

국내 양식산 뱀장어 (*Anguilla japonica*, *Anguilla bicolor*)에서 발생하는 바이러스성내피세포괴사증 (VECNE)의 감염 특성

김수미* · 고상무¹ · 진지혜² · 서정수³ · 이남실⁴ · 김영숙³ · 구정희 · 배유리

국립수산과학원 서해수산연구소, ¹부경대학교 수산질병관리원, ²다온 수산질병관리원,
³국립수산과학원 수산방역과, ⁴국립수산과학원 병리연구과

Characteristics of Viral Endothelial Cell Necrosis of Eel (VECNE) from Culturing Eel (*Anguilla japonica*, *Anguilla bicolor*) in Korea by Su Mi Kim*, Sang Mu Ko¹, Ji Hye Jin², Jung Soo Seo³, Nam Sil Lee⁴, Young Suk Kim³, Jeong Hui Gu and Yu Ri Bae (West Sea Fisheries Research Institute, National Institute of Fisheries Science, Incheon 22383, Republic of Korea; ¹Pukyong National University Control Center for Aquatic Animal Disease, Busan 48513, Republic of Korea; ²DaOn Fisheries Diseases management, Incheon 22379, Republic of Korea; ³Aquatic Life Disease Control Division, National Institute of Fisheries Science, Busan 46083, Republic of Korea; ⁴Pathology Research Division, National Institute of Fisheries Science, Busan 46083, Republic of Korea)

ABSTRACT From 2017 to 2018, the disease has been monitored at four culturing eel farms in Incheon and Gyeonggi region in Korea. As a result, diseases with gill congestion frequently occurred. This disease occurred regardless of size of eel, but the frequency and cumulative mortality were high in eels within 3 months after stocking. The infected fish showed pathological histopathological features such as intense congestion and dilation in the central venous sinus (CVS) of gill filaments and hemorrhages in liver and kidney. Hexagonal viral particles measuring about 70 nm in diameter was observed in nuclei and cytoplasm of gill vascular endothelial cells. Molecular biologic diagnosis by both PCR and genetic analysis has been revealed that the causative agent of this disease is Japanese eel endothelial cells-infecting virus (JEECV), the cause of viral endothelial cell necrosis of eel (VECNE), which is mainly reported in Japan. This study is the first report on the characteristics of JEECV and VECNE infection in domestic eel farms.

Key words: Eel, VECNE, JEECV, polyomavirus, gill congestion

서 론

동남아시아를 비롯한 전 세계적으로 뱀장어 양식은 산업적 가치가 매우 높으며, 우리나라 역시 뱀장어 양식생산량은 9,836톤으로 전체 내수면 양식어류 생산량의 46.2%, 생산금액으로는 79.3% (2,658억원)를 차지하고 있다(국가통계포털, 2017, <http://kosis.kr/StatisticsList>). 뱀장어는 다른 양식어종에 비해 입식량 대비 폐사율이 낮은 편이긴 하나 질병에 의한 경제적 손실이 가장 큰 걸림돌이 되고 있다. 우리나라 뱀

장어 양식장에서 발생하는 주요질병에 대한 보고는 대부분 과거로부터 잘 알려져 있는 세균성, 기생충성 질병에 국한되어 있으며, 최근 일본을 비롯한 뱀장어 양식 국가에서 발생하는 바이러스성내피세포괴사증 (VECNE), 뱀장어허피스바이러스 (AngHV1), Eel virus European (EVE), Eel virus European X (EVEX) 등 (Haenen *et al.*, 2012)과 같은 새로운 바이러스성 질병에 대한 연구는 미흡한 실정이다.

본 연구는 2017년 4월부터 2018년 8월까지 경기도 및 인천 소재의 양식장 4개소를 대상으로 서해수산연구소와 민간 수산질병관리원이 합동으로 정기적 질병 예찰을 수행하던 중 연중 발생하는 특정 질병에 대한 원인 병원체 동정과 감염 특성에 대한 보고이다. 감염어는 두부 발적, 아가미 뚜껑 및 가

*Corresponding author: Su Mi Kim Tel: 82-32-745-0741,
Fax: 82-32-745-0619, E-mail: sumikim@korea.kr

Table 1. Oligonucleotide primers and conditions used in PCR amplification for detection of viral eel disease

Virus	Primer name	Nucleotide sequence of the primer	References
AnHV-1	HVAPOLVPSD HVAPOLOOSN	5'-GTGTCGGGCTTTGTGGTGA-3' 5'-CATGCCGGGAGTCTTTTGTGAT-3'	Rijsewijk <i>et al.</i> , 2005
EVEX	F04 R04	GGACAAGGAGAGGATGATTACGA AAATGTCCCATGACTCTGAACAC	Van Beurden <i>et al.</i> , 2011
EVE	Pr B1 Pr B2	GCCGACATCGTCAACTCCAC GACAGGATCATCTTGGCATA	Blake <i>et al.</i> , 1995
JEECV	JEECV-A1 JEECV-A2	5'-GACGGTCTAAACATGAACGGTGAAATGTC-3' 5'-GGTATTTGTACTCATTTCATAGTGGCAATC-3'	Mizutani <i>et al.</i> , 2011

습지느러미 부위의 괴사와 아가미 중심정맥동(central venous sinuses)에 심한 출혈 증상이 특징적이었다. 이러한 질병의 징후는 일본의 뱀장어 (*Anguilla japonica*) 양식장에서 보고된 일명 아가미출혈증이라 불리는 바이러스성내피세포괴사증(Viral endothelial cell necrosis of eel, VECNE) 증상과 유사하였다(Egusa *et al.*, 1989; Inouye *et al.*, 1994; Ono and Nagai, 1997).

