

양식 잉어, *Cyprinus carpio*에서 발생하는 미동정 바이러스성 질병의 병리조직학적 특징

서장우^{*,**} · 김위식^{**} · 김종오^{**} · 정성주^{**} · 김석렬^{***} · 박명애^{***} · 오명주^{**†}
^{*}농림수산식품부 양식산업과, ^{**}전남대학교 수산생명의학과, ^{***}국립수산과학원 병리연구과

Histopathology of unidentified viral disease of cultured carp *Cyprinus carpio*

Jang Woo Seo^{*,**}, Wi-Sik Kim^{**}, Jong-Oh Kim^{**}, Sung-Ju Jung^{**}, Seok-Ryel Kim^{***},
Myoung Ae Park^{***} and Myung-Joo Oh^{**†}

^{*}Aquaculture Industry Division, Ministry for Food, Agriculture, Forestry and Fisheries, Gwacheon 427-719, Korea

^{**}Department of Aqualife Medicine, College of Fisheries and Ocean Science, Chonnam National University,
Yeosu 550-749, Korea

^{***}Pathology Division, National Fisheries Research and Development Institute, Busan 619-902, Korea

Unidentified viral disease with high mortalities has been recorded consistently since 1998 in cultured carp *Cyprinus carpio* in Korea. In the present study, we investigated the histopathological characteristics of the diseased carp to evaluate the relatedness to koi herpesvirus disease (KHVD). Histopathological examination revealed severe necrotic changes and vacuous cells in the kidney, spleen, liver, pancreas, heart and intestine, but eosinophilic intranuclear inclusion, a typical characteristic of KHV infection was not detected. These results suggest that KHVD may be not a cause for the high mortality occurring among cultured carp in Korea and possibly other unknown viral disease could be related.

Key words : Carp, Histopathology, KHV, Unidentified viral disease

잉어 양식은 우리나라의 양식 어종 중에서 가장 오랜 역사를 가지고 있을 뿐만 아니라 그 기술도 널리 보급되어 내수면 양식 산업에 중요한 위치를 점하고 있다. 그러나 1998년 이후, 잉어 질병으로 기재되어 있지 않았던 새로운 질병이 전국적인 규모로 발생하여 양식산 잉어의 60% 이상이 폐사되어 심각한 경제적 손실을 초래하였다 (Oh *et al.*, 2001). 이 질병은 사육수온이 20~24°C에서 발생되며 감염어는 활력을 잃고 수면의 표층으로 올라와 입을림과 같은 행동을 보인다. 병어의 외부 증상은 체표 및 아가미에 점액이 다량으로 덮여져 있으며, 체표면의 백탁

이 관찰된다. Oh *et al.* (2001)은 대량 폐사된 잉어로부터 fathead minnow caudal trunk cell line (FHM)을 사용하여 바이러스를 분리하였으며, 감염된 FHM 세포를 전자현미경으로 관찰하여 세포질 내에서 크기 70-80 nm의 바이러스 입자를 확인하였고, 분리 바이러스를 건강한 잉어에 인위 감염 시킨 결과 80% 이상의 높은 폐사율을 나타내어 바이러스에 의한 감염증임을 보고하였다.

잉어의 새로운 바이러스성질병은 대한민국뿐 아니라 1998년에 미국과 이스라엘에서 사육중인 잉어에서도 발생하였다 (Hedrick *et al.*, 2000).

[†]Corresponding Author : Myung-Joo Oh, Tel : 061-659-3173
Fax : 061-659-3173, E-mail : ohmj@chonnam.ac.kr

이 질병은 사육수온이 16-25°C에서 발생되며 (Hedrick *et al.*, 2000; Sano *et al.*, 2004; OIE, 2009), 감염어는 체표 및 아가미에 점액이 과소 또는 과다하게 분비되며, 아가미와 체표면의 백탁 증상이 관찰된다 (Hedrick *et al.*, 2000; OIE, 2009). Hedrick *et al.* (2000)은 대량 폐사된 잉어로부터 koi fin cell line (KF-1)을 사용하여 바이러스를 분리하였으며, 감염어의 아가미와 간 조직을 전자현미경으로 관찰하여 herpesvirus 입자를 확인하였고, 병리학적 특성을 조사한 결과 세포의 괴사와 핵내 봉입체를 가진 세포들이 아가미, 신장, 비장, 구강, 횡장, 간, 소화관에서 관찰되었다고 보고하였다. 또한 분리 바이러스 (koi herpesvirus, KHV)를 사용하여 감염 실험한 결과에서는 80% 이상의 높은 폐사율을 나타내어 KHV가 잉어 대량폐사의 원인 병원체임을 보고하였다.

