

마레크병 백신의 개발과 그 효과

김 순 재

<가축위생연구소 제역 담당관>

1. 백신 연구개발 현황

마레크병 백신에 대해서는 백혈병에서 분리되기 전만해도 사실상 요원한 문제로 되었으나 처칠과 비그스등이 1967년에 닭의 신장세포배양에서 마레크병 병원체를 분리할 수 있다는 보고가 있은후 이와 때를 같이하여 솔로몬등이 역시 마레크병 병원체를 분리하는데 기초를 두고 백신 개발에 관한 연구가 서로 선두를 다투다시피 총력을 기울여 왔던 것이다. 이렇게 병원체가 밝혀짐과 동시에 백신개발에 관한 연구가 활발해지자 어려운 난관에 부딪치게 된것은 마레크병 바이러스는 세포 결합성 바이러스이기 때문에 감염세포를 어떻게 보존하여야 바이러스 역가가 떨어지지 않게 야외에서 사용할 수 있느냐 하는 것이었다. 그래서 액체 질소통(-196°C)에 보존하게 되었으며 칠면조에서 분리되는 허피스 바이러스를 닭에 접종함으로써 병원성 없이 마레크병을 막아낼 수 있다는 사실을 발견함과 동시에 백신 개발이 1970년초에 이루어졌던 것이다.

즉 이 허피스 바이러스가 건강한 칠면조의 신장세포배양에서 분리된다고 1969년에 가와 무라등이 처음으로 보고한데 이어 우이터와 나제리안 등이 건강한 칠면조에서 허피스 바이러스를 분리하여 마레크 병으로부터 분리되는 허피스 바이러스와 비교시험한 결과 항원적으로 서로 유사하므로 이칠면조에서 분리되는 허피스바이러스를 닭에 접종하면 마레크병

을 막아낼수 있다는 사실을 알았다. 또한 오카사기와 퍼퀴아스 등은 이 바이러스를 마레크병 예방을 위하여 백신으로 응용될 수 있음을 보고 하였다.

이 허피스 바이러스는 마레크병의 병원체와 같이 B군에 속하며 제태아 섬유아세포, 오리 태아 섬유아세포, 신장 세포 및 칠면조 신장 세포 배양에서 증식이 잘 되고 세포변성을 독특하게 형성한다. 마레크병의 허피스 바이러스와는 형태가 다르고 빨리 나타나며 세포변성의 크기도 더 크다.

또한 칠면조 허피스 바이러스는 칠면조는 물론 닭에도 병원성이 없으며 칠면조는 거의 이 바이러스를 가지고 있고 감염된 칠면조로부터 칠면조에 접촉전염이 되며 닭에 있어서는 접촉전염이 된다.

이 칠면조 허피스 바이러스를 병아리에 접종하였을 때는 접종된 병아리로 부터 다른 병아리에 전염이 되지 않으나 극소수의 경우는 전염이 된다고 보고하는 사람도 있다. 즉 조-등은 병아리에 이 바이러스를 접종할 경우에는 접촉감염이 되지 않으나 8주된 병아리에 접종하여 접종되지 않은 8주령의 병아리와 접촉하면 쉽게 접촉감염이 될 수 있다고한다.

마레크병의 감염은 초생후에 침입하여 2~3주의 잠복기를 거쳐 발병하기 때문에 예방접종은 마레크병이 감염되기전에 부화기에서 갖나왔을때 즉시 접종하여야 효과를 얻을 수 있다.

칠면조 유래 허피스 바이러스로 예방접종된 병아리는 얼마가지 않아 마레크병의 병원체인

히피스 바이러스에 감염이 되지만 발병은 하지 않고 백신 바이러스와 감염된 마렉크병 바이러스에 대한 각각 다른 항체가 생기기 되어 일생동안 지속하는 것으로 알려져 있다. 이와 같이 예방접종된 닭이 마렉크병의 병원체인 히피스 바이러스에 감염이 되어 발병은 되지 않는다해도 바이러스를 배설하게 되므로 이러한 닭은 감염되지 않은 다른 닭에게 전염원이 될수 있다.

한편 백신을 놓았을때 닭의 체내에서 어떻게 면역이 형성되는지의 기전에 대해서는 아직 밝혀지지 않았기 때문에 앞으로의 큰 연구 과제로 남아 있다. 현재 마렉크병 백신에는 두종류의 백신이 개발되어 시판되고 있다.

하나는 오리태아 섬유아세포 배양에 증식시켜 만든 세포결합성 백신이며 다른 하나는 백신 바이러스가 증식배양된 감염세포에서 바이러스만 특수기체를 이용하여 분리시켜 보호제를 가하여 냉동 건조시켜 만든 백신이다.

