

마렉병 바이러스 감염에 대한 면역 반응

장형관[†] · 박영명 · 차세연 · 박종범

전북대학교 수의과대학 전염병학·조류질병학연구소

Immune Responses against Marek's Disease Virus Infection

H. K. Jang[†], Y. M. Park, S. Y. Cha and J. B. Park

Department of Infectious Diseases and Avian Diseases, College of Veterinary Medicine, Chonbuk National University

ABSTRACT Marek's disease virus (MDV) is a highly cell-associated, lymphotropic α -herpesvirus that causes paralysis and neoplastic disease in chickens. The disease has been controlled by vaccination which was provided the first evidence for a malignant cancer being controlled by an antiviral vaccine. Marek's disease pathogenesis is complex, involving cytolytic and latent infection of lymphoid cells and oncogenic transformation of CD4⁺ T cells in susceptible chickens. MDV targets a number of different cell types during its life cycle. Lymphocytes play an essential role, although within them virus production is restricted and only virion are produced. Innate and adaptive immune responses develop in response to infection, but infection of lymphocytes results in immunosuppressive effects. Hence in MDV-infected birds, MDV makes its host more vulnerable to tumour development as well as to other pathogens. All chickens are susceptible to MDV infection, and vaccination is essential to protect the susceptible host from developing clinical disease. Nevertheless, MDV infects and replicates in vaccinated chickens, with the challenge virus being shed from the feather-follicle epithelium. The outcome of infection with MDV depends on a complex interplay of factors involving the MDV pathotype and the host genotype. Host factors that influence the course of MD are predominantly the responses of the innate and adaptive immune systems, and these are modulated by: age at infection and maturity of the immune system; vaccination status; the sex of the host; and various physiological factors.

(Key words : Marek's disease virus, vaccine, pathogenesis, innate and adaptive immune responses)

서 론

마렉병 바이러스(MDV)는 숙주에 감염이 형성되어 병원성을 발현하기까지 바이러스 생활사 동안에 여러 다른 종류의 숙주세포에 감염하게 된다. 일반적으로 알려진 바이러스 감염 과정과 병원성 발현에서 주된 표적세포는 림프구이지만, 림프구 감염을 통해서만 외막구조를 가지고 있는 감염성이 있는 바이러스가 형성되지 않고 외막구조가 없는 바이러스 입자만 형성된다(Fig. 1). MDV는 고도의 세포 의존성 바이러스이기 때문에 바이러스 감염 및 전파가 세포간 접촉을 통해 이루어지고, 바이러스 유전체도 감염세포가 세포분열을 통해 자매 세포를 형성하는 세포분열 과정을 통해 전파된다(Kaletka and Neumann, 1977). 바이러스는 여러 종류의 세포에 감염할 수 있지만 감염에 표적이 되는 주된 세포는 활

성화 과정에 있거나 활성화된 림프구이다. 따라서 MDV에 감염된 조류에서 일부의 림프구는 감염을 억제하는 방어 면역 형성에 관여하지만, 일부분은 바이러스 전파 과정에 표적 세포로 작용하여 병원성을 유발시키는 원인으로 작용하기도 한다. 림프구 감염에 의한 바이러스 독성으로 인해 숙주의 면역 체계가 약화되면 이로 인해 종양 유발뿐만 아니라 다른 병원체 감염에 대한 감수성을 증가시키는 원인으로 작용하게 된다. 바이러스 감염에 대한 감수성은 면역의 성숙 정도에 차이 없이 모든 일령의 닭에서 나타나지만, 백신을 통한 방어 면역 형성이 임상 증상 유발로부터 감수성이 있는 숙주를 방어할 수 있는 효과적인 수단으로 활용되어 바이러스의 폭넓은 감수성에 의한 피해를 감소시키고 있다. 그러나 적절한 백신을 실시하여 면역이 충분히 형성된 숙주에서도 백신이 바이러스 감염을 차단하는 완벽한 면역을 제공하지

[†] To whom correspondence should be addressed : hkjang@chonbuk.ac.kr

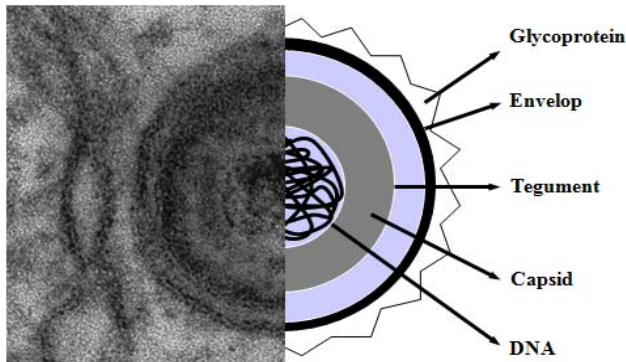


Fig. 1. Electron micrograph showing an enveloped MDV in a chicken embryo fibroblast that had been infected with BAC20. This BAC clone was constructed from vv+MDV (584 strain) that had been attenuated by 80 passages *in vitro* (Schumacher et al., 2000). Alongside is a schematic diagram showing the structure of the enveloped virus.

못하는 자체의 한계성 때문에 야외 바이러스가 감염하여 감염성 있는 바이러스를 복제할 수 있을 뿐만 아니라 우포상피에서 바이러스가 증식하여 주변 미감염 숙주로 전파가 가능하게 되는 문제점을 지니고 있다.

MDV에 대한 감염의 형성은 감염성 있는 바이러스 입자를 포함하고 있는 케라틴에 둘러싸인 형태의 비듬이나 바이러스에 오염된 먼지가 미감염 숙주의 호흡을 통해 폐로 침입하게 되면서 이루어진다. 이후 폐에 유주하고 있는 대식세포에 감염하여 초기 세포 용해성 감염에 표적이 되는 B 림프구와 복제를 통해 생산된 바이러스 입자를 주된 표적세포인 활성화된 T 림프구로 바이러스가 수송된다. 초기 세포 용해성 감염은 약 7일 정도 유지되지만 숙주의 후천적 면역 반응의 발달 정도에 따라 확인되는 기간은 유동적이다. MDV는 주로 $CD4^+$ 림프구에 감염하여 잠복 감염으로 진행되지만 다른 종류의 림프구에도 감염하여 잠복 감염이 형성되는 것으로 알려져 있다(Calnek et al., 1984). 감염된 림프구는 MDV를 우포상피세포로 수송하여 외막을 지니고 있는 감염성이 있는 세포 비의존성 바이러스 입자를 생산하여 케라틴에 둘러싸인 비듬 형태로 감염 후 10일 정도부터 숙주의 생존 기간까지 지속적으로 주변으로 배출시킨다(Fig. 2). MDV에 유전적인 저항성을 지니고 있는 닭의 경우는 잠복 감염이 숙주의 생활사 동안 지속되기도 한다. 잠복 감염의 유지는 면역 억제를 유도하는 물질로 실험 동물을 처리할 경우 MDV가 재활성화되어(Buscaglia et al., 1988b), 백신에 의한 방어 면역을 극복하게 된다(Powell and Davison, 1986)는 연구 결과를 통해 볼 때 숙주의 면역 상태와 밀접한 연관이 있는 것으

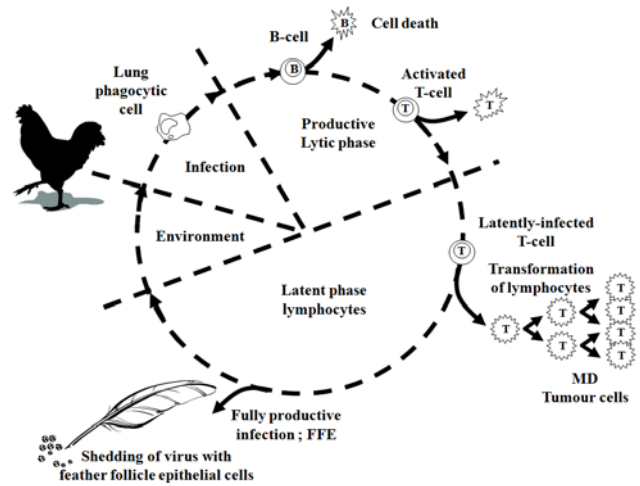


Fig. 2. Schematic drawing depicting different stages in the cycle of MD pathogenesis (modified from Davison and Kaiser, 2004).

로 보인다. 감수성이 있는 숙주에 감염한 MDV는 $CD4^+$ T 림프구를 형질전환하여 다양한 내부 장기에 림프종을 형성하거나 신경세포에 침윤하여 마비 증상을 나타나게 한다(Fig. 3). 따라서 감염의 형성과 병원성 발현 과정은 숙주의 유전형과 바이러스의 병원형을 포함하는 매우 복잡한 요인의 상호작용에 의해 결정된다고 할 수 있다. 그 중에 MD 유발에 영향을 주는 주된 숙주 요인으로는 면역계를 구성하고 있는 선천성 면역 그리고 후천성 면역이며, 이에 영향을 줄 수 있는 감염 주령과 면역계의 성숙 정도, 백신 상태, 면역 억제를 유발하는 다른 병원체와의 혼합 감염, 숙주의 성, 그리고 다양한 신체적인 요인 등이 관여하고 있다.

폐를 통한 MDV의 침입

감염의 형성은 MDV에 감염된 닭의 우포상피에서 형성된 바이러스에 오염된 먼지와 비듬이 호흡을 통해 숙주 내부로 침입하면서 이루어진다. 폐는 가스 교환을 위해 외부 환경과 직접적인 접촉이 이루어지는 기관으로 외부 환경과 직접적으로 접촉하고 있기 때문에 대부분의 바이러스를 포함하는 병원체가 침입하는 관문으로 작용하고 있다. 그러나 MDV에 감염 후 이에 대한 면역 반응에 대한 기존 연구는 주로 비경구의 접촉 방법을 통해 바이러스 감염을 유도하는 것이기 때문에 연구 성과를 통해서 자연 감염을 통해 초기 면역 유도 단계를 명확하게 확인할 수 없다는 연구 상의 제한 사항을 지니고 있다. 그래서 MDV에 오염된 먼지를 통해 바이러

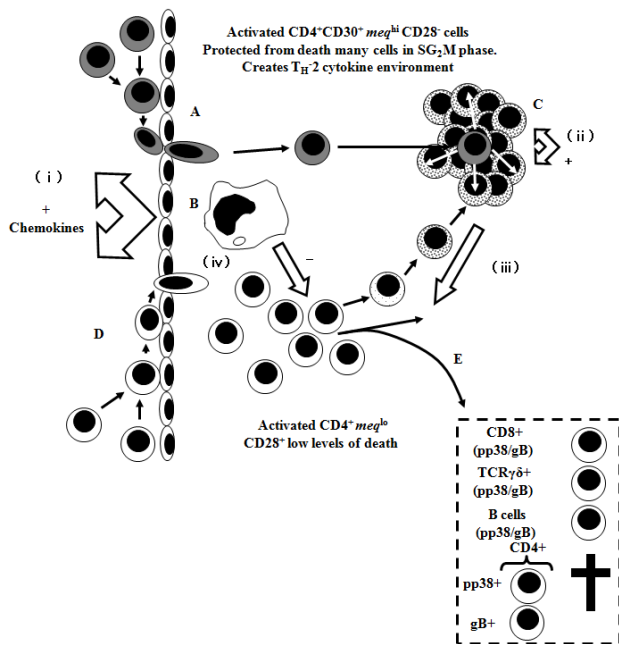


Fig. 3. Cellular model for Marek's disease lymphomagenesis. CD4⁺ cells, neoplastically-transformed and expressing high levels of the CD30 migrate into tissue stroma across endothelia (A, solid grey cells). The stimulus for this migration may be non-specific because of their activated state; and/or in response to chemokines (i) released from cells of the innate immune system such as macrophages (B); and/or in response to up-regulation of MHC class II/adhesion molecules or cytokines such as IFN by endothelial cells. The neoplastically-transformed CD30^{hi} cells clonally expand *in situ* (C) and release probably T_H2 cytokines, which have both autocrine (ii) and paracrine effects (iii). Latently infected, non-neoplastically-transformed (CD30) lymphocytes (black) are attracted to the sites of the developing lesions by similar mechanisms to the neoplastically-transformed CD30 CD4⁺ cells (D). A small proportion of these cells become productively infected (boxed) and provide antigenic stimulus for a continued 'immune response' and lymphoid infiltration (E). CD30^{hi} neoplastically-transformed cells somehow escape this immune response. Infiltrating CD4⁺ cells may also potentially neoplastically-transform *in situ* and then over-express CD30. Macrophages (B), present in the lesions, as well as the resident neoplastically-transformed cells are also likely to influence the ongoing immune response in a paracrine manner (iv)(Davison and Kaiser, 2004).

