sergenti, *T. buffei*에서는 piroplasma 표면항원의 하나인 32KD 단백질의 cloning이 되고 있다. 흥미깊은 것으로는 이 분자와 amino acid 상동성이 높은 단백질이 *T. parva*, *T. annulata*, *T. mutans*, *B. equi*의 piroplasma 표면에서도 발현되고 있어 이들 분자가 적혈구내에서의 원충증식에 공통된 기능을 가지고 있는 것으로 생각되고 있다. 이 단백질의 amino acid 배열정보로부터 설계된 합성 peptide의 면역원성도 확실해지고 있다. 또한 *T. sergenti* 적내형 원충항원으로 면역한 소에 스포로조이드를 감염시킨 경우에는 혈류중의 적내형 원충의 출현과 증식이 지연하는 것 때문에 면역처치는 sporozoite에서 적내형 원충까지의 발육 stage의 어느 단계의 원충증식에 대하여 억제작용을 하고 있는 것으로 생각되었다. 더욱이 적내형 원충에 대한 면역처치의 효과를 검토하기 위하여 면역 소의 적혈구로부터 분리한 원충을 접종한 경우 대조와 비교하여 혈류중에서의 *T. sergenti*의 출현이 지연되고 그 peak 치도 낮은 경향이 인정되었다. 이같은 점으로 미루어 보아서 면역처치는 sporozoite로부터 적내형 원충까지의 발육 stage, 특히 적내형 원충의 증식에 대하여 억제작용을 하는 것으로 생각된다. 이행항체 보유 소를 비장 적출후 *T. sergenti* 감염 적혈구를 접종하여 감염시킬 경우 원충의 증식이 지연되었다고 보고하고 있는 것에서 면역처치에 의한 원충증식 억제효과는 세포성 면역보다는 체액성 면역이 주체적으로 작용하고 있다고 추측하였다.³¹⁾ 면역군에 있어서 적혈구수, hematocrit 및 hemoglobin의 농도는 대조와 똑같이 감소하기 때문에 면역처치는 발육시기를 지연시키거나 증상을 경감시키지는 않는 것으로 생각된다. Western blot의 결과에서 면역처치로 부터 유도되는

항체는 감염에 의해서 유도되는 항체와 같은 원충항원을 인식하고 더욱이 감염경과에 따른 변화도 인정되지 않았다. 통상, 정상 소가 *T. sergenti*에 감염되어도 발증하는 일은 드물다. 이러한 이유로 비장의 이물제거작용과 항원충체에 의한 원충증식 억제작용에 적내형 원충의 대부분이 배제되어 항상 낮은 감염률로 유지하고 있는 것으로 추이되기 때문에 발증이 억제되고 있는 것으로 생각되었다. 한편 방목전에 기생 적혈구를 방목예정 소에 투여하거나 방목전에 오염된 목야에 한번 방목하여 *T. sergenti*를 감염시킨 후 다시 방목을 하면 발증예방에 유효하나 발증을 완전히 예방할 수 없었다. 이는 원충감염에 의해서 생산된 항체는 완전한 중화활성을 보유하고 있지 않기 때문에 발증을 완전히 제거할 수 없는 것으로 생각된다.

현재까지 *T. sergenti*에 있어서 합성 peptide 혹은 baculo virus에서 제작된 recombinant 단백질의 vaccine 효과에 관해서는 감염과 발증에 대한 어느 정도의 효과가 밝혀져 있다. 그러나 항체의 작용을 피해서 증식해 온 원충의 표면항원의 유전자형에는 변화가 일어나고 있는 것이 앞서 기술한 PCR법으로 확실해지고 있다.¹⁰⁾ 이 때문에 면역효과를 높이기 위해서는 복수의 유전자형으로 부터 만든 多價 항원의 vaccine을 검토할 필요성이 있다. 또 본 원충이 침입시 이용하는 적혈구에서의 receptor는 말단에 salic acid을 함유한 당단백질이라는 것이 밝혀지고 있다. 일반적으로 세포표면 receptor에 대한 virus 등의 표면단백질의 receptor의 결합부위는 amino acid 치환이 최고조에 달해서 적은 변이가 일어나기 어려운 부위로 되어 있다. 여기에 대응하는 원충측의 reagent가 동정되어 receptor 결합부위에 대한 면역이 유도되면 적혈구 침입 초기단계에서 저지하는 것도 가능하게 될 것이다.

