

## *Babesia gibsoni*에 感染된 개의 血清蛋白百分劃에 관한 연구

인동철 · 이주복 · 채준석 · 차현성

전북대학교 수의과대학

(1990. 12. 4 접수)

### Studies on the electrophoretic analysis of serum proteins in dogs infected with *Babesia gibsoni*

Dong-cheol Ihn, Joo-muk Lee, Joon-seok Chae, Hyeon-sung Cha

College of Veterinary Medicine, Chonbuk National University

(Received Dec 4, 1990)

**Abstract:** To observe the changes of serum proteins according to the process of *Babesia gibsoni*(*B. gibsoni*) infection, the babesia protozoa( $10^8$ /kg) were inoculated into the cephalic vein of healthy dogs. The serum proteins of experimentally infected dogs were separated by using cellulose acetate electrophoresis.

The results obtained were as follows;

1. Cellulose acetate electrophoresis was fractionated to total 6 of bands such as, albumin,  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  and  $\gamma$ -globulin.
2. The concentration of total protein was shown a decreasing tendency after *B. gibsoni* infection. Albumin and A/G ratio were lowered through all periods of the infection, but they were not significant changes.
3. The level of  $\alpha_1$ -globulin was significantly( $p < 0.05$ ) increased in early stage of the infection.
4. The levels of  $\alpha_2$  and total  $\alpha$ -globulin were shown highly significant decreases ( $p < 0.01$ ) through all periods of the infection.
5. The levels of  $\beta_1$  and total  $\beta$ -globulin had highly significant changes ( $p < 0.01$ ) that was increased in early stage of infection and decreased later.
6. The level of  $\gamma$ -globulin was seen to be constantly increased through all periods of infection. It was a highly significant change ( $p < 0.01$ ).
7. Plasma protein : fibrinogen (PP:F) ratio was shown a temporally significant increase ( $p < 0.05$ ) following the decrease in early infection.

**Key words:** *B. gibsoni*, cellulose acetate electrophoresis

### 緒 論

Canine babesiosis<sup>1-10</sup>의 원인이 되는 *Babesia gibsoni* (*B. gibsoni*)는 赤血球를 침해하는 주혈원충으로서 고열, 식욕부진, 침윤, 가지점막의 창백, 용혈성 빈혈, 혈액소변 등의 主症狀을 나타내는 것은 널리 알려진

사실이다. 또한 Seneviratna<sup>11,12</sup>와 Groves<sup>13</sup> 등에 의하면 이 질환은 肝臟과 脾臟에도 커다란 영향을 주게 되어 脾臟腫大<sup>14</sup>와 肝腫大가 나타남을 알 수 있다. 간이나 비장과 같은 장기들은 혈청단백성분, 즉 albumin과  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ -globulin을 생산하는 주요한 장기이다. 따라서 이러한 장기가 손상을 받는다는 것은 혈청단백성분의

생산에도 영향을 미치게 됨을 의미하는 것으로 생각되어진다.

한편, 혈청단백질 중  $\beta$ -globulin의 일부와  $\gamma$ -globulin은 면역계와 관련된 항체를 함유하고 있으므로 이 성분들의 변화를 관찰하는 것은, IFA와 ELISA 등의 면역 진단법과 함께 보조 진단법으로서 도움이 될 수 있을 것으로 생각되어진다.

본 실험은 cellulose acetate electrophoresis를 통해 이러한 혈청단백질의 변화를 조사하여 보고자 하는데 그 목적이 있다.

血清蛋白을 분획, 측정하는 방법에는 Howe<sup>15</sup>의 염석법(salting out method), Tiselius<sup>16</sup>의 moving boundary technic 등이 사용되어 왔으나 이방법들은 조작이 복잡하고 혈청단백질분획중 globulin의 분획이 뚜렷하지 않아서 문제점이 많았다. 그러나 그 후의 계속적인 노력으로 독일의 Wieland & Fisher,<sup>17</sup> Turba & Enenkel<sup>18</sup> 그리고 미국의 Durrum<sup>19</sup> 등이 濾紙電氣泳動法을 이용하여 종래의 문제점들을 해결하기에 이르렀다.

최근에는 濾紙電氣泳動裝置와 그 원리를 이용하여 cellulose acetate,<sup>20,21</sup> agarose gel,<sup>22,23</sup> starch gel<sup>24</sup> 등의 지지체를 이용한 전기영동법이 많이 활용되고 있다.

이들중 본 실험에 사용된 cellulose acetate electrophoresis는 濾紙상에서의 band들의 경계가 불분명한 점을 보완해주고 단백질을 분리하는데 소요되는 시간이 짧으며 또한 분리가 깨끗이 된다는 장점이 있어서 人醫<sup>25</sup>에서는 진단용으로, 獸醫學<sup>26-28</sup>에서는 연구목적으로 널리 이용되고 있는 방법중의 하나라 할 수 있다.

개의 정상 혈청으로 전기영동을 하여 혈청단백을 그 종류별로 분획하는 작업은 이미 선인<sup>29-33</sup>들에 의해서 이루어져 band 수와 각 band에 대한 정상 농도도 이미 확립이 되어 있다. 또한 여러 질병 상태에 있는 환견의 혈청단백의 변화도 보고<sup>34-36</sup>가 되고 있으며 이 문헌들에 의하면 각 질병은 그 질병만이 나타내는 특정 단백질성분의 증가 또는 감소라는 현상이 나타남을 알 수 있다.

그러므로 저자는 실험견에서 인공적으로 *B gibsoni* 원충을 감염시킨 후 일정한 간격으로 혈청을 회수하여, cellulose acetate 막을 지지체로 하는 전기영동을 실시하여, 감염이 진행됨에 따라 albumin과  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ -globulin 성분들이 어떠한 변화양상을 나타내게 되는가에 관하여 그리고 이러한 소견들이 이 질환의 특이 진단법의 하나로 이용 가능한지 그 여부도 함께 알아 보기 위하여 본 실험을 실시하게 되었다.