스가 숙주내로 침입하게 되는 세포 기전은 아직까지 명확하게 알려지지 않았지만, 최초 바이러스는 기도를 통해 바이러스가 주로 침입하는 지역으로 알려져 있는 하부 기도로 침

입하게 되는 것으로 보인다. 조류의 폐 구조는 포유류의 그것과 비교하였을 때 특징적으로 다른 구조를 지니고 있다. 가장 큰 차이는 조류의 폐는 폐포가 없는 개방형 체제를 지니고 있으며, 가스 교환은 부기관(para-bronchi) 주변을 둘러싸고 있는 모세혈관을 통해서 이루어진다는 것이다. 부기관 주변의 모세혈관은 매우 좁기 때문에 림프조직으로 전파(Fig. 4)되기 전 반드시 거쳐야할 폐 표피 통과 과정에 관여하는 매우 적은 수의 폐 유주 대식세포를 지니고 있다(Toth, 2000). 조류의 폐를 통한 병원체의 침입을 차단 과정에 관여하는 선천성 혹은 후천성 점막 면역 반응에 대해 많은 부분이 미지의 영역으로 남겨져 있지만, 인터페론(interferon), 항체 그리고 defensin과 같은 물질뿐만 아니라 폐의 대식세포, dendritic cell, 림프구 그리고 이를 인식하는 수용체 등과 같은 MDV 침입 초기 과정에 관여하는 주된 요인들에 대해서는 어느 정도의 연구 성과가 확보되어 있다. 최근에는 이러한 연구 성과를 활용하여 바이러스의 침입을 억제하는 새로운 백신 혹은 새로운 바이러스 통제 방법의 마련이라는 당면 과제를 해결하는 실마리로 적극 활용되고 있다.

MDV 감염에 대한 대식세포의 반응

호흡기를 통해 침입한 바이러스는 대식세포에 의해 초기 세포용해성 감염에 표적 세포로 작용하는 B 림프구 및 주된 표적세포인 T 림프구가 존재하고 있는 림프조직으로 바이러스가 운반되기 때문에 MDV 감염에 필수적인 역할을 수행하고 있다(Barrow et al., 2003). 또한, *in vitro* 연구를 통해서 림프구와는 다르게 대식세포는 MDV 감염에 저항성을 가지고 있는 것으로 확인되었으며(Haffer et al., 1979), 최근 연구

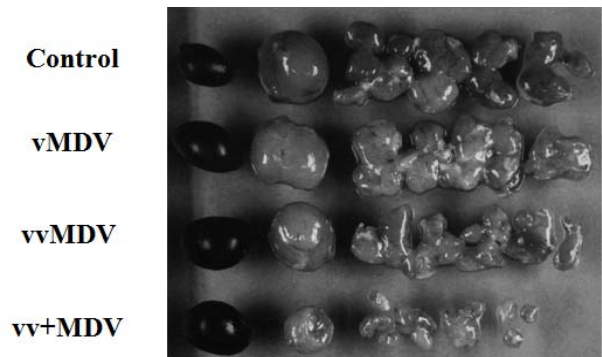


Fig. 4. Lesions induced in lymphoid organs 8 days post-infection of 24-day-old P2a chickens with strains representing different pathotypes (Davison and Kaiser, 2004).

에서는 기존의 견해와는 다르게 비장의 대식세포에서도 MDV 감염에 의한 세포 용해성 감염이 이루어져 바이러스 복제가 가능하게 되면서 지속적으로 MDV 항원이 발현되는 것으로 확인되어(Barrow et al., 2003) 대식세포가 바이러스 감염 과정에 매우 중요한 역할을 하고 있다는 지견들이 제시되고 있다.

대식세포는 식세포 작용을 통해 비특이적으로 침입한 병원체를 제거하므로 선천성 면역 과정에 중추적인 역할을 수행할 뿐만 아니라 항원 제시 세포로 작용하여 후천성 면역 반응을 촉진시키는 역할도 수행한다. 선천성 면역은 바이러스 감염 초기 빠르게 유도되어 효과적인 후천성 면역 반응이 유도되기 전까지 초기 감염 과정에 대응하는 역할을 수행한다. 대식세포는 항원의 패턴을 인식하는 수용체(pattern recognition receptor)를 통해 항원을 인식하여 제거하며, 여러 종류의 cytokine과 nitric oxide와 같은 수용성 물질도 분비하여 바이러스 감염에 대항한다. 최근 *in vivo* 그리고 *in vitro* 연구를 통해서 nitric oxide synthase(iNOS)의 활성 증가에 따른 nitric oxide의 수준 증가는 감염 초기 세포 용해성 감염에서 MDV의 복제를 억제하거나 잠복 감염 상태를 유지시키는데 중요한 역할을 한다는 사실이 확인되었다(Xing and Schat, 2000a; Djeraba et al., 2002a). MD에 저항성이 있는 유전형에서 나타나는 빠른 iNOS 발현 시기와 수준의 증가를 통한 높은 수준의 NO 형성은 잠재적으로 MD 발현에 의한 피해를 감소시키며, 임상증상이 낮은 수준으로 나타나게 한다. 대식세포에서 존재하는 iNOS에 의해 형성되는 NO는 바이러스 감염과 암 형성을 억제하는데 중요한 역할을 수행하는 것으로 보인다. 이는 감수성이 있는 닭이 병원성 MDV에 감염하게 되면 arginase macrophage-dependent activity를 보이며, 단핵구와 비장세포에서 낮은 수준의 NO 형성을 유도하지만, 유전적인 저항성이 있는 닭에서는 arginase 활성은 약하거나 특정 시기에 전이적으로 증가함으로 인해 높은 수준으로 NO가 형성될 수 있는 환경을 조성한다는 사실을 통해 미루어 짐작할 수 있다.

iNOS와 arginase는 모두 arginine을 기질로 활용하여 물질 대사를 통해 서로 다른 생성물을 만들어 내는 숙주 내에 존재하는 효소이다. iNOS는 arginine을 분해하여 NO 혹은 citrulline을 형성하며, arginase는 urea와 ornithine으로 분해한다. iNOS는 대식세포를 포함한 단핵구에 존재하는 효소이지만, arginase는 arginase I (liver-type arginase)과 arginase II (kidney type)로 구분되며, 각각 세포질과 미토콘드리아에 존재하고 있다. iNOS의 활성에 의한 NO 생성은 바이러스 초기 감염 과정에 관여하여 바이러스 복제를 억제하거나 잠복 감

염 상태를 유지시키는 역할을 수행하지만, arginase는 림프종이 형성되는 단계에서 다량 발현되므로 인해 세포 외부 및 내부의 arginine을 분해하여 세포 증식에 필요한 단백질 형성을 억제시킴으로써 암세포 증식을 차단하는 기능을 수행한다. T_H 1 림프구에 의해 형성되는 cytokine 중 Interferon- γ (INF- γ)는 iNOS와 arginase 모두에 활성을 유도하지만, TGF- β 경우는 arginase 활성만을 유도하는 특성을 보인다.

MDV에 감염된 닭에서 획득한 대식세포는 *in vitro* 상에서 감염되지 않은 닭에서 얻어진 대식세포에 비해 좀 더 효과적으로 바이러스의 복제를 감소시키는 것으로 확인되었다(Kodama et al., 1979). MDV에 감염된 비장 세포에서 대식세포를 제거한 뒤 위와 같은 동일한 실험을 할 경우 바이러스 감염을 억제하지 못 하는 특성을 보이기 때문에 co-culture를 통해 분리되는 바이러스 양이 증가하게 된다(Powell et al., 1983). 바이러스에 대한 유전적인 저항성이 있는 닭은 감수성이 있는 닭에 비해 바이러스 감염 후 유도되는 대식세포의 활성이 높은 수준으로 나타난다. 그리고 대식세포의 수 혹은 활성을 감소시키는 항 대식세포 혈청, silica, levamisole 등의 처리는 MD 림프종 발현을 증가시키는 효과를 나타낸다(Higgins and Calnek, 1976; Haffer et al., 1979; Djeraba et al., 2002a). 반면에 대식세포의 수를 증가시키는 brewer's thioglycollate broth의 투여는 대식세포의 활성을 증가시켜 MD 림프종 발현을 억제하는 효과를 나타낸다(Gupta et al., 1989). 이러한 연구 성과를 종합해 볼 때 대식세포에 의한 면역 반응이 MDV 초기 감염을 억제하는데 중요한 역할을 수행한다는 사실을 어렵지 않게 알 수 있다.

대식세포가 바이러스 감염 초기에 바이러스에 의한 독성을 감소시키는데 매우 중요한 역할을 수행하여, 결과적으로 림프종 형성을 억제하게 되지만 암 형성 과정에서의 역할은 명확히 밝혀져 있지 않다. Sharma(1983)는 MD 림프종에서 대식세포의 특성을 지니고 있는 점착성이 있는 세포 집단을 분리하였는데, 이들 세포는 MDV에 의해 형질 전환된 닭의 세포주인 MDV-transformed chicken cell-line(MDCC) 세포를 사멸시킬 수 있다는 사실을 chromium release assay를 통해 확인하였다. 대식세포가 존재할 경우에는 *in vitro*에서 MDV에 감염된 닭에서 분리한 종양 세포의 증식을 억제하는 역할을 수행하며(Lam and Linna, 1979), 활성화된 비장 세포의 배양 배지 혹은 리포 다당질에 의해 대식세포가 활성화되면 MDCC 세포를 사멸시키는 사실이 추가적으로 확인되었다(Qureshi and Miller, 1991).

