

뇌심근염 바이러스 접종 마우스에 대한 병리학적 및 면역조직화학적 소견

申昌浩, 趙聲煥*

충남가축위생시험소 태안지소, 충남대학교 수의과대학*

Immunohistochemical and Pathological Findings in Mice Inoculated with Encephalomyocarditis Virus

Chang-Ho Shin, Sung-Whan Cho*

Tae An Branch of Chung Nam Veterinary Service Laboratory, ChungNam National University*

Abstract

8-10 week old ICR mice were infected intracerebrally and intraperitoneally with different encephalomyocarditis virus(K₃, K₁₁, ATT-VR 129) to observe histopathological and immunohistochemical change.

Results obtained through the experiments were summarized as follows :

1. No differences in clinical signs by the virus strains and the inoculation routes were found. Mice infected with EMCV showed clinical signs after 3 days of inoculation. Main clinical signs were tremors, convulsions, circling movement, and uni or bilateral hindleg paralysis followed by death on the 3-8 days. In general, most of the infected animals died or recovered closely on the 8th day of postinoculation.

2. At necropsy, petechial and ecchymotic hemorrhages in lung were observed and no specific findings in other were observed.

3. In histopathological observation, neuroal cell degeneration, perivascular mononuclear cell infiltration, gliosis were appeared in central nervous system. Myocarditis with myocardial degeneration and necrosis, calcification were observed along with acinar cell necrosis of exocrine glands in pancreas, severe glomerulonephritis in kidney. Also, focal necrosis of hepatocytes and interstitial pneumonia, hyperemia, hemorrhages in lungs were observed.

4. By immunohistochemical staining using ABCIT method, the positive cells were recognized in intracytoplasm of acinar cell in pancreas and intracytoplasm of neuronal cells in cerebrum.

Key word : Immunohistochemical, Encephalomyocarditis, EMCV, petechial.

서 론

Picornaviridae과에 속하는 바이러스에는 Enterovirus, Rhinovirus, Cardiovirus 및 Aphtovirus속등 4종이 있는데, 이들은 서로 바이러스 입자의 크기와 형태, 핵산 구성 및 에테르의 저항성등은 동일하지만 산성에서의 안정성, Cesium chloride에서의 부력밀도 및 증식 최적온도, 감염초기의 증식 부위등에서는 차이가 있는 것으로 알려져 있다. 이중 동물의 질병과 관련이 깊은 바이러스는 Cardiovirus속으로서 이 속에는 Columbia-SK, MM, EMC, Mengo 바이러스등이 포함되며 이들 바이러스들은 대개 설치류에 뇌척수염과 뇌염등의 중추신경계 질환과 심장에 질병을 초래하기 때문에 통칭하여 EMC-group 바이러스라고 한다.¹⁻³⁾

1940년 Jungeblut & Sanders⁴⁾는 원숭이에서 분리한 Poliomyelitis virus를 마우스와 cotton rats에 전달 감염시키는 과정에 신경증상을 보이다가 3~4일경에 폐사를 일으키는 한 원인체를 분리한 후 이를 Columbia-SK strain이라 명명하였다. 또한 1943년에 Jungeblut & Dalldorf⁵⁾는 햄스터로부터 MM-strain을 분리하였으며, 급성 심근염으로 폐사된 chimpanzee로부터 뇌염과 심근염을 일으키는 한 원인체를 분리하여 뇌심근염 바이러스라 명명하였다.^{6, 7)} 또한 Dick⁸⁾은 아프리카의 Ekntebe에서 rhesus monkey로부터 Mengo virus를 분리하였으며 Warren⁹⁾은 이들 바이러스에 대하여 혈청학적 및 면역학적으로 동정을 한 결과 서로 같은 단일 혈청형이었으며 항원적으로도 유사하다는 사실을 보고하였다.

돼지에 있어서의 발생보고는 1960년 Murnane¹⁰⁾이 파나마에서 심근염으로 폐사된 돼지로부터 분리한 것이 최초이다. 그후 미국¹¹⁾, 호주^{12, 13)}, 쿠바¹⁴⁾, 뉴질랜드¹⁵⁾, 브라질¹⁶⁾ 및 캐나다¹⁷⁾등지에서 잇따른 발생보고가 있었다.

뇌심근염 바이러스는 설치류, 특히 들쥐와 야생 마우스가 보독숙주로서 계속해서 장으로부터 바이러스를 배설하여 다른 동물에 감염을 일으킨다¹⁸⁾. 감수성이 있는 동물에는 영장류, 몽구스, 코끼리, 돼지, 들쥐 및 햄스터 등이 있는데 그중 돼지가 가장 감수성이 높은 숙주로 알

려져 있다.¹⁹⁾

뇌심근염에 감염된 동물의 병원성은 숙주에 따라서 다양하게 나타나 마우스와 랫트의 경우 자연 감염되면 준임상형의 증상이 나타나지만, 실험적으로 감염시킬 경우 중추신경계 및 심장에 병변을 일으킨다고 하였으며^{3, 4, 6)}, 기니아피그와 몽구스에 실험적으로 감염시키면 심장병변을^{7, 20)}, 들쥐에서는 심근염과 췌장염을 일으키지만²¹⁾, 햄스터에서는 뇌염, 췌장염, 심근염 및 고환염을 일으킨다고 하였다.²²⁾ 돼지에 감염되면 자돈에서는 뇌염 및 심근염²³⁻²⁷⁾을, 성숙 모돈에서는 번식장애²⁸⁻³¹⁾를 각각 일으킨다고 하였으며, 토끼, 닭, rhesus monkey에 대해서는 거의 병원성이 없어 고역가에서도 불현성 감염을 일으킨다. 한편 Burch³²⁾은 신생 마우스에 뇌심근염 바이러스를 실험적으로 감염시킨 결과 사구체신염 및 간질성 신염을 일으킨다고 보고하였으며, Harb³³⁾은 신생 마우스와 8일령된 마우스에 뇌심근염 바이러스를 감염시킨 결과 간염소견을 보고한 바 있다. 그리고 뇌심근염 바이러스 변이주에는 신경세포에 친화성이 있는 E변이주와 심근세포에 친화성이 있는 M변이주^{34, 35)}가 있으며 췌장의 내분비세포에 친화성이 있는 B, D 및 K변이주도 있다.³⁰⁾

국내에 있는돼지 뇌심근염 바이러스 감염증에 대한 발생보고는 하 등³⁷⁾과 박 등³⁸⁾이 최초로 바이러스를 분리하였고 병리학적으로 확인한 바 있으며, 국내 분리주에 대하여 박 등³⁹⁾은 돼지에 실험적으로 접종한 후 병리학적 소견에 대하여 보고한 바 있으나 마우스에 국내 분리주와 외국 분리주를 감염시켜 독주간 병원성의 차이와 그 감염경로에 의한 차이를 비교한 연구는 찾아 볼 수 없다.