전자는 세포안에 바이러스(세포결합성)가 들어 있기 때문에 액체질소용(-196°C)에 넣어 보존해야 함으로 저장이나 수송하는데 불편이 많다. 후자는 세포에서 바이러스만 분리시켜 만든 백신으로서 섭씨 5도에 보존하므로 전자 보다 수송에 간편하다고는 볼 수 있으나 현재로서는 두 백신이 모두 결점을 가지고 있다. 즉 이들 백신은 첫째로 병아리마다 일일이 접종해야 한다는 불편이 있으며 둘째, 세포결합 백신은 저장이나 수송이 불편하다는 점, 세째 예방접종된 병아리는 마렉크병이 감염되었을 때 발병은 막을 수 있으나 예방접종되지 않은 닭에 감염시킬 수 있거나 마지 보균제와 같은 역할을 할 수 있다는 것이다.

한편으로는 병아리를 한마리씩 잡고 접종하기가 불편하니 병원성이 약한 바이러스로 닭에 접종 증식시켜서 그 혈액을 채취하여 계군의 10%만 접종 하므로써 접촉감염시키면 접종에 노력이 적게든다고 켄다 등이 권장 한다.

앞으로 계속해서 칠면조 유래 히피스 바이러스(HVT)백신을 사용 함으로서 야기될 가능성이 있는 문제점은 이 바이러스 백신으로

예방접종된 증계로 부터 부화된 병아리는 히피스 바이러스에 대한 모체 면역항체를 가지고 나오기 때문에 이러한 병아리에 감염세포로부터 바이러스를 분리하여 만든 백신(Cell free HVT 백신)을 접종하면 모체이행항체에 의하여 접종된 바이러스의 일부 또는 전부가 중화될수 있으며 이러한 경우에는 그 병아리가 마렉크병에 대하여 면역을 갖지 못하게 된다.

그러나 세포결합 백신을 접종하게 되면서 영향을 별로 받지 않으므로 이 바이러스에 대한 모체이행항체를 가진 병아리에는 세포결합성 백신을 접종하는 것이 효과적인 면역을 얻을 수 있을 것이다.

2. 국내 백신 연구 개발 현황

마렉크병이 백혈병으로부터 분리되어 나오기 전에는 국내에서도 백혈병의 일부로서 진단 되어 왔다.

백혈병은 암 유발바이러스로 인하여 발병되며 마렉크병은 히피스 바이러스로 인하여 조류의 전염성 중앙병이라는 것이 밝혀지기 전에는 세계 모든 나라가 백혈병으로만 취급되어 왔다는 것은 주지의 사실이다.

국내에서 마렉크병과 이 백신에 관한 연수과정을 살펴보면 마렉크병의 연구가 정상 궤도에서 이루어지기는 1968년 김, 최, 박등에 의하여 착수 되었다. 즉 닭 백혈병과 마렉크병 발생상황 조사로서 그 성적은 다음과 같다.

1) 닭 백혈병과 마렉크병 발생상황 조사

이 시험은 가끔 질병중 가장 피해를 주는 닭 백혈병과 마렉크병에 관하여 체계적이고 좀더 광범위하게 시험을 하기위한 기초자료로서 일반산란계를 대상으로 위의 두종의 병의 발생상황을 조사하였다.

표1에서 보는 바와 같이 총 사양수수 950수 중 301수(31.7%)가 폐사하였으며 이 가운데 백혈병 폐사계수는 123수(12.9%), 마렉크병은 9수(0.9%), 백혈병과 마렉크병의 복합 감염은 1수 밖에 없었다.

표 1.

제3회 경제능력검정제의 백혈병과 마력병 발생 상황

모계상황	계군번호	계 통	시험계수	총 폐 사 수	백 혈 병 과 마 력 병			
					백혈병	마력병	백혈병과 마력병 혼합 감염	총 계
도입계	1	H	50	16	10	1		11
	2	GL	50	17	6			6
	3	SS	50	21	8	3		11
	4	HS	50	11	8	1		9
	5	YS	50	24	9	1		10
	6	SAS	50	16	7			7
	7	SK	50	13	7			7
	8	S	50	10	5			5
	9	HC	50	10	2			2
	소 계		450	138 (30.6%)	62 (13.7)	6 (1.3)		68 (15.1)
국산계	10	GL	50	17	6			6
	11	GK	50	21	6			6
	12	KG	50	18	9	2		11
	13	KG	50	21	11	1		12
	14	YY	50	22	10			10
	15	R	50	6	3		1	4
	16	HG	50	18	7			7
	17	DS	50	13	4			4
	18	DS	50	8	4			4
19	DS	50	19	1			1	
	소 계		500	103 (32.6%)	61 (12.2)	3 (0.6)	1 (0.2)	133 (26.6)
총 계			950	301 (31.7%) (100%)	123 (12.9) (40.8)	9 (0.9) (3.0)	1 (0.1) (0.3)	133 (14.0) (44.2)