## 材料 및 方法

**Babesia** 원충주: *B gibsoni* 원충주는 全北 鎮安地方에서 자연감염된 개의 혈액으로부터 회수하였고, 원충의 확인은 Giemsa 염색한 혈액도말표본을 경검( $\times 1,000$ )하여 확인 하였다. 회수한 원충(적혈구내 감염율: 3%)을 실험실에서 사육중인 잠종견(No. B-1)에게 인공 접종시킨 후 脾臟을 摘出한 개(No. B-2)에게 다시 접종하여 원충을 증식(감염율: 218%)시킨 후 본 실험에 사용 하였다.

**實驗動物**: 실험동물은 전북대학교 동물병원 내과학교실에서 사육하고 있던 생후 5개월령에서 1년생인 체중 6kg~15kg의 雜種犬들 중 임상적으로나 혈액검사상 건강하다고 판단되는 개들을 암 수 구별없이 challenge용으로 5두, 원충증식용으로 2두를 비장적출하여 본 실험에 사용 하였다.

이들 실험동물들은 실험실시 1개월전에 내부기생충에 대한 구충을 2회 실시하였고, canine distemper, canine parvovirus, infectious canine hepatitis 그리고 leptospirosis에 대한 예방접종을 실시 하였다.

**人工感染 및 採血**: 실험동물에 대한 *B gibsoni*의 challenge는 각 개체에 대한 원충수가 kg당  $10^8$ 개가 되도록 하여 전혈을 요측피정맥내로 접종 하였다.

접종 후 첫번째 채혈은 1주일째 실시하였고, 그 후는 실험이 완료될 때까지, 3~4일 간격으로 38일동안(총 8회) 감염견의 경정맥 또는 요측피정맥에서 채혈을 실시 하였다.

**血清回收**: 혈액검사용 외에 혈청회수 목적으로 5마리의 실험견으로부터 경정맥 또는 요측피정맥으로부터 각기 2~3ml의 혈액을 채취 하였다. 채혈한 혈액을 실온에서 혈병을 형성시킨 후, 냉장상태에서 혈병을 퇴축시켰다. 그 후에 2,000rpm으로 20분간 원심분리하여 혈청을 얻었다. 회수한 혈청(5두 $\times$ 8회=40개)들은 전기영동을 실시하기전 까지  $-20^{\circ}\text{C}$ 에서 보관 하였다.

**血清總蛋白測定**: 혈청총단백량은 일반적으로 많이 사용하는 Goldberg 굴절계(ATAGO, Japan)를 이용하여 측정을 하였다.

**Cellulose Acetate (CA) Electrophoresis**: 먼저 CA Plate(Titan III, Cat. No. 3023, 60 $\times$ 76 $\times$ 76mm)를 barbital buffer(pH 8.6, I.S, 0.06)에 20분간 침적시키는 한편 전기영동 chamber(Helena Laboratories, Beaumont, Texas)의 양편 수조를 barbital buffer(약 50ml씩)로 채운다. microdispenser를 이용하여 sample well plate에 가검혈청을 5 $\mu$ l씩 분주한 후 applicator로 well plate의 혈청을 3~4회 blotter에 도포하였다.

buffer에 담가 두었던 cellulose acetate plate을 꺼내어 습기를 제거한 후 applicator에 현청을 충분히 묻혀서 cellulose acetate plate에 5초간 도포 하였다. 지체없이 cellulose acetate plate을 chamber에 뒤집어서 걸쳐놓고 하중을 가하였다. 그 후 180 volts로 15분간 전압을 공급하여 영동을 실시 하였다.

영동이 끝난 후 즉시 Ponceau-S 염색액(5% trichloroacetic acid sol. +0.5g Ponceau S+5% acetic acid)으로 10분간 염색을 실시 하였고, 5% acetic acid 용액을 3번씩 갈아주면서 탈색을 시켰다.

그 후 두번에 걸쳐 absolute methanol에 2~3분간씩 옮기면서 탈수를 시키고 rinse solution(gla. acetic acid: metanol=1:4)으로 투명화 시킨후, 50~60°C의 hot air oven에서 건조를 시켰다.

영동이 끝난 plate를 파장 525nm하에서 densitometer (German Co., USA)로 각 band에 대한 농도곡선과 그 곡선이 차지하는 면적에 따른 각 단백질성분의 백분율을 얻었다.

기타 검사 : 혈장단백 : 섬유소원의 비율(PP:F Ratio)은 혈장단백의 농도에서 섬유소원치를 뺀 값을 섬유소원치로 나누어서 산출하였다. 원충의 감염율은 적혈구 1,000개당 감염적혈구의 수를 세어서 %로 표시하였다.

### 結 果

*B gibsoni* 원충을 실험적으로 개에게 감염을 시켜서 일정한 간격으로 회수한 현청을 cellulose acetate 막을 지지체로 한 전기영동을 실시한 결과, Fig 1. 과 Fig 2. 에서 보는 바와 같이 총 6개의 band(albumin과  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,

$\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\gamma$ -globulin)를 얻을 수 있었다. 이 band들은 감염전과 감염이 진행되는 동안에 농도의 차이는 나타나었으나 그 수는 항상 일정 하였다.

Fig 2는 Fig 1의 band들을 densitometer로 읽어서 나타난 농도곡선으로 감염이 진행되는 동안 혈청단백들의 변화양상을 볼 수 있다.

혈청단백의 각 성분별 변화치는 다음과 같다.

**Total protein의 변화** : 혈청총단백량의 변화는 Table 1에 표시된 바와 같으며, 감염전( $6.2 \pm 0.58g/dl$ )에 비해서 감염 후 실험 전기간을 통해서 대체로 낮은 수치를 나타내고 있음을 볼 수 있는데, 특히 감염 후 7일, 21일 그리고 28일에는 각각  $5.3 \pm 0.42g/dl^*$ ,  $5.1 \pm 0.46g/dl^*$  그리고  $5.1 \pm 0.71g/dl^*$ 로 유의성 있는 낮은 농도를 나타내었다(Table 1).