본 실험은 국내에서 분리한 돼지 유래 뇌심근염 바이러스 2개주와 미국에서 분리한 1개주를 마우스에 실험적으로 감염시킨 후 병리학적으로 비교 관찰하고 동시에 조직내 뇌심근염 바이러스 항원을 증명하고자 수행하였다.

재료 및 방법

실험동물 : 대전직할시 소재 중앙가축전염병연구소

의 barrier system에서 사육중인 8~10주령의 SPF Ktc : ICR마우스(Charles River Japan) 총 250수를 구입하여 10일간의 예비사육후 공시하였다.

공시 동물은 소독한 케이지에 5~10분씩 분산 수용하여 마우스와 랫용 고행사료(삼양사)를 자유 섭취토록 하였으며, 멸균된 지하수를 급수통에 담아서 자유 섭취케 하였다.

공시 바이러스 : 접종 바이러스주는 국내에서 분리한 뇌심근염 바이러스 K3주($10^{7.0}$ TCID₅₀/0.1ml), K11주($10^{7.5}$ TCID₅₀/0.1ml) 및 미국에서 분리한 ATCC-VR 129주($10^{7.0}$ TCID₅₀/0.1ml)를 중앙가축전염병연구소에서 분양받아 baby hamster kidney (BHK-21) 세포와 hamster lung(HmLU-1) 세포에서 3~4대 정도 배양한 것을 액체 질소통에 보관하면서 필요할 때마다 사용하였다.

1차항체 생산 : 6주령의 건강한 토끼 6수를 사용하여 각 토끼의 이정맥으로부터 60ml정도씩 채혈하여 혈청을 분리한 다음 비동화시켜 각 토끼로부터 생산된 특이 항혈청에 대한 음성대조군으로 이용할 목적으로 냉동(-20℃) 보관하였다. 각 토끼에 세 종류의 뇌심근염 바이러스주 즉, K3, K11 및 ATCC-VR 129와 Freund's complete adjuvant의 50 : 50 혼합액을 1ml씩 근육내로 접종하였다. 이러한 1차 면역 6주후 각 토끼에 바이러스와 Freund's incomplet adjuvant의 50 : 50 혼합액을 0.5ml씩 정맥내로 투여하였다. 정맥내 2차 투여후 6일째에 각 토끼로부터 전량의 혈액에 채취하여 혈청을 분리한 다음 비동화시켜 -20℃에 보관하면서 혈구응집억제 반응을 실시하여 혈청여가를 측정한 후 이중 가장 높은 여가의 혈청을 본 시험에 공시하였다.

접종실험 : 대조 조직으로 사용하고 동시에 집단외 건강상태를 파악하기 위하여 총 250수의 마우스중 4수를 임의로 선정하여 접종 이전에 도살한 후 검사하였다. 나머지 246수는 바이러스 독주별로 3개 실험군과 대조군으로 나누어 실험군에는 각 군마다 72수씩 배치하여 제1군은 K3주 바이러스를, 제2군은 K11주 바이러스를 그리고 제3군은 ATCC-VR 129 바이러스를 각각 뇌내 및 복강내로 0.1ml씩 접종하였다. 그리고 대조군은 총 30수의 마우스에 수당 Eagle's medium 0.1ml씩을 접종

하였다(표 1)

임상증상 및 육안적 관찰 : 뇌심근염 바이러스를 실험적으로 뇌내와 복강으로 접종한 후 임상증상이 발현되어 폐사될 때까지 매일 지속적으로 관찰하면서 폐사 즉시 부검하여 육안적 검사를 실시하였으며, 부검한 후 병리조직학적 관찰을 위하여 심장, 대뇌, 소뇌, 연수, 폐, 간, 췌장, 비장, 신장 등을 Bouin용액과 10% 중성 포르말린액에 고정하였다. 고정된 장기로부터 조직 절편을 취하여 알콜로 탈수한 다음 파라핀에 포매하여 3~4 μ m으로 연속 절편을 제작하였고 통상 방법에 따라서 Mayer's hematoxylin-eosin 염색후 광학현미경으로 관찰하였다. 접종후 회복된 마우스와 대조군은 접종후 30일째에 도살한 다음 같은 방법으로 처리하여 광학현미경으로 관찰하였다.

Table 1. Experimental design for the infection of the mice with EMCV.