또한, MDV에 감염된 닭에서 활성화된 대식세포는 *in vitro*에서 비장세포의 증식을 특징적으로 억제할 수 있다는 사실

이 확인되어 있다(Lee et al., 1978). 이러한 현상은 초기 세포 용해성 감염기 말에 발생하는 전이적인 면역 억제와 동시에 나타나는 특징을 보여준다. 감수성이 있는 숙주에서 림프종의 형성은 명백히 림프구의 증식을 억제하여 이 시기에 지속적인 면역 억제 증상을 유발하게 한다. 그러나 MDV에 감염된 이후 생존한 닭 혹은 Herpesvirus of turkey(HVT) 백신을 실시한 닭에서부터 분리된 림프구는 세포분열 유도 물질에 의해 T 세포의 활성이 증가된 것으로 나타났다(Lee et al., 1978). Schat과 Markowski-Grimsrud(2001)는 대식세포의 NO 분비에 의한 바이러스 감염 억제 효과에 대한 연구를 통해 비정상적인 T 세포의 증식을 통한 림프종 형성을 막는 숙주의 효과적인 면역 방법 중 하나라는 것이 입증되었다.

MDV 감염에 대한 자연살해세포의 반응

자연살해(NK)세포는 점착성이 없어 대식세포와 구별되며, 대식세포 활성이 없는 선천성 면역을 구성하는 중요한 면역세포로 허피 스파이러스와 같은 세포 독성의 바이러스와 바이러스 감염에 의해 유도된 암세포에 대해 방어하는 기초적인 역할을 수행하고 있다(Cerwenka and Lanier, 2001). 자연살해세포는 전형적인 B/T 림프구와 같이 항원에 대한 수용체를 발현하지는 않지만, cytokine과 chemokine에 대한 반응과 분비 능력은 T 림프구의 그것과 유사하다고 할 수 있다. 자연살해세포의 기능은 암세포와 바이러스에 감염된 세포에 발현된 항원을 인식하는 활성화 수용체와 표적 세포에 발현된 Major Histocompatibility Complex class I (MHC class I) 분자에 존재하는 특이적인 억제 수용체의 신호 전달 과정 간에 나타나는 평형성에 의해 조절된다(Cerwenka and Lanier, 2001). 일반적인 환경에서 자연살해세포는 주로 말초 혈액, 비장 그리고 골수 등에 제한적으로 존재하고 있지만, 다양한 화학적 유인물질(chemo-attractant)에 대한 반응으로 염증이 발생한 지역으로 빠르게 이동한다. 자연살해세포는 숙주의 유전적인 저항성에 기여하고 백신 방어 그리고 항종양 반응에 관여하는 것으로 알려져 있다.

Sharma와 Coulson(1979)는 감염되지 않은 닭의 비장에서 분리된 자연살해세포는 MDCC MSB-1의 표적세포를 사멸시킬 수 있는 능력을 갖는 것을 확인하였다. 자연살해세포의 세포 독성은 계군과 주령에 관계없이 감염되지 않은 닭의 비장에서 확인되었으며, 7주령에서 가장 높게 나타났다. 게다가 감염되지 않은 8주령 닭의 비장 세포를 1일령에 MD에 의해 유발된 종양으로 감염된 닭에 이식할 경우 수여한 닭

을 MD 발생으로부터 방어할 수 있다는 것이 실험적으로 확인되어(Lam and Linna, 1979) 바이러스에 대한 방어에 자연살해세포가 관여할 수 있다는 가능성이 제기되었다. 이후 Rous-associated virus-2에 의해 유도된 암세포에서 유래한 LSCC-RP9 세포주가 MDCCs보다 자연살해세포의 활성을 측정할 수 있는 좀 더 나은 세포주라는 사실이 밝혀져(Sharma and Okazaki, 1981) 기능에 대한 보다 정확한 추가적인 연구가 진행될 수 있도록 보장하여 주었다. 이를 통해 자연살해세포가 보여주는 면역 활성 효과는 B / T 림프구의 그것과는 다른 양상을 보인다는 것이 확인되었다. 또한, Sharma와 Okazaki(1981)는 유전적으로 저항성이 있거나 감수성이 있는 닭 모두 MDV에 감염된 후 1주일이 지난 뒤 자연살해세포의 활성이 증가한다는 연구 성과를 발표하였다. 그리고 자연살해세포의 세포 독성은 저항성이 있는 닭에서 좀 더 높게 나타난다. 더욱이 HVT와 serotype 2 MDV 백신으로 백신한 닭에서 자연살해세포의 활성이 증가하여 7일에 가장 높은 활성을 나타낼 뿐만 아니라 virulent MDV 감염에 대한 방어력도 유도된다(Heller and Schat, 1987)는 사실이 이러한 자연살해세포의 바이러스에 대한 대응 면역 체계에서 중요한 기능을 수행한다는 사실을 뒷받침해주고 있다. Queré와 Dambri(1988)에 의해 virulent MDV 감염 후 비장의 자연살해세포에 의한 세포독성이 증가하고 부화 후 백신을 통해서도 동일한 효과가 유도되는 것이 추가로 확인되면서 이러한 주장에 힘을 실어주고 있다.

위와 같은 연구 성과를 종합해 보면 자연살해세포는 세포 용해성 감염 시기에 가장 높은 활성을 보이는 것으로 보이며, MDV에 대한 방어 면역에 매우 중요한 역할을 수행할 것으로 보인다. 자연살해세포와 유사한 활성을 지니고 있는 세포가 MD 림프종에서 분리되었는데(Sharma, 1983), 이 세포는 동일한 조류의 비장으로부터 분리된 세포보다 LSCC-RP9 표적세포에서 더 큰 세포 독성을 나타낸다는 사실을 통해 자연살해세포가 항종양 면역 반응에도 관여할 수 있다는 가능성이 제기되었다. 이후 자연살해세포의 세포 독성은 회복되는 종양에서 진행되는 종양보다 더욱 크게 나타난다는 사실을 통해서 실질적으로 항종양 활성을 지니고 있는 것으로 알려졌다.

닭의 비장세포에서 분리된 자연살해세포와 유사한 세포 독성 세포를 세포분열 유도 물질에 의해 활성화된 비장세포에서 획득한 배양매지를 이용하여 배양하였다(Loeffler et al., 1986). 이러한 세포는 표적세포인 LSCC-RP9뿐만 아니라 다양한 MDCCs 세포를 공격하여 사멸시킬 수 있는 능력이 있는 것으로 확인되었다. 게다가 LSCC-RP6에 대한 세포 독성

이 분석 과정에서 MDCC 세포를 첨가함으로써 억제된다는 사실을 통해서 사멸 메커니즘이 두 종류의 표적세포에 일반적인 기전이라는 것을 보여 주고 있다(Heller and Schat, 1987). 포유동물의 그것과 같이 닭의 자연살해세포는 B/T 림프구보다 호아주르 과립(azurophilic granule)과 비교적 큰 과립을 가지고 있기 때문에 일반적으로 세포 크기가 크다(Schat et al., 1986). Keller 등(1992)은 MDCC, JMV-1 세포주에서 분비되며 *in vitro*에서 LSCC-RP9 세포주에 대해 자연살해세포 활성을 증가시키는 수용성 인자를 보고하였는데, 이러한 사실은 MD 림프종 세포가 분비하는 cytokine에 의해 자연살해세포의 활성이 조절될 수 있는 가능성을 제기하여 준다. 이러한 cytokine의 특성은 아직 확인되지 않았지만, 연구 표적이 되는 단백질이 유전자 발현 기술을 통해 이미 합성되어 일반적으로 활용되고 있기 때문에 이후 추가적인 연구를 통해서 확인될 수 있을 것으로 보인다.

자연살해세포는 다른 허피스 바이러스 감염 과정에서 매우 중요한 기능을 수행하는 것처럼(Cerwenka and Lanier, 2001) MDV 감염에서 특징적인 역할을 수행하는 것으로 보인다. Garcia-Camacho 등(2003)은 MD에 저항성을 지니고 있는 N 계열의 닭에서 감염 후 첫 2주 동안 자연살해세포의 활성이 증가하며, 감수성이 있는 P 계열 닭에서보다 오랫동안 지속된다는 사실을 확인하였다. 이들은 연구를 통해서 자연살해세포가 유전적인 저항성을 갖는 닭에서 MDV에 감염된 세포를 제거하는데 중요한 역할을 수행할 뿐 아니라 좀 더 효과적으로 다른 세포로 바이러스 전파를 차단하게 된다는 사실을 확인하였다. N 계열의 MD 유전적 저항성은 B²¹ 유전자형의 주요 조직적합성 복합체(major histocompatibility complex; MHC) 분자와 연관이 있는 것으로 보이며, 반면 감수성이 있는 P 계열은 B¹⁹ 유전자형을 지니고 있다. 하지만 MHC 유전자를 제외하고도 MD 저항성에 영향을 미치는 요인들은 많다고 할 수 있다. Genetic mapping을 통해 보면 닭의 염색체 1(MDV 1 locus)상에는 MD 저항성과 강하게 연관된 유전자 지역이 존재하고 있는 것을 확인할 수 있다. 이 지역은 쥐 염색체 6과 사람 염색체 12번의 자연살해세포 수용체 유전자위와 같은 자리인 것으로 밝혀졌다(Bumstead, 1998)(Fig. 5). 위에서 이 유전자위는 자연살해세포의 효과에 의해 유발되는 cytomegalovirus 감염에 대한 저항성과 매우 큰 연관성을 나타낸다. 이러한 사실을 통해 볼 때 자연살해세포가 MDV 감염을 통제하는데 중요한 역할을 수행하는 것으로 판단할 수 있다. 하지만 MDV 감염에서 자연살해세포의 역할에 대해 좀 더 명확하게 특성화하고 닭의 여러 세포 중 자연살해세포를 구별할 수 있는 특이적인 표지자를 찾아 세포를 정

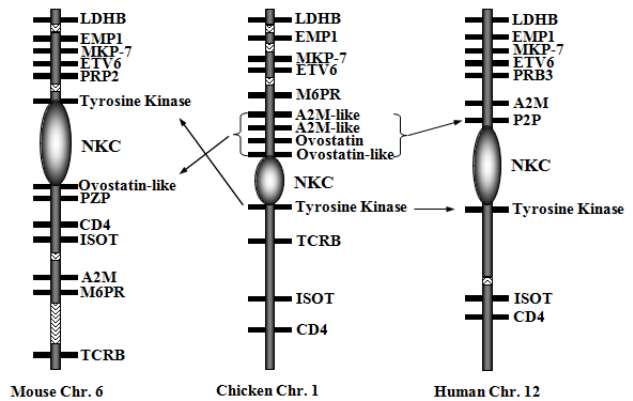


Fig. 5. Comparison of the gene order spanning the NKC region on mouse chromosome 6, chicken chromosome 1 and human chromosome 12. The genes shown (generally in the order top to bottom) are : LDHB, lactate dehydrogenase B; EMP1, epithelial membrane protein-1; MKP-7, MAP kinase-7; ETV, ETS variant gene 6; PRP2, proline-rich protein-2; PZP, pregnancy zone protein-3; M6PR, mannose-6-phosphate receptor; A2M, alpha-2 macroglobulin; TCRB, T-cell receptor β ; ISOT, isopeptidase T; and CD4, the gene encoding the CD4 T-cell antigen (Davison and Kaiser, 2004).

확하게 선별하여 연구 과정에 이용하기 전까지 명확하게 해명하기는 어려울 것으로 보인다.

