

유우에서 발생한 수포양 병변에서 bovine papillomavirus와 parapoxvirus 혼합감염

류영수* · 강영배 · 장정호 · 문운경 · 최상호 · 박중원

건국대학교 축산대학 수의학부*
국립수의과학연구소
(1998년 2월 15일 접수)

Mixed infection of bovine papillomavirus and parapoxvirus in dairy cattle with vesicle-like lesions

Young S Lyoo*, Yung-bai Kang, Chung-ho Chang, Oun-gyong Moon,
Sang-ho Choi, Joong-won Park

*School of Veterinary Medicine, College of Animal Husbandry Kon-kuk University**
National Veterinary Research Institute

(Received Feb 15, 1998)

Abstract : A mysterious disease with vesicle-like nodules in dairy cattle udder has been drawn attention to the foreign animal disease expert at the National Veterinary Research Institute. Immediately dispatched foreign animal disease expert, pathologist and regional veterinary officials executed quarantine nearby affected farm area to prevent transmission of the pathogen which was possibly contagious vesicular disease agents in domestic animals such as FMD or SVD. Proper samples were collected for the laboratory examination. Vesicle-like lesions were only detected in lactating dairy cattle and no distinct clinical signs have been observed in affected animals. Parapox and papillomavirus particles have been demonstrated on electromicroscopical examination from nodular samples of udder lesions of the dairy cattle. Characteristic papilloma virus particles with 55nm in diameter and parapoxvirus with 150nm in diameter and 350nm long oval shape particles were detected and confirmed by embryonated chicken egg inoculation.

Key words : papillomavirus, parapoxvirus, nodule, cattle.

서 론

소 papillomavirus는 papovaviridae에 속하는 DNA 바이러스이고, 바이러스 입자는 약 55nm 정도 직경을 가진 구형의 바이러스이다. Papillomavirus는 사람에서는 피부에 생기는 사마귀, 여성의 자궁경부암(HPV-16, -18), 생식기 주변의 사마귀(HPV-6, -11), 어린이이 후두육종(HPV-11) 등을 일으키는 원인체로 알려져 있다. 이들 사람 육아종 바이러스의 경우 현재까지 약 63가지의 다양한 type이 밝혀져 있는 아주 복잡 다양한 바이러스이다¹⁻³.

동물의 경우 소, 양, 말, 개, 사슴, 원숭이, 토끼, 마우스 등 각종 동물에서 각종 종양을 일으키는 원인체로 알려져 있다²⁻⁵. 소 육아종 바이러스(Bovine papillomavirus)는 6가지의 type이 존재하는 것으로 밝혀져 있는데 이 중에서 소의 유방에서 유두종을 형성하는 바이러스는 1, 2, 5, 6형으로 보고되고 있다. 이들 papillomavirus들은 세포내에서의 증식이 잘 되지 않아 혈청학적으로 바이러스의 type까지 진단을 하는 데는 어려움이 많다. 그러나 바이러스의 유전자의 다양성을 제한효소를 이용하여 분석하는 유전자 검색방법으로 그 형을 구분할 수 있다^{1,6,7}.

Parapoxvirus는 Poxviridae의 Chordopoxvirinae에 속하는 DNA 바이러스이며, 바이러스 입자는 220~300nm×140~170nm의 큰 타원형 모양을 하고 있다. Parapoxvirus는 소, 사람, 사슴, 낙타 등 포유동물과 바다표범(Gray seal)과 같은 수중 포유류에 까지 다양하게 분포되어 있으며, Pox-like lesion을 형성하는 것으로 알려져 있다. Parapoxvirus는 소 및 사람에게 감염이 되는 bovine papular stomatitis 바이러스, 양, 산양, 사슴 그리고 사람에게 감염되어 contagious pustular dermatitis를 일으키는 orf 바이러스 그리고 Miker's nodule 바이러스라고 불리우며 사람과 소에 모두 감염이 되는 pseudocowpox 바이러스, 낙타의 Auzduk disease virus 그리고 바다표범에 감염되는 sealpox 바이러스 등이 있다^{2,4,5}.

