

일반시설에서 사육되는 마우스의 품질향상을 위한 기초조사 연구

이홍식 · 성노현* · 김경진* · 김철규**

서울대학교 수의과대학 및 농생명공학부, 생명과학부*
국립독성연구소 병리부**
(2000년 8월 22일 게재승인)

Survey on environmental condition and health state of laboratory mouse in conventional facility

Heungshik S. Lee, Rho Hyun Seung*, Kyungjin Kim*, Chul-kyu Kim**

College of Veterinary Medicine and School of Agricultural Biotechnology,
School of Biological Sciences*, Seoul National University,
National Institute of Toxicological Safty Research**

(Accepted by Aug 22, 2000)

Abstract : For the improvement of quality control of laboratory mouse, we investigated the environmental condition, histopathological findings and serological test using ELISA to mouse hepatitis virus(MHV), *Mycoplasma pulmonis*(MP), *Clostridium piliforme*(TZ) and Sendai virus (HVJ) of ICR, C57BL/6, CBA and C3H/He mice that were supplied from conventional laboratory animal facility.

1. The ammonia concentration of facility was below the recommended concentration, 15ppm, by the KNIH, and the room temperature(21~23℃) and relative humidity(40~60%) was optimum range recommend by the Ministry of Health and Welfare, respectively.

2. The incidence rate of inapparent disease was 86.6% and the major findings in the liver were vacuolar degeneration with nucleic pleomorphism. The lung was shown the thickening of alveolar wall and interstitial pneumonia with congestion. The kidney and spleen were observed the mild congestion and extramedullary hematopoiesis, respectively.

3. The positive reaction rates against MHV and MP in serological test was 97.9% and 37.5%, respectively but HVJ and TZ were negative.

These results suggest that laboratory mice could be infected with MHV and MP under conventional environments. Therefore we recommend to select thoroughly inapparent infected mice and to convert conventional system into SPF facility as soon as possible.

Key words : microbiological monitoring, mouse, environmental condition, *Mycoplasma pulmonis*, mouse hepatitis virus.

이 논문은 서울대학교 연구처 정책연구비 지원과 수의과대학 부속 수의과학연구소 연구비 지원에 의하여 수행되었음.

Address reprint requests to Dr. Heungshik S. Lee, College of Veterinary Medicine, Seoul National University, Suwon 441-744, Republic of Korea.

서 론

실험동물 사육에서 실험동물의 질병관리가 중요하게 다루어지는 것은 환경관리나 유전학적 관리가 아무리 완벽하다 하더라도 병에 걸린 실험동물을 대상으로 한 실험결과는 정상 데이터일 수 없기 때문이다¹. 일반적으로 실험동물 사육장에서는 외견상 병에 걸린 실험동물이 실험동물 사육장 관리인에 의하여 발견 즉시 도태되는 것이 관례이므로 크게 문제되지 아니할 수도 있다.

그러나 문제가 되는 것은 외견상 건강해 보이지만 약물투여, 스트레스, 환경변화 등에 의해 질병이 야기될 수 있는 잠재질병의 불현성 감염유무이다. 이것은 어떤 실험적 처치로 인하여 잠재질병이 발현되어 실험목적이 달성되기도 전에 실험군이 모두 사망할 수도 있고, 죽지 않는다해도 혈액치, 혈액화학치, 맥박, 호흡, 혈압, 체중 등에 변화를 가져와 연구결과를 해석할 때 오류를 유발할 가능성이 크기 때문이다^{2,3}.

따라서 이 연구에서는 실험동물로 많이 사용되는 마우스를 대상으로 *Clostridium piliforme* (이하 TZ), *Mycoplasma pulmonis* (이하 MP), mouse hepatitis virus(이하 MHV), Sendai virus(이하 HVJ) 등의 불현성 감염상태를 확인하기 위해 혈청항체검사와 간장, 폐장 등에 대한 병리조직학적 검사를 시행하고 아울러 일반사육시설의 사육환경을 조사하여 실험동물의 사육환경 개선과 실험동물 품질향상의 기초자료를 마련코자 시도하였다.

재료 및 방법

실험동물 : 실내 공기정화기가 설치된 일반사육시설 (conventional facility)에서 생산공급되는 9주령의 ICR, C3H/He, C57BL/6 및 CBA 마우스(암컷)를 무작위로 각각 6마리씩 1차군(3월)과 2차군(5월)으로 선별하여 병리조직학적 및 혈청학적 검사를 실시하였다. 이들 실험동물은 펠릿사료와 수돗물을 자유섭식시켜 사육하였으며 깔짚은 대패밥을 주로 사용하고 주 1회 교체하여 사육하였다.

사육환경조사방법 : 1월부터 8월 사이에 마우스 사육실의 온도, 습도, 암모니아 농도를 측정하였다. 온도와 습도는 Hydrothermometer(Isuzu, Japan)를 사육실 중앙에 설치하여 1주일 단위로 측정하였고 공기중의 암모니아

농도는 오전 9시 30분에 사육실 중앙부분의 1m 높이에 서 Gastec(Kitagawa, Japan)을 이용하여 100cc의 공기를 Gastec pipet을 통해 흡입한 후 표준색도와 비교하여 측정하였다.

병리조직학적 검사 : 각 계통 6마리중 3마리는 잠재질병 발현을 유발하기 위해 Fujiwara 증폭법⁴에 따라 cortisone을 마리당 1mg씩 주사하여 3일후 부검하였으며 나머지 3마리는 cortisone을 주사하지 않고 부검을 실시하였다. 부검은 먼저 실험동물을 ether 마취후 개복하여 복강장기 및 흉강장기들의 육안소견을 확인한 후 간장, 비장, 신장, 폐장, 심장을 적출하여 10% 중성포르마린에 고정하였다.

고정된 조직은 통상절차에 따라 파라핀으로 포매한 다음 microtome(AO, USA)으로 4 μ m 두께의 조직절편을 만들어 Hematoxylin-Eosin(HE) 염색을 하여 광학현미경으로 관찰하였다.

ELISA 측정 : 부검과 동시에 모든 마우스의 하대정맥을 통하여 혈액을 채취하였다. 채취된 혈액에서 혈청을 분리하기 위하여 상온에서 1시간 방치한 후 10분간 1,000 rpm으로 원심하여 혈청을 분리하였으며 -70℃에 혈청을 보관하면서 항체가를 측정하였다.

