

돼지의 *Pneumocystis carinii* 폐렴 증례

정지열 · 김기승 · 김대용¹ · 김재훈*

제주대학교 수의학과, ¹서울대학교 수의과대학
(게재승인: 2007년 8월 30일)

Pneumocystis carinii pneumonia in pigs

Ji-Youl Jung, Ki-Seung Kim, Dae-Yong Kim¹, Jae-Hoon Kim*

Department of Veterinary Medicine, Cheju National University, Jeju 690-756, Korea

¹College of Veterinary Medicine, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

(Accepted: August 30, 2007)

Abstract : *Pneumocystis (P.) carinii* is an opportunistic fungal pathogen of many animal species and human, which can cause fatal pneumonia in immunocompromised individuals. Three 100-day-old pigs with progressive atrophy, anorexia and respiratory distress were submitted to the Cheju National University for diagnosis. Grossly, the lungs were enlarged with rubbery consistency. Histopathologically, the lungs were characterized by diffuse interstitial pneumonia with thickening of alveolar septa due to infiltration of macrophages and lymphocytes. Alveolar lumens were filled with a foamy eosinophilic proteinaceous material in which numerous punctiform organisms. The organisms were demonstrated as *P. carinii* by Grocott-methenamine-silver staining and immunohistochemistry in lungs of two pigs. In our best knowledge, this is believed to be the first report of *P. carinii* pneumonia in pigs in Korea.

Key words : Grocott's methenamine silver staining, immunohistochemistry, pig, *Pneumocystis carinii*, pneumonia

서 론

폐포자충(*Pneumocystis carinii*: *P. carinii*)은 사람과 동물의 호흡기계에 잠복 감염되어 있는 곰팡이로서 유럽, 아메리카, 동남아시아, 아프리카 등 전세계적으로 널리 분포하고 있다 [4, 8, 11]. 사람에서는 후천성 면역결핍 증후군(acquired immunodeficiency syndrome: AIDS) 환자의 약 80%에서 본 균체가 발견되고 있어 AIDS 진단의 지표로 사용되며 균체와 질병간의 연관성에 대한 연구가 활기를 띠고 있다 [1, 3]. 또한 악성종양 환자에서의 화학요법과 장기이식 환자 또는 자가면역질환을 가진 환자에서 면역억제제 사용이 증가함에 따라 *P. carinii* 감염 빈도도 증가하고 있는 추세이다 [15]. *P. carinii* 폐렴은 면역 기능이 저하된 개, 말, 산양, 실험동물, 돼지에서도 종종 보고되고 있다 [8, 9, 11].

폐포자충 감염에 의한 폐렴의 전형적인 조직학적 소

견은 거품모양의 폐포 내 삼출액과 간질 내 림프구 및 형질세포의 침윤이며, 이러한 소견이 보일 때 Grocott's methenamine silver(GMS)와 같은 특수염색을 통해 포낭(cyst)을 발견함으로써 진단할 수 있다 [2]. 그러나 기타 다른 진균 역시 GMS에 양성반응을 보여 감별이 어려울 수 있으므로, 최근에는 *P. carinii*를 확진하기 위하여 면역조직화학염색법, 중합효소연쇄반응과 같은 분자면역학적 진단기법이 활용되고 있다 [11].

본 증례는 제주도 소재 양돈장에서 사육 중이던 돼지에서 병리조직학적 검사 및 면역조직화학염색을 통하여 폐장에서 *P. carinii*의 감염이 확인되었기에 이를 보고하고자 한다.

증 례

제주도 서귀포시 표선면 소재 양돈장에서 사육 중이

*Corresponding author: Jae-Hoon Kim

Department of Veterinary Medicine, Cheju National University, Jeju 690-756, Korea
[Tel: +82-64-754-3387, Fax: +82-64-702-9920, E-mail: kimjhoon@cheju.ac.kr]

던 100일령의 돼지가 점진적인 위축, 식욕결핍, 호흡곤란 등의 임상증상을 나타내었다. 상기 증상의 원인을 밝히기 위하여 3두의 육성돈이 제주대학교 수의학과 병리학교실에 부검 의뢰되었다.