본 연구에서는 충남 태안지역 젖소농장에서 발생한 젖소 유두의 수포성 질병의 원인분석을 의뢰받아 검사한 결과 채취한 가피에서 전자현미경 소견상 바이러스의 입자를 확인하여 이에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

역 학 : 충청남도 태안군 소재 젖소농가에서(총37두

사육) 1997년 12월 1일부터 착유우의 젖꼭지에 수포양 병변이 형성된 것을 처음 발견하였으며, 처음 증상이 발견된 이후 약 20일동안 총16두의 젖소 유두에 수포양 병변 및 가피가 형성되었다. 그리고 착유하던 목장주 부부의 손에도 소양감있는 수포양 병변이 형성되었다. 이에 축주는 관할 충남 가축위생시험소 태안지소에 병성감정을 의뢰하였고, 태안지소에서는 해외 악성전염병을 의심하여 이동제한 등의 방역조치를 취하고 가검물 병원체 분석을 수의과학연구소에 의뢰하였다.

가검재료 : 수포성 질병 발생이후 2회에 걸쳐 농장을 방문하였고, 역학조사와 함께 총혈청 27점, 수포양 병변으로부터 수포액 2점, 타액 3점 그리고 유두에 형성되어 있는 가피 9점을 채취하여 시험하였다. 채취된 가검물에서 혈청학적으로 악성 전염병인 구제역에 대한 항체 존재유무 조사가 실시되었다.

Virus 입자확인 : 채취한 재료중 수포액(2점), 타액(3점)을 PBS에 희석한 후 전자현미경으로 바이러스 입자를 확인하였다. 그리고 가피(9점)는 가피에 멸균 증류수를 가하고 진탕기에서 5분동안 강하게 처리한 후 2,000rpm에서 1분간 원심하였다. 원심분리후 상층액을 Negative staining 하여 전자현미경으로 바이러스 입자를 확인하였다. 전자현미경 관찰후 나머지 재료는 -70℃ 냉동고에 보관하였다.

Parapoxvirus 입증 : -70℃ 냉동고에 보관되어 있는 가피중에서 바이러스 입자가 확인된 개체들의 가피를 해동후 진탕기에서 5분간 처리하였다. 처리한 재료들을 2,000rpm에서 2분간 원심한 후 상층액을 항생제가 포함된 멸균 PBS로 동량을 가해 희석하였다. 이 재료를 11일령의 계태아의 CAM(Chorioallantoic membrane)에 0.2ml씩 접종하여 배양하였다. 7일후 배양한 계태아에서 pocks의 형성여부를 확인하였다.

결 과

가검물 채취 : 처음 농장에서 가검물을 채취하려고 시도하였을 때는 이미 수포병의 증상이 발견된지 약 20일이상이 지나 사람에게 형성되었던 목장주인 부부의 경우, 이미 손에서 수포가 형성되었던 곳이 딱딱한 반흔으로 변하여 있어 재료를 채취할 수 없었다(Fig 1A).

착유우의 경우 발생한 16두 대부분이 유두에 형성되었던 수포들이 가피로 전환되어 있었으며(Fig 1B), 가검

물을 얻기 위해 가피를 유두로부터 채취할 때 일부 유두에서는 출혈이 될 정도로 가피가 단단하게 형성되어 있었다. 채취된 가검혈청에서 구제역 바이러스에 대한 항체는 존재하지 않은 것으로 확인되었다.

바이러스 입자 확인 : 가피재료 9점중 5점에서 서로 크기와 형태가 다른 두가지 바이러스 입자를 확인할 수 있었다. 가피 1점에서 Papillomavirus 그리고 4점에서 Parapoxvirus와 유사한 형태와 크기를 가진 입자를 확인하였다. 확인된 바이러스 입자중에서 그 크기가 작은 바이러스 입자는 55nm 정도의 균일한 크기와 모양을 가진 구형의 Papillomavirus 특이 입자이다(Fig 2). 관찰된 Papillomavirus 입자들은 거의 대부분이 감염력이 있는 complete particle(Fig 2)들이었으며, 일부 core 부분이 소실된 empty particle들도 관찰되었다. 4점의 가피에서 확인된 Parapoxvirus 입자는 직경이 150nm 정도, 길이는 350nm 정도의 등갈면서 긴 달걀모양으로 parapoxvirus의 특이구조를 나타내는 타원형이었다.