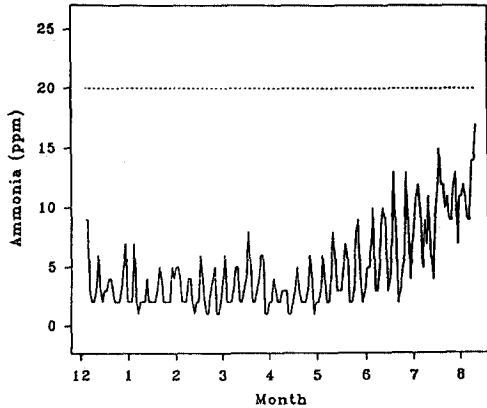
항체가 측정은 ELISA 법을 이용하여 MHV 분석용 kit인 MHV EIA kit, HVJ분석용 kit인 HVJ EIA kit, MP 분석용 kit인 MP EIA kit 및 TZ 분석용 kit인 TZ EIA kit (Denka Seiken, Japan)를 사용하였으며 Single wave length의 microplate-spectrophotometer상 492nm에서 optical density (OD)를 구하여 표준혈청의 low positive 보다 높은 OD 값을 나타내는 것을 양성으로 판정하였다.

결 과

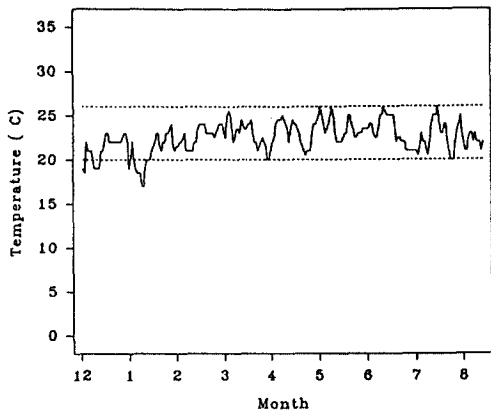
사육환경조사결과 :

암모니아 농도 : 1월부터 5월 사이에는 평균 5ppm 이하의 암모니아양이 측정되었지만 여름철인 6월에서 8월 사이에는 이들 보다 훨씬 높은 10~15ppm의 암모니아가 측정되었고 심할 때는 17ppm에 이른 경우도 간혹 있었다. 특히 주중과 주초를 비교해보면 주초에 암모니아 농도가 현저히 높았다(Text-Fig 1).

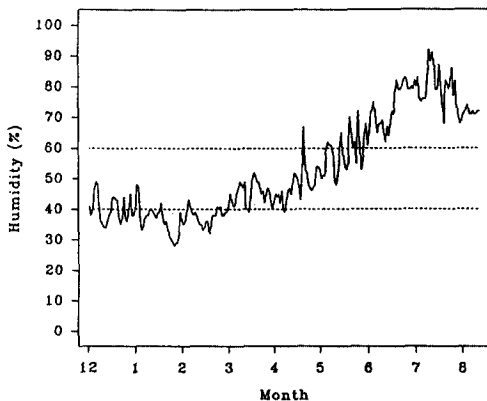
실온 : 1월부터 8월까지의 사육실의 실내온도는 큰 차이를 보이지 않고 통상 21℃에서 23℃ 사이를 유지하였다(Text-Fig 2).



Text-Fig 1. The concentration of ammonia in conventional animal rooms from January to August.



Text-Fig 2. The changes of temperature in conventional animal rooms from January to August.



Text-Fig 3. The relative humidity in conventional animal rooms from January to August.

습도 : 겨울철인 1월과 2월의 경우 사육실은 37~40%의 습도를 유지하였으나 봄철인 3월부터 5월까지의 습도를 나타내었다. 특히 장마철인 7월에는 80% 이상의 습도를 기록하였다(Text-Fig 3).

병리조직학적 소견 : 1차 및 2차군의 신장, 비장, 간장, 심장, 폐장 등에서 미약한 병변에서 고도의 병변까지 병변발현의 차이는 있었으나 병변을 확인할 수 있었으며 그 병변발현율은 86.6%(1차 93.3%, 2차 79.9%)였고 각 장기별 병변은 다음과 같았다(Table 1, 2).

신장에서의 병변은 주로 미약한 충혈과 신세관변성 소견을 보였으며 1차(95.8%) 및 2차(79.1%)의 평균 병변발현율은 87.4%였지만(Fig 1) 1차의 C3H/He 마우스에서는 신세관변성이 관찰되지 않았다.

비장의 병리조직학적 소견은 주로 골수의조혈이 관찰되었는데 이는 cortisone 투여군이 보다 심한 병변을 보였으며 이 소견과 병행하여 중호성백혈구 침윤이 있었으며 이들의 병변발현율은 79.1%였다(Fig 2, 3).

간장의 가장 뚜렷한 병변은 cortisone 투여군과 비투여군 모두에서 공포변성과 핵다형성이었다. 한편 cortisone 투여군의 경우 단핵구 침윤이 1차의 ICR, C3H/He, C57BL/6 및 CBA 마우스에서 관찰되었는데 병변발현율은 91.6%였으나 2차 관찰에서는 cortisone 비투여군의 CBA 마우스에서는 이들 병변을 관찰할 수 없었다(Fig 4, 5).

심장은 모든 마우스의 경우 1차 및 2차의 cortisone 투여군과 비투여군의 구분없이 미약한 충혈소견을 보였으며 1차(100%) 및 2차(87.5%)의 평균 병변발현율은 93.7%였다.

폐장은 1차 및 2차의 경우 주로 폐포벽의 비후소견과 함께 충혈소견, 림프구양세포증식(lymphoid cell hyperplasia)을 관찰할 수 있었는데 이들 병변의 정도는 2차군이 1차군보다 심하였으며 1차(100%) 및 2차(62.5%)의 평균 병변발현율은 81.2%였다(Fig 6, 7). 이들 소견과 함께 간질성 폐렴소견도 관찰되었는데 이들 소견 역시 1차군보다 2차군의 C57BL/6와 CBA 마우스의 cortisone 투여군에서 분명하게 관찰되었다(Fig 8).