육안적으로 돼지들은 피모가 거칠고 현저하게 위축되어 있었다. 늑흉막과 폐장의 폐흉막면은 유향색의 거미줄과 같은 내용물에 의해 견고히 유착되어 있었다. 폐장은 전반적으로 발적 종창되어 피축이 불량하고 고무와 같은 경도를 나타내었다. 우측 횡엽에는 직경 5 cm 정도의 결절이 3개 매몰되어 있었으며, 단면 절개 시 유향색조의 비지양 내용물이 들어있었다. 심장의 심외막에는 자적색 반점이 산재하여 있었으며, 심관부 지방은 교양화되어 있었다. 악하, 서혜부, 장간막 및 폐문 림프절은 발적, 종대되어 있었다.

병리조직학적 검사를 위하여 폐장, 심장, 간장, 비장, 신장, 림프절 및 뇌 등의 실질장기를 적출하여 10% 중성 완충 포르말린에 고정하였다. 일반적인 조직 처리 과정을 거쳐 파라핀 포매하고 3-4 μm 두께로 조직절편을 제작하여 hematoxylin-eosin(H&E) 염색을 하였다. 또한 폐장 조직 슬라이드에 대하여 곰팡이에 대한 특수염색으로 GMS 염색을 실시하였다. 면역조직화학 염색을 위하여 폐장 파라핀 조직을 5 μm 두께로 절편을 제작하여 silane 코팅 슬라이드에 부착시키고 탈파라핀 후 streptavidin-biotin peroxidase 방법으로 면역염색을 수행하였다. 1차 항체로는 *P. carinii*에 대한 단클론 항체(Biodesign, USA)를 1:50 비율로 희석하여 사용하였다.

병리조직학적 소견으로 3두 공히 폐장의 폐포벽은 폐포큰포식세포와 림프구가 침윤되어 현저하게 비후되어 있는 미만성 간질성 폐렴을 나타내었다. 기관지주위의 림프소절은 증식이 있고 다발 병소성으로 만성 폐농양이 관찰되었으며 이 농양소의 중심부에는 구균 형태의 세균 집락이 다량 함유되어 있었다. 3두의 돼지 중 2두에서는 폐포강내에 원형 또는 타원형의 유기체와, 심유소, 큰포식세포, 림프구 및 형질세포가 혼재되어 있는 호산성의 거품모양의 삼출액이 광범위하게 관찰되었다(Fig. 1). GMS 염색결과 H&E 염색상에서 호산성 삼출액을 보이는 부분에서 원형 또는 반달 모양의 직경 4-6 μm 정도 되는 구조물을 확인할 수 있었다(Fig. 2). 이 유기체는 큰포식세포의 세포질내 또는 폐포강내에 자유롭게 존재하고 있었다. 이 유기체를 증명하기 위하여 *P. carinii*에 대한 단클론 항체를 이용하여 면역조직화학 염색을 시행하였다. 면역조직화학 염색 결과 *P. carinii*의 낭포가 폐포강에서 관찰되었고, 또한 일부는 폐포벽에도 덩어리를 이루고 있었으며 상당수는 폐포벽을 따라 부착하는 형태를 나타내었다(Fig. 3). 기타 장기의 병변으로는 림프절의 다발성 농양 및 급성 림프선염, 심장의

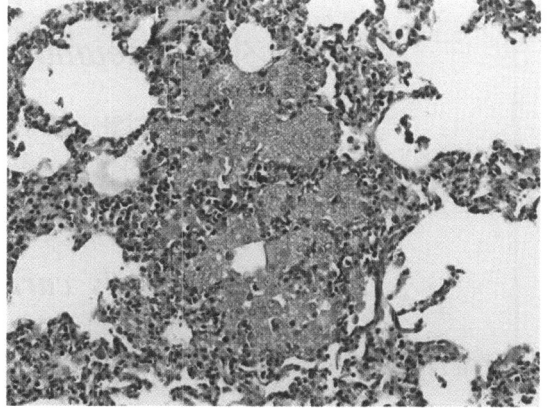


Fig. 1. Lung. A foamy, proteinaceous exudates in the alveolar spaces. H&E, $\times 200$.