원충감염에 대한 숙주의 면역응답

원충 기생 적혈구수의 최고로 증가하는 시기를 전후하여 적혈구수, 적혈구 용적, hemoglobin 농도,

백혈구수의 일과성 증가를 관찰하였으며 체온의 상승은 원충 기생 적혈구수의 상승에 기인하는 것으로 사료된다. 또한 말초 백혈구수 중 임파구수의 증가 경향 및 호중구의 비율과 그 수가 감소하는 경향이 있다. 통상 슐뮈牛에서는 그 혈류중에 혈액도말표본에서 *T. sergenti* 원충이 인정되는 일이 드물기 때문에 일반적으로 사육되는 소의 기생율은 낮은 것으로 생각되어 진다. 즉, 미발증으로 지속감염하고 있는 *T. sergenti* 감염 소가 잠재적으로 다수 존재하고 있는 것으로 생각되어 진다.

Theileriosis와 malaria에 있어서의 주요한 면역반응시기는 적외형 stage로서 이의 면역은 주요 조직 적합성 유전자 복합체(MHC) 구속성 T세포가 주도하고 있다. 아프리카의 연안열을 면역예방하고자 소에서 *T. parva* sporozoite 감염과 동시에 tetracycline으로 치료시켜 면역을 얻는데 이 면역이 임파구로 침입하여 형성된 schizonte stage로서 체액성 항체와 세포성 면역이 중요하다고 생각된다.

면역예방과 자연저항

연안열에 감염된 소에서 얻은 비장의 분쇄한 조직이나 임파조직의 접종으로 감염을 일으킬 수 있다고 하였다. 이같은 조직을 접종하면 여러가지 증세를 나타내지만 회복되면 감염에 의한 면역을 형성하는 것으로 보고하였다. 이같은 면역은 실험군별로 달라서 10~72%의 예방효과를 나타내었으며, 많은 소가 이같은 면역에도 불구하고 폐사하였다. 이 부작용으로서 순환장애에서부터 괴사성 폐렴 등을 수반하였다. 물론 *T. parva* 인 경우에는 회복되면 아주 오랫동안 지속되며 감염정도와는 관계없이 강한 면역을 일으키는 것으로 알려졌다. 더우기 방어성 면역은 만약 강독균주를 사용하여 만들어진다면 유효한 vaccine 효과를 얻을 수 있다.

최근에 까지 *Babesia*는 숙주의 엄격한 특이성이 있어 고유숙주에만 감염되는 것으로 알려져 있다. 그렇지만 *B. microti*인 경우 사람에서 발견되는 사실과 성장장애요소(Phylogentic barrier)를 교차시키면

감염이 이루어지는 사실 등은 숙주 특이성이 엄격하지 않은 것으로 알려지고 있다. 비특이성 식균작용(nonspecific phagocytosis)은 원충의 감염저항에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 즉, 비장적출한 비고유 숙주에 충체를 감염시키면 감염이 쉽게 이루어지는 점이라 하겠다. *Babesia*에 있어서 적혈구로의 침입은 기생충에 의한 보체의 작용이 실제적으로 이루어지며, 이는 적혈구에 붙어있는 보체의 구성성분 중에 어떤 것이 원충에 대한 receptor로서 작용하는 것으로 알려지고 있다.³²⁾ 매개곤충이 서식하고 있는 곳에서의 단기간 사육은 적은 수의 충체가 감염되므로써 기생에 따른 임상적 증세를 나타내기전 상태의 면역능을 발휘할 수 있을 것이다. 송아지는 쥐나 강아지와는 다르게 성숙한 소보다도 이 질병에 저항성이 강한 것으로 역학적 조사·연구로서 알 수 있었다. 이는 6~7개월까지 지속되지만 3~6개월 이후에는 이같은 저항성은 거의 의미가 없게 된다.