ELISA분석성적 :

MHV 양성율 : MHV 양성반응은 총 48마리중 47마리에서 양성반응이 관찰되어 MHV에 대한 양성율은 97.9%(1차 95.8%, 2차 100%)였다(Table 3). 아울러 ICR, CBA, C3H/He는 마우스 계통에 관계없이 cortisone 투여군이나

Table 1. Histopathological findings in first sacrificed mice

Group	ICR		C3H/He		C57BL/6		CBA	
	NC	C	NC	C	NC	C	NC	C
Kidney								
Congestion	3(W)	3(W)	3(W)	3(W)	3(W)	2(W)	3(W)	3(W)
Interstitial nephritis	0	0	2(W)	0	0	0	0	0
Tubular degeneration	0	3(W)	0	0	2(W)	2(W)	1(W)	3(W)
Subcapsular hemorrhage	1(W)	0	0	0	1(W)	0	0	0
(Incidence rate)	(95.8%)							
Spleen								
Extramedullary hematopoiesis	2(M)	3(M)	2(M)	3(W)	3(M)	2(W)	2(M)	2(M)
Hemosiderosis	0	1(W)	0	3(M)	0	0	0	0
Atrophy of white pulp	0	3(S)	2(M)	3(S)	0	2(S)	0	2(s)
Hypertrophy of white pulp	1(M)	0	0	0	2(M)	0	1(M)	0
Neutrophil infiltration	0	1(W)	0	3(M)	0	1(W)	0	1(M)
(Incidence rate)	(79.1%)							
Liver								
Mononuclear cell infiltration	0	2(W)	0	2(M)	0	3(W)	0	0
Vacuolar degeneration	1(W)	3(W)	1(W)	2(W)	2(W)	3(W)	1(W)	2(W)
Hydropic degeneration	0	3(S)	0	1(S)	0	3(S)	0	2(S)
Nucleic pleomorphism	3(M)	3(M)	3(W)	1(M)	3(S)	3(W)	3(W)	2(W)
Coagulation necrosis	1(W)	0	0	1(W)	0	0	0	2(W)
Hemorrhage	0	0	0	0	0	0	1(W)	0
Apoptosis	0	0	1(W)	0	1(W)	0	0	0
Kupffer cell hyperplasia	0	0	1(W)	0	0	0	0	0
(Incidence rate)	(91.6%)							
Heart								
Congestion	3(W)	3(W)	3(W)	3(W)	3(W)	3(W)	3(W)	3(W)
(Incidence rate)	(100%)							
Lung								
Thickening of alveolar wall	3(W)	2(W)	1(W)	1(W)	3(W)	2(W)	3(W)	3(W)
Interstitial pneumonia	0	0	0	0	1(W)	0	0	0
Congestion	3(M)	3(M)	3(M)	3(M)	2(M)	3(M)	3(M)	3(M)
Mononuclear cell infiltration	0	0	0	0	2(W)	0	0	0
Lymphoid cell hyperplasia	1(M)	0	1(M)	1(M)	1(M)	0	0	0
Hemorrhage	1(M)	0	0	1(M)	2(W)	0	0	0
(Incidence rate)	(100%)							

Note : (W); weak, (M); moderate, (S); severe, NC; non-cortisone treated group, C; cortisone treated group.

* Arabic number indicates number of animals observed histopathological findings.

Table 2. Histopathological findings in second sacrificed mice

Group	ICR		C3H/He		C57BL/6		CBA	
	NC	C	NC	C	NC	C	NC	C
Kidney								
Congestion	3(M)	2(W)	3(M)	2(M)	3(W)	2(W)	1(W)	3(W)
Interstitial nephritis	0	0	2(W)	0	0	0	0	0
Tubular degeneration	1(W)	2(W)	1(W)	1(W)	2(W)	1(W)	0	3(W)
Subcapsular hemorrhage	0	0	0	0	0	0	0	0
(Incidence rate)	(79.1%)							
Spleen								
Extramedullary hematopoiesis	3(M)	2(M)	3(M)	1(W)	2(M)	1(M)	2(M)	3(M)
Hemosiderosis	0	0	2(W)	1(W)	2(W)	2(W)	0	2(W)
Atrophy of white pulp	0	2(W)	1(W)	2(M)	0	1(W)	0	3(M)
Hypertrophy of white pulp	0	0	0	0	0	0	0	0
Neutrophil infiltration	1(W)	0	0	2(W)	1(W)	1(W)	0	2(W)
(Incidence rate)	(79.1%)							
Liver								
Mononuclear cell infiltration	0	3(M)	0	2(M)	0	3(M)	0	2(M)
Vacuolar degeneration	2(W)	0	1(W)	0	0	0	1(W)	0
Hydropic degeneration	0	3(S)	0	2(S)	0	2(S)	0	3(S)
Nucleic pleomorphism	3(W)	0	2(W)	3(W)	2(W)	0	2(W)	2(W)
Coagulation necrosis	0	1(W)	0	2(W)	0	0	0	1(M)
Hemorrhage	0	0	0	0	0	0	0	0
Apoptosis	0	0	0	0	0	0	0	0
Kupffer cell hyperplasia	2(M)	0	3(M)	0	2(M)	0	1(M)	0
(Incidence rate)	(91.6%)							
Heart								
Congestion	3(W)	2(W)	3(W)	3(W)	3(W)	2(W)	2(W)	3(W)
(Incidence rate)	(87.5%)							
Lung								
Thickening of alveolar wall	3(W)	2(W)	0	2(W)	2(W)	1(W)	1(W)	2(W)
Interstitial pneumonia	0	0	0	0	0	1(M)	0	1(M)
Congestion	0	0	1(M)	2(M)	1(W)	0	0	2(M)
Mononuclear cell infiltration	0	0	0	0	0	0	0	0
Lymphoid cell hyperplasia	1(M)	0	1(M)	1(M)	3(S)	0	2(S)	0
Hemorrhage	0	0	1(W)	2(M)	0	0	0	1(M)
(Incidence rate)	(62.5%)							

Note : (W); weak, (M); moderate, (S); severe, NC; non-cortisone treated group, C; cortisone treated group.

* Arabic number indicates number of animals observed histopathological findings.

