

## 소아에서 human metapneumovirus 감염

순천향대학교 의과대학 소아과학교실, 병리학교실\*, 예방의학교실†, 씨젠 주식회사‡, 질병관리본부 국립보건연구원 호흡기바이러스과§

염희현·박준수·정동준\*·김창진\*·김용배†·이대훈‡  
김경중‡·천종윤‡·강 천§·정윤석§·정향민§

### Human metapneumovirus infection in Korean children

Hee-Hyun Yeom, M.D., Joon-Soo Park, M.D., Dong-Jun Jeong, M.Msc.\*  
Chang-Jin Kim, M.D.\*, Yong-Bae Kim, M.D.†, Dea-Hoon Lee, Ph.D.‡  
Kyung-Joong Kim, Ph.D.‡, Jong-Yoon Chun, Ph.D.‡, Chun Kang, Ph.D.§  
Yoon-Seok Chung, Ph.D.§ and Hyang-Min Cheong, Ph.D.§

Department of Pediatrics, Pathology\*, Preventive Medicine†,  
College of Medicine, Soonchunhyang University, Cheonan, Korea. Seegene Inc‡. Seoul,  
Division of Respiratory Viruses§, Department of Virology, NIH, KCDC, Seoul, Korea

**Purpose :** Human metapneumovirus(hMPV) is a respiratory viral pathogen that causes a wide spectrum of illnesses, ranging from asymptomatic infection to severe bronchiolitis. The virus has been identified world widely, but so far it has not been published in Korea.

**Methods :** We obtained clinical samples by nasopharyngeal aspiration from 218 children hospitalized due to acute lower respiratory tract infections at Soonchunhyang University Hospital in Cheonan from October, 2004 to April, 2005. We designed specific primers from conserved region of fusion glycoprotein of hMPV. Total RNA was extracted and RT-PCR was performed, and single specific 423 bp product was obtained. The PCR product was confirmed to be fusion glycoprotein RNA by sequencing.

**Results :** We detected hMPV in 15(6.9 percent) of the 218 hospitalized children. The infected children comprised nine boys and six girls; their mean age was 2.8 years(5 mo-12 yrs) and they were diagnosed with pneumonia(60 percent), bronchiolitis(33.3 percent), croup(6.6 percent). The number of cases of detected hMPV in Korea increased dramatically during the period from March to May 2005.

**Conclusion :** hMPV is circulating in Korean children and is associated with respiratory tract infection. Additional studies are required to define the epidemiology and the extent of diseases in the general population caused by hMPV. (Korean J Pediatr 2006;49:401-409)

**Key Words :** Metapneumovirus, Respiratory tract infection, Korea, Child

### 서론

급성 호흡기 감염은 소아과 의사들이 가장 흔히 접하게 되는 질환이다<sup>1)</sup>. 이중 급성 하기도염은 국내 대학병원 소아과 입원 환자의 18.6%에서 25%를 차지하는 중요한 질환으로<sup>2,3)</sup>, 1세 미

만의 영아에서 발생빈도가 가장 높고 나이가 들수록 감소하며<sup>4)</sup>, 5세 미만의 경우 사망원인 중 하나로 심각한 문제가 된다<sup>5)</sup>.

급성 하기도염은 주된 병소에 따라 폐렴, 세기관지염, 기관기관지염, 후두염으로 나뉠 수 있다<sup>4)</sup>. 이것의 감염 원인에는 세균, 마이코플라스마, 클라미디아, respiratory syncytial virus(RSV), 인플루엔자바이러스, 파라인플루엔자바이러스, 아데노바이러스 등이 있지만<sup>4)</sup>. 아직도 상당수에서 그 정확한 감염 원인이 밝혀지고 있지 않다<sup>6)</sup>.

2001년도에 van den Hoogen 등은 네덜란드의 다양한 호흡기 감염 환아들로부터 20년간 모아 두었던 비인두 흡인물들 중 28명의 것에서 새로운 RNA 바이러스를 검출하여 이를 hMPV라 명명하고, 계통발생학적으로는 paramyxoviridae과의 pneu-

본 논문은 2005년 제55차 대한소아과학회 추계학술대회에서 구연 발표되었음.

접수 : 2005년 10월 27일, 승인 : 2005년 12월 5일

책임저자 : 박준수, 순천향의대 천안병원 소아과

Correspondence : Joon-Soo Park, M.D.

Tel : 041)555-2163 Fax : 041)570-4996

E-mail : allergist@korea.com

movirinae아과의 metapneumovirus속에 속하며. 유전체 기구 (genomic organization)는 avian pneumovirus에 가장 근접하고, 임상증상은 RSV 감염에 의해 유발되는 것과 유사하여 경한 상기도 감염부터 심한 세기관지염이나 폐렴까지 유발한다고 보고하였다<sup>7)</sup>.

이후 hMPV에 의한 급성 호흡기 감염에 대하여 북미<sup>8-10)</sup>, 호주<sup>11, 12)</sup>, 중국<sup>13)</sup>, 일본<sup>14, 15)</sup>과 유럽<sup>16, 17)</sup>을 포함한 전세계에서 보고되고 있으나 국내에서는 이에 대한 보고를 찾을 수 없었다.

이에 저자들은 순천향대학교 천안병원 소아과에 급성 하기도염으로 입원한 환아들을 대상으로 hMPV에 대한 역전사 연쇄중합반응(RT-PCR)을 하고 뉴클레오티드의 염기순서분석을 시행함으로써 우리나라에서 hMPV가 유행하는지를 확인하고 또한 이의 임상양상을 알아보고자 본 연구를 시행하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 연구의 기간 및 대상

2004년 12월부터 2005년 4월까지 순천향대학교 천안병원 소아과에 급성 하기도 감염으로 입원한 환아들 중 218명을 대상으로 하였다.

### 2. 방 법

#### 1) 검체의 채취와 처리

입원 첫 날 환아의 비인두에서 소독된 NO. 8 크기의 영양튜브를 이용하여 점액 추출기에 비인두 흡인물을 채취하였다. 만약 채취가 어려울 때는 소독된 식염수를 비강에 한두 방울 주입한 후 시도하였고, 검체물은 가능한 빨리 검사실로 의뢰했으며 이것이 지연될 경우에는 검사 전까지 4℃로 냉장고에 보관토록 하였다.