**Albumin의 변화** : 감염전의 알부민 농도는  $40.3 \pm 3.89\%$ 이었으나, *B gibsoni*에 감염된 후부터는 약간의 변동을 보이면서 전반적으로 낮은 수치를 유지 하였으나, 28일째에는 감염전 수준으로 회복되었다(Table 1). 그러나 이러한 변화들은 통계상으로 유의성이 있는 변화는 아니었다.

**Globulins의 변화** : 총글로부린치(Table 1)는 알부민 농도와 정반대로 감염전( $59.7 \pm 3.89\%$ )에 비해서 감염 후(7일~24일째)에는 지속적으로 증가된 경향을 나타내었으나 통계적으로 유의성은 없었다.

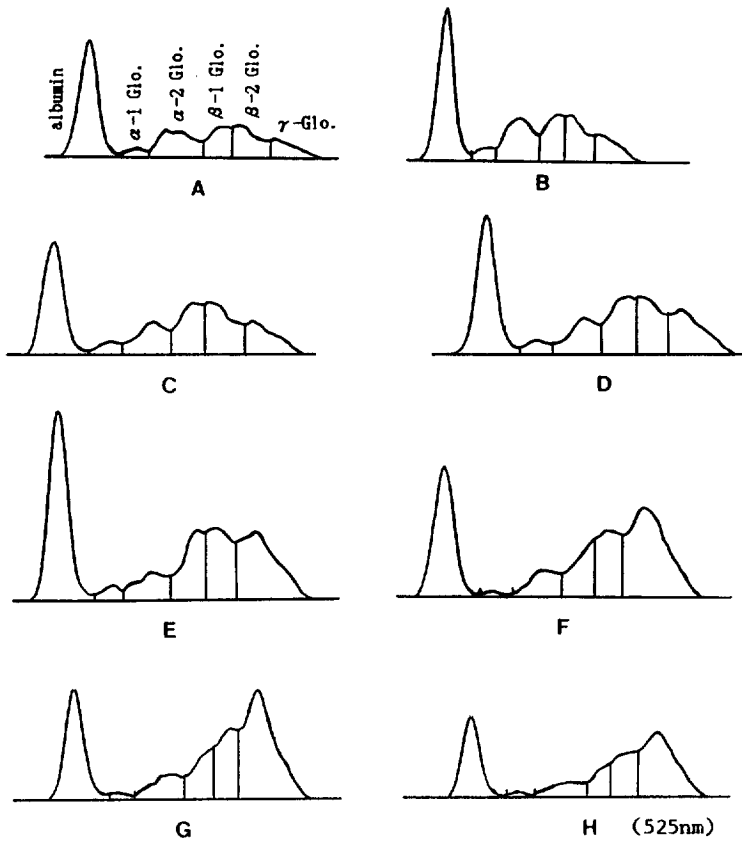
**$\alpha$ -Globulins의 변화** :  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ , total  $\alpha$ -globulin의 변화는 Fig 3에 표시되어 있다.

$\alpha_1$ -글로부린은 감염전  $3.1 \pm 0.84\%$  이었는데, 감염적 후부터 급격히 상승하기 시작하여 감염후 10일째 최고



Fig 1. The electrophoretic patterns of serum proteins in the dog (No. B-3) infected with *Babesia gibsoni* (using cellulose acetate).

A: before infection. B: 7th day after infection. C: 10th day D: 14th day.  
E: 17th day F: 21th day G: 24th day H: 28th day.



**Fig 2.** The densitogramic patterns of the separated bands appearing in Fig 1.  
 A: before infection. B: 7th day after infection. C: 10th day.  
 D: 14th day. E: 17th day. F: 21th day. G: 24th day.  
 H: 28th day.

**Table 1.** Changed values of total protein, albumin, globulins and A/G ratio in dogs infected with *Babesia gibsoni*

Days	0	7	10	14	17	21	24	28
Proteins	(Mean ±SD)	(Mean ±SD)	(Mean ±SD)	(Mean ±SD)	(Mean ±SD)	(Mean ±SD)	(Mean ±SD)	(Mean ±SD)
T.P(g/dl)	6.2±0.58	5.3±0.41*	5.7±0.53	5.4±0.61	5.6±0.68	5.1±0.46*	5.8±1.09	5.1±0.71*
Albumin(%)	40.3±3.89	37.7±4.24	38.6±4.96	37.7±4.24	36.1±5.65	35.4±6.04	36.5±7.70	40.8±8.30
Globulins(%)	59.7±3.89	62.3±4.24	61.4±4.96	62.3±2.86	63.9±5.65	64.6±6.04	63.5±7.70	59.2±8.30
A/G ratio	0.68±0.12	0.61±0.11	0.64±0.13	0.61±0.07	0.58±0.14	0.56±0.15	0.59±0.18	0.71±0.21
serum sample (No.)	5	5	5	5	5	5	5	5

\*: significantly different(p<0.05) from before infection(0 day).

T.P: total protein A/G: Albumin/Globulin

치인  $5.2 \pm 0.82\%$ \*를 나타내어 유의성있는 증가( $2.46 > 2.34 = F_{0.05}$ )를 보였으나, 이 시기를 기점으로 다시 하강하여 감염 21일째에는 감염전 수준인  $3.1 \pm 1.08\%$ 로 회복되었다.

$\alpha_2$ -글로부린(감염전  $19.2 \pm 1.10\%$ )은 *B gibsoni*에 감염된 후 그 농도가 급격히 감소하여 감염 17일( $10.7 \pm 1.55\%$ \*\*)부터는 고도의 유의성있는 감소를 나타내었고, 그 후에도 지속적으로 감소하여 감염 28일에는 최

저치인  $9.7 \pm 2.07\%^{**}$ 로서 역시 고도의 유의성( $10.54 > 3.29 = F_{0.01}$ ) 있는 변화를 보였다.

총  $\alpha$ -글로부린치는  $\alpha_2$ -글로부린치와 변화양상이 유사하여 감염전  $22.3 \pm 1.13\%$ 를 나타내었던 총  $\alpha$ -글로부린치가 감염 직후부터 급격히 감소하기 시작하여 감염 17일에는  $14.1 \pm 2.47\%^{**}$ 에 이르렀고, 감염 28일째에는 최저치인  $13.0 \pm 1.63\%^{**}$ 를 나타내는 고도의 유의성( $8.12 > 3.29 = F_{0.01}$ ) 있는 변화를 보였다.