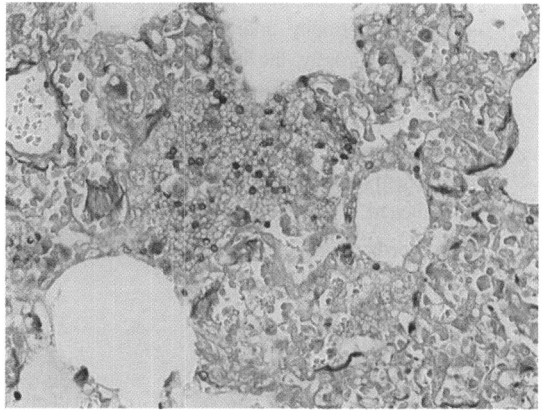


Fig. 2. Lung. Note numerous round cysts about 4-6 μm in diameter along the alveolar wall and within the alveolar spaces. GMS, $\times 400$.

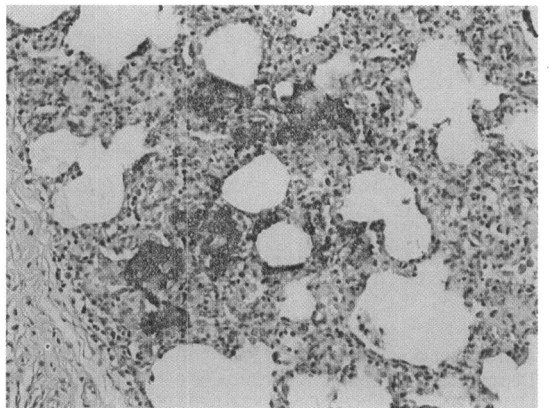


Fig. 3. Lung. The cysts were strongly positive to *Pneumocystis carinii*. Streptavidin-biotin peroxidase, $\times 200$.

간질성 비화농성 심근염, 복막염 및 뇌와 척수의 다발성 비화농성 염증이 관찰되었다.

폐장, 비장, 서혜부천층림프절 및 악하림프절을 일부 채취하여 유제액을 제조 후 상층액 200 μ l를 사용하여 Christopher-Henning 등 [6] 및 Larochelle 등 [12]의 방법에 준하여 돼지 생식기 호흡기 증후군 바이러스(porcine reproductive and respiratory syndrome virus: PRRSV)와 돼지 썩코바이러스 2형(porcine circovirus type 2: PCV-2)에 대한 중합효소연쇄반응을 실시하였다. 전기영동 결과 263 bp의 PCV-2 양성밴드를 3두 공히 확인할 수 있었으나, PRRSV는 전 두수 음성으로 판명되었다. 또한 폐 농양에서 세균 검사를 위하여 혈액배지와 MacConkey 배지에 접종하여 37°C에서 24-48시간 배양 후 균 집락의 형태와 catalase 검사, Gram 염색을 통해 *Streptococcus* spp.가 감염되어 있음을 확인하였다.

고 찰

검사가 의뢰된 3두의 돼지는 육안검사, 병리조직학적 검사 및 원인체 검사를 통하여 PCV-2와 *Streptococcus* spp.가 중복 감염되어 있는 돼지 이유후전신소모성증후군(postweaning multisystemic wasting syndrome: PMWS)으로 최종 진단되었다. 또한 면역조직화학 염색을 통하여 2두의 돼지의 폐장에서 *P. carinii*가 혼합 감염되어 있음을 증명할 수 있었다.

1909년 기니피의 폐장에서 처음 발견된 *P. carinii*는 형태학적 특징과 항원층제에 대한 반응을 기준으로 원충으로 분류되었다. 그러나 그 후에도 여러 연구자들에 의해 *P. carinii*에 대한 많은 연구가 이루어져 왔으며, 낭벽을 발견하고 GMS 염색에 양성을 보이며, 1980년대 *P. carinii*로부터 16S ribosomal RNA를 분리하면서 진균류로 분류하게 되었다 [16].

*P. carinii*는 비교적 병원성이 강하지 않고 주위 환경에 널리 존재하는 상재성 병원체임에도 불구하고 사람에서는 감염 증례가 그다지 많지 않았다. 그러나 최근에는 후천성면역결핍증후군 또는 악성종양을 가진 환자, 장기이식술을 받은 환자 및 면역억제제를 장기 투여한 환자 등의 폐장에 감염이 급증하고 있으며, 이로 인한 사망률이 높은 범위에 이르고 있어 이에 대한 진단 및 치료를 포함한 대책 마련이 요구되고 있다. 사람에서 본균의 감염증은 국내에서 많이 보고되어 있다 [2, 3]. *P. carinii*가 체내 감염되면 대부분 폐장의 제1형 폐포상피세포에 부착하여 병원체의 증식이 활발히 일어나고 이로 인한 폐포의 미만성 손상을 초래하는데 이러한 양상은 면역학적 및 전자현미경적 연구와 조직배양 실험 등을 통하여 보고되어 있다 [13].