Experimen- tal group	Vvrius	Inoculation route	No. of mice
I	K ₃	Interacerebral	36
		Intraperitoneal	36
II	K ₁₁	Interacerebral	36
		Intraperitoneal	36
III	ATCC-VR 129	Interacerebral	36
		Intraperitoneal	36
Control	Eagle's modium	Interacerebral	15
		Intraperitoneal	15
Total			246

면역조직화학적 관찰 : Bouin 용액에 고정된 조직의 연속 절편중 일부는 HE 염색하여 병변이 확인된 조직 표본에 대하여 avidine biotinylated enzyme complex kit(ABCIT, Vector laboratory, Burlingame, CA)법으로 염색하기 위하여 조직 절편을 xylene에 탈파라핀 시킨 다음 알코올 계열에 친수 조작을 한 후 증류수에 5분간 수세하고 내인성 peroxidase활성을 억제시키기 위하여 0.3% H₂O₂ in methanol 용액에 30분간 반응시켰다. 이어서 증류수에 수세한 후 10mM PBS 용액(pH 7.6)으로 제조한 0.1% 단백질 분해 효소제에 4~5시간동안 반응시킨 다음 PBS로 10분씩 2회 수세하

였다. 절편을 꺼내어 정상 염소혈청을 PBS로 1 : 150으로 희석하여 20분간 반응시킴으로써 조직과 항혈청 사이의 비특이 반응을 사전에 억제시켰다. 그 다음에 토끼로부터 생산한 1차 항체를 PBS로 1 : 400으로 희석하여 30분간 반응시킨 후 PBS로 10분간 3회 반복하여 수세하였다. 뒤이어 biotinylated goat antirabbit IgG 희석액으로 30분간 반응시킨 다음 PBS로 10분간 3회 반복하여 수세하였다. 그후 Vectastain ABC reagent로 30~60분간 반응시킨후 PBS로 10분씩 3회 수세하였다. 마지막으로 diaminobenzidinehydrogen peroxide substrate 용액에 2~8분간 발색시킨 다음 흐르는 물에 5분간 수세하고 Mayer's hematoxylin으로 핵염색을 실시한 후 수세, 탈수, 봉입하여 광학현미경으로 관찰하였다.

결 과

임상증상 : 국내에서 분리된 뇌심근염 바이러스 K₃주, K₁₁주와 미국의 분리주 ATCC-VR 129주를 마우스의 뇌내와 복강내로 접종한 결과 K₃주와 미국 분리주인 ATCC-VR 129주가 K₁₁주보다 임상증상의 발현 정도와 접종후 폐사시기에 있어서 다소 병원성이 강하였

다. 그리고 접종경로에 따른 임상증상의 차이는 그다지 크지 않았으나 복강내 접종군보다 뇌내 접종군이 다소 강한 경향을 나타내었다. 일반적으로 관찰된 임상증상은 침울, 식욕부진, 간헐적인 경련, 선회운동, 비틀거림, 양측성 또는 편측성 후지마비 및 호흡곤란 등의 증상이 관찰되었고, 접종후 3일 이내에 전구 증상없이 폐사한 예와 임상증상을 나타낸 후 폐사한 예가 있었다.

폐사율 : 독주별 및 접종 경로별 폐사율을 보면 K₃주 뇌내 접종군에서는 접종후 5일 이내에 총 36수 중 19수가, 접종후 5~8일 사이에 13수가 폐사하였다. 또한 복강내 접종군에서는 접종후 5일 이내에 36수 중 28수가, 접종후 5~8일 사이에 7수가 폐사하였다. K₁₁주의 경우는 뇌내 접종군에서는 접종후 5일 이내에 36수 중 14수가, 접종후 5~8일 사이에 14수가 폐사하였다. 또한 복강내 접종군에서는 접종후 5일 이내에 17수가, 접종후 5~8일 사이에 11수가 폐사하였다.

한편 ATCC-VR 129주의 경우 뇌내 접종군에서는 접종후 4일 이내에 총 36수 중 16수가, 접종후 5~8일 사이에 14수가 폐사하였다. 그리고 복강내 접종군에서는 5일 이내에 총 36수 중 19수가, 접종후 5~8일 사이에 12수가 폐사하였다. 대조군에서는 특이한 임상증상을 관찰할 수 없었다(표 2).

Table 2. Fate and clinical signs of the mice infected with EMCV.

Virus	Inoculation route	No. of mice							Clinical signs				
		Death		Euthalized			Sudden death	Paralysis of the hind limbs	Convulsion	Circling movement	dyspnea		
			2	3	4	5-6	7-8 ^A						
K ₃	I.C*	32/36	10	7	2	6	7	4	1	8	12	4	10
	I.P**	30/36	5	9	9	5	2	6	3	5	5	5	10
K ₁₁	I.C	30/36	1	6	7	10	4	6	0	16	8	6	8
	I.P	28/36	3	8	6	9	2	8	3	13	11	2	9
ATCC-VR 129	I.C	30/36	8	8	10	4	6	0	12	15	10	2	
	I.P	31/36	4	8	7	7	5	5	2	8	9	7	10
	I.C	0/14											15
	I.P	0/15											15

I.C* : Intracerebral, I.P** : Intraperitoneal, A : Days of inoculation

육안적 소견 : 3종의 뇌심근염 바이러스 독주들을 복강내 및 뇌내로 접종하여 폐사된 마우스에서 부검소

견의 차이는 인정되지 않았다. 폐사된 마우스들중 대부분의 예에서 두개강, 흉강 및 복강내에는 체액이 증가하

였고, 체액은 장액성 또는 출혈성이었다. 대뇌 및 소뇌는 충혈성으로 약간 종대하였으며, 폐장은 종대되었고 심한 충출혈 소견을 나타내었다.

심장에는 충혈, 출혈점이 산재하였고 소수 예에서 백색의 괴사소가 관찰되었다. K11주를 복강으로 접종한 1예와 ATCC-VR 129주를 복강으로 접종한 1예에서는 심외막에 심한 출혈소견을 관찰할 수 있었다. 간 및 신장에 충출혈, 종대, 일부 예에서의 창백소견이 인정되었다. 그 이외의 자기에는 특이한 육안적 병변이 인정되지 않았고, 접종후 3일 이내의 폐사에 및 대조군에서는 특이한 육안적 병변이 인정되지 않았다.