국내에서 보고된 잉어바이러스성 질병의 원인 바이러스는 현재까지 밝혀져 있지 않다. 다만 KHV병과 발생시기, 발생수온 및 임상증상이 유사하기 때문에 국내에서 발생한 잉어바이러스성 질병을 KHV병으로 추정하고 있다. 이에 본 연구에서는 잉어바이러스성 질병과 KHV병과의 연관성을 조사하기 위하여 잉어바이러스성 질병으로 대량 폐사된 잉어를 대상으로 병리조직학적 검사를 실시하여 병리적 병변을 비교하였다.

재료 및 방법

검사시료

잉어바이러스성 질병으로 인해 70-80%의 누적폐사율을 보인 양어장 2곳으로부터 채집한 병어를 검사 시료로서 사용하였다. 첫 번째 양어장은 1999년 6월 전남 장성에서 가두리식으로 이스라엘 잉어 (전장 21-25 cm)를 사육하던 곳으로 대량 폐사의 원인은 Oh *et al.* (2001) 연구를 통해 잉어바이러스성 질병으로 확인되었다. 두 번째 양어장은 2000년 7월 경남 하동에서 노지식으로 이스라엘 잉어 (18-23 cm)를 사육하던

곳으로 대량 폐사의 원인은 Oh *et al.* (2001)의 방법에 준해 병어를 대상으로 임상검사, 병원체 검사 및 감염실험을 통해 잉어바이러스성 질병으로 확인되었다. 검사 시료는 10% 포르말린 용액에 고정된 내장 조직을 사용하였다.

병리조직학적 검사

10% 중성 포르말린액에 고정된 병어의 내장 조직 (신장, 비장, 간, 횡장, 소화관 및 심장)을 상법에 따라 70%에서 100%까지 순차농도의 에탄올 수용액 내에서 탈수하고, 자일렌으로 투명화하여 파라핀을 침투시켜 포매 후, 조직 절편을 만들어 hematoxylin-eosin (H-E) 염색을 실시하여 광학현미경으로 병리조직학적 관찰을 실시하였다.

결과 및 고찰

1999년 6월 전남 장성에서 가두리식으로 사육 중인 이스라엘 잉어와 2000년 7월 경남 하동에서 노지식으로 사육 중인 이스라엘 잉어에서 잉어바이러스성 질병으로 인해 70-80%의 대량폐사가 발생하였다. 병어는 체표 및 아가미에 점액이 다량으로 덮여져 있으며, 체표면의 백탁이 관찰되었다. 병원체 검사 결과, 모든 개체에서 기생충과 세균이 분리되지 않았고, 바이러스 검사에 사용된 CHSE-214, EPC 및 RTG-2 주화세포 모두에서 세포변성효과 (Cytopathic effect, CPE)는 관찰되지 않았으나 FHM 주화세포에서 세포가 둥글어지고 세포질이 길게 늘어나는 CPE가 관찰되었다. 분리 바이러스를 건강한 잉어에 인위감염 시킨 결과에서는 80% 이상의 높은 폐사율이 관찰되었다.

장성과 하동에서 사육 중인 병어를 대상으로 병리조직학적 관찰을 실시한 결과, 두 시료 모두 다양한 장기에서 괴사병소와 세포의 공포화를 특징으로 하는 동일한 병변이 관찰되었다 (Fig. 1). 신장에서는 조혈조직의 광범위한 괴사 병소가

관찰되었고 세포는 핵 농축과 핵 파괴, 핵 팽화 및 핵 소실을 보였다 (Fig. 1A). 또한 정상 세포보다 크기가 크고 호염기성이 강한 염증성 세포들이 신장의 전체에서 보였으며, 특징적으로

세포핵이 소실되거나 한쪽으로 치우쳐 있으며 팽화되고 세포질이 투명한 세포가 다수 관찰되었다. 신장의 사구체와 세뇨관 내에도 핵이 한쪽으로 치우치고 세포질이 공포화된 세포가 다수

