

잉어 두신 백혈구에서 분리한 Interferon-like cytokine(ILC)의 항바이러스 활성

조미영 · 김진우 · 김은전* · 박수일*

국립수산과학원 병리연구팀*부경대학교 수산생명의학과

서론

인터페론은 바이러스의 감염 초기에 생성되어 바이러스의 증식을 억제하는 사이토카인의 일종으로서 바이러스에 대한 숙주 세포의 비특이적 방어기작에서 중요한 역할을 담당한다(Eaton, 1990). 어류에서 인터페론의 생성은 바이러스, synthetic dsRNA polymer 및 다양한 lectin에 의해 유도되는 것으로 증명되었으며(de Kinkelin & Dorson, 1973 ; Eaton, 1990), 무지개송어 등의 연어과 어류에서 Interferon-like cytokine(ILC)의 활성화에 대한 다양한 결과들이 보고되었다(Nygaard et al., 2000 ; Jensen & Robertsen, 2002).

본 연구는 잉어의 인터페론 활성을 조사하기 위하여 두신 백혈구에서 ILC를 분리한 후 잉어봄바이러스(SVCV)에 대한 항바이러스 활성을 조사하였다.

재료 및 방법

실험어 : 진해내수면연구소에서 사육한 바이러스에 감염되지 않은 건강한 잉어(400~500g)를 실험에 사용하였다. 실험어는 4 ton 용량의 FRP 수조에서 유수식으로 사육하였으며, 수온은 18~20℃로 유지하고, 1일 2회 시판용 사료를 공급하였다.

두신 백혈구 분리 : 실험어의 미부정맥에서 가능한 한 순환혈액을 모두 제거한 후에 두신(anterior kidney)을 적출하여 34/51% percoll gradient에서 400g, 25분간 원심 분리하여 백혈구층을 분리하였다.

ILC의 분리 : 인터페론 분리는 Secombes(1994)법을 변형하여 사용하였다. 즉, 1×10^6 cells/ml 농도로 조정된 세포에 poly inosinic : cytidylic acid(poly I:C) 또는 SVCV의 formalin-killed vaccine(FKV)를 필요한 농도로 조정하여 첨가하고 20℃, 48~72시간 배양하여 상층액을 분리하였다.

ILC 활성 분석 : 인터페론 활성은 Renault et al.(1991)법을 변형하여 측정하였으며 IFN units는 대조구와 비교하여 50% 이상 CPE가 억제된 값의 역수로 표시하였다.

SVCV 공격 실험 : poly I:C를 농도별로 희석하여 건강한 잉어(18.0~20.0g)에 복

강주사하고 4일 후 어체당 1×10^4 TCID₅₀ 농도의 SVCV를 인위 감염하여 누적폐사율을 조사하였다. 바이러스는 SVCV reference strain VR-1390(ATCC)을 사용하였다.

결과 및 요약

잉어 두신에서 분리한 백혈구에 synthetic dsRNA polymer인 poly I:C 또는 SVCV의 불활화백신(FKV)을 처리한 결과 항바이러스활성을 가지는 Interferon-like cytokine(ILC)를 분리하였다. SVCV에 대한 ILC activity는 대조구에 비해 1,280 배까지 높게 나타났으나, 열에 다소 불안정하였으며, Trypsin에 의해 활성이 소실되었다. Poly I:C 농도별로는 $10 \sim 20 \mu\text{g}/\text{ml}$ 농도에서 높은 활성을 나타냈으며, poly I:C에 비해 FKV의 자극 효과가 뛰어난 것으로 나타났다. 또한, poly I:C를 농도별로 잉어의 복강에 주사한 후 SVCV를 인위 감염시킨 결과 대조구에 비해 62.5 ~ 69.0% 정도의 높은 상대생존율을 나타내었다. 따라서 poly I:C에 의해 자극된 ILC가 바이러스에 대한 방어력에 관여하는 것으로 판단된다.

참고문헌

- De Kinkelin P. and M. Dorson : Interferon production in rainbow trout(*Salmo gairdneri*) experimentally infected with egtved virus. J. Gen. Virol., 19: 125-127, 1973.
- Eaton W. D. : Anti-viral activity in four species of salmonids following exposure to poly inosinic:cytidylic acid. Dis. Aquat. Org. 9: 193-198, 1990.
- Jensen, I & B. Robertsen : Effects of double-stranded RNA and interferon on the antiviral activity of Atlantic salmon cells against infectious salmon anemia virus and infectious pancreatic necrosis virus. Fish & Shellfish Immunol., 13: 221-241, 2002.
- Nygaard, R., S. Husgrad, A. I. Sommer, J. A. C. Leong and B. Robertsen : Induction of Mx protein by interferon and double-stranded RNA in salmonid cells. Fish & Shellfish Immunol., 10: 435-450, 2000.
- Renault, T., C. Torchy and P., de Kinkelin : Spectrophotometric method for titration of trout interferon, and its application to rainbow trout fry experimentally infected with viral haemorrhagic septicaemia virus. Dis. Aquat. Org. 10: 23-29, 1991.
- Secombes, C. J. : Interferon assessment. In: Technique in fish immunology(J. S. Stolen, T.C. Fletcher, A. F. Rowley, j. T. Zelikoff, S. L. Kaattari and S. A. Smith, eds.), pp. 71-77. Fair Haven, NJ : SOS Publications, 1994.