#### 2) human metapneumovirus(hMPV) 검출

##### (1) 총 RNA(total RNA)의 적출(extraction):

세포내 RNA의 적출은 키트(kit)(Intron Biotechnology, Seoul, Korea)를 이용하였다. 검체를 4℃에서 13,000 rpm으로 3분간 원심 분리하여 상층액을 버리고 침전물에 세포용해 완충액(buffer)인 R-완충액(buffer)을 350 μL 넣고 실온에서 10분간 부란하였다. 그 후 동량의 70% 에탄올을 넣어 피펫으로 잘 섞은 후 기둥(column)에 넣어 이것을 13,000 rpm으로 30초간 원심 분리하였다. 그 후 700 μL의 세척완충액(washing buffer)A를 기둥에 넣어 역시 13,000 rpm으로 30초간 원심 분리하여 일차적으로 기둥을 세척하였다. 그 후 다시 700 μL의 세척 완충액 B를 넣고 13,000 rpm으로 30초간 원심 분리하였다. 그 후 잔여 에탄올을 제거하기 위하여 3분간 원심 분리하여 기둥을 완전히 제거 후 분리 완충액 30 μL를 넣고 13,000 rpm으로 30초간 원심 분리하여 RNA를 세척 분리(elution) 하였다.

##### (2) cDNA 합성

cDNA 합성 역시 키트(Intron Biotechnology, Seoul, Korea)

를 사용하였다. 총 20 μL의 용량으로 RNase inhibitor 1.0 μL, 5XRT buffer 4.0 μL, dNTP 2.0 μL, DTT 2.0 μL, RMV RT enzyme 0.5 μL, RNA 5.0 μL, random primer 1.0 μL, D/W 4.5 μL을 tube에 넣고 42℃에서 60분 반응시킨 후 다시 70℃에서 5분 반응시켰다.

### (3) hMPV의 역전사 중합연쇄반응(RT-PCR)과 다중 역전사 중합연쇄반응(multiplex RT-PCR)

Human metapneumovirus 분리주(isolate) NL/1/99의 Fusion protein(F) gene의 순서(sequence)로부터 고안된 길잡이(primer)(Seegene Biotechnology Inc, Seoul, Korea)를 사용하였다. 조성은 모형(template)(cDNA) 3.0 μL, 2X Buffer 10.0 μL, dNTP 1.0 μL, 길잡이로 forward 및 reward 각각 2.0 μL, 효소 0.5 μL, D/W 1.5 μL 등 총 20 μL 용량으로 반응시켰다. 반응 조건은 처음 95℃에서 3분간 반응시킨 후 95℃에서 1분, 60℃에서 1분, 72℃에서 1분씩 35회 반응을 반복시킨 후 72℃에서 5분간 다시 반응시킨 후 반응을 종료 시켰다. 이렇게 반응시킨 용액을 2% 순수우무 겔(agarose gel)로 전기영동하여 ethidium bromide로 염색하여 자외선램프를 쬐어서 432 bp의 중합연쇄반응 생성물(product)의 유무를 확인하였다(Fig. 1). 또한 다중 역전사 연쇄중합반응도 시행하여 양성으로 나온 15명의 비인두 흡인물로부터 RSV, 인플루엔자바이러스 A, B, 파라인플루엔자바이러스 1형, 2형, 3형, 아데노바이러스에 대한 동시감염 여부도 살폈다.

### 3) 클로닝과 뉴클레오티드 염기순서분석(nucleotide sequencing)

양성으로 판정된 15명의 검출물 중 11명의 연쇄중합반응 생성물들을 pGEM-T Easy 벡터(Promega)로 클로닝한 후, 키트(BigDye terminator cycle sequencing ready reaction kit; Perkin-Elmer Applied Biosystems, Tokyo, Japan)를 이용하여 ABI Prism 310 유전자 분석기(genetic analyser)(Perkin-Elmer Applied Biosystems)로 염기서열을 결정하였다. 결정된 염기서열은 유전자은행 데이터베이스(Genbank database)내에서 BLAST 소프트웨어(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>)를 사용하여 유사한 유전자를 찾아서 분석하였다(Fig. 2).

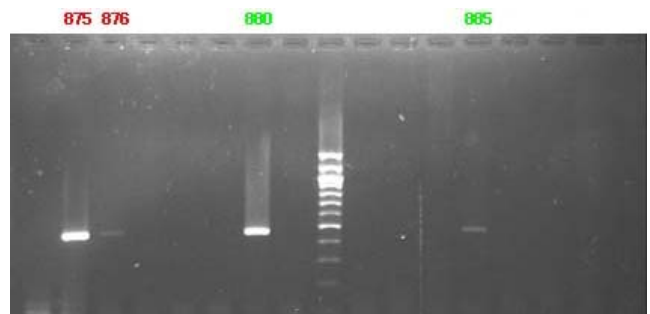


Fig. 1. RT-PCR of human metapneumovirus F gene for fusion glycoprotein from Korean hospitalized children with acute lower respiratory tract infection.

KR <sup>*</sup> 001	TGAGACAGTTTTTCAGACAATGCAGGGATAACACCAGCAATATCATTGGACCTAATGACTG	60
KR002	-----	60
KR006	-----	60
KR003	---g-----	60
KR004	---g-----	60
KR010	---g-----	60
KR009	---g-----	60
KR005	--c-g-----a-----	60
KR008	--c-g-----	60
KR007	--c-g--a-----t--a-----t--a--t-----a-	60
KR011	--c-g--a-----t--a-----t-----t-----a-	60
NL/1/99 <sup>†</sup>	--c-g--a-----c--t--a-----t-----t-----a-	60

KR001	ATGCTGAATTGGCCAGAGCTGTATCATACATGCCAACATCTGCAGGGCAGATAAAACTGA	120
KR002	-----	120
KR006	-----	120
KR003	-----	120
KR004	-----	120
KR010	-----	120
KR009	-----	120
KR005	-----g c-----a-----a-----	120
KR008	-----g c-----a-----a-----a-----	120
KR007	-----c-a-----t--c-a-----g-----a-a-----t--	120
KR011	-----c-a-----g--c--t--t-a-----g-----a-a-----t--	120
NL/1/99	-----c-a-----t--c-a-----a-----a-----	120

**Fig. 2.** Nucleotide sequences for partial fusion glycoprotein genes of human metapneumovirus isolated from Korean hospitalized children with acute lower respiratory tract infection. \*KR isolates from the Koreans. †Identical nucleotides are represented by dashes. †NL/1/99 isolates from the Netherlands.