도입계와 국산계에 있어서의 백혈병 발생을 분석하기가 어렵다. 지정된 양계장에서의 백혈병과 마력병발생은 아래 표2와 같다. 경우는 총 9예가 극히 산발적으로 발생되어

표 2.

지정 양계장에서의 백혈병과 마력병 발생상황

계 통	사 양 기 간	사 양 규 모	도태 및 폐사		백혈병과 마력병 폐사계							
					백혈병		마력병		백혈병과 마력병 혼합 감염		총 계	
			No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
S	255	565	318	56	149	26.4	10	1.8	5	0.9	164	29
D	270	505	229	45	57	11.3	4	0.8	2	0.4	63	12
H	291	1,500	754	50	72	4.8	19	1.3	3	0.2	94	6
총 계		2,570	1,301	51	278	10.8 (87) (100%)	33 (10) (2.5)	10 (3) (0.8)			321 (100%) (24.6)	12

※ 안형 1수 포함.

표2에서 보는 바와 같이 총 사양수 2,570수 중에서 도태 및 폐사율은 1,301수 (51%)로서 경제능력 검정제에 비하여 월등히 높은데, 이것은 자연폐사되기를 기다리지 않고 병증을 나타내는 즉시 도태 부검한데 원인이 있었다.

전 계군중 백혈병 발생율은 10.8%(278수)로 3회 검정제와 비슷한 반면에 마레크병은 1.3%(33예)로 백혈병보다는 훨씬 낮은 발생율을 보여 주고 있다.

계통별로 백혈병은 S계통이 26.4%(149수)

로서 가장 높고 DS계통은 11.3%(57수), H계통은 4.3%(72수)로서 가장 낮다. S계통과 DS계통은 같은 종계장에서 분양되어 같은 양계장에서 사양되었으나 계통에 따라 현저한 차이를 나타내고 있다.

마레크병에 있어서는 백혈병과 마찬가지로 S계통이 8%(10수)로 가장 높고 DS계통은 0.8%(4수)로 가장 낮았으며 H계통은 1.3%(19수)이었다.

한편 닭의 월령별로 백혈병 및 마레크병 발생을 보면 표3에서 보는바와 같이 지정 양계

표 3. 백혈병과 마레크병의 월령별 발생상황(지정양계장)

질 병	월 령												총 계
	3		4		5		6		7		8		
	수	%	수	%	수	%	수	%	수	%	수	%	
백혈병	4	2	41	14	110	40	98	35	23	9	2	1	27
마레크병	4	13	16	48	11	34	2	6					3
백혈병과 마레크병 혼합 감염	2	20	1	10	5	50	1	10	1	10			1
총 계	10	3	58	18	126	40	101	31	24	7	2	1	321

장의 3계통 2,570수중 백혈병과 마레크병으로 도태 및 폐사한 321수의 월령별 발생상황을 조사한 것으로서 백혈병은 3개월령에서 부터 발생되기 시작하여 5개월령에 이르러 40%로 최고에 도달하고 8개월령 이후에는 극히 드물었다. 백혈병 폐사율의 90%는 4~7개월령에서 발생되었다. 마레크병의 경우도 마찬가지로 3개월령에서 부터 발생되어 4개월령에 최고에 도달 되었고 7개월령 이후에는 발생예를 볼수 없었다. 마레크병으로 인한 폐사율의 90% 이상이 3~5개월령에서 발생되었다.

이상의 백혈병과 마레크병의 발생상황을 종합적으로 관찰하여 보면 1968년 4월 부터 500일간 관찰된 제 3회 검정제 19계통 950수 중 마레크병 발생율은 0.9%(9수)에 불과 하였고 백혈병은 계통에 따라 최고 22%, 최하 2%, 평균 12.2%의 발생율을 보여 주었다.

지정 양계장에서는 3계통 2,570수중 백혈병과 마레크병의 병별 발생율은 백혈병 4.8~26.4%, 마레크병 0.8~1.8%였다.