VECNE은 1989년 일본의 극동산 뱀장어 (*A. japonica*) 양식장에서 최초 보고(Egusa *et al.*, 1989) 된 이후로 일본 뱀장어 양식 산업에 큰 위협을 끼칠 정도로 중요한 질병이 되었다(Mizutani *et al.*, 2011). 이 질병의 원인 병원체는 바이러스 분리배양 시스템이 확립되기 전까지 정확히 밝혀지지 않다가 2007년 뱀장어 동맥의 내피세포를 이용한 주화세포(cell line) 배양법이 확립되면서(Ono *et al.*, 2007), Japanese eel endothelial cells-infecting virus (JEECV)가 VECNE의 원인 바이러스임이 밝혀졌다(Mizutani *et al.*, 2011). VECNE는 극동산 뱀장어 이외에도 유럽산 뱀장어 (*A. anguilla*)와 무태장어 (*A. marmorata*) 양식산업에서도 심각한 문제를 일으키고 있는 질병이다(Egusa *et al.*, 1989; Wen *et al.*, 2015; Okazaki *et al.*, 2016).

국내 뱀장어 양식장에서의 VECNE 발병과 관련한 정확한 진단 및 발생 현황에 대한 공식 보고는 없으나, 전국적으로 뱀장어 양식장에서 매년 아가미출혈을 동반하는 유사한 질병은 이미 만연하다고 비공식 확인되고 있다. 본 연구에서는 인천, 경기 지역의 뱀장어 양식장에서 빈번히 발생하고 있는 질병의 원인 병원체를 JEECV로 특정하고 질병의 감염 특성을 밝혀 국내 뱀장어 양식장에서 만연한 질병이지만 공식 보고된 바 없는 바이러스성내피세포괴사증(VECNE)을 첫 보고하고자 한다.

재료 및 방법

1. 시험어

2017년 4월부터 2018년 8월까지 경기도 및 인천 소재 순환

여과식 뱀장어 양식장 4개소를 대상으로 수시 또는 정기적으로 질병 예찰을 실시하였다. 양식장 사육수조에 있는 먹이들을 관찰하여 아가미 덮개 발적 등의 특징적 임상증상을 보이며 폐사 또는 빈사상태로 있는 뱀장어를 채집하여 액체 산소 포장하여 실험실로 운반한 후 기생충, 세균, 바이러스 검사 및 병리조직학적 분석을 실시하였다.

2. 기생충 및 세균성 질병 분석

시험어는 외부 및 내부 임상증상을 확인하였으며 체표와 지느러미, 아가미 및 각 내부 장기를 광학현미경으로 관찰하여 기생충 감염 여부를 조사하였고, 시험어를 무균적으로 해부하여 신장, 비장, 간 등의 내부장기에서 세균 배양 시험을 실시하였다.

3. 바이러스성 질병 분석

뱀장어에 감염을 일으킬 수 있는 바이러스성 질병 중 Aquabirnavirus에 속하는 Eel virus european (EVE), Rhabdovirus에 속하는 Eel virus european X (EVEX), Alloherpesvirus에 속하는 Anguillid herpesvirus 1 (AngHV1), Polyomavirus에 속하는 Japanese eel endothelial cells-infecting virus (JEECV)의 감염 여부를 조사하였다. 시험어를 무균적으로 해부하여 아가미, 비장, 신장, 간을 적출하여 핵산을 분리하고 각 질병의 특이 primer (Table 1)를 사용하여 PCR 검사를 실시하였다.

RNA와 DNA 분리는 각각 RNeasy RNA mini kit (Qiagen, Germany), QIA amp DNA mini kit (Qiagen, Germany)를 이용하여 상법에 따라 분리하였다. RNA 바이러스는 RT-PCR (One step RT-PCR, Bioneer)을 이용하여 cDNA 합성 및 PCR을 실시하였다.

PCR 증폭 산물은 QIAxcel Advanced 자동전기영동 장치 (Qiagen, Germany)를 이용하여 band를 확인하였다. 증폭된 PCR 산물을 정제하여 direct sequencing법으로 염기서열을 분석하고 그 결과를 NCBI web site (www.ncbi.nlm.nih.gov)에서 제공되는 BLAST program 정보를 이용하여 상동성을 비교한

Table 2. Outbreaks of viral endothelial cell necrosis of eel (VECNE) in culturing eel, *Anguilla japonica* and *Anguilla bicolor*

Farms (Isolates)	Sample number and size (no./cm)	Date (year.month)	Species of eel	Typical signs
Gyeonggi (Gg1)	10/5~6	2017.04.	<i>A. japonica</i>	Hs, Cg, Cl
	10/6~22	2017.07.	<i>A. japonica</i>	Np, Cg, Cl
	5/23~30	2017.11.	<i>A. japonica</i>	Np, Cg, Cl
	10/5~6	2018.05.	<i>A. japonica</i>	Cg, Cl
	10/10 ~15	2018.06.	<i>A. japonica</i>	Hs, Cg, Cl
	5/20~25	2018.07.	<i>A. japonica</i>	Hs, Cg, Cl
Gyeonggi (Gg2)	5/43~45	2017.08.	<i>A. japonica</i>	Hs, Cg, Cl
	5/15~30	2018.04.	<i>A. bicolor</i>	Cg, Cl
	10/10 ~15	2018.05.	<i>A. bicolor</i>	Cg, Cl
Incheon (Ic1)	5/30~50	2017.05.	<i>A. japonica</i>	Hs, Np, Cg, Cl
	5/15~25	2017.07.	<i>A. japonica</i>	Hs, Np, Cg, Cl
	5/40~50	2017.08.	<i>A. japonica</i>	Hs, Cg, Cl, A
Incheon (Ic2)	10/5~6	2017.05.	<i>A. japonica</i>	Hs, Np, Cg, Cl
	10/10~15	2017.08.	<i>A. japonica</i>	Hs, Np, Cg, Cl
	5/35~46	2017.12.	<i>A. japonica</i>	Cg, Cl, A

Hs, hemorrhagic of the skin; Np, necrosis of the pectoral fin; Cg, congestion of the gill, Cl, congestion of the liver; A, ascities

후, MEGA-7 프로그램을 이용하여 계통수를 작성하였다.