**$\beta$ -globulins의 변화:**  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ , total  $\beta$ -globulin 농도의 변화는 Fig 4에 표시되어 있다.

$\beta_1$ -글로부린치는 감염전  $10.8 \pm 2.32\%$  이었으나 *B gibsoni*에 감염되면서부터 그 수치가 급격히 증가하기 시작하여 감염 후 10일째 최고치인  $14.0 \pm 2.36\%^{**}$ 로 높은 농도를 나타내었으나, 그 이후부터는 꾸준히 감소하기 시작하여 실험종료일인 감염 후 28일에 최저치( $8.0 \pm 1.33\%^{**}$ )를 나타내는 고도의 유의성 있는 변화곡선( $7.32 > 3.29 = F_{0.01}$ )을 나타내었다.

$\beta_2$ -글로부린치는 *B gibsoni* 감염 후 초기에 일시적으로 증가되었다가 감소하여 감염전 수준으로 되돌아갔으나, 이러한 변화는 통계적으로 유의성 있는 변화는 아니었다.

총  $\beta$ -글로부린치는 감염 후 7일과 10일에 각각  $31.4 \pm 3.23\%^{**}$ 와  $30.5 \pm 3.00\%^{**}$ 로 증가 되었다가 그 이후에는 감소하는 양상을 나타내었고, 감염 28일에는 최저치인  $22.6 \pm 2.79\%$ 를 나타내는 역시 고도의 유의성( $7.37 > 3.29 = F_{0.01}$ ) 있는 변화곡선을 나타내었다.

**$\gamma$ -globulin의 변화:**  $\gamma$ -글로부린 농도의 변화는 Fig 5에 나타나 있다. 감염전의  $\gamma$ -글로부린의 농도는  $11.1 \pm 2.14\%$ 이었으나 감염이 시작되면서부터  $\gamma$ -글로부린의 농도가 지속적으로 서서히 증가하는 경향을 보여서 감염 후 21일째에는  $24.6 \pm 6.63\%^{**}$ 로 최고치에 이르렀고, 그 후 24일과 28일에도  $24.2 \pm 7.71\%^{**}$ 와  $23.5 \pm 6.85\%^{**}$ 로 유지되어 변화곡선은 고도의 유의성( $4.12 > 3.29 = F_{0.01}$ )을 보였다.

**A/G ratio의 변화:** A/G ratio는 감염전에 비해서 감염 후에 전반적으로 낮은 수준을 나타내다가 감염 후 28일째에는 감염전 수준으로 되돌아가는 경향을 보였으나 통계상의 유의성은 없었다(Table 1 참조).

**Plasma protein: fibrinogen(PP:F) ratio의 변화:** PP:F ratio는 Fig 6에 그 변화상이 나타나 있다. 실험 전기간을 통해서 보면 감소와 증가가 반복되었는 다, 다만 최저 감소일인 감염 10일째와 최고 증가를 보인 감염 14일째에서만 유의성 있는 차이( $2.52 > 2.34 = F_{0.05}$ )를 찾아볼 수 있었다.

***B gibsoni* 감염율의 경시적 변화:** 적현구내의 Babe-

sia 원충의 출현 상태에 대한 경시적 검사에서는 감염 일주일째에 6%의 감염율을 나타내기 시작하여 계속적으로 증가하여 감염 후 17일째에 peak(55%)에 도달한 후 감소하는 양상을 보였다.

## 考 察

개의 혈청으로 cellulose acetate 전기영동을 실시했을 때 나타나는 band 수에 대해서는 다음과 같은 여러 가지 이견이 많은데, Farrow & Penny<sup>33</sup>에 의하던 정상 개의 혈청으로 전기영동을 실시한 결과 모두 5개의 band로 나눌 수 있다고 하였고, Ruakura<sup>37</sup>는 개의 혈청 단백 전기영동에서의 band 수는 총 7개라고 주장하였다. 사실 이들의 전기영동상이나 densitogram 상은 비슷한데 전자의 경우는  $\beta$ -globulin을  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ 로 세분하지 않았기 때문이었고, 후자의 경우는  $\alpha$ -globulin을  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\alpha_3$ 로 3등분했기 때문에 차이가 있었다. 그러나 여러차례의 workshop을 통해  $\alpha_2$ -globulin과  $\beta_1$ -globulin에서는 double peak가 나올 수 있다는 의견에서 총 6개의 band로 합의점을 찾았다.<sup>31,31,38</sup> 본 실험에서도 감염에 관계없이 모두 6개의 band(Fig 1)를 얻을 수 있었고,  $\alpha_2$ -globulin에서 double peak가 나타남을 종종 볼 수 있었다(Fig 2. A, E, G).

혈청총단백량(Table 1)은 전반적으로 낮은 농도를 보이는 바, 이러한 양상은 다른 주혈원충성 질환인 소의 theileriosis<sup>39</sup>와 babesiosis<sup>40</sup>, 그리고 *Eperythrozoon wenyoni*와 *Trypanosoma theileri*에 감염된 소<sup>41</sup>에서도 관찰되는 것으로서 이것은 주혈원충성 질환의 공통된 소견인 것 같다. 그외에도 질환은 아니지만 식육부진, 빈혈, 간손상 등의 요인에 의해서도 혈청총단백량이 감소된다<sup>42,43</sup>고 하는 바, 본 실험(canine babesiosis)에서도 관찰되는 혈청총단백량의 감소는 아마도 이러한 요인들에 의한 것이 아닌가 생각된다.

Fig 3를 보면, 총  $\alpha$ -글로부린치가 *B gibsoni*에 인공 감염된 직후부터 급격히 감소되는 양상을 나타내는 것을 알 수 있는데, Tagahashi<sup>39</sup>도 소의 theileriosis에서, Fuhinaga<sup>40</sup>는 bovine babesiosis에서 이와 비슷한 총  $\alpha$ -글로부린의 감소를 보고하고 있다.