Table 3. ELISA of mice serum to mouse hepatitis virus (MHV)

Group	Strain	Cortisone treated group			Non-cortisone treated group		
		1	2	3	1	2	3
First sacrificed group	ICR	0.792	1.081	1.351	0.611	0.978	0.828
	CBA	1.258	1.526	0.647	1.273	0.843	0.443
	C3H/He	1.258	1.854	1.072	0.986	1.530	1.492
	C57BL/6	0.250	0.502	0.680	0.623	0.485	0.880
(Positive rate)		(95.8%)					
Second sacrificed group	ICR	1.451	0.875	0.568	0.628	0.798	0.629
	CBA	1.481	1.393	0.581	0.523	0.944	0.792
	C3H/He	2.063	1.364	1.242	1.662	1.384	1.200
	C57BL/6	1.394	1.149	1.213	0.910	1.556	1.284
(Positive rate)		(100%)					

* Note : Low positive 0.397, High positive 0.663.

Table 4. ELISA of mice serum to *Mycoplasma pulmonis* (MP)

Group	Strain	Cortisone treated group			Non-cortisone treated group		
		1	2	3	1	2	3
First sacrificed group	ICR	0.411	0.177	0.296	0.330	0.192	0.244
	CBA	0.195	0.232	0.273	0.198	0.183	0.193
	C3H/He	2.181	0.612	1.154	0.203	0.608	0.520
	C57BL/6	0.201	0.183	0.177	0.472	0.198	0.194
(Positive rate)		(29.2%)					
Second sacrificed group	ICR	1.058	0.949	0.583	1.028	0.987	1.687
	CBA	0.198	0.188	0.202	0.240	0.215	0.195
	C3H/He	1.778	1.619	0.295	1.226	1.766	1.174
	C57BL/6	0.211	0.196	0.273	0.188	0.333	0.208
(Positive rate)		(45.8%)					

* Note : Low positive 0.401, High positive 1.487.

비투여군 모두 양성반응을 보였으나 C57BL/6 마우스는 cortisone 투여군의 경우 1마리만이 음성반응을 보였다.

2차군의 경우에는 cortisone 투여군과 비투여군의 모든 마우스가 양성반응을 나타내 100%의 양성율을 보였다.

MP 양성율 : MP 양성율은 48마리중 18마리가 양성반

응을 보여 37.5%(1차 29.2%, 2차 45.8%)의 감염율을 나타내었다(Table 4). 그러나 ICR, C3H/He, C57BL/6 및 CBA 마우스 사이에 양성율에 차이가 있었고 cortisone 투여군과 비투여군 사이에도 차이를 보였다. 즉, 1차 ICR 마우스와 C57BL/6 마우스 각 6마리중 전자는 cortisone 투여군

1마리만이 양성반응을 보여 16.7%의 양성율을 보였다. 그러나 CBA 마우스는 모두가 음성반응을 보였고 C3H/He 마우스는 cortisone 투여군 모두가 양성반응을 보여 100%의 양성율을 나타내었다. 한편 2차군의 ICR 마우스와 C3H/He 마우스는 cortisone 투여군과 비투여군 모두가 양성반응을 보여 100% 감염율을 나타낸 반면 CBA 마우스와 C57BL/6 마우스는 모두가 음성반응을 보였다.

HVJ 바이러스와 TZ 양성율 : 1차 및 2차 ICR, C3H/He, C57BL/6 및 CBA 마우스의 cortisone 투여군과 비투여군 모두가 HVJ 바이러스 및 TZ균에 음성반응을 보였

다(Table 5, 6).

고 찰

의학, 수의학, 생물학, 약학 등의 생명과학분야에 제공되는 건강한 실험동물은 각종 연구와 실험에서 신뢰성 있는 데이터를 얻는데 가장 기본이 되는 요소이다. 따라서 실험동물의 고품질화를 위한 품질관리로서 현성감염이 전혀 없는 실험동물을 제공하거나 잠재질병의 불현성 감염을 통제하여 각종 연구와 실험에 필요한 실험동

Table 5. ELISA of mice serum to Sendai Virus(HVJ)

Group	Strain	Cortisone treated group			Non-cortisone treated group		
		1	2	3	1	2	3
First sacrificed group	ICR	0.184	0.182	0.204	0.199	0.208	0.211
	CBA	0.311	0.230	0.237	0.221	0.212	0.310
	C3H/He	0.198	0.234	0.229	0.209	0.200	0.191
	C57BL/6	0.222	0.208	0.206	0.282	0.219	0.197
Second sacrificed group	ICR	0.219	0.226	0.198	0.217	0.218	0.224
	CBA	0.223	0.224	0.198	0.228	0.258	0.218
	C3H/He	0.225	0.276	0.226	0.218	0.341	0.243
	C57BL/6	0.220	0.195	0.229	0.196	0.198	0.197

* Note : Low positive 0.538, High positive 2.098.

Table 6. ELISA of mice serum to *Clostridium piliforme* (TZ)

Group	Strain	Cortisone treated group			Non-cortisone treated group		
		1	2	3	1	2	3
First sacrificed group	ICR	0.181	0.191	0.196	0.189	0.188	0.200
	CBA	0.193	0.205	0.199	0.183	0.195	0.192
	C3H/He	0.226	0.216	0.211	0.198	0.185	0.202
	C57BL/6	0.222	0.206	0.185	0.214	0.234	0.199
Second sacrificed group	ICR	0.179	0.187	0.189	0.194	0.195	0.198
	CBA	0.189	0.195	0.201	0.188	0.199	0.197
	C3H/He	0.233	0.245	0.200	0.220	0.209	0.205
	C57BL/6	0.216	0.197	0.212	0.202	0.218	0.210

* Note : Low positive 0.590, High positive 1.043.

물을 실험동물사용자에게 제공하는 것은 실험동물공급자가 가져야 될 최고의 의무이다.