4. 병리조직학적 분석

시험어의 각 조직(아가미, 간, 신장, 비장)을 적출하여 10% 중성포르말린에 고정하고, 일반적인 조직처리과정에 따라 70, 80, 90, 95 및 100% 알코올에 탈수 탈지과정을 거쳐 파라핀으로 포매하였다. 포매된 조직은 microtome (RM2235, Leica, Germany)을 이용하여 4 µm 두께로 절편한 후 HERRIS's hematoxylin-0.5% eosin (H-E) 염색하여 광학현미경으로 관찰하였다.

5. 전자현미경적 관찰

10% 중성포르말린에 고정되어 있던 아가미 조직을 투과전 자현미경 (TEM) 표본으로 제작을 위해 아가미를 1 mm³ 내외 크기로 자른 후 2.5% glutaraldehyde로 1차 고정, 2% osmium tetroxide (OsO₄)를 이용한 2차 고정을 거쳤다. Propylene oxide (PO): Epon으로 포매한 후, 절편(두께 80 nm)을 제작하여 TEM (LIBRA-120, Carl Zeiss, Germany)으로 관찰하였다.

결 과

1. 질병발생 현황

경기도 및 인천시 소재 순환여과식 뱀장어 양식장 4개소를 대상으로 2017년 4월부터 2018년 8월까지 수시 또는 정기적으로 질병 예찰을 실시하였다. 특징적 임상 증상과 폐사를 동반하는 질병이 발생한 경우 기생충, 세균, 바이러스 검사를

실시하였고, 유전학적 검사를 통해 JEECV가 검출된 경우를 Table 2에 나타내었다. 감염어는 당년생 어린 뱀장어에서 2년 이상의 성어에 이르기까지 다양하였으며, 발병 시기 또한 4월에서 12월까지 계절에 관계없이 발생하였다. 일반적으로 폐사는 입식 후 1~2개월된 어린 뱀장어에서 가장 많았으며 한 번 질병이 발생 시 1~3개월 이상 꾸준히 폐사가 진행되며 심한 경우 동일 입식 그룹의 50% 이상이 폐사한 경우도 있었다. 또한 경우에 따라서는 아가미흡충, 세균성 질병 (*Edwardsiella tarda*, *Citrobacter freundii*, *Lactococcus garviae*)과 복합 감염되기도 하였다.

2. 임상증상적 특성

병어의 외부 증상은 육안적으로 두부 발적 특히 아래 턱 부위와 가슴지느러미에 발적이 뚜렷하였고, 아가미 새엽의 울혈 증상이 확인되었다 (Fig. 1A, 1B). 개체에 따라 복부 출혈, 아가미 뒷개 괴사 및 지느러미 탈락 등의 증상을 동반하기도 하였다 (Fig. 1C, 1D). 특징적인 내부증상은 간의 심한 울혈 증상으로 어두운 갈색으로 관찰되며 (Fig. 1E), 일부 개체에서는 복강 내 혈액성 복수가 차고 담낭이 팽창된 것이 관찰되었다 (Fig. 1F).

3. 병리조직학적 특성

조직병리학적 관찰 결과, 아가미 새엽 중심정맥동 (Central Venous Sinus: CVS)에 다량의 혈액이 고여있는 울혈 증상이 확인되며, 1차 새엽상피와 2차 새엽의 기저부의 세포증생 (hyperplasia)과 변성세포의 증가를 관찰할 수 있었다 (Fig. 2A). 새엽 내 중심부 결합조직의 울혈과 새엽 중심 혈관과 벽



Fig. 1. Clinical signs of diseased eel. (A) Hemorrhages at head (B) congestion of gill (C) haemorrhages on the dorsal fin (E), (F) large dark brown liver and bloody ascites in the abdominal space.

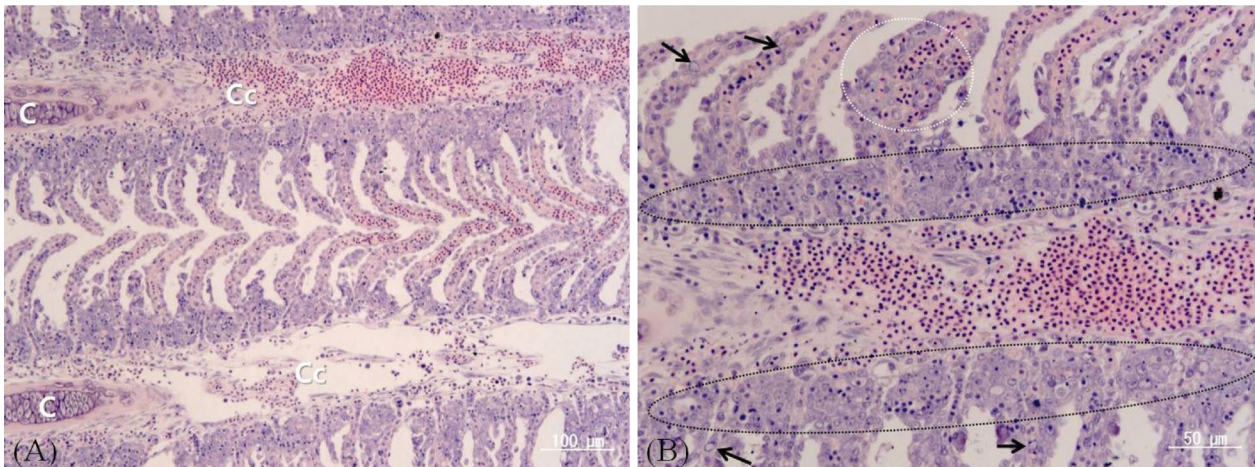


Fig. 2. Pathological signs of diseased eel in the gills. (A) C; cartilage, Cc; central connective tissue in gill filament. (B) Arrow; degenerated pillar cell, white circle; congestion and destruction of lamellar, black circle; degenerated cells at base of lamellae.