병리조직학적 소견으로는 폐실질 내에 미만성 폐포 손상을 동반한 간질성 폐렴을 보이고 폐포강 내에는 거품모양의 삼출액이 들어 있으며, 삼출물 내부에 *P. carinii*가 덩어리 혹은 산재되어 관찰된다. 이와 같은 소견은 일반적인 H&E 염색보다는 Diff-Quik, Giemsa, toluidine, GMS 염색에서 더욱 뚜렷하게 관찰되며, 특히 GMS 염색의 경우 포낭의 벽을 검게 염색함으로써 본 균체를 쉽게 증명할 수 있다 [8]. 그러나 이러한 염색은 다른 진균의 감염에서도 양성반응을 나타내기 때문에 본 균체를 확진하기 위한 새로운 진단기법이 요구되어왔다. 최근에는 단클론 항체를 이용한 면역조직화학염색법이 활용되고 있으며, 이 방법을 통하여 균체를 보다 용이하게 관찰할 수 있게 되었다 [11]. 본 증례에서도 H&E 염색상에서 *P. carinii*의 존재 유무의 감식이 어려웠던 부위에서도 면역조직화학적 검사에서는 쉽게 관찰할 수 있었다.

동물에서 *P. carinii* 감염증은 대체로 개체의 면역이 저하되었을 때 발현되는 양상을 나타내고 있다. 땅아지에서는 adenovirus 또는 *Rhodococcus equi* 감염 시, 개에서는 면역저하상태에 있거나, demodicosis, canine distemper virus 감염 시 혼합 감염되어 있음이 보고된 바 있다 [5].

돼지에서 *P. carinii*의 자연 감염에 의한 간질성 폐렴에는 매우 드물게 보고되고 있으며, 폐렴을 발생시키는 소인 또한 명확히 밝혀져 있지 않다 [10]. 가까운 일본에서는 PRRSV에 감염되어 있는 돼지 농장의 경우 감염되어 있지 않은 농장에 비하여 *P. carinii*의 항체 역가가 높게 형성되고 있음이 보고되었다 [9]. 최근 전세계적으로 돼지 농장에서 가장 문제시 되고 있는 PMWS는 주된 병원체로 PCV-2가 감염된 후, 다른 원인체 및 환경요인에 의해 발생하는 질병으로 이유 후기돈 또는 육성 초기돈에서 점진적인 체중감소, 호흡기 질환, 황달 및 폐사 등의 임상증상을 나타낸다. 특히 PMWS에 이환된 돼지의 경우 전신 림프절의 림프구가 소실되어 면역기능이 현저히 떨어지게 되고 *P. carinii*, *Aspergillus* spp., *Chlamydia* spp.와 같은 기회 감염균의 증식이 자주 동반되고 있음이 보고되고 있다 [14]. Ellis 등 [7]은 PCV-2에 감염된 돼지의 폐장 중 약 2%에서 *P. carinii*가 혼합 감염되어 있음을 보고한 바 있다. 또한, PRRSV의 감염이 *P. carinii*의 감염을 증가시키는 등 면역을 억제시키는 바이러스 또는 세균의 감염이 2차적으로 다른 원인체에 노출될 수 있는 가능성을 증가시키고 있다 [5, 14].

최근 국내 양돈장에는 PCV-2, PRRSV 등의 만성 소모성 질병의 감염이 전국적으로 문제시되고 있다. 특히 제주도는 국내의 다른 지역에 비해 연평균 기온이 높고 습한 기후적 특성을 가지고 있기 때문에 곰팡이가 쉽게

증식될 가능성이 높은 편이다. 따라서 PCV-2 및 PRRSV 감염으로 인하여 돼지의 면역이 억제된 상황에서 *P. carinii*가 2차적으로 감염되었을 경우 돼지 농가에 막대한 경제적 피해를 줄 수 있으므로 이에 대한 좀 더 깊은 연구가 이루어져야 할 것으로 사료된다.