이와같은 견지에서 현재 선진국에서 동물실험에 사용되는 실험동물은 대부분이 barrier system에서 번식, 유지, 공급되는 SPF 실험동물이라는 점에서 실험동물의 기생충 감염, 불현성 감염, 질병발생 등 실험동물의 건강상태는 전혀 문제가 되지 않고 있다. 따라서 외국에서는 무감염동물, 무질병동물, 특정미생물감염동물(Gnotobiot)의 개발 등의 연구가 활발히 이루어지고 있을 뿐 아니라 어떤 인체질병에 어떤 실험동물을 선택하여야 하느냐 하는 질병모델동물의 개발에 주력하는 형편이다.^{1,5,6}

그러나 우리나라의 경우에는 계통이 불확실한 실험동물을 사용하여 연구결과를 발표하므로 국제적으로 좋은 업적임에도 공인 못받는 일이 종종있으며 최근까지도 우리나라가 보유하고 있는 근교계의 실태조차 정확히 파악되지 못한채 단지 실험동물실태에 관한 조사가 이루어졌을뿐이며 실험동물 건강과 관련해서는 혈청학적, 기생충학적, 병리조직학적 방법에 의한 잠재질병 조사는 단편적인 보고가 있을 뿐이다.⁷

실험동물 사육조건의 환경적 요인은 온도, 습도, 기류 등의 기후요인, 먼지, 취기, 소음, 조명 등의 물리화학적 요인, 사육상, 깔짚 등의 주거요인, 사료와 음수 등의 영양요인 등 그 요인이 다양하다.^{8,9}

이들 중에서도 사육시설내 온·습도와 취기의 경우 실험동물의 종류에 따라 다소 차이는 있으나 마우스를 비롯한 설치류의 경우 1988년 6월 10일부로 시행된 보건사회부 고시 88-39호 "실험동물의 사육 및 관리 등에 관한 기준(88. 5. 27)"에 의하면 온도 20~26℃, 상대습도 40~60%, 암모니아 농도 20ppm 이하로 규정하고 있으며 이 규정의 세부사항을 규정한 국립보건안전연구원 예규 88-51호 "SPF 실험동물사용 및 사육관리규정(1993. 7. 5)"에 의하면 온도 여름 24±1℃, 겨울 25±1℃, 습도 55%, 암모니아 취기 20ppm이하, 조명 300~500Lux, 소음 50폰 이하로 규정하고 있다. 한편 보건사회부의 KGLP 해설서¹⁰에 의하면 실험동물사육실내 환경조건은 온도 20~26℃, 습도 40~60%, 암모니아농도 20ppm 이하, 실내조명 작업면상 40~85cm에서 150~300Lux, 소음 60폰 이하로 규정하고 있다.

사육실 환경조사를 실시한 본 조사연구의 경우 실내 온도가 1월부터 8월까지 대체로 21~23℃를 유지하였고 습도는 40~60%를 유지하였으며 암모니아농도는 1월부

터 5월까지 5ppm 이하, 6월부터 8월까지 대체로 10~15ppm이 측정되어 온도, 습도, 암모니아 농도 등이 보건사회부고시 88-39호 및 KGLP¹⁰를 충족하였으나 국립보건안전연구원 예규 88-51호에서 규정하고 있는 온도, 습도와는 다소 차이가 있었다. 이와같은 점은 사육시설이 SPF 시설이 아니라 해도 차후 SPF 시설로의 개보수가 필히 요구되므로 참고되어야 할 사항으로 지적될 수 있을 것으로 사료된다. 아울러 여름철에는 습도가 60~80%로 높고 암모니아 농도가 10~15ppm 정도로 높았었다는 점은 사육환경개선을 위해 참고해야 될 사항으로 생각된다.

본 실험에서는 조명, 소음, 배기, 기류 등을 조사한 바 없어 사육환경검토에 참고할 수는 없겠으나 이들 기준도 실험동물사육조건상 무시할 수 없는 주요 요소라는 점에서 차후 조사할 필요가 있는 것으로 사료된다. 특히 암모니아 농도의 경우 주중에 비해 주초에 현저히 높았다는 사실은 일요일 휴무에 의해 환기, 청소 등이 이루어지지 못한데 기인한 것으로 사료되는 바 생물사육에서 휴무가 있을 수 없다는 점에서 사육관리에 문제가 있는 것으로 판단된다. 그리고 장마철인 7월에는 80% 이상의 습도가 기록되었는데 이것은 장마에 의한 자연조건에 원인이 있겠으나 사육실에 적절한 습도를 일정하게 유지할 수 있는 방안이 마련되어야 할 것이다.

한편 암모니아 취기는 20ppm 이하로 유지되어 크게 문제는 되지 않았으나 암모니아 취기가 주로 오줌의 분해에 기인하고 이것은 깔짚의 양보다 깔짚의 질에 문제가 되므로 오줌의 흡수가 좋은 zeolite 파우를 깔짚으로 쓰는 것도 바람직하나 경제적인 면에서 부담이 되므로 주말에서 주초까지 암모니아가 증가되는 것을 막기 위해서는 분뇨가 알카리로 되는 것을 방지할 목적으로 주말에 깔짚에 구연산철이나 염화철을 소량 분무하는 방법을 강구하는 것도 권고할 만한 사항이 되겠다.⁸ 그리고 공조시설을 자동화하여 휴일에도 환기가 자동적으로 이루어지도록 조절하는 것이 바람직할 것으로 사료된다.

아울러 박 등¹¹이 지적한 바와 같이 암모니아 발생억제와 수분흡수가 뛰어난 경질깔짚과 안락성이 좋은 연질깔짚의 혼합에 의한 엔리치먼트(enrichment)도 권장될 수 있을 것으로 사료된다.

일반적으로 사육환경개선에 관해서는 흔히 SPF 시설에서만 논의되지만^{12,13} 일반사육시설도 사육환경을 개선한다면 보다 건강한 실험동물을 사육공급할 수 있는 가

능성이 있으므로 SPF 시설로 개보수가 이루어지기 전이라도 이에 대한 재고가 필히 요구된다.

마우스의 불현성 감염을 일으키는 주요 질병은 살모넬라병(salmonellosis), TZ병(Tyzzler disease), HVJ병(Sendai virus infection), 마우스간염(mouse hepatitis), 마이코플라즈마병(mycoplasmosis) 등인데 이들은 각종 약물, 스트레스, 환경요인 등에 의해 발병이 쉽게 되거나 2차 감염의 원인이 될 뿐 아니라 외관상 건강하게 보이는 불현성 감염을 일으키므로 근절이 매우 어려워 관행 사육을 하는 일반사육시설에서는 질병콘트롤에 큰 애로를 야기한다¹⁴.