MDV 감염에 대한 항체의 반응

MDV 유전체에는 약 100개 정도의 바이러스 단백질이 암호화 되어 있는 것으로 추측되나, MDV에 감염된 세포를 용해하여 얻어진 단백질과 MDV에 감염된 닭의 회복기 항혈청을 이용하여 면역 침강 반응을 실시한 결과 35개의 단백질만이 확인되었다(van Zaane et al., 1982). 회복기 항혈청에 존재하는 항체는 마렉 B 항원으로 알려진 Glycoprotein B(gB)와 gE, gI 그리고 gD(Churchill et al., 1969; Brunovskis et al., 1992)를 인식하는 것으로 확인되었다. 항체가 바이러스 감염에 대한 대응면역에서 수행하는 정확한 기능은 밝혀지지 않았지만 MDV가 고도로 세포 의존성인 허피스 바이러스이기 때문에 항체에 의해 매개되는 면역 반응보다 세포 매개성 면역 반응이 MD에 대한 방어간에 더욱 중요할 것으로 추측하는 것을 어렵지 않을 것이다. 그러나 수동 면역을 통해 획득된 항체와 MDV에 특이적인 면역 반응으로 형성된 항체 모두 MDV에 대한 방어 면역에 중요한 기능을 수행하고 있는

것이 사실이다.

병아리에서 수동 면역은 18일령 부화란 혹은 1일령 병아리에 백신을 실시하거나 MDV에 감염된 종계의 모체 이행 항체가 계란을 통해 전파되어서 획득된다. 항체는 MD의 임상증상 발현을 늦추 림프종 형성에 의한 폐사를 감소시키거나, MDV의 감염력을 중화시켜 감염을 억제하는 역할을 수행한다(Chubb and Churchill, 1969; Calnek, 1972; Burgoyne and Witter, 1973; Lee and Witter, 1991). 그러나 모체 이행 항체의 존재는 세포 비의존성 바이러스를 이용하여 백신할 경우 효과성을 감소시키는 원인이 되기도 한다(Calnek, 1972; Sharma and Graham, 1982). 이러한 세포 비의존성의 백신 바이러스에 대한 모체 이행 항체의 효과는 대부분 백신 바이러스 표면의 당단백질에 항체가 결합하여 감염력을 중화시키는 것에 의해 나타난다. 예를 들자면, 바이러스에 감염된 세포의 세포막에 발현된 gB에 대한 항체는 바이러스의 표면 당단백을 가지고 있는 세포에 결합하여 항체에 의해 유도되는 선천성 면역 반응에 의해 감염 세포가 면역 세포에 의해 제거되면서 효과적인 백신 방어능 형성을 억제하게 된다.

HVT로 백신을 실시한 경우, MDV에 대한 항체가 형성되며, 이후 야외 MDV를 실험 감염하게 되면 특이적인 항체가 급격하게 형성된다. 항체의 수준은 숙주의 생활사 동안 HVT 혹은 MDV가 지속 감염되면서 일정하게 유지된다. Lee와 Witter(1991)는 병아리 때 HVT로 백신을 실시한 종계의 항체 역가가 불활화 오일 MDV 백신을 실시하므로 인해 증가되지 않는 사실을 확인하였으며, 또한, 바이러스를 중화시키는 항체가 MD에 대한 방어에 필수적이지 않다는 사실도 증명하였다. 하지만 Schat과 Markowski-Grimsrud(2001)는 바이러스 감염을 중화시키지 못하는 항체가 바이러스에 감염된 세포와 주변 미감염 세포의 바이러스 수용체에 결합하여 세포용해성 감염 시기에 바이러스 전파를 차단하는 기능을 수행한다는 사실을 확인하므로 인해 항체가 방어 면역 형성에 일부 역할을 수행하고 것이 입증되었다.

또한, HVT와 형체형 1/2 형을 이용하여 백신한 닭에서 형성된 특이적인 항체는 MDV에 감염된 세포를 항체 의존성 세포 독성 매커니즘을 이용하여 제거하는 과정에도 관여한다(Kodama et al., 1979). 항체가 수행하는 많은 역할들이 확인되었으며, 연구가 지속적으로 진행되고 있지만 항체를 형성하는 세포 그리고 표적이 되는 항원도 아직까지 명확하게 확인되지 않고 있다.

더욱이 MD 병원성 발현 과정 중 암 형성 과정에서 체액성 면역 반응의 역할에 대한 연구 성과는 미미한 수준이다. Dandapat 등(1994)은 MD 림프종 표면 단백질(Marek's disease

tumour surface antigens : MATSA)를 인식하여 결합하는 항체의 항원 결합 부위에 대한 항체를 만드는 새로운 연구 방법을 적용하여 항체의 기능에 대한 연구를 수행하였다. 새로 합성된 항체는 항체의 항원 결합 부분을 인식할 수 있으며, 또한, 암세포의 표면의 항원 결정 부위를 모방할 수 있다. 새로이 합성된 항체로 백신을 실시한 닭에서는 MATSA⁺ 세포가 낮은 수준으로 발현되었으며, MDV 실험 감염 이후에 임상적인 MD의 발현을 부분적으로 방어할 수 있다는 결과가 확인되었다. 최근에는 MD 림프종 세포가 Hodgkin's 림프종과 같이 CD30을 다량 발현하는 것으로 알려졌다(Burgess and Davison, 2002)(Fig. 6). 특이적인 항 CD30 항체 반응은 유전적으로 저항성을 지니고 있는 닭이 병원성 MDV 감염에 의해 고면역이 형성되었을 경우 나타나는 것으로 확인되었다. 이는 항종양 체액성 면역 반응이 CD30^{hi} 림프종의 회복에 관여할 수 있는 가능성이 있다는 것을 시사한다. 이러한 두 가지 연구 결과를 통해서 항종양 면역 반응은 MDV에 의해 감염된 이후 유도되며, 종양 특이적인 항원에 대한 항체가 항종양 반응에 기여한다는 사실을 미루어 짐작할 수 있다.

MDV 감염에 대한 세포 매개성 면역 반응

허피스 바이러스에 대한 항바이러스 면역은 주로 CD8 α β ⁺ cytotoxic T lymphocyte(CTL)와 cytokine을 생산하는 CD4⁺ helper cell에 의해 유도된다. MDV에 감염에 의한 면역 반응도 이와 유사할 것으로 보이지만 MDV가 고도의 림프 친화성이며, 세포 의존적인 특성에 의해 고전적인 면역학 방법을 활용해서는 이러한 면역 세포의 역할을 명확하게 확인하기란 어렵다고 할 수 있다. Morimura 등(1998)은 CD4⁺ 혹은 CD8⁺ 림프구를 제거함으로써 백신을 실시한 닭에서 MD 발생이 억제되는 것을 확인하였다. CD4⁺ T 림프구는 바이러스의 형질 전환 및 감염에 표적이 되는 세포로 제거될 경우, 바이러스 증식 및 형질 전환이 억제되기 때문에 MD 발생을 억제하는 결과를 유도하게 된다. CD4⁺ T 림프구가 존재하는 환경에서 CD8⁺ T 림프구가 제거되면 높은 바이러스 역가를 나타내는데, 이는 MD 발생 과정에서 CD8⁺ T 림프구가 중요한 항바이러스 효과를 가지고 있다는 것을 단적으로 보여준다.

CD8⁺ T 림프구의 MDV 감염 세포에 대한 세포 독성을 chromium release assay를 이용하여 측정하기 위해서는 분석에 적합한 바이러스에 감염된 표적세포 획득이 매우 중요한데, 실질적으로 정확하게 감염된 세포만을 분리하기는 어렵다(Schat and Markowski-Grimsrud, 2001). 이러한 어려움을 극복하기

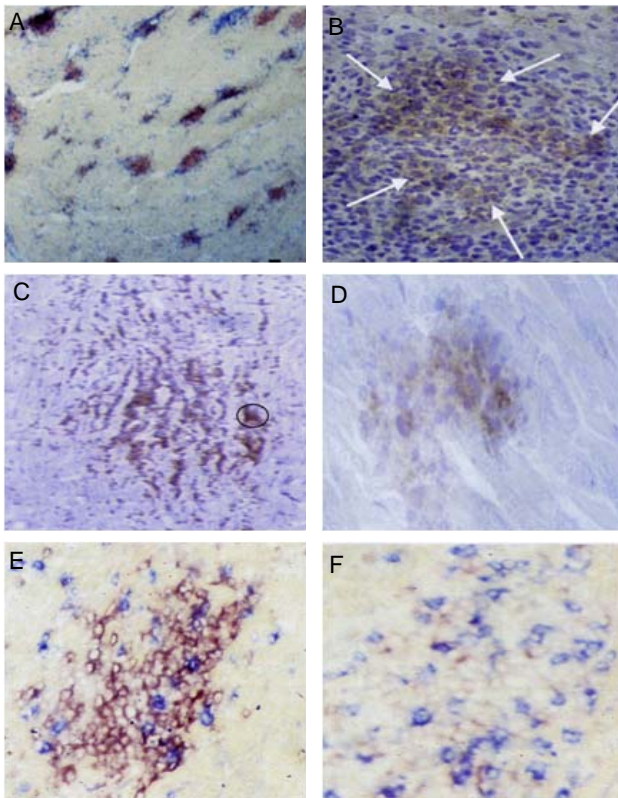


Fig. 6. Immunohistology of developing MD lymphomas, all counterstained with haematoxylin and eosin. A, Developing MD lymphomas from line MD-infected line 7₂ chicken heart, 21 days post-infection (dpi). MD-lymphomas form as multiple foci, each focus is composed of mainly CD4⁺ T cell (red) associated with fewer myeloid (blue, mAB = CVI-ChNL-68.1) cells, which mainly surround, although a few are present within, each developing MD lymphoma focus; B, Developing lymphoma in line 7₂ chicken liver, 21 dpi; CD30^{hi} cell aggregations (mAB = AV37) are present within MD lymphomas (arrowed); C, MD lesion in sciatic nerve of 21-day-old 'MD-resistant' line 6₁ chicken at 7 dpi. Brown-stained cells are CD4⁺; D, Cluster of CD30^{hi} cells from serial section of lesion in C (circled); E & F, Differential expression of CD30 with different numbers of CD8⁺ cells in lesions. Both lesions were on the same heart section of a line 7₂ chicken. Red = CD30⁺ cells, blue = CD8⁺ cells; E, There are few CD8⁺ cells in this lesion, CD30 expression is 'high' (intense red staining); F, There are relatively many CD8⁺ cells in this lesion and CD30 expression is 'low' (pale red staining) (Burgess et al., 2001).