일반적으로 저항성이 있는 어미소의 새끼소는 저항성이 약한 어미소의 송아지보다도 저항성이 강한데 이는 어미소로부터의 초유항체에 기인한 것으로 사료된다. 그렇지만 분만초기에 섭취된 항체가 송아지에서 6개월 이상 유지된다는 사실은 설명되기 어려운 문제점으로 남아 있다. 초식류에 있어서의 발생하는 연령 저항성은 모체로부터의 태반이나 초유를 경유한 항체에 의하여 저항성을 나타내지만 송아지가 자체적으로 생산하는 항체에 의한 저항성이 약한 것으로 설명할 수 없는 실정이다. 자연감염된 경우 자연감염에 의한 저항성은 가능하나 절대적인 것은 아니다. 그렇지만 증세를 억제시키며 재감염된 동물에서는 기생율이 감소된다.

원충의 인위적 저항성 형성

원충병에 대하여 인위적 저항성을 일으키려는 시도는 약 90년 전에는 *Babesia*를 대상으로 호주에서 이루어진 바 있다. 즉, 무중세의 균 보유 소 혈액을 송아지에 소량 주사하여 경증의 증세를 유발시킴

로써 자연감염에 대한 충분한 저항성을 갖게 되어 임상증세를 나타내지 않고 경과할 수 있었다. 약 10년 후부터 기생충의 살충제가 이 질병을 극복하는데 사용되었으며 만약 기생충이 검출가능한 시기에 이루어진다면 이 치료방법은 중요한 방법중의 하나일 뿐만아니라 *Babesia* spp가 유행하지 않은 지역에서의 사육되는 소를 대상으로한 적절한 면역방법이기도 하였다. 이는 preimmunization로서 오늘날까지 알려지고 있다. 이는 임상증세를 나타내는 질병을 예방하는데 효과적인 방법이지만, 소 백혈병과 같은 질병을 전파시키는 문제점과 혈액형에 대한 항체를 형성하며, 이 항체는 초유를 통하여 신생 송아지에 전달됨으로써 용혈성 질환을 일으킬 수 있다. 그러므로 치료제를 서서히 주입하면 면역을 형성할 수 있는 충분한 항원성을 부여할 수 있지만 가끔씩 치료제는 독성을 나타내는 단점이 있다. 충체에 방사선을 조사하여 현저한 대사작용에는 영향을 끼치지 않고 증식만을 억제시키는 방법이 최근 사용된 바 있다.³³⁾ 20,000 또는 50,000 Rad를 조사한 *Babesia*를 접종하면 경증의 임상증세를 나타내나, 강한 면역능력을 형성하는 것으로 알려지고 있다. 그렇지만 다량의 조사를 하면 충체의 증식을 완전히 정지시킬 수 있으며 죽은 충체는 면역예방학적 목적으로 역할을 하였다.

Plasmodium spp., *Theileria* spp., *Babesia* spp. 등의 충체는 MHC(Major Histocompatibility Complex) 항원이 나타나지 않는 적혈구 내에서만 증가되며, MHC-restricted 세포유해활성의 목표가 되지 않는 점 때문에 예방면역에 있어서 CD4⁺, T_H cell의 역할에 대한 관심이 집중되고 있으며, *Babesia* spp., merozoite 항원은 T_H cell 반응을 유발하며 특이항원에 대한 cytokine이 생산되고, 생산되는 cytokine에 대한 특이성 규명은 예방용 백신제조에 중요한 역할을 할 것으로 사료된다. B-cell과 T-cell epitope이 함유된 *Babesia* spp.에 대한 합성 polypeptide를 carrier없이 Balb/C 마우스에 접종시 강한 항체가 형성되며 임파구가 증가된다.²²⁾

오래 전부터 *T. parva*에 감염되었다가 회복된 소는

재감염에 대한 실제적인 면역이 가능한 것으로 알려져 있다. Sporozoite를 아급성량 투여후 회복이나 실제적 면역형성으로 또는 sporozoite의 치사량을 접종한 후 tetracycline으로 치료함으로써 경감염상태(mild infection)를 유지시켜 비슷한 면역을 유발시킬 수 있다. 즉, patent infection의 초기에 타이레리아 살충제, parvaquone 또는 halofuginone 등으로 치료함으로써 얻을 수 있다. 또한 macroschizonte 감염세포, 감염된 소의 조직 또는 실험관내의 세포주를 다량접종함으로써 면역을 유도할 수도 있었다.