나아가서 이와같은 불현성 잠재질병감염 실험동물물 대상으로 실험하는 경우 그 신뢰성이 크게 저하되어 학술적으로 인정되지 않는 것이 국제적인 통례이다²³.

본 실험결과 1차 및 2차군의 신장에서 미약한 총혈소견이 cortisone 투여군이나 비투여군 모두에서 관찰되어 이 등⁷이 신장에서 이와같은 소견을 볼 수 없었다는 보고와는 차이를 보였다. 본 실험결과에서 관찰된 소견은 일반적으로 인정되는 바와 같이 사육환경이 불량하면 신장에 미약한 병변이 야기된다는 보고에 비추어¹⁵ 사육환경 불량에 기인된 것으로 사료된다. 비장의 경우 이 등⁷은 어떤 병변소견도 관찰할 수 없었다고 하였지만 이 연구에서는 이 등¹⁶⁻¹⁸이 보고한 것과 같이 골수의조혈소견을 관찰할 수 있었는데 이는 cortisone 투여에 의한 면역억제로 잠재질병이 증폭되어 출현하는 소견일 수도 있으나 사육시설 불량이나 인위적인 스트레스에 의해서도 유발되고 실험동물의 경우 영양불량에 의해 야기될 수 있다는 점에서 볼 때¹⁹ 이들이 복합적으로 작용한 것으로 생각된다.

간장에서는 1차 또는 2차군의 경우 이 등¹⁶⁻¹⁸이 보고한 것과 같이 핵다형성과 공포변성이 관찰되었다. 이들 소견이 대체로 바이러스 감염에 의해 출현된다는 일반론에 입각해볼 때²⁰ 아마도 마우스에 흔히 출현되는 마우스 간염 바이러스에 의한 소견²¹이 아닌가 사료되며 이는 혈청학적 조사에서 MHV가 97.9%의 양성율을 보였다는 사실에 의해 뒷받침될 것으로 판단된다.

아울러 간장에서 관찰되는 공포변성은 사료부족, 음수불량, 공기혼탁, 밀집사육 등에 의한 스트레스에 의해 발병된다는 점에서²⁰ 앞으로 사육환경이나 사료 및 음수 공급에 보다 관심있는 관리가 요구된다.

폐장의 경우 1차 및 2차 모든 경우 이 등^{7,16-18}의 보고와 같이 주로 폐포벽 비후소견과 함께 림프구양세포증식

및 간질성 폐렴소견이 관찰되었는데 이는 마이코플라즈마병의 특징적인 소견이라는 점¹⁴에서 아마도 MP에 의한 병변으로 판단된다. 이는 MP의 양성율이 본 실험결과 37.5% 였다는 사실에 의해 입증된다고 사료된다. 그러나 마우스 폐렴을 일으키는 원인이 MP 이외에도 *Pasteurella* 감염, HVJ 감염 및 PVM(peumonia virus in mice) 등이 있다는 점^{8,22-24}에서 이들에 의한 원인도 추정될 수 있으나 본 실험에서 행한 HVJ 바이러스의 혈청학적 진단에서 양성이 없었다는 점에서 HVJ 바이러스에 의한 병변은 아닌 것으로 추정된다.

한편 이 등⁷은 ICR, C57BL/6, CBA, C3H/He 마우스를 대상으로 폐장병변을 관찰한 바 이들중 ICR 마우스가 병변이 심하였다고 하였으나 본 실험에서는 마우스 계통과 관계없이 병변을 관찰할 수 있었다. 그러나 김과 임²²이 432마리의 ICR 마우스를 대상으로 병리조직학적 검사를 한 바 마이코플라즈마병을 나타낸 것이 12.5% 였다는 점에서 볼 때 본 실험에서 관찰된 마이코플라즈마병은 일반사육시설에서 유의하여 콘트롤해야 될 질병으로 사료된다.

ICR, C57BL/6, CBA 및 C3H/He 마우스를 대상으로 한 혈청학적 검사에서 행한 본 실험의 MHV 양성율이 97.9%였다는 사실은 이 등^{16,17}이 조사보고한 40-60% 보다 1.5~2.4배나 되는 양성율이었으며 7개 사육장의 ICR 마우스 189마리를 대상으로 검색한 결과 MHV 양성율이 50.3%였다는 보고²⁵ 및 5개 사육장의 ICR 마우스 190마리를 대상으로 검색한 바 34-71%의 양성율을 보였다는 보고²⁶보다 1.1배 내지 2.8배 되는 양성율을 보였다는 점은 일반사육시설의 질병관리가 문제가 있는 것으로 판단되어 사육관리 환경개선을 위한 조치가 조속히 이루어져야 될 것으로 사료된다.

한편 높은 양성율을 나타낸 원인은 환경개선을 위해 공기정화기를 설치한 것과 연관지어 고찰할 수도 있겠으나 MHV는 주로 경구감염이고 일부 비강감염에 의해 비점막에서 바이러스가 증식된다는 점^{8,23}에서 깔짚이나 분변이 감염마우스와 접촉하여 증가되지 않았는지 의심된다. 따라서 바이러스의 확산방지를 위해서 cortisone 주사에 의한 증폭법에 의해 검색된 잠재질병마우스를 하루 속히 제거하고 배리어시스템 설치를 대신한 임시 조치로 케이지에 filter cap을 장착하거나 각각의 사육실에 laminar flow 후드를 설치하는 것도 바람직할 것으로 사료된다.

MP는 마우스에서 만성호흡기 질병을 일으키는 대표적인 미생물로 이 등²³은 44마리의 마우스중 17마리가 MP 양성반응을 보여 38.6%의 양성율을 보였다고 하였고, 김과 김²⁵은 7개 사육장을 대상으로 조사한 바 15.0% 내지 87.5%로 평균 59.3%의 감염율을 보였다고 하였다. 한편 최 등²⁶은 10.8%의 감염율을, 김과 임²²은 12.5%의 검색율을 보고하는 등 다양한 MP 감염율을 보고한 바 있어 본 실험에서 관찰된 평균 37.5%와는 차이를 보였다. 한편 MP는 흔히 계통간에 감염율에 차이가 있는 것으로²⁷ 알려져 있는 것과 같이 본 실험에서도 1차 검색의 경우는 ICR, CBA, C3H/He, C57BL/6중 C3H/He 마우스가 83.3%의 뚜렷한 감염율을 나타낸 반면 2차 검색에서는 ICR 및 C3H/He 마우스가 100%의 감염율을 나타내었지만 CBA나 C57BL/6는 음성반응을 보였다.