주세포 (Pillar cell)의 변성, 괴사에 따른 구조 파괴로 울혈이 나타나는 경우도 관찰되었다 (Fig. 2B).

내부 장기의 병리조직학적 소견은 간 조직 내 출혈이 심하고 정맥 주변에 약한 혈구 침윤이 관찰되었으며 (Fig. 3A, 3B), 신장에서는 일부 세뇨관 상피의 세포 변성이 진행되어 세포질

이 균질화된 호산성의 염색성을 나타내었다 (Fig. 3C, 3D).

감염된 뱀장어 아가미 새판의 횡단면을 전자현미경으로 관찰한 결과, 2차 새변의 벽주세포의 핵과 세포질 내에서 직경 65~80 nm (평균 72.7 ± 3.1 nm)의 정이십면체 구조를 가진 바이러스 입자를 확인하였다 (Fig. 4).

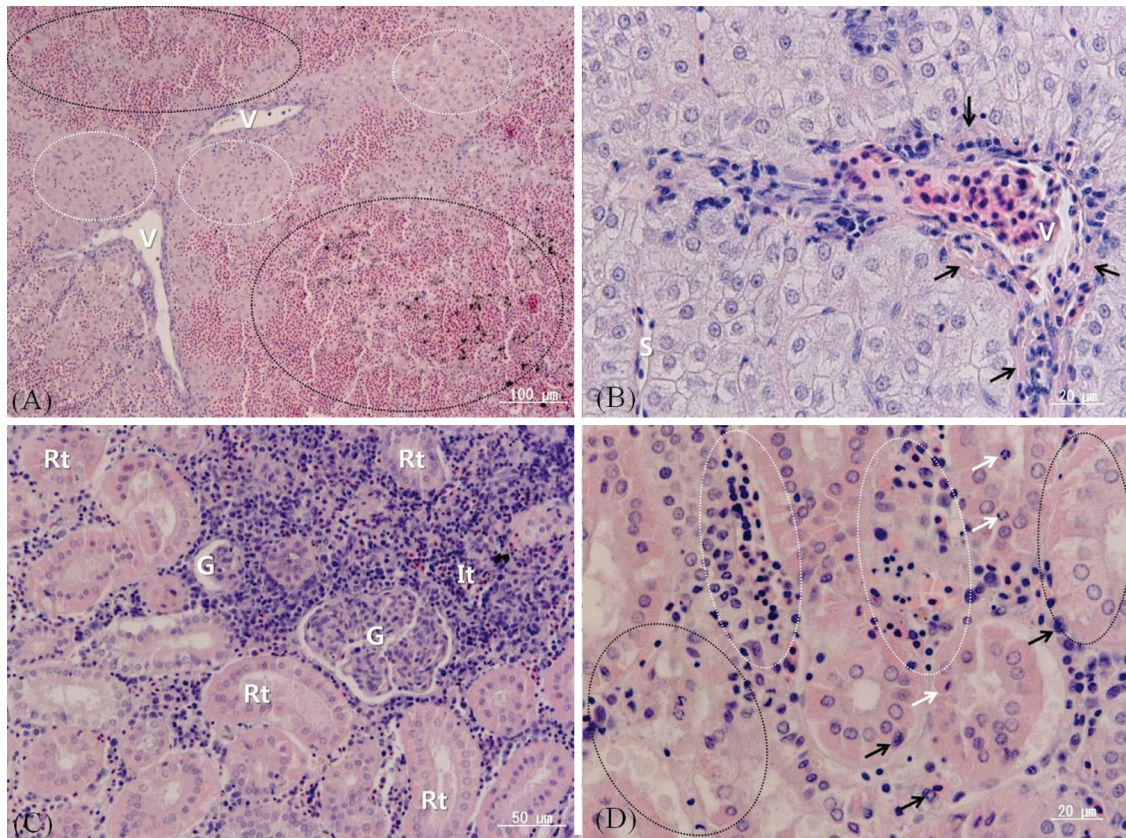


Fig. 3. Pathological signs of diseased eel in the liver and kidney. (A) Severe intrahepatic hemorrhage and weak hemorrhage around the vein. V: vein, White circle: hepatocytes, black circle: hemorrhage at interstitial of hepatocytes. (B) Blood corpuscle degeneration around venous and fibrinoid necrosis in the liver. S: sinusoid, arrows: fibrinoid necrosis (C) denaturation of renal epithelial cells and condensation of nuclei. Rt: renal tubule, G: glomerulus, It: interstitial tissue (D) denaturation of blood cells and observations of these cells were infiltrated around the blood vessels and then tubular epithelium degeneration. White circle: necrosis of hemocytes and cells infiltration, black circle: Degeneration and vacuolation of epithelial cells of renal tubule white arrow: degeneration of RBC, black arrow: degeneration of hemopoietic cell.