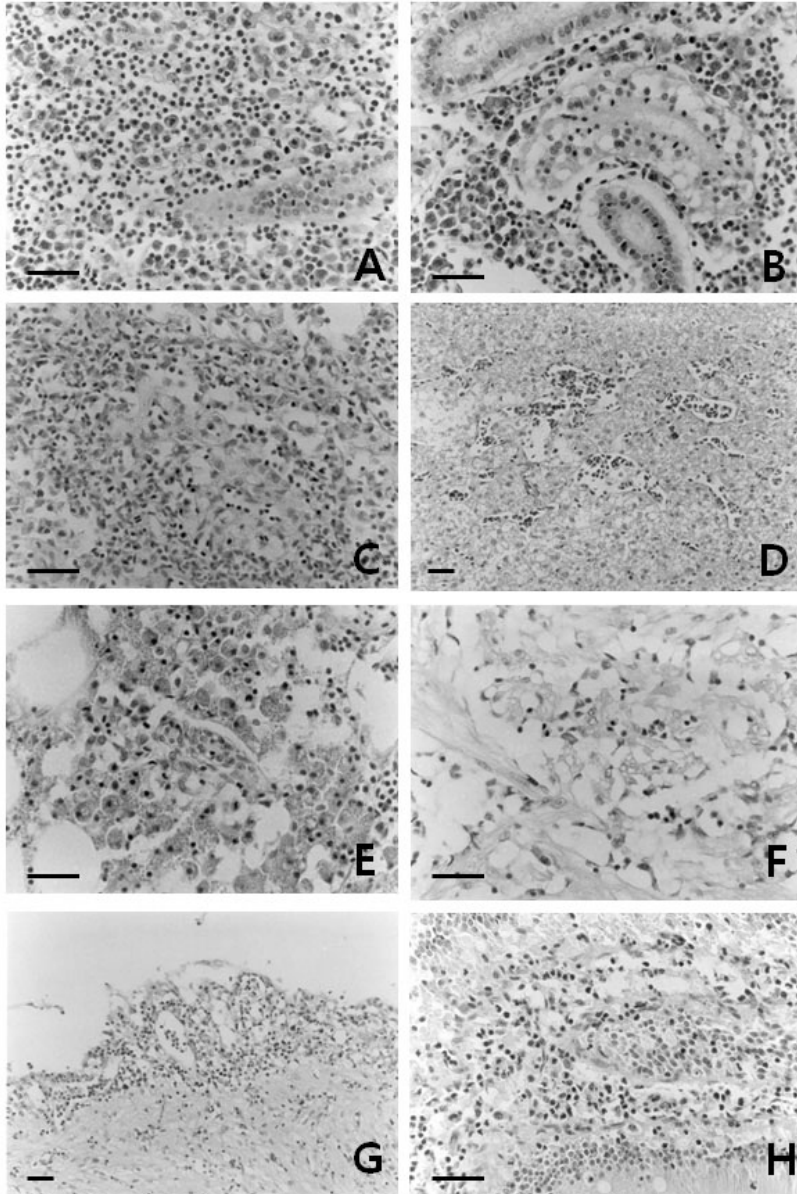


Fig. 1. Histopathology of naturally infected Israel carp (*Cyprinus carpio*) (H-E, bar=25 μ m). (A) Necrosis of hematopoietic tissues and infiltration of inflammatory cells in the kidney. (B) Vacuolar degeneration in tubular epithelium of the kidney. (C) Necrosis and vacuolization of parenchyma cells in the spleen. (D) Congestion in sinusoid and necrosis and vacuolar degeneration of parenchymal cells in the liver. (E) Necrosis of acinar cells in the pancreas. (F) Necrosis of cardiac muscle and (G) pericarditis in the heart. (H) Necrosis and vacuolization of GALT(gut-associated lymphoid tissue) cells in the intestine.

관찰되었다 (Fig. 1B). 비장은 수종화되고 전체에 걸쳐 광범위한 실질세포의 괴사병소와 염증성 세포가 관찰되었다 (Fig. 1C). 개체에 따라서는 세포질이 진하게 에오진으로 염색되는 세포가 나타났으며, 신장에서와 마찬가지로 세포질이 투명하고 핵이 한쪽으로 치우친 세포들이 관찰되었다. 간은 유동을 중심으로 염증성 세포의 침윤과 실질세포의 괴사, 울혈이 특징적으로 관찰되었다 (Fig. 1D). 염증성 세포는 유동 내와 유동의 주위로 침윤되어 있었고 침윤된 염증성 세포 중에는 핵 농축을 일으키며 괴사된 것도 있었다. 유동은 확장되고 파괴되었으며 중증의 울혈을 보이는 개체도 관찰되었다. 췌장은 랑게르한스섬과 외분비부의 세포괴사가 관찰되었다 (Fig. 1E). 외분비부의 관상구조는 파괴되고 선세포는 괴사되어 자이모겐 과립이 흩어져 있었다. 혈관 내로는 염증성세포가 관찰되었다. 심장은 심근 섬유괴괴의 괴사와 심강내로 염증성세포가 침윤되어 있었다 (Fig. 1F). 심실에서는 충혈이 관찰되었으며 심외막에는 심하게 염증성 세포가 침윤되어 심외막염을 일으키고 있었다 (Fig. 1G). 소화관은 점막 고유층의 GALT(gut-associated lymphoid tissue) 세포에 공포변성과 괴사를 보이는 세포가 다수 관찰되었다 (Fig. 1H). 2000년 7월 하동 병어로부터 분리한 바이러스를 사용하여 감염실험을 실시한 후, 병어를 대상으로 병리조직학적 관찰을 실시한 결과에서는 신장, 비장, 간, 췌장 및 소화관 조직의 괴사와 핵 농축, 핵 파괴 및 핵이 소실되거나 한쪽으로 치우친 공포화 세포를 특징으로 하는 자연 감염어와 유사한 병리조직학적 병변이 관찰되었다 (자료게재 생략). 이상의 결과로 잉어바이러스성 질병의 병리조직학적 병변은 신장, 비장, 간, 췌장, 심장 및 소화관에서 심한 괴사와 세포의 공포화를 특징으로 하는 전신성 병변으로 확인되었다.