병리조직학적 소견 : 뇌심근염 바이러스의 각 주에 따른 병변의 현저한 병리조직학적 차이는 인정되지 않았으나 K3주, ATCC-VR 129주는 K11주보다 뇌염 및 심근염의 병변이 다소 심하였다. 접종경로에 따른 병변의 차이는 거의 인정되지 않았으나, 복강내 접종군에서 뇌내 접종군보다 복강 실질장기의 병변이 다소 심한 경향을 나타내었고, 뇌내접종군에서는 대뇌 및 소뇌에 충출혈과 부종 병변이 심한 경향을 나타내었다. 뇌의 병리조직학적 소견으로는 혈관주위 단핵세포 침윤(사진 1), 미만성 신경교세포 침윤, 신경세포의 변성 및 괴사(사진 2), 충출혈등이 관찰되었으며, 일부 예에서는 뇌경막하에 단핵세포가 침윤한 비화농성 염증 소견도 관찰되었다. 또한 대뇌의 해면화 소견(사진 3)도 소수의 예에서 관찰되었다. 이러한 병변들은 소뇌 및 연수에서도 볼 수 있었으나 대뇌보다 경미하였다. 폐는 폐사된 모든 마우스에서 고도 내지 중등도의 충출혈 소견을 나타내었고, 대부분의 경우 폐포벽이 비대한 간질성 폐염(사진 4)이 관찰되었다. 어떤 예에서는 세기관지 상피세포의 탈락 및 괴사 소견도 볼 수 있었다. 또한 대부분의 예에서는 폐동맥벽의 초자양 변성이, 일부 예에서는 세기관지 상피세포의 탈락 및 괴사 소견이 관찰되었다. 심장에서는 주로 심근속간에 충출혈 및 염증세포 침윤(사진 5), 원형의 괴사소(사진 6), 초자양 변성, 미만성 또는 한국성 칼슘 침착(사진 7) 등의 소견을 관찰할 수 있었으며, 염증세포의 침윤은 주로 오른쪽 심방의 심외막하에서, 그의 병변들은 주로 왼쪽 심실벽에서 관찰할 수 있었다. 췌장에서는 외분비부의 선포괴사 및 변성(사진

8), 소엽간 및 선포간에 단핵세포 침윤등의 소견을 관찰할 수 있었으며, 선포의 괴사가 엽 및 소엽 단위로 광범위하게 일어난 예도 있었으나, 내분비부는 비교적 병변이 미약하였다. 간에서는 주로 문맥영역 정맥의 확장, 적혈구 충전, 소엽주변성 간세포의 공포변성 등이 관찰되었고, 동양혈관의 충혈, 세포종창, 한국성 소괴사소산재(사진 9) 등이 간혹 관찰되었다. 신장에서는 피질 및 수질부의 충출혈, 사구체내 세포증생을 수반한 사구체신염(사진 10), 세뇨관 상피세포의 괴사(사진 11) 등이 주로 관찰되었으며, 간혹 단백질성 뇨원주를 관찰할 수 있었다. 그 외에 실질장기 조직에서는 특이한 병리조직학적 소견은 관찰할 수 없었다.

면역조직화학적 소견 : 3종의 뇌심근염 바이러스를 접종한 마우스에서 광학현미경으로 병변이 확인된 조직에 대하여 ABC법으로 염색하여 관찰한 결과 접종 경로와는 상관없이 췌장 및 대뇌에서 양성반응 세포가 관찰되었다.

췌장의 경우 괴사된 외분비부의 세포질(사진 2)과 핵내(사진 13)에서, 그리고 대뇌의 경우 변성 및 괴사된 신경세포의 세포질(사진 14)에서 양성반응 세포가 관찰되었다.

대조군에 대한 1차항체 무처리군과 정상 가토혈청 처리군에서는 반응이 나타나지 않았으며, 1차항체 희석 배율별 반응은 1 : 400배에서 가장 뚜렷한 양성 반응을 나타냈다.

고 찰

뇌심근염 바이러스의 임상증상에 대하여 Pope⁴⁾는 호주의 North Queensland 지방에서 포획한 water rat의 장기들을 2수의 마우스에 접종한 결과 11일 후에 웅크린 자세, 후지마비, 꼬리를 무기력하게 끄는 증상을 보였고, Helwig & Schmidt⁶⁾는 chimpanzee의 흉강액을 동결 보존하였다가 정맥내, 복강내, 뇌내로 접종한 결과 5일경에 마비에 이어 6일째에 폐사되었다 하였으며, Schmidt⁷⁾는 5세 정도의 chimpanzee 흉강액과 비장 유제액을 마우스의 정맥내 및 뇌내로 접종한 결과 4-5일경에 마비를 나타내기 시작하여 7-10일경에 폐

사되었고 하여 접종 경로에 따른 차이점은 별로 없었다고 하였다. 한편 Cerutis등³⁶⁾은 뇌심근염 바이러스 D, B, K 및 MM strain을 ICR Swiss 마우스에 접종한 결과 MM strain을 접종한 마우스에서 3일경에 신경증상 즉, 진전, 경련, 편측성 또는 양측성 후지마비를 나타내다가 9일째에 폐사하였다고 하였다.

본 실험에서 관찰된 임상증상에서도 신경증상과 호흡관란등의 소견을 주로 볼 수 있었으며, 바이러스 접종독주 및 경로에 관계없이 2~8일사이에 78~86%의 폐사율을 보여 위 보고자들의 실험적 감염 마우스에서 관찰된 임상증상 결과와 거의 일치하였다. 실험적 감염 돼지에서 Littlejohns & Acland²⁵⁾는 Australian 독주가 New Zealand 독주보다 강하다고 하였으며, 조 등²³⁾은 같은 미국 독주인 NVSL-PR 독주가 MN-25 및 MN-30 독주보다 병원성이 강하다고 하였다. 따라서 뇌심근염 바이러스는 마우스에서는 독주간에 차이가 인정되지 않고 돼지에서 병원성의 차이가 있는 것으로 사료되었다.

중추신경계에 나타난 병리조직학적 소견에 관하여 Takeda등⁴¹⁾은 EMC-D 변이주를 DBA/2 마우스에 접종한 결과 접종 10일째에 등근 양염성 세포질을 나타내는 특징적인 신경세포의 변성과 단핵세포의 위관성 침윤 및 뇌막염을 관찰하였다. 그리고 접종 14일째와 그 이후에 신경세포의 소상 소실과 교세포증가증을 관찰하였으며, 뇌의 병변은 임상증상이 없는 마우스에서 보다 후지마비를 나타내는 개체에서 더욱 현저하게 나타났다고 하였다.