위해 Schat과 Markowski-Grimsrud (2001)는 세망내피증 바이러스에 의해 형질전환된 세포에 안정적으로 MDV 특이적인 유전자를 삽입하여 단백질을 발현시키는 방법을 통해 MDV

에 대한 CTL 반응을 평가하는 체계를 도입하였다. 즉시 초기(immediate-early) 유전자인 ICP4 그리고 ICP22, 초기(early) 유전자인 pp38, 초기 암유발 단백질인 Meq 그리고 후기(late) 유전자인 gB 등의 다른 MDV 유전자를 MD에 유전적인 저항성을 가지고 있는 B²¹/B²¹과 MD에 감수성이 있는 B¹⁹/B¹⁹에서 유래한 독립적인 세포주에 각각 형질 도입하는 것이다. 이러한 과정을 통해 형질이 도입된 표적세포의 CTL 반응을 통한 사멸은 포유동물에서 활용되고 있는 CTL 분석법과 비교해볼 때 낮은 수준으로 확인되었다. 그러나 강한 CTL 반응에 의한 표적세포의 사멸이 gB 혹은 pp38 유전자가 도입된 세포에서 나타났으며, Meq을 도입한 세포에서는 약하게 그리고 ICP22를 도입한 세포에서는 세포 사멸이 나타나지 않는다는 특이적인 결과를 획득하였다. 그리고 ICP4 유전자가 도입된 감수성이 있는 세포주는 CTL 반응이 나타나지 않았지만, 저항성이 있는 세포주에서는 강한 반응이 나타났다. 이러한 현상은 Omar와 Schat(1996)이 MD에 저항성을 지니고 있는 유전형을 지닌 숙주는 즉시 초기 단백질인 ICP4를 특이적으로 인식하여 초기 바이러스 감염 확인 및 감염 세포를 제거할 수 있기 때문에 결과적으로 MDV의 생산적인 감염을 억제하여 MD 임상 증상 발현을 제어하게 된다고 주장한 사실에 의해 설명될 수 있을 것이다. *In vitro*에서 특정 세포를 제거하는 기술을 통해 MDV 감염에 주로 관여하는 세포의 표현형은 고전적인 CTL인 CD8⁺TCR $\alpha\beta$ 1⁺이라는 것이 확인되었다. 반면에 CD4⁺, TCR $\alpha\beta$ 2⁺ 혹은 TCR $\gamma\delta$ T 세포를 제거할 경우에는 어떠한 효과도 나타나지 않았다.

MDV에 대한 세포 매개성 면역 반응을 *in vitro* 상에서 평가할 수 있는 새로운 방법이 Ross(1977)에 의해 제시되었다. 이 분석 방법은 닭 섬유아세포의 단층에 MDV에 감염된 닭에서 획득된 표적 세포인 림프구와 CTL 세포를 동시에 배양하여 형성된 plaque 감소를 측정하므로 인해 세포 매개성 면역 반응의 정도를 측정하는 것이다(Fig. 7, 8). 이러한 방법을 활용하여 실험한 결과 감염되지 않은 닭에서 획득된 세포는 plaque 수의 감소를 유발하지 않았으며, plaque의 감소는 단지 약독화된 MDV 바이러스주에 감염된 닭에서 세포를 획득하였을 때에만 확인되었다. 이러한 분석법을 통해서 MDV가 감염된 세포를 제거하는데 관여하는 효과기 세포는 B 세포가 아닌 T 세포라는 것을 확인할 수 있었다. 동일한 실험 동물에서 유래된 효과기 세포와 표적세포를 이용한 분석 시스템은 유전적으로 저항성이 다른 실험 동물을 사용했을 때에도 plaque 감소를 유발하기 때문에 면역세포와 감염세포의 상호작용을 확인에는 매우 유용한 연구 방법이라고 할 수 있다. 이러한 실험 결과를 통해서 plaque의 감소는 직

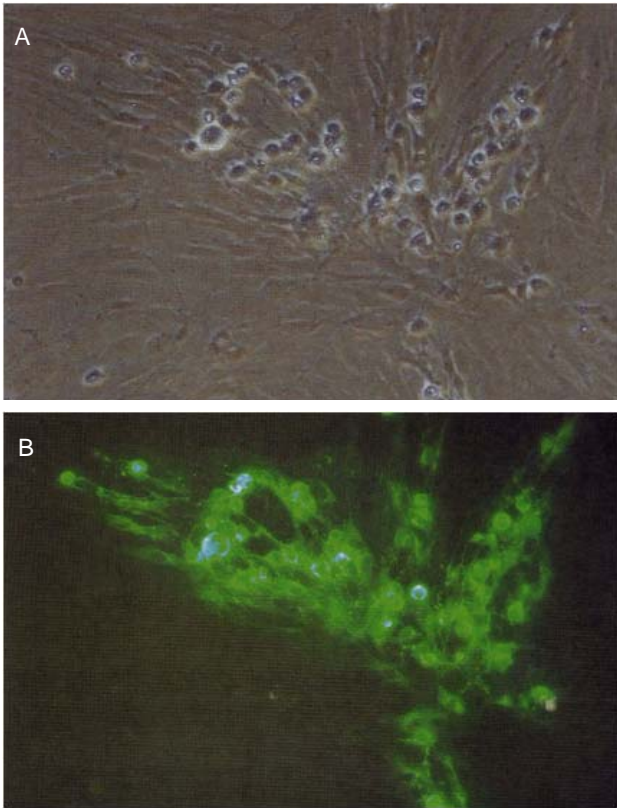


Fig. 7. Cytopathic effect of vaccine MDV, CVI988/Rispens strain, on CEF cells. A, Phase contrast image of infected cells; B, Fluorescent image after staining with MDV specific anti-pp38 chicken immunoglobulins and Alexa-Fluor-labelled goat anti-chicken immunoglobulins (Davison and Kaiser, 2004).

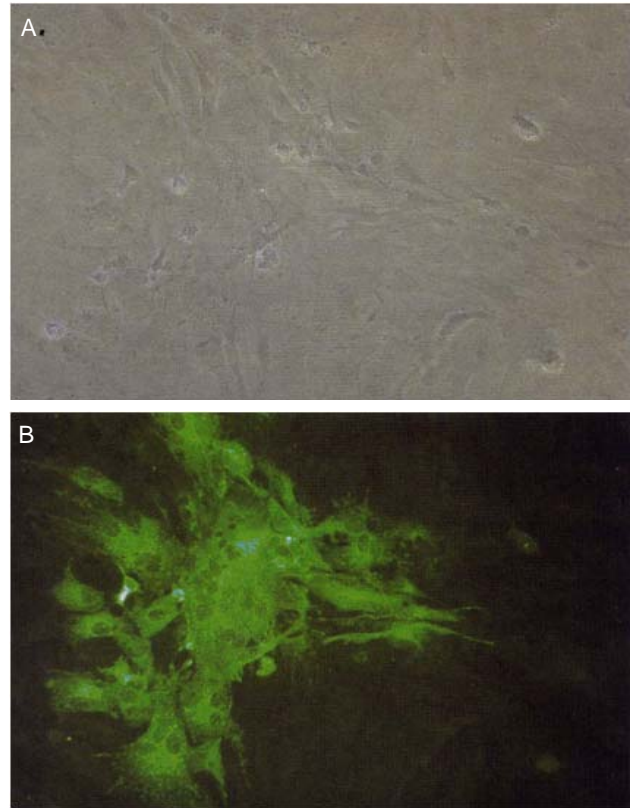


Fig. 8. Cytopathic effect of very virulent MDV, EU1 strain, on DEF cells. A, Phase contrast image of infected cells; B, Fluorescent image after staining with MDV-specific anti-pp38 chicken immunoglobulins and Alexa-Fluor-labelled goat anti-chicken immunoglobulins (Davison and Kaiser, 2004).

접적인 세포간의 접촉이 필수적인 것으로 보이며, 일부 효과기 세포는 $CD8\alpha\beta$ 표현형을 가지고 있지만 아직까지 확인되지 않은 다른 효과기 세포 중에는 $CD8\alpha$ 그리고 $TCR\gamma\delta$ 를 모두 발현하지 않는 세포도 존재하는 것으로 보인다. 때문에 효과기 세포는 CTL뿐만 아니라 자연살해세포와 유사한 세포도 포함하고 있다는 사실을 추정할 수 있다.

CTL 반응이 MDV 복제, 전파, 그리고 지속 감염을 감소시키는 데 중요한 역할을 한다는 사실은 의심의 여지가 없지만, CTL의 항종양성 면역 반응에서의 역할은 논쟁의 여지가 남아있는 것이 사실이다. Payne와 Frazier(1976)은 MDV 감염에 대한 숙주의 대응을 항바이러스 그리고 후기 항종양 면역 반응으로 구성된 2단계 가설을 통해 제시하였다. 2단계 가설은 MDV에 감염된 성숙한 닭에서 MD 임상 증상이 감소하거나 저항성이 있는 닭의 경우 동일한 시기에 감수성이 있는 닭에서는 림프종이 형성되는 시기에 병변이 감소하거나 나

타나지 않는 이유에 대해 설명을 가능하게 하였다(Burgess et al., 2001). 하지만 Schat(1991)는 2단계 가설에 대해 MDV가 종양 세포에서 재활성화될 수 있으면 일부 세포에서는 항원이 세포 외부로 발현될 것이며, 이는 림프종에서 항바이러스 반응을 항종양성 반응보다 자극할 것이라는 판단에 기초한 의문을 제기하였다. 이러한 의문은 글루타알데하이드로 고정된 MDCC 세포를 이용해 닭에 면역을 하였을 경우 실험 감염된 MDV에 부분적인 면역 반응을 제공하며, 바이러스가 높은 수준으로 발현된 MDV에 감염된 신장 세포로 면역할 경우 더 높은 면역 반응을 유도한다는 사실을 통해 충분히 가능성이 있다는 사실이 이미 입증되었다(Powell, 1975). 항바이러스 혹은 항종양성 면역 반응을 구별하는 것은 MDV 항원을 발현하는 세포주 혹은 암세포가 드물기 때문에 실질적으로 불가능한 것이 현실이다. 최근에 MD 종양 세포가 세포 표면에 CD30 항원을 다량 발현하는 것으로 알려지면서

CD30을 발현하는 재조합 바이러스를 이용하여 CD30 발현에 의한 대응 면역을 유도한 숙주는 임상적인 MD 발병이 늦춰지고 암 형성이 억제된다는 사실이 확인되었다. 이러한 실험 결과는 다른 암유발성 허피스바이러스에서 보고되는 항종양성 면역 반응이 MD에서도 이루어지고 있다는 사실을 입증해 준다고 할 수 있다.

MDV에 의한 세포용해성 감염과 Cytokine의 반응

최근까지 MD에 대한 면역 반응으로 혹은 병원성 발현 과정에서 cytokine의 역할에 대한 연구가 매우 제한적으로 이루어졌기 때문에 확보된 연구 성과는 매우 낮은 수준에 머물고 있는 것이 사실이다. 1970년대 초기 연구를 통해서 인터페론이 *in vitro*에서 MDV 복제를 억제하는 효과가 있다는 것이 확인되면서 cytokine의 MDV에 대한 면역 반응에서 역할에 대한 실질적인 연구가 시작되었다. Xing과 Schat(2000b)은 *in vivo* 그리고 *in vitro* 모두에서 저항성이 있는 닭에서 획득한 비장세포의 cytokine 발현이 MDV 감염에 미치는 영향에 대해 연구를 수행하였다. INF- γ 의 발현은 감염 후 3일부터 실험이 종료되는 15일까지 계속적으로 증가하는 양상을 보여주었으며, INF- γ 의 발현에 의해 6DPI에 Interleukin-1 β (IL-1 β)와 iNOS의 발현 증가가 유도된다. 이러한 연구 결과들은 INF- γ 가 초기 병원성 발현 및 MDV 감염에 의한 면역 반응에 중추적인 역할을 수행한다는 사실을 뒷받침해주고 있다.