#### 4) 정렬(Alignment)과 계통발생학적 계통나무 분류

(Phylogenetic tree analysis)

증폭된 F 유전자 생성물의 염기서열은 CLUSTRAL 방법 (Higgins and Sharp, Gene 1988;73:237-44)을 사용하는 DNAMAN 프로그램(Lynnon BioSoft, Quebec, Canada)으로 정렬하였다. 계통발생학적 계통나무(Phylogenetic dendrogram tree)는 neighbour-joining 방법을 응용한 DNAMAN 프로그램(program)을 사용하여 그렸다. 수평선분위에 표시된 값은 염기서열의 눈벌림(divergence)을 나타낸다(Fig. 3).

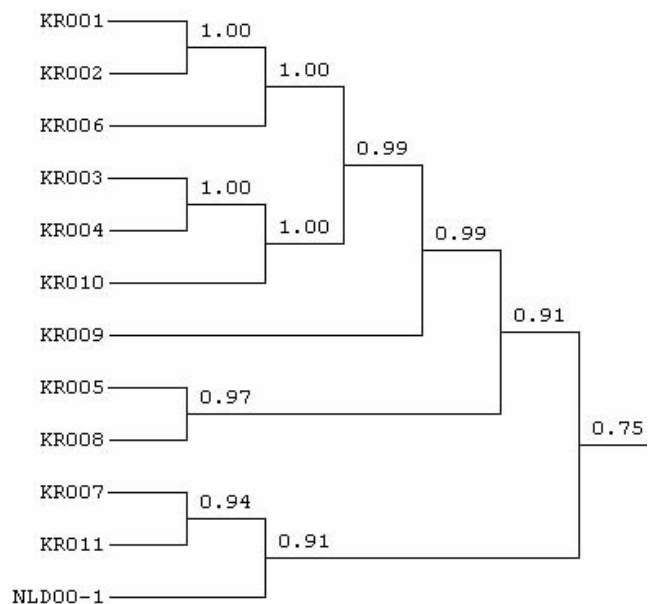
#### 5) hMPV가 검출된 환자의 임상증상

hMPV에 대한 중합연쇄반응 RT-PCR을 시행했던 218명의 환아와 hMPV가 검출된 15명의 환아들의 임상기록지를 후향적으로 검토하여 이들의 검출시기별, 연령별, 성별, 임상진단명별 검출률과 양성 판정된 환아들의 임상증상 및 검사소견을 조사하였다.

### 결 과

#### 1. hMPV RT-PCR 검사 결과

2004년 10월부터 2005년 4월까지 순천향대학교 천안병원 소



**Fig. 3.** Phylogram obtained from analysis of the F gene open-reading frame of 11 human metapneumovirus isolates from Korean(KR001-011), and the Netherlands(NL/1/99).

아과에 급성 하기도염으로 입원한 환자 218명에서 채취한 비인두 흡인물로부터 hMPV에 대한 역전사 연계중합반응을 시행한 결과 15명(6.9%)의 검체물에서 423 염기쌍의 연계중합반응 생성물을 얻을 수 있었다(Fig. 1).

**2. hMPV의 클로닝과 뉴클레오타이드 염기순서분석**

hMPV가 역전사 연계중합반응으로 검출되었던 15명 중 무작위로 11명의 비인두 흡인물을 다시 연계중합반응을 하여 각각에 대하여 hMPV의 융합 단백질(fusion protein)에 관한 연쇄들 중 일부인 120개의 뉴클레오타이드를(Fig. 2)에 표현하였다. KR001에서 KR011은 이번 연구에서 분리된 것이며 이것은 네덜란드에서 분리된 NLD NL/1/99과 비교하고 예시하였는데, 동일한 뉴클레오타이드는 대시로 표현하였다(Fig. 3). 이번에 분리된 연쇄들을 BLAST search를 통했을 때 human metapneumovirus isolate JPS03-194(Accession number AY530094)가 Bits score 224점이었고, Human metapneumovirus isolate NL/1/99(Accession number AY304361)가 Bits score 210점으로 가장 유사한 것으로 분석되었다. 따라서 환자들로부터 채취된 비인두 흡인물에서 hMPV를 검출했음을 확인할 수 있었다. 한편 본 연구의 KR001부터 KR011의 GenBank accession number는 각각 DQ023121, DQ023122, DQ023123, DQ023124, DQ023125, DQ023126, DQ023127, DQ023128, DQ023129, DQ023130, DQ023131로 등록되었다.

**3. 계통발생학적분류(Phylogenetic tree analysis)**

계통발생학적 나무는 본 연구에서 분리된 11개의 hMPV Korean isolate F gene(GenBank accession DQ023121부터 DQ023131까지)의 423 염기쌍 중합연쇄반응 생성물의 전체 염기서열 결과를 정렬 비교하여 형성되었는데 뚜렷이 두 개의 군으로 나뉘었다. NLD00-1을 기준으로 보았을 때 KR007과 KR011이 0.91로 한 군이었고, 나머지 KR001, KR002, KR006, KR004, KR009, KR005, KR008이 0.91에서 다른 한 군을 이루었다. 두 군간은 75%의 유사성을 보였다(Fig. 3).

**4. Human metapneumovirus의 임상양상**

**1) 검출률(Table 1)**

**(1) 연령별 검출률**

5개월에서 12세 2개월까지(평균 2세 8개월)에서 검출되었고, 이를 연령별로 보면 6개월 미만은 51명 중 2명(3.9%), 6개월에서 1세 미만은 51명 중 2명(3.9%), 1세에서 3세 미만은 78명 중 5명(6.4%), 3세에서 5세 미만에서 21명 중 5명(23.8%), 5세에서 10세 미만은 8명 중 단 한명도 검출되지 않았고, 10세 이상은 9명 중 1명(11.1%)으로 검출률은 3세에서 5세 미만에서 가장 높았고 10세 이상, 1년에서 3세 미만, 6개월 미만, 6개월에서 1세 미만 순으로 높게 나타났다.

**(2) 남녀별 검출률**

남아는 138명 중 9명(6.5%)에서 검출되었고, 여아는 80명 중

6명(7.5%)으로 여아에서 남아보다 검출률이 높았으며 양성 판정된 경우에도 남아가 9명 여아가 6명으로 남녀비는 1:1.5로 여아에서 높게 나타났다.