이같은 면역의 일반적인 방법은 모두 감염된 물질을 사용하는 것이며, 면역시키고자 하는 동물에 감염을 형성하는 것이었다. 그렇지만 자연감염되었던가 또는 회복되었던가 하는 방법에 의한 면역은 이후의 challenge 없이도 상당히 오랫동안 유지한다. 만약 이형 기생체(heterologous parasite)에 도전을 받게 되면 불안정한 면역형성으로 또는 면역의 미흡한 형성으로 소는 저항하지 못한 채 폐사되는 수 있다.

실험 감염우에 있어서의 면역응답

Theileria sergenti 감염우에 있어서 면역응답에 관한 보고는 흔치 않으며 아직도 불명한 점이 많은 실정이라 하겠다. 실험적으로 축사환경 아래서 *T. sergenti*를 감염시켜 혈액도말표본의 검정에서 혈액중에 거의 나타나지 않고 숙주는 지속감염된 채, 무증상으로 내과한다. 사육환경하에서의 *T. sergenti*의 감염 발증실험에서는 비장적출 소가 이용되고 있으나 비장적출우에 있어서의 임상학적 소견보고는 흔치 않지만 면역응답의 형상을 체온, 기생충 등을 이용하여 설명한 예가 있다.²⁾ *T. sergenti* 적내형 원충만으로 면역한 소에 sporozoite를 면역시킨 경우는 혈류중의 적내형 원충의 출현의 증식이 지연되는 것 때문에 면역처치는 sporozoite에서 적내형 원충까지의 발육 stage의 어느 단계의 원충증식에 대하여 억제적으로 작용하고 있는 것으로 생각되었다. 이미 *T. sergenti*의 실험감염초기에 있어서 백혈구수가 일시적으로 감소하는 것과 감염에 따른 말초백혈구의 임

파구의 비율이 증가하고 있는 것으로 부터 *T. sergenti* 감염이 골수 혹은 임파계에 어떤 영향을 미치고 있는 것으로 생각된다. 그래서 *T. sergenti* 감염 소의 말초혈액 임파구의 mitogen에 대한 유약화반응에 대해 검토하였으나 유의성 있는 변화는 인정되지 않았다. 따라서 감염에 의한 임파계의 응답을 밝혀려면 사이토카인의 생성이나 사이토카인에 대한 응답성 등의 측면에서 상세히 검토할 필요성이 있다고 생각된다. 더욱이 적내형 원충에 대한 면역처치의 효과를 검토하기 위하여 면역된 소에 적혈구로 부터 분리한 원충을 접종할 경우 대조와 비교하여 혈류중에서의 *T. sergenti*의 출현이 지연되고 그 peak치도 낮은 경향이 인정되었다. 이상의 결과로 미루어 보아 면역처치는 sporozoite로 부터 적내형 원충까지의 발육 stage 특히 적내형 원충의 증식에 대하여 억제작용을 하는 것으로 생각된다. 이행항체보유 소는 비장적출후 *T. sergenti* 감염 적혈구를 접종하여 감염시킬 경우 원충의 증식이 지연된다고 보고하고 있는 것에서 면역처치에 의한 원충증식 억제효과는 세포성 면역보다는 체액성 면역이 주체적으로 작용하고 있다고 추측하였다.³¹⁾ 면역군에 있어서 적혈구수, hematocrit치 및 hemoglobin의 농도는 대조와 똑같이 감소하기 때문에 면역치는 발육시기를 지연시키거나 증상을 경감시키지는 않는 것으로 생각된다고 하였다. 한편 방목전에 기생적혈구를 방목예정 소에 투여하거나 방목전에 오염목야에 한번 방목하여 *T. sergenti*를 감염시킨 후 본 방목을 하면 발증예방에 유효하다고 보고하고 있으나 발증을 완전히 방지할 수 없었다. 이는 원충감염에 의하여 생산된 항체는 완전한 중화활성을 보유하고 있지 않기 때문에 발증을 완전히 제거할 수 없는 것으로 생각된다.

그외의 원충병 Vaccine 현황

조류 특히 닭에 있어서의 콕시듐증에 의한 경제적 손실을 최소화하기 위한 항콕시듐제의 사용은 우리로 하여금 적절한 vaccine의 개발을 요구하게 된다. 콕시듐 중에서 *Eimeria tenella*, *E. acervulina*의 sporozoite 표면단백질 유전자가 cloning되어 recombinant 단백질의 vaccine으로서 유효성이 시험되고 있다.