Cerutis등³⁶⁾은 EMC-MM 변이주를 ICR-Swiss male mice에 접종한 결과 대뇌에서 뇌막염과 뇌염을 보고하면서 이러한 병변은 뇌로부터 회수된 바이러스의 양과 일치되어 나타난다고 하였다. 또한 공포화, 단핵구 세포침윤을 수반한 신경세포 변성괴사를 보고 하였으며, K변이주에 의한 소뇌의 병변에 대하여 경도내지 중등도의 뇌막염과 뇌염이 미만성 위관성 세포침윤과 함께 나타났을 뿐 아니라 분자층, 과립층, Purkinje cell의 괴사소견도 함께 보고한 바 있다. Acland & Littlejohns¹²⁾는 뇌심근염 바이러스에 감염된 돼지에서, Watt & Spradbrow²⁷⁾는 실험적으로 6주령의 자돈에

뇌내로 접종한 결과 이들의 소견과 일치되는 병변을 보고하였으며, 또한 대뇌 반구의 전반부에서 가장 심한 병변이 나타나며 후반부로 갈수록 병변의 정도가 감소된다고 하였다.

Cerutis등³⁶⁾이 보고한 소뇌 병변중 분자층, 과립층, Purkinje cell의 괴사 병변은 본 실험 예에서보다 다소 심하게 나타났으며, 그의 대뇌의 병변은 Watt & Spradbrow²⁷⁾와 같이 대뇌 부위별로 관찰하지는 않았지만 본 실험예와 유사하였다. 소뇌에서의 병변정도의 차이는 숙주동물과 바이러스주에 의한 차이로 사료되었다.

심장에 대한 현미경적 소견에 관한 Schmidt⁷⁾는 마우스에서 심근에 경미한 단핵세포의 혈과주위 침윤이 가장 최초로 나타난 소견으로서 접종후 6일경에 작은 괴사소가 단핵세포가 침윤된 심근에서 관찰되었다 하였으며, 부종성 액체와 침윤된 세포들에 의하여 심근섬유가 분리되어 있었다고 하였다. 접종후 9일째에는 염증외에 괴사가 더 광범위하게 나타나고 섬유아세포가 출현되기 시작하여 소 병소 부위의 심근은 단핵구 세포와 섬유아세포에 의하여 완전히 대체되었다고 하였다. 이러한 소견은 바이러스에 염되어 폐사된 마우스의 심근에서 흔하게 관찰되어 접종후 11일째 또는 12일째까지 생존한 마우스의 심장에서는 림프구와 섬유아 세포의 숫자가 증가하여 흔히 심근 전반에 걸쳐서 관찰되었다고 하였다. 갈습 침착은 10일 이내부터 나타나기 시작하였으나 흔히 12일째 또는 13일 후에 많이 나타나 괴사부위에서 작은 과립으로 관찰된다고 하였다. 이들 갈습 과립은 일반적으로 괴사된 부위와 일치하여 나타났으며 급성 염증반응이 진행되는 동안에도 자주 나타났다고 하였다. 감염된 마우스들은 대체로 12일째를 전후하여 회복되거나 폐사하였으며, 회복된 개체에 있어서 뇌심근염 바이러스 감염에 대한 확실한 증거는 섬유아 세포에 의한 대체와 갈습 침착 소견이었다고 하였다. Angevine & Furth⁴²⁾는 이들 소견외에 단핵구 및 다형핵 백혈구의 침윤은 심방과 심실의 연결부에서 가장 광범위하게 나타난다고 하였으며, Cerutis등³⁶⁾은 B변이주를 접종한 마우스에서 관상동맥의 염증을 보고한 바 있다. Acland & Littlejohns¹²⁾, Leman 등²⁴⁾은 돼지의 오른쪽 심실

심근에서, Appel³⁾, Craighead^{35, 36)}는 우스의 왼쪽 심실벽의 심근에서, Schmidt⁷⁾는 마우스의 오른쪽 심실 심근에서 더 현저하게 나타난다고 하였다.

Schmidt⁷⁾가 보고한 심근염의 진행과정은 다른 조직의 일반적인 염증과정으로 본 실험예와 일치한 소견이나, 관상동맥의 염증소견은 관찰할 수 없었고, 심근의 석회화도한 예에서만 인정되었으며, 주로 왼쪽 심실벽에 심근염을 볼 수 있었다. 이러한 차이점은 독주, 접종 경로 및 품종의 차이로 사료된다.

폐의 병변에 관하여 Angevine & Furth⁴²⁾는 육안적인 검사결과 출혈은 없다고 하였으나 병리조직학적 검사 결과 폐에 분포한 중동맥벽에 초자양 변성이 대부분의 폐조직에서 나왔으며, 기관지염 및 세기관지 확장, 폐포에 적혈구 충만소견을 관찰한 바 있다. 또한 Watt & Spradbrow²⁷⁾는 폐의 광범위한 충혈, 부종 소견과 함께 세기관지염 및 폐포내에 림프구, plasma cell, 조직구등의 침윤 소견을 보고하였고, Schmidt⁷⁾는 기니아 피그에서 3주내에 부종을 수반한 간질성 폐렴 소견을 보고하였으며, 특히 간질성 폐렴소견은 3주 이후에서는 관찰되지 않았다고 하였다. Dea 등⁴³⁾은 자연발생된 돼지에서 다발성 소상 간질성 폐렴에서 증식성 폐렴에 이르기까지 다양한 소견을 보고하였다.

본 실험예에서의 충출혈, 폐동맥의 초자양 변성 및 간질성 폐렴등은 위 연구자들의 소견과 일치하였다.