**(3) 임상진단명별 검출률**

크룹이 16명 중 1명(6.3%)에서 검출되었고, 기관지관지염에서는 11명 중 한명도 검출되지 않았고, 세기관지염은 65명 중 1명(7.7%), 폐렴은 126명 중 9명(7.1%)으로 세기관지염에서 가장 높았고, 폐렴, 크룹순으로 검출률이 높게 나타났다.

**(4) 월별 검출률**

2004년 10월에는 4명 중 한명도 검출되지 않았고, 11월에는 61명 중 1명(1.6%), 12월과 2005년 1월에는 한명도 검출되지 않았고, 2월에는 18명 중 1명(5.6%), 3월에는 34명 중 10명(29.4%), 4월에는 20.0%로 3월, 4월, 2월의 순으로 높게 나타나 3월과 4월에만 집중적으로 검출됨을 알 수 있었다.

**2) hMPV가 검출된 환자들의 진단명, 임상증상, 검사소견 (Table 2, 3)**

hMPV가 검출된 환자 15명의 진단명은 폐렴(60.0%)이었고 모세기관지염(33.3%), 후두염(6.6%) 순으로 나타났다. 동반된 질환으로는 급성 중이염이 3명(20.0%), 천식이 급성 악화는 2명(13.3%)이 있었다. 증상의 발현은 기침이 15명(100.0%), 콧물이 13명(86.6%) 발열 12명(80.0%), 호흡곤란이 4명(26.6%), 구토가

**Table 1.** hMPV Detection from 218 Hospitalized Children with Acute Lower Respiratory Infections in Korea from October 2004 through April 2005

Variables	hMPV-RNA result(N=218)		
	No. of positive	No. of examined	%
Age			
<6 mo	2	51	3.9
6 mo to 11 mo	2	51	3.9
1 to 2 yr	5	78	6.4
3 to 4 yr	5	21	23.8
5 to 9 yr	-	8	-
≥10 yr	1	9	11.1
Sex			
Male	9	138	6.5
Female	6	80	7.5
Clinical diagnosis			
Croup	1	16	6.3
Tracheobronchitis	-	11	-
Bronchiolitis	5	65	7.7
Pneumonia	9	126	7.1
Month of detection			
October	-	4	-
November	1	61	1.6
December	-	64	-
January	-	22	-
February	1	18	5.6
March	10	34	29.4
April	3	15	20.0
Total	15	218	6.9

2명(13.3%), 인후통 1명(6.6%), 설사 1명(6.6%), 두통 1명(6.6%) 순이었다. 발열 지속기간은 평균 4.9일(1-8일)이었으며, 입원기간은 평균 6.2일(3-14일)이었다. 신체 진찰상 12명(80.0%)에서 나음이 호기성 천명음이 5명(33.3%)에서 청진되었고, 흉부 방사선 검사상 5명(33.3%)에서 폐침윤이 관찰되었다. 검사실 소견상 백혈구 수치는 평균  $9.78 \times 10^9$ (cells/L)이었으며 중성구 감소증과 림프구 감소증이 각각 6.6%, 13.3%에서 나타났고, C 반응단백은 평균 19.3 mg/L(3.1-103)이었다.

**Table 2.** Symptoms, Physical Findings, Radiologic Findings and Clinical Diagnosis of Patients Infected with hMPV(N=15)

Variables	No(%)
<b>Symptoms</b>	
Fever	13( 86.6)
Cough	15(100.0)
Rhinorrhea	13( 86.6)
Sore throat	1( 6.6)
Dyspnea	4( 26.6)
Vomiting	2( 13.3)
Diarrhea	1( 6.6)
Headache	1( 6.6)
Spiky fever+febrile convulsion	
<b>Physical findings</b>	
Expiratory wheezing	5( 33.3)
Rales	12( 80.0)
<b>Chest radiograph</b>	
Peribronchial and/or alveolar infiltrates	5( 33.3)
<b>Clinical diagnosis</b>	
Wheezy bronchitis	2( 13.3)
Laryngotracheobronchitis	1( 6.6)
Bronchiolitis	5( 33.3)
Pneumonia	9( 60.0)
Acute otitis media	3( 20.0)

**고 찰**

과거 수십 년 동안 세균, 마이코플라스마, RSV, 파라인플루엔자바이러스, 인플루엔자바이러스, 아데노바이러스, 라이노바이러스(rhinovirus)<sup>18, 19</sup>, 장바이러스, 거대세포바이러스, 헤르페스바이러스 등<sup>20</sup>, 수많은 급성 호흡기 감염의 수많은 원인균들이 밝혀져 왔지만, 아직도 상당수에서는 그 원인균을 알 지 못한다<sup>6</sup>. 만일 정확한 원인 바이러스를 알아낸다면 환자에서 발생한 호흡기 감염의 경과 및 예후를 예측하고 불필요한 항생제 사용을 피할 수 있을 것이며, 나아가 그 지역사회에서 역학조사 및 백신의 개발로 예방대책을 수립할 수 있을 것이므로 새로운 호흡기 바이러스의 존재를 밝혀내기 위한 노력은 의의가 있다고 할 것이다.

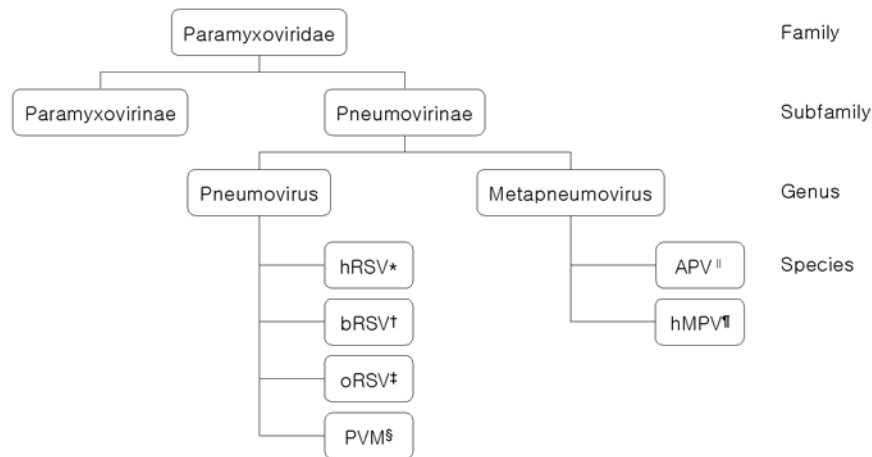
최근 van den Hoogen 등은 호흡기 감염 환자들에서 직접 면역 형광법, 간접 면역 형광법, 바이러스 배양 검사 등으로 파라인플루엔자바이러스 1형, 2형, 3형, 4형, 인플루엔자바이러스 A형, B형, C형, RSV, 홍역 바이러스, mumps 바이러스, Sendal 바이러스, SV-5, NDV, corona 바이러스, 아데노바이러스 등을 검사함에도 원인균을 알아내지 못하거나 혹은 배양이 되더라도 어떤 바이러스인지 확인이 안되는 경우가 상당수에서 있다<sup>7</sup>고 하였다.