MP도 흔히 잠재질병으로 각종 실험연구에 지대한 영향을 미치므로 MP가 없는 마우스의 공급을 위해서는 MP가 공기전염된다는 점에 착안하여 양호한 사육환경을 유지하도록 노력해야 될 것이다. 아울러 암모니아의 농도상승이 상부호흡기도의 병변의 발현을 촉진한다는 사실에 입각하여 실내환기나 공기유통 등에 유의하여야 될 것이다⁸.

이와같은 개선이 요구되는 것은 2차 검색시 암모니아 농도가 다른 계절보다 다소 높았다는 사실로 입증된다. 아울러 사육환경개선을 위해 설치한 실내공기정화기에 의해 폐쇄된 공간에서 계속 순환되는 공기가 좋지 못한 환경을 조성하지는 않는지 하는점과 함께 국립보건안전연구원 예규 88-51호에 규정된 대로 기류가 초당 13~18cm의 속도로 순환되었으며 시간당 14~18회 배기하여 공기가 정화되었는지도 검토되어야 할 것이다.

HVJ에 의해 야기되는 HVJ 병은 마우스의 급성 호흡기병으로 외국에서는 1968년에 44%²⁸, 1973년에 64%²⁹, 1977년에 66%³⁰ 등으로 증가되고 있어 크게 문제가 되고 있는데 다행히도 본 조사에서는 검출되지 않았다. 그러나 우리나라에서 HVJ 검출이 1990년에 62.4%의 양성율을 보였다는 보고²⁵와 1997년에 2%의 양성율을 보였다는 보고¹⁸에 비추어 보아 결코 안심할 수 없다고 사료되므로 질병침입의 원천봉쇄를 위해 수시로 cortisone 주사에 의한 증폭법⁴에 의한 검색을 실시하여 발견 즉시 도태시키는 방법으로 바이러스 침입의 가능성을 원천적으로 배제하여야 될 것이다.

아울러 *Clostridium piliforme*에 의해 야기되는 TZ병도

본 조사에서는 1차 및 2차 모두에서 검출되지 않았는데 이것 역시 국내 양성율이 6.8~16.9%나 된다는 점^{18,25}에서 TZ가 일반사육시설에 침입할 가능성을 배제할 수 없으므로 무작위로 선발한 마우스를 대상으로 cortisone을 대량 연속 7일 투여하여 발현시키도록 하는 방법을 응용하여 발견 즉시 도태시키는 것이 바람직하다고 사료된다.

본 연구조사에서 TZ나 HVJ가 비록 음성반응을 보였으나 해도 건강한 마우스를 대상으로 인접사육실 간에 MHV, HVJ, MP 등의 혈청변환(seroconversion)여부를 조사한 바 혈청변환이 이들 사이에서 쉽게 일어났다는 주장³¹에 비추어 볼 때 일반사육시설내 상호감염방지를 위한 위생관리는 보다 철저히 이루어지지 않으면 안된다고 사료된다.

결 론

실험동물의 품질향상을 위한 기초자료를 마련코자 일반시설을 한 실험동물사육장의 실내환경조사를 실시하고 일반사육시설에서 공급되는 ICR, C57BL/6, CBA 및 C3H/He 마우스를 대상으로 병리조직학적 검색 및 혈청학적 조사를 조사한 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 사육실의 암모니아 농도는 15ppm 이하로 국립보건안전연구원 예규 88-15호 실험동물사육 및 사육관리규정에 부합하였고 사육실의 온도와 습도는 각각 21~23℃ 및 40~60%로서 보건사회부 고시 88-39호 실험동물의 사육 및 관리기준에는 부합하였다.

2. 간장, 비장, 심장, 폐장, 신장을 대상으로 병리조직학적 검색을 실시한 바 조사대상 동물의 86.6%가 미약한 병변에서 고도의 병변까지를 나타내었다. 즉, 신장은 미약한 충혈을 보였고 비장은 골수외조혈 소견을 보였다. 간장은 공포변성과 핵다형성 소견을 보였고 폐장은 림프구양세포증식과 폐포벽 비후의 간질성 폐렴소견을 나타내었다.

3. Mouse hepatitis virus(MHV), Sendai virus(HVJ), *Mycoplasma pulmonis* (MP) 및 *Clostridium piliforme* (TZ)에 대한 혈청학적 조사를 실시한 바 MHV 97.9%, MP 37.5%의 양성율을 보여 심각하였으나 HVJ와 TZ는 음성반응을 나타내었다.

이상의 결과로 미루어볼 때 일반사육시설에서 사육되어 공급되는 마우스는 마우스 간염 및 마이코플라즈마 병의 잠재가능성이 크므로 향후 잠재질병이 없는 건강

한 마우스 공급을 위해 ELISA 기법에 의한 정기적인 잠재질병 검색과 도태가 요구되며 관행사육시설을 조속히 SPF 시스템으로 개보수하여야 할 것으로 판단된다.

Legends for figures

- Fig 1. Note glomerular congestion, second sacrificed ICR mouse, non-cortisone treated group. HE, ×400.
- Fig 2. Note splenic extramedullary hematopoiesis, first sacrificed ICR mouse, cortisone treated group. HE, ×400.
- Fig 3. Note splenic extramedullary hematopoiesis, second sacrificed C3H/He mouse, cortisone treated group. HE, ×400.
- Fig 4. Note hepatic vacuolar degeneration with nuclear pleomorphism, first sacrificed C3H/He mouse, cortisone treated group. HE, ×400.
- Fig 5. Note hepatic mononuclear cell infiltration and Kupffer cell hyperplasia, second sacrificed ICR mouse, non-cortisone treated group. HE, ×400.
- Fig 6. Note pulmonary hemorrhage and thickening of alveolar wall, first sacrificed C3H/He mouse, cortisone treated group. HE, ×400.
- Fig 7. Note pulmonary peribronchial lymphoid cell hyperplasia, second sacrificed C57BL/6 mouse, non-cortisone treated group. HE, ×400.
- Fig 8. Note pulmonary hemorrhage and interstitial pneumonia, second sacrificed CBA mouse, cortisone treated group. HE, ×400.