백혈병의 발생시기는 3개월령에서 부터 시

작하여 5개월령에 최고에 달하고 8개월령 이후에는 발생이 극히 드물었다. 마레크병은 90% 이상이 3~5개월령이었다.

2) 마레크병의 병원체에 관한연구

마레크병 백신 개발을 위한 연구는 실제로 이때 부터라고 할수 있다.

마레크병 백신개발과 진단을 위한 기초자료를 위해서 감염제로 부터 바이러스 분리, 분리바이러스의 성장조사로 동정하며 항체검출방법등의 기술을 확립하는데 목적을 두고 시험을 하였다.

표4에서 보는바와 같이 계태아 섬유아세포, 오리태아 섬유아세포 및 닭의 신장세포배양에 의하여 감염제의 각 장기 즉 신장, 난소, WBC, 간등에서 바이러스를 분리하여 성장조사를 하였다.

분리된 바이러스의 성장조사는 표5에서 보는 바와 같다.

이더(Ether), 클로로폼(Chloroform) 및 IDUR 등에 감수성 시험을 하였으며 염색반응

표 4.

아의 발생예로 부터의 장기별 바이러스 분리율

바이러스주	분리 방법	장 기										
		뇌	난소	심장	신장	간	폐	취장	비장	F낭	혈액	WBC
m-812	CK	2	4	—	5	1	—	—	—	2	—	4
	DEF	5	12	—	25	6	—	1	3	6	—	18
m-1020	CK	—	5	1	12	2	—	—	2	7	—	5
	DEF	2	15	1	21	3	—	1	5	13	—	12
413	CK	1	7	2	4	—	1	2	—	1	—	3
	DEF	1	18	1	6	5	1	3	—	5	—	6
계	CK	3	16	3	21	3	1	2	2	10	—	12
	DEF	8	45	2	52	14	1	5	8	24	—	36

CK; 탐신장세포

DEF; 오리태아 섬유아세포

※ 신장, 혈액, WBC는 세포수를 10⁶/ml로, 기타장기는 10%(W/V)로 유제하여 0.1ml씩 접종하였음.

에는 MGG, MGP 및 HE등을 사용하였으며 이것은 바이러스의 핵산을 보기위한 반응으로서 MGG와 MGP 반응에 모두 허피스 바이러스인 DNA 핵산을 가지고 있었다. 감수성 시험에서 이더 클로로폼 및 IDUR에 각각 감수성이 있었다.

표 5. 분리 바이러스 특성조사

바이러스 분리주	세포변성	감수성			염색 반응		
		이더	클로로폼	IDUR	MGG	MGP	HE
m-812	동글고 굴절형	+	+	+	DNA	DNA	Eosinophilic
m-1020							
413							

MGG; May-Greenwald Giemsa
MGP; Methyl Green Pylonin
HE; Henatoxylin Eosin } 염색액

이 시험을 종합하여 보면 감염계로 부터의 바이러스 분리는 신장, 난소, WBC등의 순서로 세포변성 형성이 많았으며 오리태아 섬유아세포 배양법이 신장 세포 배양법 보다 우수하였다. 감염계로 분리된 바이러스는 배양세포에서 동글고 굴절율이 높은 세포변성을 이르고 화학적 감수성 및 염색반응에서도 허피스의 특징적인 성상을 나타내었다.

3) 마렉크병 백신 생산에 관한 기초적인 연구

이 시험은 마렉크병 백신개발의 직접적으로

관련되는 시험으로서 현재 진행중에 있으며 그 성적 일부를 소개하고자 한다.

가금용 생독백신 제조에 조류의 종란을 사용하므로 제란을 통하여 전염될수 있는 전염병이 문제가 된다.

표 6은 오리태아 섬유아 세포와 계태아 섬유아 세포 배양에 칠면조 유래 허피스바이러스의 증식성을 비교한 시험으로서 각각 부화 10일령의 태아 섬유아 세포 배양에 증식성을 비교한결과 계태아 섬유아 세포배양에서 바이러스 증식이 양호하였다.

표 6. 오리태아 및 계태아 섬유아세포에서 HVT 증식성

바이러스	역가 (PFU/ml)	
	오리태아 세포	계태아 세포
오리태아 순화	12.1 × 10 ³	15.6 × 10 ⁴
HVT	8.6 × 10 ⁴	16.4 × 10 ⁴
계태아 순화	7.6 × 10 ⁴	17.2 × 10 ⁴
HVT	10.7 × 10 ⁴	25.9 × 10 ⁴
	12.5 × 10 ⁴	24.3 × 10 ⁴
		24.6 × 10 ⁴

HVT; 허피스 바이러스

백신을 제조하였을때 백신이 지니고 있는 제조 당시의 역가가 냉동기에 보존하였을 경우에도 크게 변동을 가져 와서는 않되기 때문에 온도별로 보존성을 시험 하였던바 표2에서 보는 바와 같다.