이들<sup>7</sup>은 지난 20년간 호흡기 감염 환자들에게서 채취하여 모아 두었던 비인두 흡인물들 중 그렇게 원인균을 알 수 없었던 것들을 대상으로 tertiary monkey kidney 세포들로 배양검사를 시행하여 그중 28명의 환자들의 것에서 기존의 세포계(cell line)에서는 자라지 않던 새로운 바이러스들이 친천히 복제(replicate)되어 10일에서 14일 경에 세포병변효과를 보이는 것을 발견하고, 그 배양액의 상청액에서 임의 시발체(random primer; arbitrary primed-PCR : RAP-PCR)<sup>21, 22</sup>를 사용하여 이 새로운 바

**Table 3.** Coinfection, Duration of Fever, Duuration of Hospitalization and Laboratory Findings Patients Infected with hMPV

Name	Sex	Age	Sample date	Impression	Other disease	co-infection	Duration of fever	Duration of hospitalization	WBC(Neu/Lym)	CRP
Jung, YH	m	4 yr 1 mo	Dec, 2004	Pneumonia	Asthma	No	0	3	12,600(89.9/7.9)	14.9
Lee,JN	f	3 yr 6 mo	Feb, 2005	Pneumonia	None	No	2	3	6,600(23.6/44.0)	36.0
Min, TH	m	0 yr 9 mo	Mar, 2005	Bronchiolitis	None	No	6	5	9,300(58.3/35.3)	3.1
Won, YJ	f	3 yr 4 mo	Apr, 2005	Pneumonia	Lt, AOM	No	5	5	5,300(67.2/19.8)	4.2
Kim, HJ	f	4 yr 7 mo	Mar, 2005	Pneumonia	None	No	4	4	8,400(33.4/34.6)	3.1
Han, MH	m	1 yr 0 mo	Mar, 2005	Bronchiolitis	Pneumonia	No	8	14	9,800(54.8/39.9)	17.9
Shin, TY	m	0 yr 8 mo	Mar, 2005	Bronchiolitis	None	No	5	8	11,800(38.0/47.0)	7.7
Kim, JW	m	12 yr 2 mo	Mar, 2005	Pneumonia	AMS, asthma	No	0	5	8,400(58.7/29.5)	4.1
Lee,HJ	f	1 yr 0 mo	Mar, 2005	Pneumonia	Food allergy	No	3	5	11,700(47.7/43.3)	11.1
Choi,WS	m	4 yr 6 mo	Mar, 2005	Pneumonia	APT	Adenovirus	7	4	9,600(64.6/24.3)	43.4
Moon, OJ	m	2 yr 7 mo	Mar, 2005	Croup	Pneumonia	No	7	5	23,270(60.0/30.0)	29.2
Kim, DJ	m	0 yr 5 mo	Mar, 2005	Bronchiolitis	Pneumonia	No	5	8	4,300(33.2/52.3)	103
Park, CJ	m	0 yr 5 mo	Apr, 2005	Bronchiolitis	None	No	0	12	9,000(31.9/54.1)	3.1
Lee,NY	f	4 yr 8 mo	Apr, 2005	Pneumonia	Lt, AOM	No	1	8	6,300(54.3/36.8)	5.5
Kim, JH	f	1 yr 2 mo	Apr, 2005	Pneumonia	ASD, Rt AOM	No	6	4	10,400(10.0/88.0)	3.1

Abbreviations : hMPV, human metapneumovirus; AMS, acute maxillary sinusitis; AOM, acute otitis media; ASD, atrial septal defect



**Fig. 4.** Taxonomic tree of paramyxoviridae and human metapneumovirus. \*hRSV : human respiratory syncytial virus, †bRSV : bovine respiratory syncytial virus, ‡oRSV : ovine respiratory syncytial virus, §PVM : pneumonia virus of mice, ¶APV : avian pneumovirus, ¶hMPV : human metapneumovirus.

이러스가 paramyxoviridae과에 속하는 것이라고 하였으며, 이것은 혈청학적 검사를 통해 적어도 50년 이상 지구상에 존재한 것을 증명하였다. 이렇게 검출이 늦어지게 된 이유로는, 첫째로 흔히 사용하던 배양법으로는 이 바이러스들이 잘 자라지 않고, 둘째로는 복잡한 분자생물학적인 방법이 요구였기 때문이다. 증상에 대해서는 어른과 어린이를 포함한 모든 연령대의 사람에게 오는 질환으로 hRSV에 의한 증상과 비슷하여 상기도 및 하기도염을 유발하는데 주로 생후 12개월 미만의 영아에서 주로(전체의 50%) 발생하고 겨울철에 유행한다고 보고<sup>7)</sup>하였다.

hMPV는 paramyxoviridae과의 pneumovirinae아과의 metapneumovirus속에 포함된다. 한편 분류학적으로 paramyxovirinae와 pneumovirinae아과에는 사람과 동물에 질병을 일으키는 중요한 바이러스가 있다. Pneumovirinae아과에 속하는 바이러스들은 유전자 배열에 근거하여 pneumovirus속과 metapneumovirus속으로 나뉘고, pneumovirus속에는 소아 하기도염의 주요 원인인 human RSV(hRSV)를 비롯하여, bovine RSV, ovine RSV 등이 있고, metapneumovirus속에는 칠면조에게 상기도염을 일으키는 avian pneumovirus(APV)만 유일하게 있었으나<sup>7)</sup> 이제 이 새로운 바이러스가 사람에게 감염을 일으키는 metapneumovirus라 하여 human metapneumovirus라고<sup>7)</sup> 명명하게 된 것이다(Fig. 4).

이의 최초 보고 이후 hMPV는 전세계적으로 발견되며 호흡기 감염의 중요한 원인균 중의 하나가 되었다<sup>23, 24)</sup>.