$\alpha_1$ -글로부린치(Fig 3)는 감염 직후에 급격히 증가( $5.2 \pm 0.82\%^{*}$ )되는 것을 알 수 있다. 그런데 총  $\alpha$ -글로부린치가 감소됨에도 불구하고  $\alpha_1$ -글로부린의 농도가 증가되었다는 것은 재미있는 현상이 아닐 수 없다.

$\alpha_2$ -글로부린치(Fig 3)는 총  $\alpha$ -글로부린처럼 감염 직후부터 그 농도가 꾸준히 감소되는 것을 알 수 있다. Fex, et al.<sup>44</sup>에 의하면  $\alpha_2$ -글로부린내에는 prealbumin이라는 성분이 함유되어 있는 것으로, 이 성분은 간기

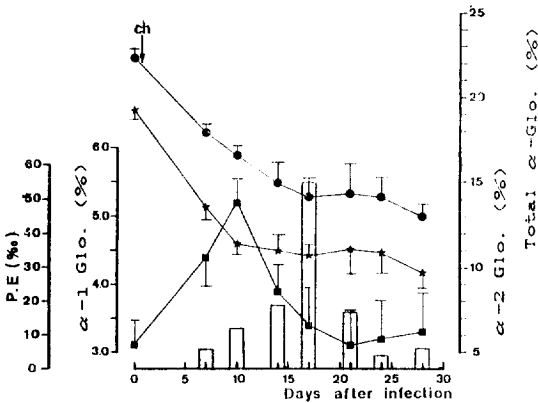


Fig 3. The changed mean values  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  and total  $\alpha$ -globulin in dogs infected with *Babesia gibsoni*.

■—■:  $\alpha_1$ -globulin. ●—●: total  $\alpha$ -globulin.  
\*—\*:  $\alpha_2$ -globulin. ch: challenge.  
□: PE; Parasitized Erythrocytes.

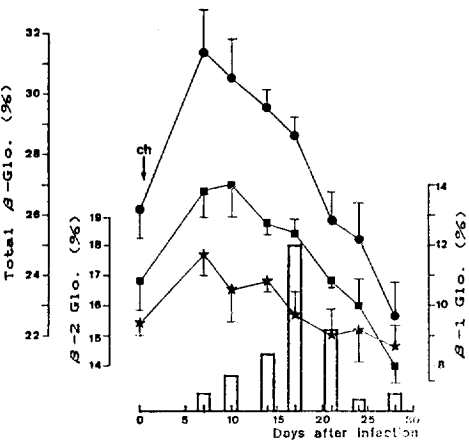


Fig 4. The changed mean values of  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  and total  $\beta$ -globulin in dogs infected with *Babesia gibsoni*.

■—■:  $\beta_1$ -globulin. \*—\*:  $\beta_2$ -globulin.  
●—●: total  $\beta$ -globulin. ch: challenge.  
□: PE; Parasitized Erythrocytes.

능 손상시에 그 농도가 감소<sup>45</sup> 된다고 한다. 또한,  $\alpha_2$ -글로부린내에는 glycoprotein,<sup>46</sup> ceruloplasmin,<sup>43</sup> haptoglobin<sup>47</sup> 성분도 함유되어 있는 것으로 보고가 되어 있는 바, 이 성분들 중 Harvey와 Gaskin<sup>48</sup>에 의하면 haptoglobin은 자가면역성 용혈성 빈혈과 haemobartellosis, 무력한 조혈작용, 혈액색소<sup>43</sup>, 심한 영양장애 그리고 스테로이드제제 사용시<sup>49</sup>에 현저히 감소된다고 한다. 또한 ceruloplasmin level도 영양장애와 간질환

시에 감소된다고 한다. 본 실험에서의  $\alpha_2$ -글로부린의 감소는 용혈성 질환시에 결여되는 haptoglobin 성분 하나에 의한 것인지 아니면 위에 언급된 다른 성분들도 함께 감소한 결과에 의한 것인지는 더 연구되어야 할 과제라고 생각한다.

총  $\beta$ -글로부린(Fig 4)은 감염 초(7일~10일)에는 상승을 나타낸 후 감염 28일에는 감소를 나타내었다. 그러나, 소의 trypanosomiasis,<sup>41</sup> theileriosis<sup>39</sup> 그리고 babesiosis<sup>40</sup>에서는 감염 초부터 총  $\beta$ -글로부린치가 감소되는 것으로 보고되고 있다.

$\beta_1$ -글로부린(Fig 4)도 총  $\beta$ -글로부린처럼 감염 초에는 증가되었다가 감소를 나타내었다.  $\beta_1$ -글로부린에 대한 기능적 명칭인 transferrin<sup>43</sup>이라는 성분이 알려져 있는 바, 이 성분은 악성빈혈과 간질환과 같은 질환에서 그 농도가 감소된다고 한다. 그리고  $\beta$ -글로부린내에는 hemopexin<sup>43</sup>이라는 효소도 함유되어 있어서, canine babesiosis에서 볼 수 있는 소견인 용혈성 빈혈과 무력한 조혈작용시에 이 효소는 haptoglobin과 함께 현저한 감소를 보인다고 한다. 이러한 사실들을 종합해 볼 때,  $\beta_1$ -글로부린의 감소는 canine babesiosis가 나타내는 용혈성 빈혈과 무력한 조혈작용, 간손상 등에 의한 것으로 생각된다.

일반적으로 항원에 노출된 후에 혈장내에 나타나는 첫번째 면역글로부린이 IgM인데, Hurvitz, et al.<sup>50,51</sup>에 의하면  $\beta$ -글로부린내에서 Macroglobulin(IgM)이 증명되어진다고 한다. 이것은 초기에 나타났다가 몇 주 내로 소실되거나 낮아진다고 한다. 본 실험에서도 총  $\beta$ -글로부린이 감염초에 증가했다가 감소되어지는 양상을 나타내었는데, 이것은 아마도 IgM의 변동에 의한 것이 아닌가 생각된다.