닭에서 발현되는 cytokine 총체적인 연구(Secombes and Kaiser, 2003)를 통해 확보된 연구 결과는 MD에 대한 선천성 면역 반응과 후천성 면역 반응을 조절하는 기전에 대한 연구를 가능하게 하는데 기초를 제공하여 주었다. 닭에서 T_H1 cytokine인 INF- γ , IL-2, IL-12 p40 그리고 IL-18, pro-inflammatory cytokine인 IL-1 β , IL-6, IL-2와 밀접한 관련이 있는 IL-15 그리고 IL-8 등이 복제되어 염기서열이 확인되었다. Cytokine 유전자의 염기서열 및 유전자 구조는 유전적으로 감수성이 있는 닭과 저항성이 있는 닭에서 MDV에 감염되어 MD가 진행되는 과정에 따라 cytokine의 발현 수준의 변화를 분석할 수 있는 정량적인 RT-PCR 분석을 위한 primer와 probe를 제작하는데 활용되고 있다.

Kaiser 등(2003)은 유전적인 저항성이 있는 line 6(B²/B²)와 N(B²¹/B²¹) 2종류의 유전형에 지닌 닭과 감수성이 있는 line 7(B²/B²)와 P(B¹⁹/B¹⁹) 2종류의 닭을 대상으로 MDV 감염 과

정 동안 cytokine 발현 양상에 대해 조사하였다. INF- γ mRNA는 MDV 감염량이 증가되는 것과 연관되어 3~10 dpi까지 감염된 전 개체의 비장세포에서 나타났으며, 광의적인 측면에서 기존의 Xing과 Schat(2000b)의 연구 결과와 유사하다고 할 수 있다. 닭의 유전형에 따라 발현 양상의 차이를 보이는 cytokine은 IL-6와 IL-18로 감수성이 있는 닭의 비장세포에서는 높은 수준으로 두 종류의 cytokine을 세포용해성 감염 기간 동안에 발현하지만, 저항성이 있는 닭의 비장세포에서는 둘 중 하나의 전사체만을 발현한다. 숙주의 유전형 차이에 따라서 발생하는 cytokine의 발현 양상 차이는 감수성이 있는 닭에서는 림프종을 형성시키지만, 저항성이 있는 닭에서는 잠복기를 유지시키는 효과를 나타낸다. 이러한 결과는 이 두 종류의 cytokine이 MDV에 대한 면역 반응을 유도 및 전환하는 과정에서 중요한 역할을 수행한다는 사실을 단적으로 보여준다고 할 수 있다.

Djeraba 등(2002a)은 MDV 감염 혹은 백신 실시 후 제한된 기간 동안의 연구를 통해서 확인된 INF- γ 의 발현 양상이 기존 Xing과 Schat(2000b)의 연구 결과와 유사하다는 사실을 재확인하였다. 하지만 이는 MDV 감염에 저항성이 있는 유전형을 지닌 닭이 감수성을 지닌 닭보다 높은 수준으로 INF을 발현한다는 초기의 연구 보고(Hong and Sevoian, 1971)와는 일치하지 않은 결과를 보여주고 있다. 게다가 HVT 백신 후 IFN 생산에 양상에 대해서는 바이러스주에 따라 차이가 발생할 수 있다는 것을 제한한 논쟁의 여지가 있는 연구 결과도 보고되었다(Hong and Sevoian, 1971; Djeraba et al., 2002a). 또한, Djeraba 등(2002a)은 B²¹/B²¹ 그리고 B¹³/B¹³의 유전형을 지닌 닭에 MDV를 감염시키면 비장에서 MIP1 β 그리고 K203과 같은 2가지 CC chemokine의 발현 수준이 증가한다는 연구 성과를 보고하였다. 이 모든 결과를 종합하여 볼 때 비록 명확하게 MDV 감염 후 cytokine의 발현 양상과 그 영향에 대해 분석할 수는 없지만, MDV 감염하게 되면 T_H 1 세포가 관여하는 면역 반응에 특징적인 cytokine이 유도된다는 사실을 알 수 있다.

MDV 감염에 대한 Cytokine의 잠복기 유도 및 잠복기 유지 기능

Cytokine의 잠복기 유도 및 유지에 미치는 영향에 대한 연구는 이러한 과정에 관여할 것으로 보이는 여러 가지 cytokine이 복제된 후 단백질로 발현되어 연구에 쉽게 활용될 수 있는 형태로 제공되고 있기 때문에 과거와는 달리 정확하고

효율적인 연구가 보장되고 있는 상황이다. Buscaglia와 Calnek(1988a)은 concanavalin-A에 의해 활성화된 비장세포 배양액에 존재하는 2가지 수용성 물질이 MDV 감염된 닭에서 얻어진 피장세포에 감염된 MDV의 잠복기를 유지시키는데 관여한다는 사실을 확인하였다. 그 중 하나는 type I의 INF으로 확인되었으며, 다른 하나는 latency maintaining factor(LMF)로 명명되었다. Type I INF은 MDV에 의해 형질 전환된 세포주의 세포에서 MDV의 잠복기 유지에 중요한 역할을 수행하는 것으로 보이지만, LMF로 분류된 수용성 물질의 특성과 이를 생산하는 세포 표현형에 대해서는 아직까지 밝혀지지 않고 있다.

암세포주에서 MDV에 대한 Cytokine의 생산

현재까지 MDCCs 혹은 암세포에 의해 생산된 cytokine을 대상으로 하여 보고된 연구 성과는 매우 제한적인 상태이지만, Bumstead와 Payne(1987)는 MDCC 세포가 실험실 내에서 세포분열인자에 의해 활성화된 비장세포의 증식을 억제하는 물질을 분비한다는 사실을 보고하였다. 하지만 이 물질이 trypsin에 감수성이 있으며, 열에 대한 저항성을 가지고 있는 분자량이 20kDa 정도의 단백질이라는 것 이외의 상세한 정보는 확인되지 않았다. 이후 MDV, Lymphoid sarcoma virus (LSV), reticuloendotheliosis virus(REV)와 같은 서로 다른 바이러스에 의해 형질 전환된 세포에서 획득된 세포주에서 IL-2, IL-15 그리고 IFN- γ 의 발현을 정량적인 RT-PCR을 통해 확인하므로 인해 MDV 감염에 의해 유도된 림프종에서 나타나는 특이적인 cytokine 발현 양상을 확인하고자 하는 후속 연구가 진행되었다. 그리고 Flow cytometric analysis를 통해 MDV에 감염에 의해 유래된 세포주는 T 림프구라는 사실이 확인되었다. IL-2 전사체는 실험한 어떠한 세포주에서도 확인되지 않았으며, IL-15만이 대식세포에서 유래한 세포주인 RECC-2D8에서 확인되었다. 그리고 중간 혹은 낮은 수준의 IFN- γ 전사체의 발현은 16 종의 MDCCs 중 4 종에서만 확인되었으며, 2 종의 칠면조 세포주 중에서는 1 종에서만 확인되었다(Fig. 9). 흥미롭게도 IFN- γ 전사는 활발히 증식하는 REV에 의해 형질 전환된 세포 대부분에서 나타나지만, MDV에 의해 형질 도입된 세포주에서는 모계 세포주인 RECC-CU91에 비해 매우 낮은 수준으로 RECC-CU210 세포주에서만 확인된다(Schat and Markowski-Grimsrud, 2001). 추가적으로 12 종의 MDCCs 중 10 종에서 IL-20 p40이 발현되는 것으로 확인되었다(Balu and Kaiser, 2003).

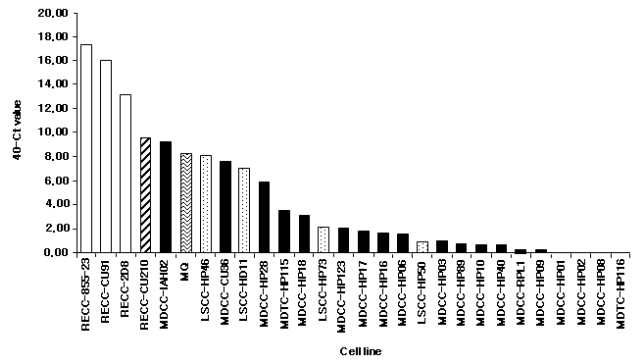


Fig. 9. Measurement of IFN- γ mRNA transcripts isolated from 106 cells from a range of different virus-transformed cell lines using quantitative RT-PCR (Taqman). The chicken cells had been transformed with lymphoid leukosis (LSCC-stippled bars), MDV (MDCC-black bars) or reticuloendotheliosis virus (RECC-white bars). Turkey cells had been transformed with MDV (MDTC). RECC-CU210 expressed MDV proteins and is derived from the RECC-CU91 line (striped bar). Two macrophage cell lines, LSCC-HD 11, and the MQ line (wavy lines), are included. The data are expressed as Ct values, each unit approximating a log 2 difference (Davison and Kaiser, 2004).

MDV의 유전자중 CXC Chemokine이 숙주에 미치는 영향

IL-8은 어느 다른 chemokine 중에서도 T 세포를 소집하는데 매우 중요한 화학주성을 지닌 물질로 알려져 있다. MDV003 그리고 MDV078 유전자는 IL-8과 상동성이 있는 CXC chemokine을 암호화 하고 있는데(Liu et al., 1999), 아직까지 IL-8과 같은 활성은 확인되지 않고 있다. Xing과 Schat(2000b)은 MDV에 감염된 후 3일이 경과된 닭에서 획득된 비장세포에서 IL-8이 발현된다는 사실을 확인하였다. 이러한 사실은 B 세포에서 나타나는 초기 세포용해성 감염 기간 동안 CXC chemokine을 생산하여 바이러스 복제가 이루어지는 지역으로 표적세포인 T 세포를 소집하게 되며, 이러한 과정은 MDV 감염 초기에 발현되는 IFN- γ 에 의해 T 세포에 IL-8 수용체 발현을 자극함으로써 더욱 촉진될 수 있다는 충분한 가능성을 제시하여 준다. 하지만 이러한 가능성에는 여러 가지 문제점들이 내포되어 있다. 첫째로 MDV에 저항성이 있는 닭 혹은 감수성이 있는 닭에서 획득된 비장세포에서 MDV 감염에 의해 유래된 것으로 보이는 숙주 IL-8 발현 양상의 변화에 대한 증거가 없다는 것이다(Kaiser et al., 2003). 그리고 비록