-20°C에 보존한것은 바이러스 역가가 낮기

때문에 여기에는 보존할수 없으며 -80°C 와 바이러스 역가에 별로 차이 없이 바이러스 역액체질소통에 보존한 -196°C 에서는 양자간에 가를 보유하고 있다.

표 7. 시험백신 보존시험

온도	보존기간 (월)		1		2		3	
	V	T	V	T	V	T	V	T
-20°C	100%	24.5×10^3	20%	0	0	0	0	0
-70°C	"	"	93.0%	20.0×10^3	91.0%	18.2×10^3	93.0%	18.7×10^3
-196°C	"	"	93.6%	20.5×10^3	96.3%	20.3×10^3	96.3%	20.0×10^3

※ V: 세포 생존율 T: 역가

백신을 제조하여 동결 시키는 방법에 따라 바이러스 역가에 변동이 심하므로 이를 보기 위하여 시험하였다.

표8에서 보는 바와 같이 냉동기에 보존전, -75°C , -75°C (솜), 5°C 에 1시간 냉각 시켰다가 -20°C 로 옮긴다음 1시간후에 -75°C 에 옮겨 보존하는 방법 및 -20°C 에서 -75°C 로 옮기는 방법등을 비교 하였던바 -20°C 에서 -75°C 로 옮겨 보존하는 방법이 가장 좋았다.

한편 닭에 대한 안전성을 조사하기 위하여 병아리 1일령에 접종하였던바 반응없이 안전하였다.

표 8. 보존방법에 따른 세포생존율 및 역가조사

온도	세포 생존율 (%)	역가 (PFU/ml)
보존전	90	6.0×10^4
-75°C	41.0	0.3×10^4
※ -75°C (솜)	63.0	2.4×10^4
$5^{\circ}\text{C} \rightarrow -20^{\circ}\text{C} \rightarrow -75^{\circ}\text{C}$	73.0	3.0×10^4
$-20^{\circ}\text{C} \rightarrow -75^{\circ}\text{C}$	78.0	5.2×10^4

※ -75°C (솜) : 솜에 싸서 보존.

이 시험을 종합하여 보면 아래와 같다.

1) 오리 태아 섬유아 세포 배양에서 보다 계태아 섬유아 세포배양에서 보다 더 바이러스 증식이 좋았다.

2) 보존 시험에서는 -70°C 와 -196°C 에서 만 보존할수 있다(세포결합성인 경우)

3) 보존 방법에 있어서는 -20°C 에 1시간 보존하였가 -75°C 에 옮겨서 서서히 동결보존하는 방법이 바이러스 역가가 가장 좋았다.

4. 야외응용과 그 효과

가금 질병중 마레크병이 막대한 피해를 주기 때문에 이의 예방을 위하여 백신개발의 필요성을 느껴 현재 미국을 비롯하여 몇개국에서 개발 응용하고 있다. 우리나라에서는 아직 백신이 개발되지 않아 외국으로 부터 도입되는 백신에 의존하여 마레크병을 예방하고 있는 실정으로서 본 병의 근본적인 예방을 위하여 백신 개발이 시급히 요망된다.

즉 칠면조 유래 HVT로 만들어진 백신으로 예방 접종된 모체로부터 부화된 병아리에 칠면조 유래 HVT로 제조된 세포 결합성 백신으로 접종하였을 경우에는 모체 이행 항체에 의한 영향을 적게 받을 수 있으나 칠면조 유래 HVT로 제조된 세포 Free 냉동 건조된 백신으로 접종하였을때는 모체이행 항체에 의하여 일부 또는 전부가 중화될 가능성이 있기 때문에 이러한 경우 백신의 효과를 얻을 수 없다.

그러므로 백신의 효과는 90% 이상으로 보는 것이 합리적이며 100%의 효력을 기대할 수는 없을 것이다.

한편 백신 접종 일령에 대해서는 부화기에서 병아리가 나오면서 마레크병 바이러스가 공기, 비듬 또는 직접, 간접으로 전염 될수 있으므로 부화기에서 나오는 즉시 접종하는 것이 효과적이다.

백신 접종하여 항체 형성이 최고에 도달하는 시기는 접종후 3주 내지 4주이기 때문에 가능한한 어린 병아리에 접종해야 한다. ■