$\gamma$ -글로부린치(Fig 5)는 감염적 후 부터 서서히 증가하는 경향을 나타내며, 특히 감염 21일에는 최고치에 이르는 것을 알 수 있다. Morishige et al.<sup>52</sup>도 실험적으로 개에게 *B. gibsoni*를 감염시켜  $\gamma$ -글로부린치의 상승<sup>53</sup>을 관찰할 수 있었다고 한다. 그리고 소의 theileriosis<sup>39</sup>에서도 본 실험과 일치하는 소견을 나타내었다. 그러나, 비장을 적출한 소<sup>40</sup>에서는  $\gamma$ -글로부린치의 변화가 나타나지 않은 것으로 보아 주혈원충성 질환에서의 비장의 역할이 중요한 것이 아닌가 생각된다.

Takahashi<sup>39</sup>에 의하면 *Theileria sergenti*에 감염된 소에서 IgM과 IgG를 검출할 수 있었다고 하고, Neilsen, et al.<sup>54</sup>에 의하면 bovine trypanosomiasis에서는 면역글로부린(Ig)이 증가되는 것으로 그중에서도 IgG와 IgM이 증가되었다고 보고하고 있다. 이와같이 주혈원충성 질환에서 IgM과 IgG의 증가를 보고하는 바 본

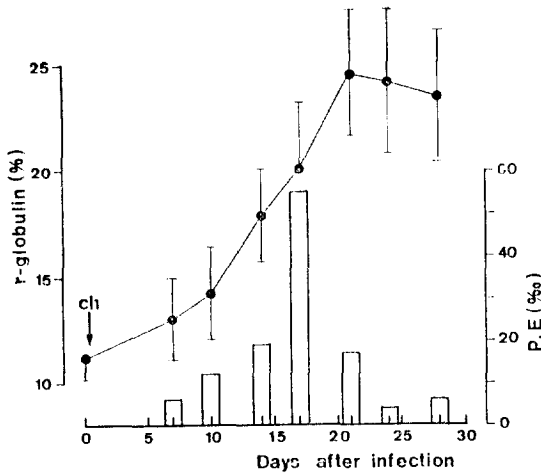


Fig 5. The changed mean value of  $\gamma$ -globulin in dogs infected with *Babesia gibsoni*.  
ch: challenge.  
□: PE; Parasitized Erythrocytes.

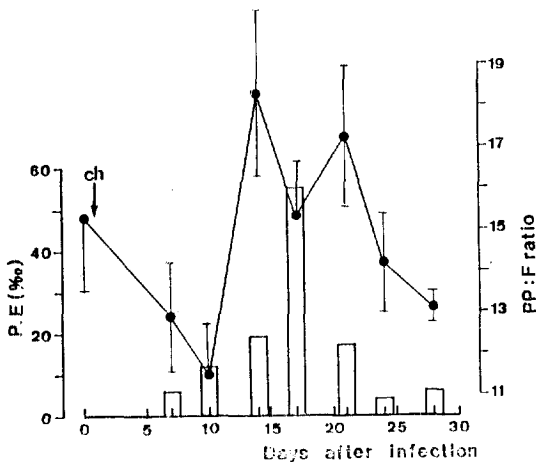


Fig 6. The changed mean value of plasma protein:fibrinogen(PP:F) ratio in dogs infected with *Babesia gibsoni*.  
ch: challenge.  
□: PE; Parasitized Erythrocytes.

실험에서도 초기에는  $\beta$ -글로부린이 증가되었다가 감소되는 반면에 감염이 진행되면서  $\gamma$ -글로부린치가 증가되는 것으로 보아 초기에는  $\beta$ -글로부린내에 함유되어 있는 IgM이, 나중에는  $\gamma$ -글로부린내에 있는 IgG가 항원에 대해서 반응한 것으로 생각된다.

한편, Gourvitch<sup>55</sup>에 의하면 글로부린이 증가되더라도 면역반응이 항상 일어나는 것은 아니라고 한다. 왜냐하면, hyperimmunization에서도 비특이항체가 증가될 수 있기 때문이라고 한다. Canine babesiosis가 생

체의 면역반응으로는 원충을 사멸시키지 못하는 점을 고려할 때, 어쩌면 본 실험에서의  $\gamma$ -글로부린의 증가는 원충에 직접 작용하여 원충을 막아낼 수 있는 특이 항체의 증가에 의한 증가라기보다는 항원에 대한 반응 때문에 생리적으로 방출되는 비특이 항체의 증가에 의한  $\gamma$ -글로부린의 증가일 가능성도 배제할 수는 없는 일이라 하겠다.

Yamaguchi<sup>56</sup>에 의하면  $\gamma$ -글로부린의 curve pattern으로 monoclonal gammopathy인지, polyclonal gammopathy인지를 알 수 있다고 하는데, 본 실험에서와 같이  $\gamma$ -글로부린의 curve pattern이 넓고 완만하게 나타나는 경우는 polyclonal gammopathy에 해당된다.

Fig 6을 보면, PP:F 비율이 감염 직후에는 감소를 보이다가 일시적으로 상승을 나타낸 후 다시 낮아지는 경향을 보임을 알 수 있다. PP:F 비율이 낮아졌다는 것은 상대적으로 섬유소원의 농도가 증가되었음을 의미하는 것이고, 그 반대인 것은 섬유소원의 농도가 낮아졌다는 것을 의미하는 것이라고 한다.<sup>43</sup> Canine babesiosis와 같이 간종대<sup>11-13, 43</sup>가 나타나는 질환에서는 섬유소원의 농도가 감소되는 바, 본 실험에서도 이와 일치하는 소견이 14일에 관찰되었다. Moore et al.<sup>57</sup>에 의하면, canine babesiosis에서는 산채성 맥관내 응원(DIC)이 일어난다고 하고, Shitakha et al.<sup>58</sup>에 의하면 소의 theileriosis에서는 섬유소용해가 일어난다고 하는데 이러한 사실들을 미루어 보았을 때, 섬유소원의 농도를 감소시킬 수 있는 요인들은 간종대, DIC, 그리고 원충에 의한 섬유소용해 등이라 할 수 있겠다.