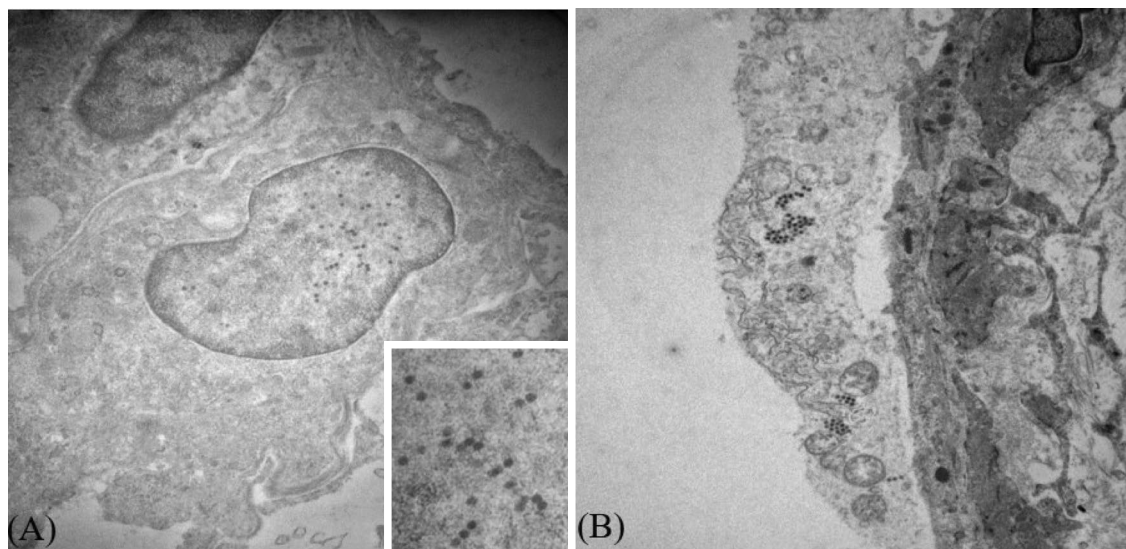


Fig. 4. Electron micrographs of gill lamella of diseased eel. (A) The hypertrophied nucleus of pillar cells in the secondary gill lamella. (B) Destroyed cytoplasm of pillar cells the secondary gill lamella. Hexagonal virus particles measured about 72 nm in diameter without an envelope are observed in the nucleus and cytoplasm.

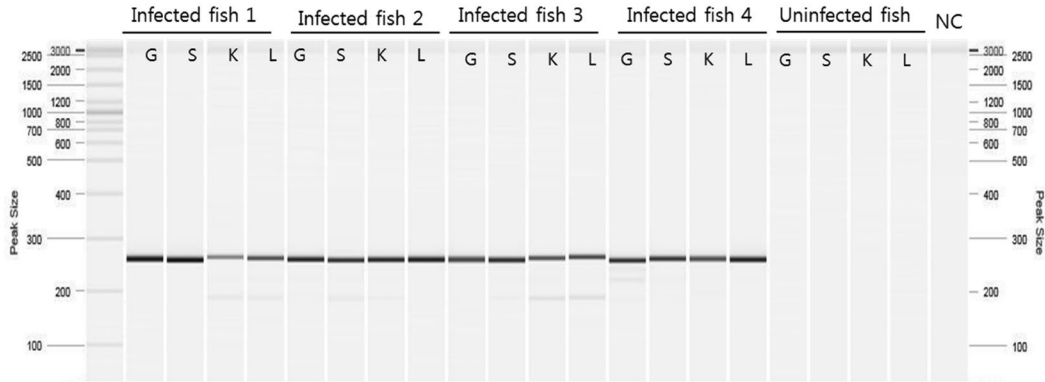


Fig. 5. Gel electrophoresis of Japanese eel endothelial cells-infecting virus (JEECV) specific product amplified by PCR. M, molecular marker; Infected fish 1~4, showed typical signs eel tissue (G, gill; S, spleen; K, kidney, L, liver); Uninfected fish, normal eel tissues; NC, negative control (Nuclease-free water).

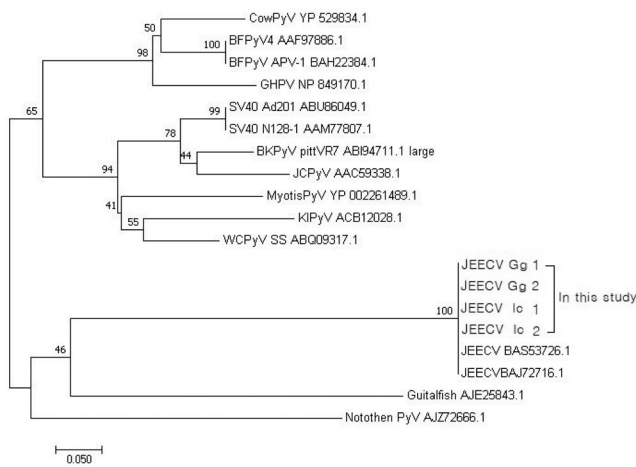


Fig. 6. Phylogenetic tree for large-T antigen protein sequence. The tree reconstructed by Neighbor-joining rooted program of MEGA 7. Numbers above branches are bootstrap values from 1,000 replicates. Bar, 0.05 nucleotide replacement.

4. 진단 및 유전학적 특성

뱀장어 바이러스성 질병에 대한 특이 primer sets을 이용하여 PCR을 실시한 결과 JEECV만이 특이적으로 검출되었고, JEECV의 유전자는 감염어의 아가미뿐만 아니라 비장, 신장, 간 조직에서도 아가미와 유사한 감도로 검출되었다(Fig. 5).