결 론

제주도 소재 양돈장에서 사육 중이던 100일령의 돼지가 점진적인 위축, 식욕결핍, 호흡곤란 등의 증상을 나타내어 3두가 부검 의뢰되었다. 육안소견, 병리조직학적 검사 및 병원체 검사 결과 PCV-2 및 *Streptococcus* spp.가 혼합 감염되어 있는 이유후전신소모성증후군으로 진단되었으며, 이로 인해 면역이 억제된 상태에서 *P. carinii*의 기회감염으로 폐렴 증상이 더욱 악화된 것으로 사료된다. 국내에서 사람에서의 *P. carinii* 감염 예가 보고된 바 있으나, 동물에서는 본 증례가 최초인 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 바이오그린 21 사업(과제번호: 20070401034009)의 지원에 의해 이루어진 것이며, 지원에 감사드립니다.

참고문헌

- 권건영, 전영준, 장은숙. 뉴우모시스티스 카리니 폐렴에서 폐포상피세포와 뉴우모시스티스 카리니의 상호반응에 관련된 Fibronectin, Vitronectin 및 Surfactant-A, D의 발현. *대한병리학회지* 2000, **34**, 625-635.
- 김숙, 박정자, 김동원, 진소영, 이동화. 미만성 폐포손상으로 나타난 뉴우모시스티스 카리니 폐렴. *대한병리학회지* 1996, **30**, 1155-1158.
- 박소영, 이해경. 후천성 면역결핍증 환자에서 병발된 주폐포자충 폐렴 및 속립성 폐결핵 중복감염. *대한병리학회지* 1994, **28**, 657-662.
- Bauer NL, Paulsrud JR, Bartlett MS, Smith JW, Wilde CE III. *Pneumocystis carinii* organisms obtained from rats, ferrets, and mice are antigenically different. *Infect Immunol* 1993, **61**, 1315-1319.
- Caswell JL, Williams KJ. The respiratory system. In: Jubb KVF, Kennedy PC, Palmer N (eds.). *Pathology of Domestic Animals*. 5th ed. p. 593, Elsevier, Toronto, 2007.
- Christopher-Hennings J, Nelson EA, Nelson JK, Hines RJ, Swenson SL, Hill HT, Zimmerman JJ, Katz JB, Yaeger MJ, Chase CCL, Benfield DA. Detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in boar semen by PCR. *J Clin Microbiol* 1995, **33**, 1730-1734.
- Ellis J, Hassard L, Clark E, Harding J, Allan G, Willson P, Strokappe J, Martin K, McNeilly F, Meehan B, Todd D, Haines D. Isolation of circovirus from lesions of pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome. *Can Vet J* 1998, **39**, 44-51.
- Jensen TK, Boye M, Bille-Hansen V. Application of fluorescent in situ hybridization for specific diagnosis of *Pneumocystis carinii* pneumonia in foals and pigs. *Vet Pathol* 2001, **38**, 269-274.
- Kondo H, Kuramochi T, Taguchi M, Ito M. Serological studies on porcine *Pneumocystis carinii* pneumonia: kinetics of the antibody titers in swine herds and the association of porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection. *J Vet Med Sci* 1997, **59**, 1161-1163.
- Kondo H, Taguchi M, Abe N, Nogami Y, Yoshioka H, Ito M. Pathological changes in epidemic porcine *Pneumocystis carinii* pneumonia. *J Comp Pathol* 1993, **108**, 261-268.
- Kim J, Yu JR, Hong ST, Park CS. Detection of *Pneumocystis carinii* by in situ hybridization in the lungs of immunosuppressed rats. *Korean J Parasitol* 1996, **34**, 177-184.
- Larochelle R, Antaya M, Morin M, Magar R. Typing of porcine circovirus in clinical specimens by multiplex PCR. *J Virol Methods* 1999, **80**, 69-75.
- Limper AH, Thomas CF, Anders RA, Leof EB. Interactions of parasite and host epithelial cell cycle regulation during *Pneumocystis carinii* pneumonia. *J Lab Clin Med* 1997, **130**, 132-138.
- Segalés J, Domingo M, Chianini F, Majó N, Domínguez J, Darwich L, Mateu E. Immunosuppression in postweaning multisystemic wasting syndrome affected pigs. *Vet Microbiol* 2004, **98**, 151-158.
- Sepkowitz KA. Opportunistic infections in patients with and patients without acquired immunodeficiency syndrome. *Clin Infect Dis* 2002, **34**, 1098-1107.
- Stringer JR. *Pneumocystis carinii*: What is it, exactly? *Clin Microbiol Rev* 1996, **9**, 489-498.