저자들은 국내에서도 hMPV가 존재하는지 확인하고자 본 연구를 시행하였다. 2004년 10월부터 2005년 4월까지 한 해 겨울에 해당하는 동안 급성 하기도염으로 순천향대학교 천안병원 소아과에 입원하였던 218명의 비인두 흡인물로 hMPV에 대한 RT-PCR을 시행하였다. hMPV의 F gene의 증폭시키러 NCBI로부터 hMPV human metapneumovirus isolate NL/1/99

[GenBank accession number AY525843]의 sequence에 관한 정보를 얻어 이로부터 primer를 고안하여 PCR을 시행함으로 15명의 것으로부터 423 bp 크기의 단일 밴드를 얻을 수 있었다. 이들 중 무작위로 11명의 비인두 흡인물로 다시 hMPV에 대한 RT-PCR을 시행하였고, 이 PCR 생성물들을 정화한 뒤 이것을 pGEM-T Easy vector에 클로닝하고, ABI Prism 310 genetic analyser(Perkin-Elmer Applied Biosystems)로 염기서열을 결정하였다. 결정된 염기서열은 Genbank database내에서 BLAST software(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>)를 사용하여 유사한 유전자를 찾아보았는데 F 유전자의 일부인 120개의 nucleotide까지 정렬하고 비교하였을 때(Fig. 3) KR001로 표기된 것은 human metapneumovirus isolate JPS03-194(Accession number AY530094)와 Bits score 216점이었고, human metapneumovirus isolate NL/1/99(Accession number AY304361)와 Bits 206점으로 NCBI GenBank data에 등록된 여러 나라의 수많은 human metapneumovirus 분리주 중에 일본과 네덜란드에서 각각 분리된 상기 두 종과 가장 근접한 것으로 분석되었다. 또한 Fig. 3에서 보면 KR001은 NL/1/99와 120개 중 104개가 일치하여 86.6%, KR 011은 95.8%, KR 7은 96.6%가 일치하였다. NCBI의 Genbank data에 KR001부터 KR011까지 11개의 분리주를 등록하였다.

본 연구에서 검출된 11개의 분리주를 계통발생학적 분류를 해보았을 때 뚜렷이 두 개의 군으로 나뉘었다. 따라서 우리나라에도 두 개의 유전학적 집단이 존재하는 것을 알 수 있었다.

본 연구에서는 218명의 비인두 흡인물 중 15명의 것에서 human metapneumovirus가 검출되어 검출률은 6.9%였는데, 외국 의 경우 원인균이 확인되지 않은 호흡기 감염 어린이에서 비인두 흡입액 검사로 확인된 hMPV 검출률은 1.5에서 20%<sup>6, 23)</sup>로 밝혀져 있어 이 범위에서 벗어나지 않지만, 본 연구에서 hMPV

검출은 원인균이 밝혀지지 않는 환아들만을 대상으로 한 것이 아니고 하기도염으로 입원한 환아를 대상으로 한 것이기에 이 비율이 좀 더 낮춰질 수밖에 없었던 것으로 생각된다.

호흡기 질환에서 hMPV의 검출률은 연령, 계절, 검체방법, 검출 방법 등에 따라 달라진다<sup>25)</sup>. 2004년 10월부터 2005년 4월까지 하기도염으로 입원하였던 환아를 대상으로 한 본 연구에서 연령별 hMPV 검출률은 6개월 미만과 6개월에서 1세 미만에서 모두 3.9%였고 1세에서 3세 미만에서 6.4%, 3세에서 5세 미만에서 23.8%, 10세 이상에서 11.1%로 나타났다. 특징적으로 3세에서 5세 미만에서 검출률이 가장 높았고 또한 hMPV의 검출연령은 5개월에서 12세 2개월까지이며 평균 나이가 2년 8개월로 나타났다. 이것은 생후 1세까지 50%를 보였던 van den Hoogen 등<sup>7)</sup>이나 William 등<sup>6)</sup>의 6개월에서 1세까지 49%, 1.5개월부터 4세 2개월까지(평균 연령 11.6개월) 검출되었던 경우보다는 연령이 훨씬 높게 나타났으나 일본에서 시행한 연구<sup>16)</sup>에서 1세에서 3세 미만에서 30%로 가장 높은 검출률을 보이며 6개월에서 6세까지 검출되며, 평균연령이 2세 6개월을 보인 경우와 근접하였다. 이렇게 검출 연령이 일본의 경우에 유사하나 네덜란드<sup>7)</sup>나 미국의 경우<sup>6)</sup>에 비해 높게 나타난 이유에 대해서는 좀 더 연구가 있어야 할 것으로 사료된다.

성별 검출률은 남자, 여자에서 각각 6.5%, 7.5%로 남녀간 큰 차이는 없었으며 입원한 하기도염 환자 중 hMPV가 검출된 성별 비율은 남자 9명, 여자 6명으로 남녀 비율은 1.5대 1이었는데, 31%가 여아이었던 van den Hoogen 등<sup>7)</sup>이나 William 등<sup>6)</sup>의 1.8대 1의 경우와 유사하였고, Ebihara 등<sup>25)</sup>의 1:1보다는 남아의 비율이 높게 나타났으나 검출률로만 본다면 Ebihara 등<sup>25)</sup>의 연구에서도 여아에서의 검출률이 남아의 경우보다 높았다는 점에서는 일치하였다.

진단명별 hMPV 검출률은 후두염으로 입원했던 환아 16명 중 1명으로 6.3%, 세기관지염으로 입원했던 환아 65명 중 5명으로 7.7%였고 폐렴으로 입원했던 환아 126명 중 9명으로 7.1%로 세기관지염으로 입원했던 환아에서 바이러스 검출률이 가장 높았고 hMPV가 검출된 환아 중에서의 진단명은 폐렴, 세기관지염, 후두염으로 나타났으나 세기관지염, 후두염, 폐렴, 천식의 악화의 순으로 나타난 William 등<sup>6)</sup>의 경우나 천명 기관지염, 기관지염, 폐렴 순으로 나왔던 Ebihara 등<sup>25)</sup>의 연구의 경우보다 폐렴이 많은 것으로 나왔으나 이것은 본 연구에서 218명 중 폐렴의 비율이 58.7%로 다른 질환의 경우보다 많았었기 때문이었을 것이라 판단된다.