각 양식장에서 검출된 JEECV PCR products를 sequencing 하고, 조류 및 포유류, 어류 등에서 기 보고된 Polyomavirus large T antigen 아미노산 서열과 비교하여 계통수를 작성하였다(Fig. 6). 본 연구에 얻은 아미노산 서열은 일본의 뱀장어 (*A. japonica*)에서 분리된 JEECV (accession number BAS53726, accession number BAJ72716)와 가장 높은 상동성(100%)을 나타내었다. 다른 어종인 giant guitarfish (*Rhynchobatus djiddensis*)와 black sea bass (*Centropristis striata*)에서 분리된

polyomavirus와는 44%, 무태장어 (*A. marmorata*)에서 분리된 polyomavirus와는 51%의 상동성을 나타내었다.

고 찰

본 연구에서는 경기도 및 인천 일대 뱀장어 양식장에서 연 중 발생하는 아가미 중심정맥동(CVS)에 심한 울혈을 형성하는 질병과 관련하여, 각 양식장의 감염어에서 공통적으로 검출되는 바이러스(JEECV)에 대한 유전학적 동정과 병리조직학적 감염 특성을 보고하고자 하였다.

1980년대부터 일본의 뱀장어 양식장에서 일명 아가미울혈증이 흔히 발생하였으며, 이러한 질병은 뱀장어 크기와 계절에 관계없이 발병하고 특히 당년생에서 발병하면 누적 폐사율이 높아 많은 경제적 손실을 초래한다고 하였다(Egusa *et al.*, 1989; Inouye *et al.*, 1994). 최초 보고 후 약 20년간 이 질병의 원인이 명확히 밝혀지지 않아 스트레스로 인한 생리 장애, Mg 부족에 의한 순환기 장애, 내분비 변화 등을 원인으로 생각했지만, 이후 뱀장어혈관내피세포(JEEC) 배양이 가능하게 되면서 감염 아가미에서 바이러스 배양에 성공하고 인위감염시험을 통해 감염성 바이러스가 뱀장어내피세포괴사증(VECNE)을 유발한다는 것이 밝혀졌다(Ono *et al.*, 2007). Ono *et al.* (2007)은 배양된 바이러스의 물리화학적 특성 및 전자현미경상으로 adenovirus-like 바이러스로 판단하였으나 당시 바이러스의 유전학적 동정이 명확하지 않았다. 이후 Mizutani *et al.* (2011)는 신속바이러스 핵산서열결정법(rapid determination system for viral nucleic sequences; RDV)의 개발에 따라 VECNE 원인 바이러스의 유전정보를 해석함으로써 새로운 Polyomavirus에 속하는 JEECV로 명명하게 되었다.

1990년대 우리나라 뱀장어 양식장에서도 아가미울혈증상을

동반한 질병이 빈번히 발생한 것으로 보이며, Kim *et al.* (1993)은 그 원인을 스트레스로 인해 혈액의 전해질 변화로 동정맥계로의 혈액유입량이 증가하게 되어 중심정맥동이 확장되어 울혈이 형성된 것이라고 하였다. 선별, 수온 등의 스트레스 요인에 의해 아가미울혈증상이 일시적으로 유발될 수는 있겠으나 대량 폐사를 유발하는 요인에는 특정 병원체가 관련이 있었을 것으로 추정되며, 당시 바이러스성 질병을 입증할 만한 적합한 뱀장어 내피세포 유래 주화 세포 (cell line)가 없어 여과성 병원체에 의한 질병임을 증명하지 못하였던 것이 아닌가 생각된다.

기 보고된 VECNE의 임상학적 소견은 개체나 어중에 따라 다양한데 공통적으로 아가미 중심정맥동의 울혈이 가장 특징적이며 가슴 지느러미의 탈락 및 유착, 궤양 등이 관찰되고, 내부 소견으로 장간막과 복막 점상출혈, 간 농양, 내부 장기 출혈 등의 증상이 나타나기도 하였다 (Egusa *et al.*, 1989; Ono *et al.*, 2007; Wen *et al.*, 2015; Okazaki *et al.*, 2016). 감염된 무태장어의 경우 아가미 덮개와 향문 부위, 가슴과 향문지느러미에서도 출혈 증상을 보이며 (Wen *et al.*, 2015; Wen, 2017), polyomavirus에 감염된 giant guitarfish에서도 증식성 피부 병변이 특징적으로 나타났다고 하였다 (Jennifer *et al.*, 2016). VECNE의 병리조직학적 소견은 아가미 중심정맥동 확장 이외에도 아가미 혈관계 전반에 걸쳐 핵이 비대하고 퇴행성 혈관내피세포가 관찰되며 (Egusa *et al.*, 1989; Inouye *et al.*, 1994; Ono *et al.*, 2007), 간 조직과 조혈 조직의 혈관 확장 및 울혈이 현저하며 혈관내피 세포의 변성이 관찰된다고 하였다 (Inouye *et al.*, 1994). 이들 임상 병리학적 소견은 본 연구에서의 감염어와 매우 유사하며 아가미 조직 이외에도 간과 신장 조직에 분포하는 혈관내피세포가 변성 및 괴사되어 혈관이 붕괴되고 전신적인 출혈 장애를 유발한 것으로 판단된다.

기 보고에서는 전자현미경적 관찰을 통해 변성된 혈관내피세포나 배양세포의 핵 내에서 정20면체 (70~75 nm) 구조의 바이러스 입자를 확인하였다 (Egusa *et al.*, 1989; Inouye *et al.*, 1994). 본 연구에서도 울혈증상을 보이는 아가미를 전자현미경으로 관찰한 결과 혈관세포 핵내 또는 세포질에서 70 nm 전후의 바이러스 입자를 관찰하였다.