우리나라에서는 병아리에 약독화시킨 균주를 경구감염시킨 후 치료를 계획적으로 시켜서, 병아리로 하여금 면역을 유발시켜 지속적으로 자연환경에서 도전되는 새로운 강독주의 공격에 대하여 증상경감 등 어느 정도의 면역효과를 나타낸 것이 보고되었다. 원충병에 대하여 지금까지의 설명된 방법과는 다른 직접적인 방제법이 별도의 예방접근방법으로 vaccine의 효과를 나타낼 수 있는 방법이 있다. 즉, 이들 질병은 대부분 진드기 매개질병인 점을 착안하여 진드기를 포획하여 얻은 장내 표면에 존재하는 당단백질 유전자를 cloning하고, recombinant 단백질 vaccine으로서 호주에서는 활용하고 있다.

진드기 vaccine은 호주에서 활용하고 있다. 이 진드기 vaccine은 면역된 소에 부착 흡혈하는 진드기는 산란수가 줄어드는 번식능력의 저하로서 결과적으로는 야외의 진드기 수가 감소한다. 따라서 간접적으로 그리고 중국에는 여러 종류의 주혈기생충병의 감소를 기대할 수 있을 것이다.

우리나라에서 소의 piroplasma 병에 의한 경제적 손실을 최소화하기 위하여서는 지금까지 언급한 *T. sergenti* merozoite의 수용성 항원을 냉동건조하여 유행지역의 양축농가에 보급하는 정책사업으로서 이 질병에 대한 면역응답을 기대하여야 하며, 더욱 나아가서는 합성 polypeptide vaccine에 대한 보다 상세한 연구검토가 필요한 실정이다.

참고 문헌

1. 백병걸, 김병수, 이호일 등 : 한우에 감염된 *Theileria sergenti*의 미세구조, 대한수의학회지, 1990; 30(4) : 465~471.
2. 강영배, 장항 : *Theileria sergenti*와 *Babesia ovata*에 자연감염된 송아지에 있어서의 비장적출