그리고 분리된 바이러스가 Poxvirus가 아닌 Parapoxvirus임을 확인하기 위하여 11일령의 계태아의 CAM에 접종한 후 Membrane에서의 Pock 형성을 관찰한 결과 Pock가 전혀 형성되지 않았다. Poxvirus는 계태아의 CAM에 접종할 경우 특이적인 Pock가 전혀 형성되지 않았다. Poxvirus는 계태아의 CAM에 접종할 경우 특이적인 Pock를 형성하고 parapoxvirus는 형성하지 않기 때문에 분리된 바이러스가 Parapoxvirus임을 추정할 수 있었다.

고 찰

세계적으로 소나 돼지에서 수포를 형성하는 질병중에 가장 문제시 되고 있는 질병은 구제역(FMD)이다. 구제역의 경우 아직 국내에서는 발생하지 않았기 때문에 구제역의 유입방지와 만약에 국내에 유입되었을 경우 초기에 진단하고 이를 박멸하기 위한 만반의 준비가 되어 있고 보다 신속하고 효과적인 방역을 위한 연구가 정부 연구기관에서 진행되고 있다. 대만의 뼈아픈 구제역 발생예를 보면서 왜 이러한 무서운 질병의 국내유입을 차단하고 만약 발생할 경우 초기에 차단하여야 하는지를 정부 뿐만 아니라 방역을 담당하는 일선기관들과 양축농가들도 알게 되었다.

구제역 이외에도 소에서 수포를 형성하는 원인체를 보면 수포성 구내염 바이러스, bovine herpesvirus 2, bovine

papillomavirus, bovine parapoxvirus, blue tongue virus 등으로 매우 다양하기 때문에 야외에서 수포가 형성되는 질병이 발생할 경우에 임상적으로는 정확히 진단하는데는 많은 어려움이 있다. 그러므로 병 발생초기에 가검물을 채취하여 이를 전문가에게 의뢰함과 동시에 가축의 이동을 차단하는 등 방역에 필요한 조치를 취하여야 한다.

이 농장에서 발생한 수포양 질병의 방역조치는 농장과 정부 당국 그리고 질병 전문연구진의 발빠른 협조가 잘 이루어진 좋은 경우라고 하겠다. 다행히 이번 경우는 구제역 바이러스 감염이 아니고, 폐사나 감염으로 인한 많은 피해가 없는 Parapoxvirus와 Papillomavirus의 혼합감염된 질병으로 진단되었고 전문가 확보와 이들의 효율적인 연구협조 및 신속한 진단이 얼마나 중요한가를 체계적으로 보여준 좋은 예라고 본다.

Parapoxvirus가 유두에 한정하여 수포 및 가피 등을 형성하는데 이번엔 의뢰된 농장의 역학적 관찰이나 세포친화성으로 보아 분리된 바이러스가 Parapoxvirus에 가까운 것으로 생각된다. 전자현미경학적인 관찰에서 Parapoxvirus와 같은 Poxviridae의 Chordopoxvirinae에 속하는 Orthopoxvirus는 parapoxvirus와 크기는 비슷하지만 그 형태가 parapoxvirus에 비해 구형에 가깝다. Parapoxvirus 입자는 달걀모양의 긴 타원형을 이루고 있는데 이번엔 관찰된 바이러스 입자 역시 긴 달걀모양의 타원형을 이루고 있었으며, 바이러스의 크기도 지금까지 알려진 Parapoxvirus의 크기와 동일하므로 관찰된 바이러스 입자가 parapoxvirus임을 알 수 있었다. 그리고 11일령의 계태아 CAM에 parapoxvirus를 접종시 pock를 형성하지 않는 바공시바이러스는 전혀 pock를 형성하지 않아 전자현미경을 이용한 형태학적인 진단과 계태아에서의 바이러스 특성시험을 종합하여 Parapoxvirus로 진단되었다. 그러나 사람의 손에 형성된 수포양 변화는 parapoxvirus에 의한 것인지 papillomavirus에 의한 것인지는 재료를 채취에 시간적인 문제때문에 바이러스 입자 및 조직학적 검사를 하지 못해 확인되지 않았다.