본 실험은 *B. gibsoni*의 인공감염시 혈청단백성분들의 변화를 본 것으로, 보완실험으로서 각 혈청단백에 대한 subfraction과 면역글로부린(Ig)의 분획실험이 수행되어야 할 것이고, 또한 생체의 면역을 증진시킬 수 있는 연구방안도 이루어질 수 있기를 기대해 본다.

## 結 論

*B. gibsoni*에 감염된 개의 혈청단백 성분들의 변화를 살펴보기 위해서 일정기간동안 혈청을 회수하여 cellulose acetate를 지지체로 한 전기영동을 실시하였던 바 다음과 같은 결과를 얻을 수 있었다.

1. Cellulose acetate 전기영동을 실시한 결과 알부민과  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\gamma$ -globulin으로 총 6개의 band들을 얻을 수 있었다.
2. 혈청총단백량은 감염 후에 감소되는 경향을 나타내었고, 알부민과 A/G 비율도 또한 감염 전기간을 통해서 대체로 낮은 수치를 보였으나 유의성은 없었다.
3.  $\alpha_1$ -글로부린치는 감염초기에는 유의성 있게 증가

( $p < 0.05$ ) 되었다가 그 후에는 감염진 상태로 회복되는 변화를 보였다.

4.  $\alpha_2$ 와 총  $\alpha$ -글로부린의 농도는 감염 전기간을 통해 급격히 저하되는 고도의 유의성 ( $p < 0.01$ ) 있는 변화를 보였다.

5.  $\beta_1$ 과 총  $\beta$ -글로부린치는, 감염초기에는 상승을 보이다가 서서히 감소되는 고도의 유의성 ( $p < 0.01$ )을 보였으며  $\beta_2$ -글로부린치도 이와 유사한 경향은 보였으나 유의성은 없었다.

6.  $\gamma$ -글로부린의 농도는 감염전기간을 통해서 꾸준히 상승하는 역시 고도의 유의성 ( $p < 0.01$ )을 보였다.

7. PP:F ratio는 초기의 감소에 뒤이어 일시적인 유의성 있는 증가 ( $p < 0.05$ )를 나타내었다.

### 參 考 文 獻

1. 孫濟英. 한국에서 발생한 canine babesiosis에 관한 연구. *Korean J Vet Research* 1964;4(1):7~14.
2. 李學豪, 金泰鍾, 李元暢. *Babesia gibsoni*가 감염된 개에 관한 研究. 대한수의사회지 1984;20(3):161~168.
3. 申相泰, 崔熙仁, 成在基, 李昌雨. 사냥개에서의 *Babesia gibsoni* 감염. 한국임상수의학회지 1987;4(2):61~68.
4. Botros BAM, Moch RW, Barsoum IS. Some observations on experimentally induced infection of dogs with *Babesia gibsoni*. *Am J Vet Res* 1975; 36(3):293~296.
5. Scott MV, Fowler JL, et al. *Babesia gibsoni* infection of a dog in Korea. *JAVMA* 1971;159:1122~1123.
6. Fowler JL, Ruff MD, Hornof WJ. Modification of Field's Stain for Examination of Growth Forms of *Babesia gibsoni*. *Am J Vet Res* 1970; 31(6):1079~1083.
7. Hisao YONAMINE, Hikoza ICHIKI, et al. Studies on Canine Babesiosis in Okinawa Island. *Jpn J Vet Sci* 1984;46(4):511~518.
8. Farwell GE, LeGrand EK, Cobb CC. Clinical observations on *Babesia gibsoni* and *Babesia canis* infection in dogs. *JAVMA* 1982;180(5):507~511.
9. Klinefelter MR. Cause, diagnosis and treatment of CANINE PIROPLASMOSIS. *Veterinary Medicine/Small Animal Clinician* 1982;1505~1508.

10. Fujiko SUNAGA, Kazuhiko NAMIKAWA and Yasunori KANNO. The Thermic Circadian Rhythm of Dogs infected with *Babesia gibsoni*. *Jpn J Vet Sci* 1988;50(1):279~281.
11. Seneviratna P. Studies of *Babesia gibsoni* infections of Dogs in Ceylon. *Ceylon Vet J* 1965; 13:1.
12. Seneviratna P. The Pathology of *Babesia gibsoni* (Patton, 1910) Infection in the Dogs. *Ceylon Vet J* 1965;13:107.
13. Groves MG, and Yap LF. *Babesia gibsoni* in a Dog. *JAVMA* 1968;143(6):689~694.
14. 蔡俊錫, 印東哲, 韓在喆 등. Canine *Babesia spp.* 감염증례. 한국임상수의학회지 1989;6:21~27.
15. Howe PE. Use of Sodium Sulfate as Globulin Precipitant in Determination of Protein in Blood. *J Biol Chem* 1921;49:93.
16. Tiselius A. The Moving Boundary Method of Studying the Electrophoresis of Proteins. *Nova Acta Regia Soc. Sc. Upsaliensis*, 4, 1930:7:4.
17. Wieland T, and Fisher E. *Naturwissenschaften* 1984;35:29.
18. Turba F, and Enenkel AJ. *Naturwissenschaften* 1950;37:93.
19. Durrum EL. A Microelectrophoretic and Microiontophoretic Technic. *J Am Chem Soc* 1950;72: 2943.
20. Andrews AT. *Electrophoresis*. 2nd. ed., Oxford Science Publications, 1985;352~357.
21. Green SA, Jenkins SJ, et al. A Comparison of Chemical and Electrophoretic Methods of Serum Protein Determinations in Clinically Normal Domestic Animals of Various Ages. *Cornell Vet* 1982;72:416~426.
22. Kristensen F and Barsanti JA. Analysis of Serum Proteins in Clinically Pet and Colony Cat, Using Agarose Electrophoresis. *Am J Vet Res* 1977;38 (3):399~402.
23. Barsanti JA, Kristensen F, Drumheller FB. Analysis of Serum Protein, Using Agarose Electrophoresis in Normal Dogs and in Dogs Naturally infected with *Dirofilaria immitis*. *Am J Vet Res* 1977;38(7):1055~1058.
24. Poulk MD. *J Immunol* 1959;82:502.
25. 金泳鎬. 각종간단도 질환에 있어서의 혈청단백 여