Polyomaviridae는 최근 분류에 따르면 Alpha, Beta, Gamma 및 Delta polyomavirus로 명명하는 4개의 속 (genus)으로 나뉜다. 하지만 JEECV genome은 polyomavirus에 속하는 어떠한 바이러스와도 T-like protein gene (LTLG)에 대한 상동성을 나타내지 않기 때문에 이것은 polyomavirus와 알려지지 않은 family virus 사이의 chimeric virus로 보고되었다 (Peretti *et al.*, 2015; Moens *et al.*, 2017). JEECV의 polyomaviral T antigen gene은 포유동물의 것보다 조류에서 감염되는 polyomavirus T antigen 과 상동성이 더 높고 goose hemorrhagic polyomavirus (GHPV)에 의해 유발되는 조류 질병 증상은 VECNE와 유사

하였다 (Mizutani *et al.*, 2011).

본 질병은 조사 대상 양식장에서 계절에 관계없이 연중 발생하였으며 뱀장어의 크기와도 무관하게 나타났다. 그러나 주로 당년에 입식한 어린 뱀장어에서 가장 먼저 질병 증상이 나타났으며 폐사율 또한 높아 양식장에 따라 동일시기 입식량의 50% 이상이 폐사한 사례도 있었다. *A. japonca*와 *A. bicola*를 같은 양식장에 사육하는 양식장 (Gg2)에서는 뱀장어 종에 관계없이 모두 감염되는 것으로 확인되었고 감염 증상이나 폐사 양상 또한 유사하였다.

뱀장어의 바이러스성 아가미울혈 증상과 관련하여, Park *et al.* (2012)는 2011년 인도네시아에서 우리나라로 수입한 동남 아산 뱀장어 (*A. bicolar*, 평균체장 9.7 cm)에서 아가미 충혈과 간장의 출혈을 특징으로 하는 질병의 원인을 분자생물학적 진단법 (PCR)을 이용하여 뱀장어허피스바이러스 (AngHV1)로 보고한 바 있다. AngHV1감염증과 VECNE는 두부 발적, 아가미 뚜껑 및 지느러미출혈 등과 같은 유사한 증상을 보여 육안적 소견만으로는 구분이 어렵다. PCR 결과에서 AngHV1은 감염어의 아가미에서만 바이러스가 검출되었지만 (Park *et al.*, 2012), 본 연구에서의 JEECV는 감염어의 아가미 뿐만 아니라 신장, 비장, 간 등의 내부 장기에서도 바이러스가 검출되어 감염조직에 큰 차이를 보이는 것으로 생각된다. 본 연구의 검사 시료에서는 모두 JEECV만이 단독 검출되었으나, 본 연구 이외의 양식장의 아가미 조직에서 JEECV와 AngHV1가 복합적으로 검출되는 경우도 있어 이들 두 질병에 대한 상관관계 분석과 지속적인 모니터링이 필요할 것으로 판단된다.

Tanaka *et al.* (2008)은 사육수의 온도에 따른 병원성 시험을 통해 27~31°C 범위에서 폐사율이 73~80%로 높은 반면 35°C와 20°C 이하에서는 폐사율이 급격히 감소 (폐사율 18%) 한다고 하였고, 감염된 어류는 먹이를 공급하지 않는 조건에서 35°C 3일 이상 가온 처리하는 것을 가장 효과적인 대책으로 권장하였다. 또한 35°C 가온 처리 후 살아남은 뱀장어는 질병에 대한 저항력이 현저히 높아져 바이러스를 재감염시켰을 때 폐사하지 않는다는 것을 확인하였다 (Tanaka *et al.*, 2008). 본 연구에서도 질병 진단 이후 일부 조사 대상 양식장에서는 사육수온을 35°C로 올려 3~5일 가온 처리하였을 때 폐사율이 감소하는 것을 확인하기도 하였으나 실질적으로 우리나라 사육시스템에서는 사육 수조별 가온이 어렵고 순환여과식으로 바이러스에 오염된 사육수로부터 격리가 거의 불가능하며 가온 처리에 따른 경제적 손실과 위험성으로 인해 쉽게 시도하기 어려운 것으로 조사되었다.

본 연구에서 조사한 뱀장어 양식장에서 연중 발생하고 있는 아가미 울혈증상을 동반하는 질병은 일본의 뱀장어 양식장에서 발생하는 JEECV에 의한 VECNE와 임상증상 및 병리조직학적 특성이 매우 유사하며, 유전학적 진단법을 통해 국내에서 검출된 바이러스와 일본의 JEECV와 100% 상동성을 가지

는 것을 확인하였다. 국내 뱀장어 양식장에서는 오래 전부터 JEECV가 분포하였을 것으로 추정되며 JEECV에 의한 질병인 VECNE 역시 빈번히 발생하고 있을 것으로 생각되나 안타깝게도 VECNE에 대한 체계적인 모니터링이나 질병 특성 연구가 부족한 실정이다. 향후 전국 뱀장어 양식장의 질병발생 현황 조사가 선행되어야 하며, 질병 피해 저감을 위한 예방, 역학, 치료 및 백신 연구 등의 후속 연구들이 조속히 이루어져야 할 것으로 생각된다.

요 약

2017~2018년에 거쳐 인천 및 경기지역 뱀장어 양식장 4개소를 대상으로 질병 예찰 및 모니터링을 실시한 결과, 특징적으로 아가미울혈증상을 동반한 질병이 빈번히 발생하였다. 이 질병은 크기에 상관없이 발생하지만 입식 후 3개월 이내의 당년생 뱀장어에서 감염 빈도와 누적 폐사율이 높게 나타났다. 감염어는 새변의 중심정맥동(CVS)의 심한 울혈과 팽창, 간과 신장 조직의 출혈 등과 같은 병리조직학적 감염 특성을 보였다. 또한 아가미 혈관내피세포의 핵과 세포질에서 정이십면체 구조를 가진 직경 70 nm 전후의 바이러스 입자가 관찰되었다. PCR에 의한 분자생물학적 진단법과 유전자 분석을 통해 이 질병의 원인 병원체는 일본에서 주로 보고한 뱀장어바이러스 성내피세포괴사증(VECNE)의 원인체인 JEECV로 밝혀졌다. 본 연구는 국내 뱀장어 양식장에서 JEECV 및 VECNE 감염 특성을 밝힌 첫 보고이다.