혜장의 조직학적 소견에 관하여 Hayashi 등⁴⁴⁾은 6-8 주령의 마우스를 공시하여 뇌심근염 바이러스 M변이주를 복강으로 접종한 결과 베타세포의 탈과립, 옹고괴사 및 랑게르한스섬의 위축과 간질에 단핵 및 다형핵 백혈구의 침윤 소견이 관찰되었다고 하였으며, Craighead & Higgins⁴⁵⁾은 EMC-M 변이주를 마우스에 피하로 접종한 결과 랑게르한스섬의 병변은 경미하게 나타났다고 하였다. 한편 Cerutis 등³⁶⁾은 뇌심근염 바이러스 D, B, K 및 MM 변이주를 마우스에 접종한 결과 혜장에 대한 병변은 D 변이주를 접종한 마우스에서 가장 심하게 나타나 접종 4일째에 단핵세포 침윤을 수반한 베타세포의 공포화와 탈과립 소견을 관찰하였으며, B 및 K, MM 변이주는 혜장의 외분비부에는 매우 경미한 소견을 보였고, 랑게르한스섬에는 병변을 관찰하지 못했다고

하였다. 그리고 Craighead 등⁴⁶⁾은 M변이주에 의한 마우스의 혜장에서 6일째에 랑게르한스섬내의 세포괴사와 베타세포의 뚜렷한 탈과립 소견을 관찰하였지만 외분비부 선포의 병변은 관찰할 수 없었다고 하였다.

본 실험에서는 뇌심근염 바이러스 K₁₁를 접종한 마우스에서 외분비부의 광범위한 변성 및 괴사소견이 주로 관찰되었고 소수예에서 소엽간 및 선포간에 단핵세포 침윤등의 소견과 내분비부의 경미한 변성 및 괴사 소견이 관찰된 점은 위 연구자들이 사용한 뇌심근염 바이러스의 M변이주와 거의 유사하였다.

간의 병리조직학적 병변에 관해서 Harb 등³⁵⁾은 1-2 일령의 HaM /ICR 신생 마우스와 8일령의 포유 마우스에 실험적으로 뇌심근염 바이러스를 복강으로 투여한 결과 신생 마우스와 8일령 마우스에서 문맥혈관의 현저한 울혈 및 확장소견이 있었으나 특이한 괴사는 관찰되지 않았다고 하였다.

본 실험예에서의 문맥 정맥이 확장되어 적혈구로 충만된 소견과 일치하였으나, 대부분의 예에서 관찰된 소상 괴사소의 소견은 병변의 차이가 있었다. 뇌심근염 바이러스에 의한 간의 소상 괴사소는 박 등³⁹⁾이 국내 분리주를 돼지에 접종한 예에서 그리고 본 실험에서 미국 및 국내주를 접종한 마우스에서 관찰된 점과 Harb³⁵⁾가 전자현미경 소견에서 간세포내 바이러스 입자를 관찰한 점은 뇌심근염 바이러스에 의한 병변으로 사료된다.

시장의 병리조직학적 소견에 관하여 Burch 등³⁶⁾은 뇌심근염 바이러스를 HaM /ICR mice에 복강으로 접종한 결과 사구체내 혈관간 세포, 세뇨관 상피세포 및 간질세포 괴사등의 소견을 관찰하였으며, 전자현미경하에서 간질세포 및 세뇨관 상피세포에서 바이러스 입자를 확인하였다고 하였다.

면역조직화학적 방법에 의한 바이러스 항원 검출에 관해서 Takeda 등⁴¹⁾은 뇌심근염 바이러스 D변이주를 마우스에 감염시켜 ABC법으로 염색한 결과 대뇌의 변성된 신경세포의 세포질에서 바이러스 항원을 검출하였으며 인접해 있는 손상되지 않은 신경세포에서도 제6일-10일 사이에 검출되었다고 하였다. Yoon 등⁴⁷⁾은 뇌심근염 바이러스 D변이주를 SJL/J 마우스에 실험적으로 감염시켜 접종 2-3일 후 혜장의 베타세포 세포질에서

바이러스 항원을 검출하였다. Hayashi등⁴⁴⁾은 뇌심근염 바이러스 M 변이주를 6-8주령의 마우스에 접종한 후 3일 이내의 채장을 냉동 절편조직을 만들어 면역형광 염색을 실시한 결과 베타세포의 세포질내에서 많은 양의 항원을 검출하였으며, 이러한 항원의 검출은 접종후 5일, 7일, 10일 및 14째 순으로 감소되었으며 2주 이상에서는 검출되지 않았다고 하였고 때때로 염증 세포에서도 항원이 검출되었다고 하였다. 그리고 Matsuzaki 등²¹⁾은 뇌심근염 바이러스 D변이주를 Mongolian gerbils에 실험적으로 접종하여 HRP법으로 염색한 결과 채장의 손상된 세포세포의 세포질 공포내에서 바이러스 항원을 검출하였으나 랑게르한스섬내에서는 검출되지 않았다고 하였다.

본 실험에서도 변성된 대뇌 신경세포의 세포질과 채장의 외분비부 세포세포 세포질 내에서 강한 양성반응을 관찰하였으나 랑게르한스섬내에서는 관찰할 수 없었다. 그리고 Littlejohns & Acland²⁶⁾, Gainer⁴⁸⁾에 의하면 돼지에서 심장병소가 매우 미약하거나 병변이 관찰되지 않을지라도 바이러스는 대부분 심근에 고농도로 존재한다고 하였고, 조등²³⁾이 뇌심근염 바이러스 감염 자돈의 심근내에서 바이러스 항원을 검출하였지만 본 실험의 마우스 심근에서는 관찰할 수 없었던 점은 앞으로 더 연구해야 할 것으로 사료된다.

결 론

8-10주령의 ICR mice에 3종(K3, K11, ATCC-VR 129)의 뇌심근염 독주들을 뇌내 및 복강으로 감염시켜 병리조직 및 면역조직화학적으로 관찰하였던 바 결과는 다음과 같다.

1. 임상적으로 감염된 마우스들은 바이러스 독주, 접종경로에 따른 차이는 거의 없었다. 주요 임상증상으로 3일경 부터 침울, 식욕부진, 경련, 선회운동, 편측성 혹은 양측성 후지마비에 이어 폐사하였으며, 일반적으로 접종후 8일을 전후하여 회복하거나 폐사하였다.