월별 검출률은 10월에서 다음해 4월까지 검사기간 동안 11월에 1.6%, 2월에 5.6%, 3월에는 29.4%였고 4월에는 20%로 3월과 4월에 가장 높게 나타났다. 이것은 홍콩<sup>13)</sup>에서 봄에서 여름에 많이 검출되는 것과는 차이가 있지만, 겨울에만 검출되었던 van den Hoogen 등<sup>7)</sup>이나 11월부터 4월까지에서 78%를 보이고 3월에 가장 높은 검출률을 보인 William 등<sup>6)</sup>과 2003년 3월에서 4월 사이에 검출률이 폭증했던 Sapporo에서의 연구<sup>25)</sup>와 유사하였

다. 왜 이러한 온대기후 지역에서 3월과 4월에 집중적으로 검출되는지에 대해서는 더 연구가 요구된다.

hMPV 하기도염 15명의 환아의 주증상은 기침(100%), 발열(86.6%)과 콧물(86.6%)이었으며 호흡곤란, 구토, 두통, 설사, 인후통 등의 증상이 있었다. 진찰 소견상 나음이 80%에서 호기성 천명음이 33.3%에서 청진되었으며 흉부 방사선 검사에서 폐침윤이 33.3%에서 확인되었다. 영아와 어린소아에서 hMPV 하기도염은 다른 바이러스에 의한 세기관지염과 유사하여 RSV, 인플루엔자바이러스, 그리고 파라인플루엔자바이러스에 의한 것과 임상적으로 구분할 수 없다<sup>26)</sup>. 다른 연구에서 소아에서 90% 이상은 기침을 보이고 75% 이상은 콧물, 50% 이상은 발열을 보였던 점과 유사하였다.

hMPV 양성이며 폐렴으로 입원했던 환아 9명 중 3명에서 중이염이 합병되었고 2명이 천식의 급성악화가 동반되었다. hMPV 감염이 유스타키오관의 기능장애와 중이 염증으로 국소적 세균 감염을 조장하여 중이염의 합병이 잘 동반된다는 연구<sup>6, 27)</sup>가 있었고 천명성 기관지염과 천식의 급성악화와 연관이 높다는 연구<sup>6, 7, 13, 28)</sup>도 지속되고 있어 이에 대한 좀 더 지속적인 연구가 필요하다. hMPV의 유행시기가 늦겨울에서 초봄으로 RSV와의 동반감염이 많은 것으로 알려져<sup>6, 27)</sup> 있으나 본 연구에서는 15례 중 단 한례에서 아데노바이러스와 동반감염이 확인되었다. hMPV 양성 환아 15명의 평균 발열 지속기간은 3.9일이었으며 평균 입원기간은 6.2일이었다. 검사실 소견상 평균 백혈구수치는 9,780 ( $\times 10^9$  cells/L)이었고 림프구 감소증이 2명, 중성구 감소증이 1명이 있었다. C-반응단백은 3.1에서 109까지 나타났으며 평균은 19.3(mg/L)이었다.

본 연구로 우리나라에도 hMPV가 있으며 두 군에 해당되는 hMPV가 동시에 유행하고 있음을 확인하고 이를 NCBI의 GenBank에 등록하였다. 본 연구의 제한점으로는 연구기간이 짧았고, 충청지역에 한정되어 있었으며, 입원환자에만 국한되어 있다는 점이 있으나, 본 연구에서 보면 우리나라에서 hMPV는 다른 나라에 비해 다소 높은 연령대에서 검출되고 있으며 3월과 4월에 집중되어 검출되고 있었다. 호흡기 감염의 주요한 원인 중 하나인 hMPV에 대하여 보다 많은 연구가 이루어져야 하겠다.

## 요 약

**목적** : 호흡기 감염증의 주된 원인 중 하나인 hMPV가 2001년 van den Hoogen 등에 의해 네덜란드에서 처음으로 발견된 후 여러 나라에서 보고되었지만, 국내에서 hMPV의 검출에 대한 보고는 대단히 드물다. 따라서 저자들은 우리나라에서 hMPV의 역학을 연구하고자 하였다.

**방법** : 2004년 10월부터 2005년 5월까지 순천향대학교 천안 병원 소아과에 급성 하기도염으로 입원한 218명의 비인두 흡인액을 추출한 뒤 RT-PCR을 시행하고, hMPV가 검출된 환아들의 비인두 흡인물에서 nucleotide의 sequencing을 하여 네덜란

드에서 보고된 예와 비교하고, phylogenetic analysis를 하여 검출된 hMPV들간에 유사성을 검토하며, 배양검사로 hMPV의 검출됨을 재확인한 뒤, hMPV가 검출된 15명의 의무기록지를 토대로 이들의 임상 양상을 조사하였다.

**결 과 :** 218명 중 15명의 비인두 흡인물에서 RT-PCR로 hMPV를 검출할 수 있었다(검출률 6.9%). hMPV가 검출된 15명의 비인두 흡인물 중 11명의 것으로 hMPV의 Fusion protein의 F gene에 대한 nucleotide sequencing을 하여 네덜란드의 것과 유사한 sequence임을 확인할 수 있었다. Phylogenetic analysis를 하여 본 연구에서 검출된 11개의 F gene이 두 개의 군으로 나뉘는 것을 알 수 있었다. hMPV 감염 환자의 평균연령은 2세 8개월(5개월-12세 2개월)이었고, 남녀비는 1.5:1이었고, 이들의 진단명은 폐렴(60.0%)이었고 모세기관지염(33.3%), 후두염(6.6%) 순으로 나타났다. 3월과 4월에만 집중적으로 검출되었고, 동시감염은 단 한례에서 있었다. hMPV 감염 환자에서 기침이 100.0%, 콧물이 86.6%, 발열 80.0%, 호흡곤란 26.6%, 구토가 13.3%, 인후통과 설사와 두통이 각각 6.6%에서 나타났고, 발열 지속기간은 평균 4.9일(1-8일)이었으며, 입원기간은 평균 6.2일(3-14일)이었다. 신체 진찰상 나음이 80.0%에서, 호기성 천명음이 33.3%에서 청진되었고, 흉부 방사선 검사에서 33.3%에서 폐침윤이 관찰되었다. 검사실 소견상 말초혈액에서 중성구 감소증과 림프구 감소증이 각각 6.6%, 13.3%에서 나타났고, C 반응단백은 평균 19.3 mg/L(3.1-103)이었다.