KHV에 감염된 병어의 특이적 병변은 괴사 병소와 호산성 핵내 봉입체를 가진 세포들이 아가미, 구강, 신장, 비장, 간, 췌장 및 소화관에서 관찰된다 (Hedrick *et al.*, 2000; Miyazaki *et al.*, 2008;

OIE, 2009). 본 연구의 결과, 신장, 비장, 간, 췌장 및 소화관에서 보이는 괴사 병소는 KHV에 감염된 병어의 병리적 병변과 유사하였으나 다양한 조직에서 호산성 핵내 봉입체를 가진 세포들이 관찰되지 않는 점과 공포화된 세포가 관찰되는 점은 KHV의 병변과 차이를 보였다. 더욱이 실험에 사용된 병어의 비장과 신장 마쇄액을 사용하여 KHV에 대한 PCR을 실시한 결과에서는 양성 및 하동 시료 모두 KHV 음성으로 확인되었다 (자료게재 생략). 이상의 결과로 국내에서 발생하는 잉어바이러스성 질병은 KHV병과는 다른 새로운 바이러스성 질병으로 사료된다.

요 약

국내 양식잉어는 1998년부터 잉어바이러스성 질병으로 인해 대량 폐사되었다. 본 연구에서는 잉어바이러스성 질병과 KHV병과의 연관성을 조사하기 위하여 잉어바이러스성 질병으로 대량 폐사된 잉어를 대상으로 병리조직학적 검사를 실시하여 병리적 병변을 비교하였다. 병리조직학적 검사 결과, 괴사병소와 공포성 세포를 특징으로 하는 특이 병변이 신장, 비장, 간, 췌장, 심장 및 소화관에서 관찰되어 전신성 병변을 보였으나, KHV병의 특이적 병변인 호산성 핵내 봉입체를 가진 세포들은 관찰되지 않았다. 이상의 결과로 국내에서 발생하는 잉어바이러스성 질병은 KHV병과는 다른 새로운 바이러스성 질병으로 사료되었다.

감사의 글

본 연구는 지식경제부 및 정보통신산업진흥원의 대학 IT연구센터 지원 사업의 연구결과로 수행되었습니다 (NIPA-2010-C1090-1021-0012).

참고 문헌

Hedrick, R.P., Gilad, O., Yun, S. and Spangenberg

- J.V.: A herpesvirus associated with mass mortality of juvenile and adult koi, a strain of common carp. *J. Aquat. Anim. Health*, 12:44-57, 2000.
- Miyazaki, T., Kuzuya, Y., Yasumoto, S., Yasuda, M. and Kobayashi, T.: Histopathological and ultrastructural features of koi herpesvirus (KHV)-infected carp *Cyprinus carpio*, and the morphology and morphogenesis of KHV. *Dis. Aquat. Org.*, 80:1-11, 2008.
- Oh, M.J., Jung, S.J., Choi, T.J., Kim, H.R., Rajendran, K.V., Kim, Y.J. Pack, M.A. and Chun, S.K.: A viral disease occurring in cultured carp *Cyprinus carpio* in Korea. *Fish Pathol.*, 36:147-151, 2001.
- OIE: Manual of diagnostic tests for aquatic animals. Koi herpesvirus disease, 2009.
- Sano, M., Ito, T., Kurita, J., Yanai, T., Watanabe, N., Miwa, S. and Iida, T.: First detection of koi herpesvirus in cultured common carp *Cyprinus carpio* in Japan. *Fish Pathol.*, 39:165-167, 2004.

Manuscript Received : December 18, 2009

Revised : March 15, 2010

Accepted : April 2, 2010