소에서는 Gerdes 등에 따르면 같은 조직병변에서 Parapoxvirus와 Papillomavirus가 동시에 검출되었다고 보고하였다. 이번 가검물의 경우도 두 바이러스가 같이 확인되었는데, 두 바이러스중 papillomavirus는 증식이 매우 까다로운 것으로 알려져 있다^{1,2}. 그러나 Poxviridae에 속하는 바이러스는 바이러스 증식에 필요한 DNA 및 RNA polymerase를 가지고 있기 때문에 papillomavirus가 보다

쉽게 더불어 증식한 것으로 사료된다. 이 증식방법은 바이러스가 동거 바이러스의 증식과정에 생성되는 다른 바이러스의 효소 부산물을 효과적으로 이용하는 *Dependovirus*의 경우와 유사하다고 생각된다. 그리고 *papillomavirus*가 비유기의 유두에 발생한 것으로 보아 이는 BPV1, 2, 5, 6형중 하나일 것으로 사료되나 *type*는 정확히 밝혀지지 않았다. 앞으로 유전자 분석을 통하여 해결해야될 과제중의 하나로 남아있다.

이들 바이러스는 접촉감염이 주된 전염경로이며 소에 많은 피해를 일으키는 악성 전염병은 아니다. 본 연구에 제공된 가검물들도 유우중에서 손으로 착유하는 착유우에서만 병변이 발견되었으며, 착유자의 손에도 같은 병변이 발견됨에 따라 감염된 개체로부터 착유시 다른 소의 유방으로 접촉에 의한 전염으로 보인다. 같은 농장에 동거하던 건유기에 있는 소에서는 착유우에서 관찰된 특이증상이나 이들과 유사한 증상이 전혀 관찰되지 않은 점도 이를 뒷받침하는 중요한 증거로 사료된다.

결 론

충남 태안에서 32두의 유우 사육목장에서 유두부위에 수포양 병변을 보여 유두에 형성된 가피를 현미경학적으로 관찰한 결과 55nm 정도의 특이적인 *papillomavirus* 입자와 폭 150nm, 전후길이 350nm 정도의 *parapoxvirus*가 함께 검출되었다. 착유우에서만 특징적인 병변이 관찰되어 바이러스의 전염은 착유시 착유자의 손을 통한 접촉전염이 이루어진 것으로 판단되었다. 검출된 *papillomavirus*는 대부분이 감염력이 있는 *complete particle*이었으며, *core* 부분이 소실된 몇몇 *empty particle*이 관찰되기도 하였다. *Parapoxvirus*는 *Orthopoxvirus*와 크기와 형태가 완전히 달랐으므로 형태학적으로도 구분이 가능하였다. 또한 계태아의 CAM에 접종하였을 경우 *pock*를 형성하지 않아 *parapoxvirus*로 추정되었다.

Legends for figures

Fig 1. (A) Milker's nodule on farmer's hand. (B) Vesicle-like formation on the milking cow's udder.

Fig 2. Electromicrograph of bovine papillomavirus particles from samples collected from infected cow's udder(Negatively stained, $\times 138,000$). Majority of the particles examined were complete particles and few empty particles are also shown.

Fig 3. Electromicrograph of bovine parapoxvirus particles from samples collected from infected cow's udder(virus particles were negatively stained, $\times 46,000$).