- 지진기영동분회상에 관한 연구. 朝鮮大學校論文集 1985.
26. 백영기, 이주복 등. 민양의 혈액성상에 관한 연구 : Ⅲ. 해발 500m 지역의 연양 혈청 단백질 분회농도의 경상치. 전북대학교 농대 논문집 1979;10:109~112.
  27. Pfeifer EG. Elektrophoretische Untersuchungen zur Demodikose und Pyodermie des Hundes. Inaugural-Dissertation, Fachbereich Veterinärmedizin, Justus-Liebig-Universität, Giessen, German Federal Republic, 1986;114.
  28. 이창우. Cellulose Acetate막 전기영동법에 의한 종모우의 혈청단백분회에 관한 조사. *Korean J Vet Res* 1982;22:115~119.
  29. Amog VM & Bull RW, et al. Comparison of Electrophoretograms of Normal Canine Serum and Plasma and of Serum and Plasma of Hemolyzed Specimens. *Am J Vet Res* 1977;38:387-390.
  30. Kozma CK, Pelas A, et al. Electrophoretic Determination of Serum Protein of Laboratory Animals. *JAVMA* 1967;151:865~869.
  31. Osbaldiston GW. Serum Protein Fractions in Domestic Animals. *Br Vet J* 1972;128:386~392.
  32. Kaneko JJ. Standard Values for Domestic Animals. 3rd Ed, Rev., 1973.
  33. Farrow BRH & Penny R. *J Small Animal Pract* 1969;10:513~517.
  34. Burghen GA & Beisel WR, et al. Development of Hypergammaglobulinemia in Tropical Canine Pancytopenia. *Am J Vet Res* 1971;32:749~756.
  35. Hurvitz AI, and Kehoe JM, et al. Bence Jones Proteinemia and Proteinuria in a dog. *JAVMA* 1971;159:1112~1116.
  36. Groulade P, Groulade J and Ollivier C. Serum Srotein Electrophoresis in Canine Praticce. *J Small Animal Pract* 1970;10:705~724.
  37. Ruakura. Animal Health Division, Serum Protein Electrophoresis Workshop, Ministry of Agriculture & Fisheries, 1976;1~49.
  38. Bulgin MS, Shifrine M, and Galligan SJ. Electrophoretic Analyses of Normal Beagle Serum Proteins. *Laboratory Animal Science* 1971;21(2):275~279.
  39. Kiyoshi TAKAHASHI. Studies on the Infection and Immunity of *Theileria sergenti*. *J Coll Dairyng* 1976;179~248.
  40. Toru FUJINAGA. Bovine babesiosis in Japan: Clinical and Clinico-pathological studies on Cattle Experimentally infected with *Babesia ovata*. *Jpn J Vet Sci* 1981;43:804~813.
  41. Baker DC, Gaunt SD, et al. Hemoparasitism, humoral immunodeficiency, and an IgG1 fragment in a cow. *JAVMA* 1982;181(5):480~483.
  42. Schalm OW. Clinical Significance of Plasma Protein Concentration. *JAVMA* 1970;157(11):1672~1675.
  43. Jain NC. Schalm's Veterinary Hematology, 4th edition, Lea & Febiger, Philadelphia, 1986;940~989.
  44. Fex G, et al. Purification of Prealbumin from Human and Canine Serum Using a Two-Step Affinity Chromatomatographic Procedure. *Eur J Biochem* 1977;75:181.
  45. Helen PL, et al. A Study of Prealbumin in Health and Disease by Polyacrylamide Gel Electrophoresis. *Indian J Med Res* 1975;63:273.
  46. Winzler RJ. Determination of Serum Glucoprotein. In Methods of Biochemical Analysis. Vol. 2, Glick, D., ed., Interscience, New York, 1955;279.
  47. Busby WH, and Travis JC. Structure and Evolution of Artiodactyla Haptoglobins. *Comp Biochem Physiol* 1978;60B:389.
  48. Harvey JW, and Gaskin JM. Feline Haptoglobin. *Amer J Vet Res* 1978;39:549.
  49. Swain BK, et al. Genetic Variation in Serum Proteins in Relation to Disease. *Medical Biol* 1980;58:246.
  50. Hurvitz AI, Haskins SC, Fischer CA. Macroglobulinemia with Hyperviscosity Syndrome in a Dog. *JAVMA* 1970; 157(4):455~460.
  51. Hurvitz AI, MacEwen EG, et al. Monoclonal Cryoglobulinemia with Macroglobulinemia in a Dog. *JAVMA* 1977;170:511~513.
  52. Tetsuro Morishige, Kiyoshi TAKAHASHI, Satoshi ABE, et al. Detection of Circulating Immune Complex in Dogs Infected with *Babesia gibsoni*. *J Coll Dairyng* 1988;12:443~452.
  53. Kiyoshi TAKAHASHI, Mitsuo SONODA and

- Takashi KUROSAWA. Immunopotentiating Effect of Levamisole in Dogs Experimentally Infected with *Babesia gibsoni*. *Journal of the College of Dairying* 1981;9(1):123~134.
54. Neilsen K, et al. Changes in the Catabolism of Serum Immunoglobulins and Complement Components in Infected Cattle. *Immunology* 1978;35:811.
55. Gourvitch AE. Relation Between the Formation of Specific and Nonspecific Serum  $\alpha$ -Globulins. *Clin Chim Acta* 1956;1:101.
56. Yamaguchi RA. Immunoproliferative Diseases. *Handbook of Small Animal Practice*, Edited by Rhea V. Morgan, Churchill Livingstone, New York, Edinburgh, London, Melbourne, 1988;861~866.
57. Moore DJ and Williams MC. Disseminated Intravascular Coagulation: A Complication of *Babesia canis* Infection in the Dog. *JS Afr Vet Med Ass* 1979;50:265.
58. Shitakha VM, et al. Complement Activation and Fibrinolysis during Infection with *Theileria parva*(East Coast Fever) in Cattle. *Vet Immunol Immunopathol* 1983;4:361.