2. 부검소견으로는 폐의 출혈점 및 출혈반이 관찰되었으며 그의 장기에는 특이한 소견은 없었다.

3. 병리조직학적 소견으로는 중추신경계에서 신경세

포 변성 및 괴사, 혈과주위 단핵세포 침윤, 신경교세포 증가가 관찰되었다. 채장에서 외분비부의 세포세포 괴사, 신장에서 사구체신염 소견과 함께 심근의 변성, 괴사, 석회화 및 충출혈 소견을 관찰하였다. 또한 간세포의 소상괴사와 폐의 간질성 폐렴 및 심한 충출혈 소견을 관찰하였다.

4. 면역조직화학적 염색 결과 채장의 외분비부 세포세포의 세포질내, 대뇌 신경세포의 세포질내에서 강한 양성 반응을 관찰하였다.

참고문헌

1. 대한 미생물학회편. 1991. 의학미생물학, 여문각. 838-847
2. Ruecket RR. Picornaviruses and their replication. Fields, BN, Knipe, DM, Chanck, PM, et al. Virology. Raven press. New York : 705-727.
3. Appel MJ. 1987. Virus infections of carnivores. Elsevier science publishers BB : 463-466.
4. Jungeblut CW, Sanders M. 1940 Studies of a murine strains of poliomyelitis virus in cotton rats and white mice. J Exp Med. 72 : 407-436
5. Jungeblut CW, Dalldorf G. 1943. Epidemiological and experimental observations on the possible significance of rodents in a suburban epidemic of poliomyelitis. Am J Pub Health. 33 : 169-172
6. Helwig FC, Schmidt ECH. 1945 A filter-passing agent producing interstitial myocarditis in anthropoid apes and small animals. Scinece. 102 : 31-33
7. Schmidt ECH, 1948. Virus myocarditis. Pathologic and experimental studies. Am J Pathol. X X IV : 97-117
8. Dick GW, Haddow AJ, Best, AM, et al. 1948. Mengo encephalomyocarditis—a hitherto unknown virus affecting man. The Cancet 2. 286-289
9. Warren J, Smadel JE, Russ, 1949b. The family

- relationship of encephalomyocarditis, Columbia -SK, MM and Mengo encephalomyelitis viruses. *J. Immunol.* 62 : 387-398
10. Murnane TG, Craighead JE, Mondragon, H, et al 1960. Fetal disease of swine due to encephalomyocarditis virus. *Science.* 131 : 498-499.
 11. Gainer JH, Sandefur JR, Bigler WJ. 1968. High mortality in a Florida swine herd infected with the encephalomyocarditis virus. An accompanying epizootiologic survey. *Cornell Vet.* 58 : 31-47
 12. Acland HM, Littlejohns, JR, 1955. Encephalomyocarditis virus infection of pigs. 1. An outbreak in New South Wales. *Aust Vet. J.* 51 : 409-415
 13. Love RJ, Grewal AS. 1986. Reproductive failure in pigs caused by encephalomyocarditis virus. *Aust Vet. J.* 63(4) : 128-129
 14. Ramos JR, Gomez L, Mayo, M, et al. 1983. Infecciones causadas por el virus de la encefalomyocarditis en cerdos y otras especies en Cuba durante los años 1975-1981. *Rvta. Cub. Cienc. Vet.* 14(1) : 71-77
 15. Sutherland RJ, horner GW, Fyfe BH. An outbreak of viral encephalomyocarditis in pigs. *N Z Vet J.* 25 : 225
 16. Roeh PM, Rodrigues NC, Oliveira SJ, et al. 1985. Encephalomyocarditis virus(EMCV) in swine in the state of Rio Grande Do Sul, Brazil *Rev Microbiol. (Sao Paulo).* 16 : 117-120
 17. Sanford SE, Josephson GKA, Rehmtulla AJ, et al. 1989. Antibodies to encephalomyocarditis virus in aborted and stillborn pigs. *Can Vet J.* 30 : 757
 18. Tesh RB, Wallace GD. 1977. Observations on the natural history of encephalomyocarditis virus. *Am J Trop Med Hyg.* 27(1) : 133-143.
 19. Murnane TG. 1982. Encephalomyocarditis virus. In. Foster HL, Smau JD, Fox JG. The mouse in biomedical research. Vol. II. Academic press, Inc : 353-357
 20. Kiham L, Mason P, Davies JNP. 1956. Host-virus relations in encephalomyocarditis(EMC) virus infections. II. Myocarditis in mongooses. *Am J Trop Med.* 5 : 655-663
 21. Matsuzaki H, Doi K, Mitsuoka T, et al. 1989. Experimental encephalomyocarditis virus infection in Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*). *Vet Pathol.* 26 : 11-17.
 22. Sugawara Y, Hirasawa K, Takeda M, et al 1991. Acute infection of encephalomyocarditis(EMC) virus in Syrian hamsters. *J Vet Med Sci.* 53(3) : 463-468.
 23. 조성환, 주한수, 김현수. 1993. 뇌심근염 바이러스의 실험적 감염자돈에 대한 병리학적 소견과 바이러스 항원의 면역조직화학적 검출. *대한수의학회지* 33 (2) : 301-308
 24. Leman AD, Straw BE, Mengeling WL et al 1992. Diseases of swine. 7th ed. Iowa state university press : 257-262.
 25. horner GW, Hunter, R. 1979. Experimental infection in pigs with encephalomyocarditis virus. *NZ Vet J.* 27 : 202-203.
 26. Littlejohns IR, Acland HM. 1975. Encephalomyocarditis virus infection of pigs. 2. Experimental disease. *Aust Vet J.* 51 : 416-422
 27. Watt DA, Spradbrow PB. 1974. Experimental encephalomyocarditis virus infection of pigs. *Aust Vet J.* 50 : 316-319
 28. Littlejohns IR. 1984. Encephalomyocarditis virus from stillborn pigs. *Aust Vet J.* 61(3) : 93
 29. Kim HS, Joo HS, Bergeland ME. 1989. Serologic, virologic, and histopathologic observations of encephalomyocarditis virus infection in mummified and stillborn pigs. *J Vet Diagn Invest.* 1 :