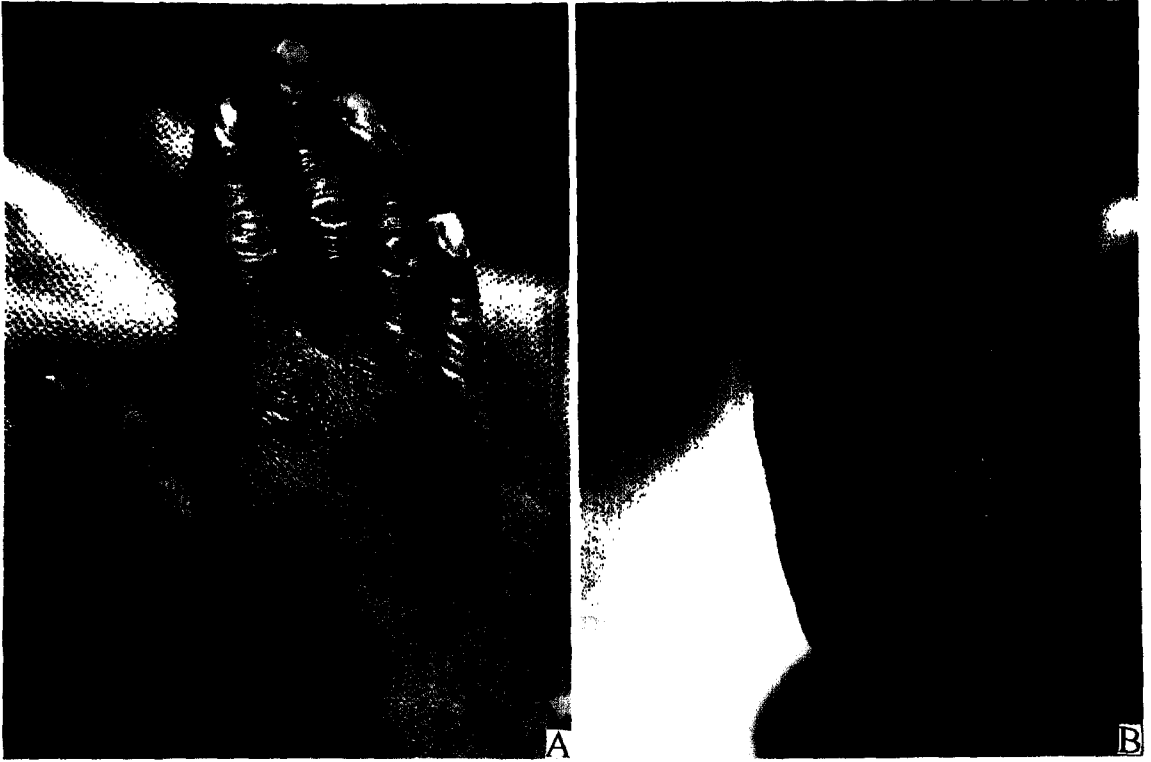


Fig 1.

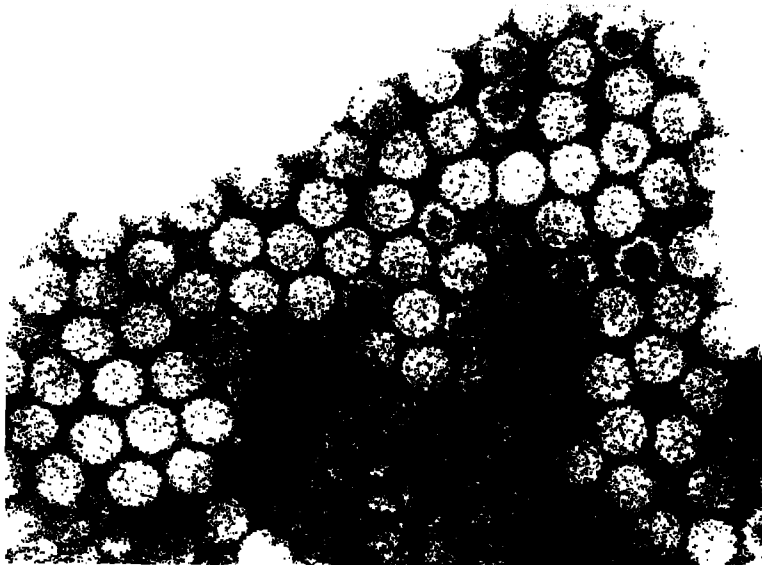


Fig 2.



Fig 3.

참 고 문 헌

1. Fenner F, McAuslan BR, Mins CA, *et al.* The Biology of animal viruses. 2nd ed, 43-102, 1974.
2. Gerdes GH, van der Lugt JJ. Electron microscopic evidence of a papillomavirus and a parapoxvirus in the same lesion. *Vet Rec*, 128:594-595, 1991.
3. Muephy FA, Fauquet CM, Bishop DHL, *et al.* Virus Taxonomy, Classification and Nomenclature of viruses. 79-91, 139-142, 1995.
4. Nettleton PF, Munro R, Pow I, Gilray J, Gray EW, Reid HW. Isolation of a parapoxvirus from a grey seal(*Halichoerus grypus*). *Vet Rec*, 137:562-564, 1995.
5. Osterhaus ADME, Broeders HWJ, Visser IKG, *et al.* Isolation of a parapoxvirus from pox-like lesion in grey seals. *Vet Rec*, 135:601-602, 1994.
6. Spradbrow PB, Ford J. Bovine papillomavirus type 2 from bovine cutaneous papilloma in Australia. *Vet J*, 60:78-79, 1983
7. Yeruham I, Abraham A, Nyska A. Clinical and pathological description of a chronic form of bovine papular stomatitis. *J Com Path*, 111:279-286, 1994.