**결 론 :** 두 개의 군에 해당되는 hMPV가 우리나라 소아에서도 동시에 유행함을 확인하였다. 연구가 기간이 짧았고, 천안 지역에 국한되었던 제한점이 있으나, hMPV 감염에 의한 급성 하기도염 환자들의 임상양상을 알아 볼 수 있었다. 우리나라에서 hMPV 감염의 정확한 역학 조사와 치료 및 예방대책을 수립하기 위해 많은 연구가 요구된다.

## References

- 1) Denny FW, Clyde WA. Acute lower respiratory tract infections in nonhospitalized children. *J Pediatr* 1986;108:635-46.
- 2) Han YC, Kim HC, Lee BC, Lee KS, Cho SH, Lee DB. Statistical Observations for pediatric inpatients. *J Korean Pediatr Soc* 1987;30:385-91.
- 3) Jung BS, Oh JS, Cho B, Kim HH, Lee JS. A clinical study of respiratory tract infection. *Pediatr Allergy Respir Dis* 1996;6:60-73.
- 4) Denny FW, Clyde WA. Acute lower respiratory tract infections in nonhospitalized children. *J Pediatr* 1986;108:635-46.
- 5) Acute respiratory infections in under-five. 15 million death a year(editorial). *Lancet* 1985;2:699-701.
- 6) Williams JV, Harris PA, Tollefson SJ, Halburnt-Rush LL, Pingstehaus JM, Edwards KM, et al. Human metapneumovirus and lower respiratory tract disease in otherwise healthy infants and children. *N Engl J Med* 2004;350:443-50.
- 7) Van den Hoogen BG, de Jong JC, Groen J, Kuiken T, de Groot R, Fouchier RA, et al. A newly discovered human pneumovirus isolated from young children with respiratory tract disease. *Nat Med* 2001;7:719-24.
- 8) Peret TC, Boivin G, Li Y, Couillard M, Humphrey C, Osterhaus ADME, et al. Characterization of human metapneumoviruses isolated from patients in North America. *J Infect Dis* 2002;185:1660-3.
- 9) Boivin G, Abed Y, Pelletier G, Ruel L, Moisan D, Cote S, et al. Virological features and clinical manifestations associated with human metapneumovirus: a new paramyxovirus responsible for acute respiratory-tract infections in all age groups. *J Infect Dis* 2002;186:1330-4.
- 10) Falsey AR, Erdman D, Anderson LJ, Walsh EE. Human metapneumovirus infections in young and elderly adults. *J Infect Dis* 2003;187:785-90.
- 11) Mackay IM, Jacob KC, Woolhouse D, Waller K, Syrmis MW, Whiley DM, et al. Molecular assays for detection of human metapneumovirus. *J Clin Microbiol* Jan 2003;41:100-5.
- 12) Nissen MD, Siebert DJ, Mackay IM, Sloots TP, Withers SJ. Evidence of human metapneumovirus in Australian children. *Med J Aust* 2002;176:188.
- 13) Peiris JS, Tang WH, Chan KH, Khong PL, Guan Y, Lau YL, et al. Children with respiratory disease associated with metapneumovirus in Hong Kong. *Emerg Infect Dis* 2003; 9:628-33.
- 14) Ebihara T, Endo R, Kikuta H, Ishiguro N, Yoshioka M, Ma X, et al. Seroprevalence of human metapneumovirus in Japan. *J Med Virol* 2003;70:281-3.
- 15) Takao S, Shimozone H, Kashiwa H, Kashiwa H, Shimazu Y, Fukuda S, et al. Clinical study of pediatric cases of acute respiratory diseases associated with human metapneumovirus in Japan. *Jpn J Infect Dis* 2003;56:127-9.
- 16) Freymouth F, Vabret A, Legrand L, Eterradossi N, Lafay-Delaire F, Brouard J, et al. Presence of the new human metapneumovirus in French children with bronchiolitis. *Pediatr Infect Dis J* 2003;22:92-4.
- 17) Maggi F, Pifferi M, Vatteroni M, Fornai C, Tempestini E, Anzilotti S, et al. Human metapneumovirus associated with respiratory tract infections in a 3-year study of nasal swabs from infants in Italy. *J Clin Microbiol* 2003;41:2987-91.
- 18) Yun BY, Kim MR, Park JY, Choi EH, Lee HJ, Yun CK. Viral etiology and epidemiology of acute lower respiratory tract infections in Korean children. *Pediatr Infect Dis J* 1995;14:1054-9.
- 19) Kwak YH, Choi EH, Lee HJ. Detection of rhinovirus from children with lower respiratory tract infections by reverse transcription polymerase chain reaction. *Infection Chemotherapy* 2003;35:1-11.
- 20) Kim ES, Kim SS, Woo YD, Chu YK, Hong SJ, Cho YK, et al. Epidemiological analysis of viral respiratory infections and comparison of isolation rate of various clinical specimens. *Korea J Pediatr Infection Dis* 1999;33:303-8.
- 21) William A. Human metapneumovirus: A newly described respiratory tract Pathogen. *J Am Board Fam Pract* 2004; 17:466-9.
- 22) Poutanem SM, Low DE, Henry B, Finkelstein S, Rose D, Green K, et al. Identification of severe acute respiratory



- syndrome in Canada. *N Engle J Med* 2003;348:1995-2005.
- 23) Mejias A, Chavez-Bueno S, Ramilo O. Human metapneumovirus : a not so new virus. *Pediatr Infect Dis J* 2004;23:1-10.
- 24) Crowe JE. Human metapneumovirus as a major cause of human respiratory tract disease. *Pediatr Infect Dis J* 2004;23:S215-21.
- 25) Ebihara T, Endo R, Kikuta H, Ishiguro N, Ishiko H, Hara M, et al. Huma metapneumovirus infection in Japanese children. *J Clin Microbiol Jan* 2004;42:126-32.
- 26) Alto WA. Human metapneumovirus : A newly described respiratory tract pathogen. *J Am Board Fam Pract* 2004;17:466-9.
- 27) Pelletier G, Dery P, Abed Y, Boivin G. Respiratory tract reinfections by the new human metapneumovirus in an immunocompromised child. *Emerg Infect Dis* 2002;8:976-8.
- 28) Jartti T, van den Hoogen B, Garofalo RP, Osterhaus ADME, Ruuskanen O. Metapneumovirus and acute wheezing in children. *Lancet* 2002;360:1393-4.