30. Joo HS, Kim HS, Leman AD. Detection of antibody to encephalomyocarditis virus in mummified or stillborn pigs. Arch Virol. 100 : 131-134
31. Christianson WT, Kim HS, Joo HS, et al. 1990. Reproductive and neonatal losses associated with possible encephalomyocarditis virus infection in pigs. Vet Rec. 126 : 54-57.
32. Burch GE, Tsui CY, Harb JM. 1972. The early renal lesions of mice infected with encephalomyocarditis virus. Lab Invest. 26(2) : 163-172
33. Harb JM, Hiramoto Y, Burch GE. 1974. Viral hepatitis in encephalomyocarditis virus infected mice. Pathol Microbiol. 40 : 65-78
34. Craighead JE. 1966. Pathogenicity of the M and E variants of the encephalomyocarditis(EMC) virus. I. Myocardiotropic and neurotropic properties. Am J Pathol. 48 : 333-343.
35. Craighead JE. 1966. pathogenicity of the M and E variants of the encephalomyocarditis(EMC) virus. II. Lesions of the pancreas, parotid and lacrimal glands. Am J Pathol. 48 : 375-386
36. Cerutis DR, Bruner RH, Thomas DC, et al. 1989. Tropism and histopathology of the D, B, K, and MM variants of encephalomyocarditis virus. J Med Virol. 29 : 63-69.
37. 하용공, 윤석민, 정병탁 등. 1980. 돼지 뇌심근염 바이러스의 분리 배양. 대한수의학회지 31(4) : 479-484.
38. 박남용, 정치영, 이창영 등 1990. 번식장애를 수반한 돼지 뇌심근염 바이러스 감염증, 대한 수의학회지 30 : 441-446.
39. 박남용. 1992. 돼지 뇌심근염 바이러스의 실험적 감염에 의한 병리학적 관찰. 대한수의사회지 28(12) : 726-735.
40. Pope JH. 1959. A virus of the encephalomyocarditis group from a water-rat, *Hydromys chrysogaster*, in North Queensland. Aust J Exp Biol. 37 : 117-124.
41. Takeda M, Hirasawa K, doi K. 1991. Lesion in the central nervous system of DBA/2 mice infected with the D variant of encephalomyocarditis virus(EMC-D). J Vet Med Sci. 53(6) : 1013-1017
42. Angevine DM, Furth J. 1943. A fatal disease of middle-aged mice characterized by myocarditis associated with hemorrhage in the pleural cavity. Am J Pathol. 19 : 187-195.
43. Dea S, Bilodeau R, Marineau GP. 1991. Outbreaks in Quebec pig farms of respiratory and reproductive problems associated with encephalomyocarditis virus. J Vet Diagn. Invest. 3 : 275-282.
44. Hayashi K, Boucher DW, Notkins AL. 1974. Virus-Induced diabetes mellitus. II. Relationship between beta cell damage and hyperglycemia in mice infected with encephalomyocarditis virus. Am J Pathol. 75 : 91-102
45. Craighead JE, Higgins DA. 1974. Genetic influences affecting the occurrence of a diabetes mellitus-like disease in mice infected with the encephalomyocarditis virus. J Exp Med. 139 : 414-426.
46. Craighead JE, Kanich, RE, Kessler JB. 1974. Lesions of the islets of Langerhans In encephalomyocarditis virus-infected mice with diabetes mellitus-like disease. I. Acute lesions. Am J Pathol. 74 : 287-300.

Legends for Photos

- Photo. 1.** Perivascular cuffings in cerebrum. Mice died on the 3rd day after intraperitoneally inoculation with EMC-K₁₁. (HE, × 50)
- Photo. 2.** Neuronal degeneration and necrosis in cerebrum. Mice died on the 3rd day after intracerebrally inoculation with EMC-K₁₁. (HE, × 100)
- Photo. 3.** Spongiosis in cerebrum. Mice died on the 4th day after intracerebrally inoculation with EMC-K₃. (HE, × 100)
- Photo. 4.** Interstitial pneumonia in lung. Mice died on the 4th day after intracerebrally inoculation with EMC-K₃. (HE, × 50)
- Photo. 5.** Severe interstitial myocarditis with diffuse mononuclear inflammatory cell infiltration. Mice died on the 10th after intracerebrally inoculation with EMC-K₁₁. (HE, × 50)
- Photo. 6.** Focal necrotic foci in myocardium. Mice died on the 4th day after intracerebrally inoculation with EMC-K₃. (HE, × 100)
- Photo. 7.** Dystrophic calcification in myocardium. Mice died on the 7th after intraperitoneally inoculation with EMC-K₁₁. (HE, × 100)
- Photo. 8.** Acinar cell necrosis in pancreas. Mice died on the 8th day after intracerebrally inoculation with EMC-K₁₁. (HE, × 100)
- Photo. 9.** Focal necrosis in hepatocytes. Mice died on the 7th day after intracerebrally inoculation with EMC-K₃. (HE, × 50)
- Photo. 10.** Glomerulonephritis in kidney. Proteinaceous materials were noticed in Bowman's space of the damaged glomeruli. Mice died on the 4th day after intracerebrally inoculation with EMC-K₁₁. (HE, × 100)
- Photo. 11.** Degeneration and necrosis of renal tubular epithelial cells in kidney. Mice died on the 8th day after intracerebrally inoculation with EMC-K₃. (HE, × 100)
- Photo. 12.** Intracytoplasmic vacuoles of acinar cells are positive for viral antigens. Mice died on the 5th day after intraperitoneally inoculation with EMC-K₃. (ABC method, × 200)
- Photo. 13.** Intranuclear vacuoles of acinar cells are positive for viral antigens. Mice died on the 21 day after intracerebrally inoculation with EMC-K₁₁. (ABC method, × 100)
- Photo. 14.** Viral antigens in the cytoplasm of a nerve cell. Mice died on the 3rd day after intracerebrally inoculation with EMC-K₁₁. (ABC method, × 200)