- 에 따른 유행증 원충 출현 소장. 농시논문집. 1988; 30(2) : 7~11. 3. 전영 : 한우의 바베시아와 타이레리아 원충의 감염실태조사. 대한수의학회지, 1977; 17 : 78~96. 4. 한태우 : 우리나라 축우의 소형 piroplasma병에 관한 연구. 농시보고. 1968; 11 : 91~96. 5. 백병걸, 임병무, 이우종 등 : 신생 송아지에 있어서 *Theileria sergenti*의 감염에 관한 연구. 대한수의학회지, 1994; 33(4) : 665~671. 6. 小沼 操, 松葉隆司, 莊文忠 外 : タイソリア原蟲感染にともなう宿主の免疫反應とその防禦. 動藥研究. 1993; 10(48) : 25~40. 7. 衫本踐尋 : 原蟲病ワクチンの現状と新たなワクチン開發. 臨床獸醫. 1995; 14(4) : 35~40. 8. 清水眞也 : 小型ピロプラズマ(*Theileria sergenti*)感染牛における免疫應答. 家畜衛試研究報告. 1990; 96 : 241~244. 9. 南哲郎 : 타이레리아, 小型 피로플라즈마病 獸醫主血生物病. 1986; 163~168. 近代出版. 10. Tanaka M, Onoe S, Matsuba T et al : Detection of *Theileria sergenti* infection in cattle by using polymerase chain reaction amplification of parasite specific DNA. Clin. Vet. Microbiol. 1993; 31(10) : 2563~2569. 11. Dimmock DK, Bell K : Haemolytic disease of the newborn in calves. Aust Vet. J. 1970; 46, 44. 12. Brown WC, Palmer GH, McElwain TF : *Babesia bovis* : Characterization of the T helper cell response against the 42-kDa merozoite surface antigen(MSA-1) in cattle. Experi Parasitol, 1993; 77 : 97~110. 13. Amador R, Moreno n A, Valero V et al : The first field trials of the chemically synthesized malaria vaccine 66 : safety, immunogenicity and protectivity Vaccine, 1992; 10(3) : 179~184. 14. Patarroyo G, Franco L, Amador R et al : Study of the safety and immunogenicity of the synthetic malaria SPf 66 vaccine in children aged 1~14 years. Vaccine, 1992; 10(3) : 175~178. 15. Rocha CL, Murillo LA, Mora, AL, et al : Determination of the immunization schedule for field trials with the synthetic malaria vaccine SPf 66. Parasite Immunology., 1992; 14 : 95~109. 16. Tim PS, Barry DN : Failure of a recombinant *Babesia bovis* antigen to protect cattle against heterologous strain challenge. Res. Vet. Sci. 1988; 45 : 267~269. 17. Campbell GH, Aley SB, Ballou WR et al : Use of synthetic and recombinant peptides in the study of host-parasite interactions in the malaras. Am. J. Trop. Med. Hyg., 1987; 37 : 428~444. 18. Murillo L, Tenjo FA, Clavijo OP, et al : A specific T-cell receptor genotype Preference in the immune response to a synthetic *Plasmodium falciparum* malaria vaccine. Parasite Immunology., 1992; 14 : 87~94. 19. Muckerheide A, Apple RJ, Pesce AJ et al : Cationization of proteins antigens. I. Alternation of immunogenic properties. J. Immunol, 1987a; 138 : 833~837. 20. Muckerheide A, Domen RL, Michael JG : Cationization of proteins. II. Alternation of regulatory properties. J. Immunol., 1987b; 138 : 2800~2804. 21. Millet P, Campbell GH, Sulzer AJ et al : Immunogenicity of the *Plasmodium falciparum* a sexual blood-stage synthetic peptide vaccine SPF66. Am. J. Trop. Med. Hyg., 1993; 48(3) : 424~431. 22. Chauhan VS, Chatterjee S, Johar PK : Synthetic peptide based on conserved *Plasmodium falciparum* antigens are immunogenic and protective against *Plasmodium yoelii* malaria. Parasite Immunology, 1993; 15 : 239~242. 23. 백병걸, 서창희, 김진호 등 : *Theileria sergenti* merozoite의 합성 polypeptide 백신의 면역원성에 관한 연구. 대한수의학회지. 1995; 35(1) : 87~94. 24. 백병걸, 김병수, 이재구 등 : 한우에 있어서 *Theileria sergenti*의 항원성에 관한 연구. 대한수의학회지. 1990a; 30(2) : 223~229. 25. Baek BK, Choi IH, Kim BS et al : Immunogenicity and protective efficacy of solubilized merozoite-enriched *Theileria sergenti* immunogens. I. Protection against homologous stabilized challenge. Kor. J. Parasitol, 1992a; 30(2) : 133~140. 26. Baek BK, Yang KC, Choi IH, et al : Immunogenicity and protective efficacy of solubilized merozoite-enriched *Theileria sergenti* immunogen. II. Protection against natural tick challenge under field condition. Kor. J. Parasitol., 1992b. 27. Baek BK, Kim BS, Rhim BM : Immunogenicity and protective efficacy of solubilized merozoite-enriched *Theileria sergenti* immunogens. III. Characterization of immunodominant peptides. Kor. J. Parasitol. 1994; 32 : 111~116. 28. 백병걸, 송희중, 김병수 등 : 소에 있어서 주혈기생충병의 면역학적 예방에 관한 연구. 한국수의공중보건학회지. 1991; 15(1) : 127~142. 29. 백병걸, 서창희, 김진호, 김병수 : *Theileria sergenti* merozoite의 합성 polypeptide 백신의 면역원성에 관한 연구. 대한수의학회지. 1995; 35(1) : 87~94. 30. Khanna BM, Dhar S, Gantam OP : Chemotherapy of experimental *Theileria annulata* infection in bovine. Ind. Vet. J. 1983; 60 : 603. 31. 高橋清志 : 牛の小型ピロプラズマの感染と免疫に関する研究. 酪農大學紀要. 1990; 179~248. 32. Chapman WE, Ward PA : *Babesia rodhaini* : Requirement of complement for penetration of human erythrocyte. Science, 1977; 196 : 67~70. 33. Mahoney Df, Wright IG, Ketterer. : *Babesia argentina* : The infectivity and immunogenicity of irradiated blood parasites for splenectomized calves. Int. J. Parasitol. 1973; 3 : 209~217.