MDV CXC chemokine이 사람의 IL-8과 닭의 IL-8/CAF와 높은 상동성을 지니고 있지만, 최근에 확인된 B 림프구에 특이적인 화학주성을 지닌 물질과 높은 유사성을 지니고 있다는 사실이 밝혀져 T 림프구에 대한 화학주성이 아닌 B 림프구에 특이적인 화학주성을 가지고 있을 가능성이 제기되었다. Viral interleukin-8(vIL-8)과 알려져 있는 MDV에 암호화 되어 있는 IL-8은 다른 생물종에서의 IL-8과는 여러 가지 면에서 중요한 다른 점을 지니고 있다. 포유류에서 CXC chemokine은 2가지 하위 그룹으로 나뉘지는데, 그 중 하나는 IL-8을 포함하는 대부분의 chemokine이 포함되는 그룹으로 첫번째 cysteine 잔기 다음에 나타나는 ELR motif를 특이적으로 포함하고 있다. 다른 하나는 PF-4와 같이 ELR motif가 없는 B 림프구에 특이적인 화학주성이 있는 chemokine을 포함하는 그룹이다(Legler et al., 1998). 일반적으로 ELR⁺ CXC chemokine의 경우 혈관 형성 과정에 관여하는 반면 ELR⁻ CXC chemokine은 포함되지 않는다. MDV의 vIL-8은 ELR motif가 존재하지 않는 chemokine으로 B 림프구에 화학주성이 있는 chemokine으로 분류될 수 있다. 사람에게서 대부분 CXC chemokine의 유전적인 구조는 4개의 exon과 3개의 intron으로 구성되어 있는 반면, PF-4 그리고 NAP-2 유전자는 3개의 exon과 2개의 intron으로 구성되어 있다. MDV의 vIL-8도 3개의 exon과 2개의 intron으로 구성되어 있기 때문에 유전자의 구조도 B 림프구에 화학적인 주성을 지니고 있는 ELR⁻ CXC chemokine 그룹에 포함된다고 할 수 있다. 이러한 특성에 기초하여 MDV의 vIL-8은 vIL-8으로 불리기보다는 vCXC chemokine으로 명명되는 것이 더욱 정확할 것으로 보인다. 위와 같은 사실을 통해 MDV에 암호화 되어 있는 vCXC chemokine은 B 림프구에 화학주성이 있는 물질이며, 바이러스 감염 초기에 B 세포를 소집하여 세포용해성 감염이 성립되게 하는데 중요한 역할을 수행한다는 것을 추측할 수 있다. 하지만 vCXC chemokine이 숙주의 면역 체계를 교란시켜 MDV 병원성 발현에 미치는 영향에 대해서는 아직까지 알려진 바가 많지 않다.

MDV 방어를 위한 다양한 백신

MDV 감염을 통제하기 위해 사용된 MD 백신은 바이러스의 병원성 발현 과정을 통해 유도되는 림프종 형성을 억제하기 위한 목적으로 광범위하게 사용된 최초의 백신이다 (Fig. 10). 일반적으로 생백신의 경우 1일령 병아리 혹은 18일령 부화란에 접종하여 면역한다. 비록 MD 백신이 표적이 되는 병원체인 MDV의 세포용해성 감염 기간 동안의 바이

러스 복제(Fig. 11)와 림프종 형성을 억제하는 역할을 수행하지만 병원성 MDV 감염과 복제를 차단하지는 못한다. 백신에 의해 유도되는 선천성 면역과 후천성 면역이 아직까지 명확하게 확인되어 있지 않지만, 병원성 바이러스에 의해 유도되는 면역 반응과 매우 유사할 것으로 생각된다. 순화된

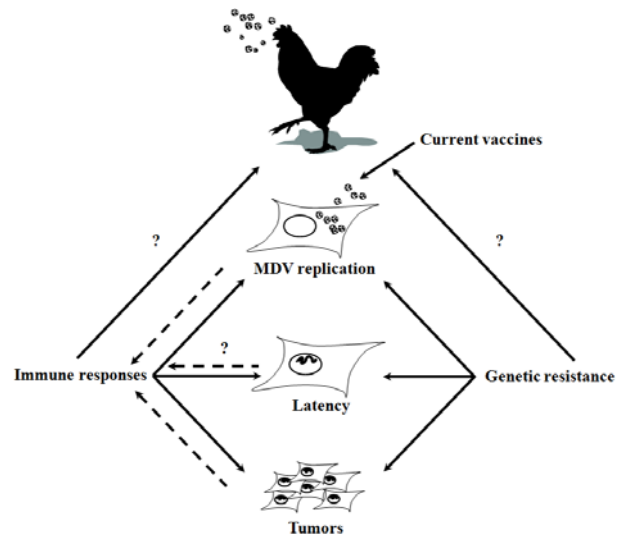


Fig. 10. Schematic diagram showing major stages in the course of MD and those that are targets for immune responses, vaccines and genetic resistance. The immunosuppressive effects of MDV are indicated by dotted lines. Question marks indicate those pathways where interactions are possible but require confirmation (modified from Davison and Kaiser, 2004).

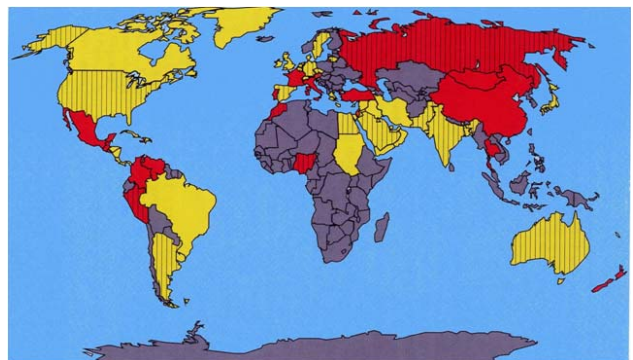


Fig. 11. Map of the evolution of MD incidence. Colours represent the current existence of MD outbreaks as follows : red = current MD outbreaks; yellow = no current MD outbreak; grey = data not available. The existence of MD outbreaks during 1990s is indicated by vertical stripes (Davison and Kaiser, 2004).

혈청형 1형의 MDV는 병원성 바이러스주와 항원적으로 매우 유사하며, 다른 혈청형의 백신보다 더욱 효과적인 면역 반응을 유도한다는 연구 결과가 이러한 사실을 뒷받침하고 있다. 최근에는 MDV의 여러 단백질 중에서 fowlpox vector를 이용한 FPV-gB1 재조합 백신의 접종 실험을 통해 방어 면역을 유도하는데 가장 효과적인 당단백은 gB인 것으로 확인되었다.

MDV는 다른 병원체의 면역 유발 물질을 발현시켜 지속적으로 면역을 유도할 수 있는 유용한 vector로 사용될 수 있다는 장점을 지니고 있다. MDV 바이러스는 숙주에 감염하여 숙주의 생존 기간 동안 지속 감염을 형성하기 때문에 다른 병원체의 면역 유발 물질의 유전자를 재조합할 경우 지속적인 발현을 통한 면역 형성을 유도할 수 있다. 이러한 특성을 활용한 대표적인 예로 HVT를 vector로 사용하여 Newcastle disease virus(NDV)의 항원을 발현시킴으로써 MD에 대한 방어 면역뿐만 아니라 ND에 대한 면역 반응을 유도하기 위한 목적으로 개발된 재조합 백신을 들 수 있다. HVT는 숙주에서 지속 감염을 형성할 수 있기 때문에 지속적으로 NDV 항원을 발현하여 이에 대한 항체가 형성되도록 한다. 이러한 백신 vector로써 큰 이점을 지니고 있지만 MDV에서 방어적인 체액성 면역과 세포 매개성 면역을 유도할 수 있는 항원에 대한 연구 성과가 미흡하기 때문에 더욱더 효과적인 백신을 개발하기 위해서는 추가적인 연구가 진행되어야 할 것으로 보인다.

Cytokine은 백신 항원 보강제와 면역 조절제로서 활용될 경우, 백신의 효과성을 증진시키는데 중요한 역할을 수행할 것으로 예상되나, 현재까지 실험 동물에서 MDV 감염을 통제하는 효능이 확인된 것은 조류 골수단핵세포성 성장 인자(Avian myelomonocytic growth factor : MGF) 하나뿐이다(Djeraba et al., 2002b). Fowlpox vector를 사용하여 MGF를 발현시킨 닭을 vvMDV인 RB-1B로 감염시킬 경우 생존 기간이 길어지며, 낮은 수준의 MD 발현과 종양 형성 감소가 나타나는 것이 실험적으로 확인되었다. 또한, MGF를 발현시킨 닭의 비장세포에서는 iNOS, IFN- γ 그리고 K203의 발현이 증가되는 것으로 확인되었다. 면역 반응에서 위와 같은 특성을 지니고 있는 MGF는 HVT에 의해 유도되는 면역 반응의 특정 과정에 작용하여 폐사율의 감소와 암 형성을 억제하는 기능을 수행할 수 있기 때문에 잠재적으로 MDV 백신의 항원 보강제로의 가능성을 지니고 있다고 할 수 있다(Djeraba et al., 2002b). T_H1 반응에 의해 유래되는 다른 cytokine의 잠재적인 MDV의 백신 항원 보강제로의 역할은 연구가 더욱 진행되어야 할 것으로 보인다.

재조합 DNA 백신 기술은 분자적으로 잘 정의된 백신의

개발과 기존 백신보다 효과적인 새로운 백신을 개발할 수 있는 기회를 제공하여 주고 있다. 그러나 일반적으로 활용되는 백신을 개선하기 위해서는 MDV에 대한 선천성 면역 그리고 후천성 면역 반응에 대한 기본적인 이해의 증진이 기초되어야 할 뿐만 아니라 백신에 의해 유도되는 방어 면역 형성 기전에 대한 이해가 필수적이라고 할 수 있다. 일반적인 MD 백신은 선천성 면역을 자극할 뿐만 아니라 항체를 생산하고 세포 매개성 면역을 유도하는 B 그리고 T 림프구의 종적인 면역 체계를 자극한다. 때문에 병원성이 증가하는 양상을 보이는 야외 바이러스에 대해 효과적인 방어 면역을 유도할 수 있는 새로운 백신을 개발하기 위해서는 방어 면역을 자극하는 병원체의 특정 물질을 선택하거나, 방어 면역 반응을 직접적으로 증가시키는데 관여하는 숙주 인자로서 cytokine과의 상호작용 최적화 그리고 MD 림프종 항원에 대한 표적화된 면역 반응의 유도 등이 새로운 개발될 백신에서 고려되어야 할 중요한 요인으로 작용할 것이다.

결론

MD에 대한 면역 반응은 선천성 면역 반응 그리고 세포 매개성 그리고 항체 반응을 포함하는 후천적 면역 반응의 복잡한 상호작용을 포함한다. 그러나 바이러스와 숙주와의 상호관계를 더욱 정확하게 이해하여 바이러스를 효과적으로 통제하기 위해서는 숙주의 방어 면역과 MDV 감염 과정에서 중요한 표적 항원으로 작용할 수 있는 단백질에 대한 추가적인 연구를 통한 이해가 필수적이다. MDV는 숙주에 감염하여 초기 세포용해성 감염, 잠복 감염, 세포용해성 감염의 재활성, 종양 형성 단계를 거칠 뿐만 아니라 숙주의 생활사 동안 우포상피세포에서 생산적인 감염이 이루어지는 등 매우 복잡한 생활 주기를 지니고 있다. 그래서 감염의 서로 다른 단계와 감염이 이루어지는 서로 다른 장기에서 효과를 보이는 특이적인 면역 반응이 있을 것으로 추측된다. 이러한 특이적인 면역 반응에 대한 이해가 부족한 상태일 뿐만 아니라 현재 사용되고 있는 MDV 백신은 완전한 면역을 제공하지 못 한다는 자체적인 한계점 또한 지니고 있다. 이러한 한계점은 백신의 사용이 야외 바이러스가 병원성이 증가하는 방향으로 진화하게 하는 백신압으로 작용하게 하는 중요한 요인으로 작용하고 있다. 때문에 MDV 감염을 예방하고 복제를 감소시키며, 백신을 실시한 닭에서 바이러스 전파를 차단하는 효과적인 방어 면역의 형성은 앞으로 MDV 감염에 대한 면역학적 연구 분야에서 가장 위대한 도전 분야가 될 것이다.