사 사

본 연구는 국립수산물과학원 「수산물 방역체계구축 사업(R2018065)」에 의해 수행되었습니다.

REFERENCES

- Blake, S.L., W.B. Schill, P.E. McAllister, M.K. Lee, J.T. Singer and B.L. Nicholson. 1995. Detection and identification of aquatic birnaviruses by PCR assay. *J. Clin. Microbiol.*, 33: 835-839.
- Egusa, S., M. Tanaka, H. Ogami and H. Oka. 1989. Histopathological observations on an intense congestion of the gills in cultured Japanese eel, *Anguilla japonica*. *Fish Pathol.*, 24: 51-56. (in Japanese)
- Haenen, O., I. Mladineo, R. Konecny, M. Yoshimizu, D. Groman, P. Munoz, A. Saraiva, S. Bergmann and S. Van Beurden. 2012. Diseases of eels in an international perspective: Workshop on eel diseases at the 15th international conference on diseases of fish and shellfish, split, croatia, 2011. *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathologists*, 32: 109-115.
- Inouye, K., S. Miwa, H. Aoshima, H. Oka and M. Sorimachi. 1994. A histopathological study on the etiology of intense congestion of the gills of Japanese eel, *Anguilla japonica*. *Fish Pathol.*, 29: 35-41.
- Jennifer, A.D., F.F.N. Terry and C.C. Alvin. 2016. Complete sequence of the smallest polyomavirus genome, giant guitarfish (*Rhynchobatus djiddensis*) polyomavirus 1. *Genome Announc.*, 4: e00391-16.
- Kim, Y.G., M.S. Choi, S.H. Park and K.K. Lee. An investigation of the congestion on the gills of eel. *J. Fish Pathol.*, 7: 161-171. (in Korean)
- Mizutani, T., Y. Sayama, A. Nakanishi, H. Ochiai, K. Sakai, K. Wakabayashi, N. Tanaka, E. Miura, M. Oba, I. Kurane, M. Saijo, S. Morikawa and S. Ono. 2011. Novel DNA virus isolated from samples showing endothelial cell necrosis in the Japanese eel, *Anguilla japonica*. *Virology*, 412: 179-187.
- Moens, U., A. Krumbholz, B. Ehlers, R. Zell, R. Johne, S. Calvignac-Spencer and C. Lauber. 2017. Biology, evolution, and medical importance of polyomaviruses: an update. *Infect. Genet. Evol.*, 54: 18-38.
- Okazaki, S., S. Yasumoto, S. Koyama, S. Tsuchiaka, Y. Naoi, T. Omatsu, S. Ono and T. Mizutani. 2016. Detection of Japanese eel endothelial cells-infecting virus in *Anguilla japonica* elvers. *J. Vet. Med. Sci.*, 78: 705-707.
- Ono, S. and A. Nagai. 1997. Electronmicroscopic observation and experimental infection of congestion in gills of Japanese eel, *Anguilla japonica*. *J. School Marine Sci. Technol.*, 43: 95-105.
- Ono, S., K. Wakabayashi and A. Nagai. 2007. Isolation of the virus causing viral endothelial cell necrosis of eel from cultured Japanese eel, *Anguilla japonica*. *Fish Pathol.*, 42: 191-200. (in Japanese)
- Park, S.W., E.B. Jung and D.W. Kim. 2012. Outbreak of anguillid herpesvirus-1 (AngHV-1) infection in cultured shortfin eel (*Anguilla bicolor*) in Korea. *J. Fish Pathol.*, 25: 151-158. (in Korean)
- Peretti, A., P.C. FitzGerald, V. Bliskovsky, D.V. Pastrana and C.B. Buck. 2015. Genome sequence of a fish associated polyomavirus, black sea bass (*Centropristis striata*) polyomavirus 1. *Genome Announc.*, 3: e01476-13.
- Rijsewijk, F., S. Pritz-Verschuren, S. Kerkhoff, A. Botter, M. Willemsen, A. van Nieuwstadt and O. Haenen. 2005. Development of a polymerase chain reaction for the detection of Anguillid herpesvirus DNA in eels based on the herpesvirus DNA polymerase gene. *J. Virol. Methods*, 124: 87-94.
- Tanaka, M., T. Satoh, W.J. Ma and S. Ono. 2008. Effectiveness of increasing temperature of rearing water and non-feeding against viral endothelial cell necrosis of eel. *Fish Pathol.*, 43: 79-82.

- van Beurden, S.J., M.A. Voorbergen-Laarman, I. Roozenburg, A.S. Boerlagea, O.L.M. Haenen and M.Y. Engelsma. 2011. Development and validation of a two-step real-time RT-PCR for the detection of eel virus European X in European eel, *Anguilla anguilla*. J. Virol. Methods, 171: 352-359.
- Wen, C.M., M.M. Chen, C.S. Wang, P.C. Liu and F.H. Nan. 2015. Isolation of a novel polyomavirus, related to Japanese eel endothelial cell-infecting virus, from marbled eels, *Anguilla marmorata* (Quoy & Gaimard). J. Fish Dis., 39: 889-897.
- Wen, C.M. 2017. Complete genome sequence and phylogenetic analyses of an aquabirnavirus isolated from a diseased marbled eel culture in Taiwan. Arch. Virol., 162: 2467-2471.