참고 문헌

1. Fujiwara K, Tokenake S, Shumiya S. Carrier state of antibody and viruses in a mouse breeding colony persistently infected with sendai and mouse hepatitis viruses. *Lab Ani Sci*, 26:153-159. 1976.
2. Hotchin J. The contamination of laboratory animals with lymphocytic choriomeningitis virus. *Am J Pathol*, 64:747-769. 1971.
3. Manaker RA, Piczak CV, Miller AA, et al. A hepatitis virus complicating studies with mouse leukemia. *J Natl Cancer Inst*, 27:29-51. 1961.
4. Fujiwara K, Tanishima Y, Tanaka M. Seroscreening of laboratory mouse and rat colonies for common murine pathogens. *Exp Anim*, 28:297-306. 1979.
5. Parker CJ, Hercules JJ, von Kaenel E. The prevalence of viruses in mouse colonies. *Nat Cancer Inst Monogr*, 20:25-45. 1967.
6. Carthew P, Verstaete A. A serological survey of accredited reeding colonies in the United Kingdom for common rodent viruses. *Lab Anim*, 12:29-32. 1978.
7. 이홍식, 이영순, 이정주 등. 일반사육시설 마우스의 잠재질병 조사연구. *한국실험동물학회지*, 10:167-176. 1994
8. 이영순. 실험동물의학. 서울대학교 출판부, 서울.p. 35, 302, 343, 441. 1989.
9. 보건사회부. KGLP 해설서. 의약품안전성시험관리 기준. 서울, 보사부. p.32. 1987.
10. 연세대학교 의과대학 실험동물부. Laboratory animal manual(99-00 version), 서울, 연세의대, p.57. 2000.
11. 박종성, 김희진, 이민재 등. 실험동물 엔리치먼트로서의 깔짚종류별 암모니아 가스 농도변화에 관한 연구. *한국실험동물학회지*, 15:221-226. 1999.
12. 이민재, 장자준. 청정동물시설(SPF시설) 설비에 관한 고찰 I. 공기조화기 및 급배기시설시 고려사항. *한국실험동물학회지*, 14:103-108. 1998.
13. 이민재, 김길수. 청정동물시설(SPF시설) 설비에 관한 고찰 III. 급배수설비시 고려사항. *한국실험동물학회지*, 14:115-120. 1998.
14. Percy DH, Barthold SW. Pathology of laboratory rodents and rabbits. Ames, Iowa State Univ. Press. pp.3-69. 1993
15. Liebelt AG. Unique features of anatomy and ultrastructure, kidney, mouse. In Jones TC, Mohr U, ed, *Monographs on pathology of laboratory animals: urinary system*. New York, Springer-Verlag, pp.24-44. 1986.
16. 이홍식, 이인세, 강태천. 관행사육 마우스의 불현성 감염 조사연구. *서울대수의대논문집*, 22:35-44. 1997.
17. 이홍식, 황인구, 윤성태 등. 개방식 시설 사육 마우스의 건강실태 조사연구. *서울대수의대논문집*, 24: 55-65. 1999.
18. 이병희, 이영순, 김경진 등. Conventional 사육환경에서 생산되는 마우스의 건강상태 조사. *한국실험동물학회지*, 13:179-185. 1997.
19. Bannerman RM, Hematology. In Foster HF, ed. *The mouse in biomedical research. III. Normative biology, immunology, and husbandry*, New York, Academic Press, pp.293-312, 1983.
20. Jones TC. Pathology of the liver of rats and mice. In Cotchin E, Roe FJC, ed. *Pathology of laboratory rats and mice*. Oxford, Blackwell, pp.1-17. 1967.
21. Barthold SW. Mouse hepatitis virus infection, liver, mouse. In Jones TC, Mohr U, ed. *Monographs on pathology of laboratory animals. III. Digestive system*. New York, Springer-Verlag, pp.134-139, 1985.
22. 김달현, 임창형. 마우스의 마이코플라즈마 폐렴에 관한 병리학적 관찰. *한국실험동물학회지*, 5:37-45. 1989.
23. Saito M, Nakagawa M, Kinoshita K, et al. Etiological studies on natural outbreaks of pneumonia in mice. *Jpn J Vet Sci*, 40:283-290. 1978.
24. Foster HL, Small JD, Fox JG. The mouse in biomedical research, Vol. II. pp. 86-88, 93, 110-133, 173-183, New York. Academic press, pp. 86-88, 93, 110-133, 173-183, 1982.
25. 김철규, 김재연, 실험동물에 있어 미생물 모니터링에 관한 연구. *한국실험동물학회지* 6권 1호 부록(실험동물), pp.14-32.1990.
26. 최재윤, 조정식, 이철원 등. 실험동물에 있어서 *Mycoplasma* 의 혈청학적 및 세균학적 조사연구 (I) *Mycoplasma* 분리율과 분리방법에 관하여. 국립보건원

- 호, 20:377-385. 1983.
27. Davis JK, Cassell GH. Murine respiratory mycoplasmosis in LEW and F344 rats: Strain differences in lesion severity. *Vet Pathol*, 19:280-293. 1982.
 28. Parker JC, Reynolds RK. Natural history of Sendai virus infection in mice. *Am J Epidemiol*, 88:112-125. 1968.
 29. Parker JC. Discussion of indigenous murine virus infections and epidemiology of an LCM epizootic. In Hellman A, Oxman MN, Pollack R. ed. *Biohazards in biological research*. Cold Spring Harbor Lab, pp. 65-69. 1973.
 30. Parker JC, Whiteman MK, Richter CB. Susceptibility of inbred and outbred mouse strains to Sendai virus and prevalence of infection in laboratory rodents. *Infect Immun*, 19:123-130. 1978.
 31. Homberger FR, Thomann PE. Transmission of murine viruses and mycoplasma in laboratory mouse colonies with respect to housing conditions. *Lab Anim*, 28:113-120. 1994.
-