인용문헌

- Balu S, Kaiser P 2003 Avian interleukin-12beta (p40): cloning and characterization of the cDNA and gene. *J Interferon Cytokine Res* 23:699-707.
- Barrow AD, Burgess SC, Baigent SJ, Howes K, Nair VK 2003 Infection of macrophages by a lymphotropic herpesvirus: a new tropism for Marek's disease virus. *J Gen Virol* 84: 2635-2645.
- Brunovskis P, Chen X, Velicer LF 1992 Analysis of Marek's disease virus glycoproteins D, I and E. Pages 118-122. In *Proceedings of the 19th World's Poultry Congress, vol. 1. 4th International Symposium on Marek's Disease*. Ponsen and Looijen, Wageningen.
- Bumstead JM, Payne LN 1987 Production of an immune suppressor factor by Marek's disease lymphoblastoid cell lines. *Vet Immunol Immunopathol* 16:47-66.
- Bumstead N 1998 Genetic resistance to avian viruses. *Rev Sci Tech* 17:249-255.
- Burgess SC, Davison TF 2002 Identification of the neoplastically transformed cells in Marek's disease herpesvirus-induced lymphomas: recognition by the monoclonal antibody AV37. *J Virol* 76:7276-7292.
- Burgess SC, Basaran BH, Davison TF 2001 Resistance to Marek's disease herpesvirus-induced lymphoma is multiphasic and dependent on host genotype. *Vet Pathol* 38:129-142.
- Burgoyne GH, Witter RL 1973 Effect of passively transferred immunoglobulins on Marek's disease. *Avian Dis* 17:824-837.
- Buscaglia C, Calnek BW 1988a Maintenance of Marek's disease herpesvirus latency *in vitro* by a factor found in conditioned medium. *J Gen Virol* 69:2809-2818.
- Buscaglia C, Calnek BW, Schat KA 1988b Effect of immunocompetence on the establishment and maintenance of latency with Marek's disease herpesvirus. *J Gen Virol* 69:1067-77.
- Calnek BW 1972 Effects of passive antibody on early pathogenesis of Marek's disease. *Infect Immun* 6:193-198.
- Calnek BW, Schat KA, Ross LJ, Chen CL 1984 Further characterization of Marek's disease virus-infected lymphocytes. II. *In vitro* infection. *Int J Cancer* 33:399-406.
- Cerwenka A, Lanier LL 2001 Natural killer cells, viruses and cancer. *Nat Rev Immunol* 1:41-49.
- Chubb RC, Churchill AE 1969 Effect of maternal antibody on Marek's disease. *Vet Rec* 85:303-305.
- Churchill AE, Chubb RC, Baxendale W 1969 The attenuation, with loss of oncogenicity, of the herpes-type virus of Marek's disease (strain HPRS-16) on passage in cell culture. *J Gen Virol* 4:557-564.
- Dandapat S, Pradhan HK, Mohanty GC 1994 Anti-idiotypic antibodies to Marek's disease-associated tumour surface antigen in protection against Marek's disease. *Vet Immunol Immunopathol* 40:353-366.
- Davison F, Kaiser P 2004 Immunity to Marek's disease. Pages 126-141 In: *Marek's disease (an evolving problem)*. Davison F and Nair V, (Ed.) Elsevier Academic Press, New York.
- Djeraba A, Musset E, Bernardet N, Le Vern Y, Quéré P 2002a Similar pattern of iNOS expression, NO production and cytokine response in genetic and vaccination-acquired resistance to Marek's disease. *Vet Immunol Immunopathol* 85: 63-75.
- Djeraba A, Musset E, Lowenthal JW, Boyle DB, Chaussé AM, Péloille M, Quéré P 2002b Protective effect of avian myelomonocytic growth factor in infection with Marek's disease virus. *J Virol* 76:1062-1070.
- Garcia-Camacho L, Schat KA, Brooks R Jr, Bounous DI 2003 Early cell-mediated immune responses to Marek's disease virus in two chicken lines with defined major histocompatibility complex antigens. *Vet Immunol Immunopathol* 95:145-153.
- Gupta MK, Chauhan HV, Jha GJ, Singh KK 1989 The role of the reticuloendothelial system in the immunopathology of Marek's disease. *Vet Microbiol* 20:223-234.
- Haffer K, Sevoian M, Wilder M 1979 The role of the macrophages in Marek's disease: *in vitro* and *in vivo* studies. *Int J Cancer* 23:648-656.
- Heller ED, Schat KA 1987 Enhancement of natural killer cell activity by Marek's disease vaccines. *Avian Pathol* 16:51-60
- Higgins DA, Calnek BW 1976 Some effects of silical treatment on Marek's disease. *Infect Immun* 13:1054-1060.
- Hong CC, Sevoian M 1971 Interferon production and host resistance to type II avian (Marek's) leukosis virus (JM strain). *Appl Microbiol* 22:818-820.
- Kaiser P, Underwood G, Davison F 2003 Differential cytokine responses following Marek's disease virus infection of chickens differing in resistance to Marek's disease. *J Virol* 77:

- 762-768.
- Kaleta HD, Neumann U 1977 Investigations on the model of transmission of the herpesvirus of turkeys *in vitro*. *Avian Pathol* 6:33-39.
- Keller LH, Lillehoj HS, Solonsky JM 1992 JMV-1 stimulation of avian natural killer cell activity. *Avian Pathol* 21:239-250.
- Kodama H, Mikami T, Inoue M, Izawa H 1979 Inhibitory effects of macrophages against Marek's disease virus plaque formation in chicken kidney cell cultures. *J Natl Cancer Inst* 63:1267-1271.
- Lam KM, Linna TJ 1979 Transfer of natural resistance to Marek's disease (JMV) with non-immune spleen cells. I. Studies of cell population transferring resistance. *Int J Cancer* 24:662-667.
- Lee LF, Sharma JM, Nazerian K, Witter RL 1978 Suppression and enhancement of mitogen response in chickens infected with Marek's disease virus and the herpesvirus of turkeys. *Infect Immun* 21:474-479.
- Lee LF, Witter RL 1991 Humoral immune responses to inactivated oil-emulsified Marek's disease vaccine. *Avian Dis* 35:452-459.
- Legler DF, Loetscher M, Roos RS, Clark-Lewis I, Baggiolini M, Moser B 1998 B cell-attracting chemokine 1, a human CXC chemokine expressed in lymphoid tissues, selectively attracts B lymphocytes via BLR1/CXCR5. *J Exp Med* 187:655-660.
- Liu JL, Lin SF, Xia L, Brunovskis P, Li D, Davidson I, Lee LF, Kung HJ 1999 MEQ and V-IL8: cellular genes in disguise? *Acta Virol* 43:94-101.
- Loeffler DA, Schat KA, Norcross NL 1986 Use of ⁵¹Cr release to measure the cytotoxic effects of staphylococcal leukocidin and toxin neutralization on bovine leukocytes. *J Clin Microbiol* 23:416-420.
- Morimura T, Ohashi K, Sugimoto C, Onuma M 1998 Pathogenesis of Marek's disease (MD) and possible mechanisms of immunity induced by MD vaccine. *J Vet Med Sci* 60:1-8.
- Omar AR, Schat KA 1996 Syngeneic Marek's disease virus (MDV)-specific cell-mediated immune responses against immediate early, late, and unique MDV proteins. *Virology* 222:87-99.
- Payne LN, Frazier JA 1976 Powell PC pathogenesis of Marek's disease. *Int Rev Exp Pathol*. 16:59-154.
- Powell PC 1975 Immunity to Marek's disease induced by glutaraldehyde-treated cells of Marek's disease lymphoblastoid cell lines. *Nature* 257:684-685.
- Powell PC, Hartley KJ, Mustill BM, Rennie M 1983 Studies on the role of macrophages in Marek's disease of the chicken. *J Reticuloendothel Soc* 34:289-297.
- Powell PC, Davison TF 1986 Induction of Marek's disease in vaccinated chickens by treatment with betamethasone or corticosterone. *Israel J Vet Med*. 42:73-78.
- Queré P, Dambrine G 1988 Development of anti-tumoral cell-mediated cytotoxicity during the course of Marek's disease in chickens. *Ann Rech Vet* 19:193-201.
- Qureshi MA, Miller L 1991 Comparison of macrophage function in several commercial broiler genetic lines. *Poult Sci* 70:2094-2101.
- Ross LJ 1977 Antiviral T cell-mediated immunity in Marek's disease. *Nature* 268:644-646.
- Schat KA, Calnek BW, Weinstock D 1986 Cultivation and characterisation of avian lymphocytes with natural killer cell activity. *Avian Pathol* 15:539-556.
- Schat KA 1991 Importance of cell-mediated immunity in Marek's disease and other viral tumor diseases. *Poult Sci* 70:1165-1175.
- Schat KA, Markowski-Grimsrud CJ 2001 Immune responses to Marek's disease virus infection. *Curr Top Microbiol Immunol* 255:91-120.
- Schumacher D, Tischer BK, Fuchs W, Osterrieder N 2000 Reconstitution of Marek's disease virus serotype 1 (MDV-1) from DNA cloned as a bacterial artificial chromosome and characterization of a glycoprotein B-negative MDV-1 mutant. *J Virol* 74:11088-11098.
- Secombes CJ, Kaiser P 2003 The phylogeny of cytokines. Pages 57-84 In : *The Cytokine Handbook*, 4th ed. Thomson A, Lotze MT (eds) Academic Press, London.
- Sharma JM, Coulson BD 1979 Presence of natural killer cells in specific-pathogen-free chickens. *J Natl Cancer Inst* 63:527-531.
- Sharma JM, Okazaki W 1981 Natural killer cell activity in chickens: target cell analysis and effect of antithymocyte serum on effector cells. *Infect Immun* 31:1078-1085.
- Sharma JM, Graham CK 1982 Influence of maternal antibody

- on efficacy of embryo vaccination with cell-associated and cell-free Marek's disease vaccine. *Avian Dis* 26:860-870.
- Sharma JM 1983 Presence of adherent cytotoxic cells and non-adherent natural killer cells in progressive and regressive Marek's disease tumors. *Vet Immunol Immunopathol* 5:125-140.
- Toth TE 2000 Nonspecific cellular defense of the avian respiratory system: a review. *Dev Comp Immunol* 24:121-139.
- Van Zaane D, Brinkhof JM, Westenbrink F, Gielkens AL 1982 Molecular-biological characterization of Marek's disease virus. I. Identification of virus-specific polypeptides in infected cells. *Virology* 121:116-132.
- Xing Z, Schat KA 2000a Inhibitory effects of nitric oxide and gamma interferon on *in vitro* and *in vivo* replication of Marek's disease virus. *J Virol* 74:3605-3612.
- Xing Z, Schat KA 2000b Expression of cytokine genes in Marek's disease virus-infected chickens and chicken embryo fibroblast cultures. *Immunology* 100:70-76.
- (접수: 2008. 06. 25, 수정: 2008. 07. 10, 채택: 2008. 07. 20)