
中共에 있어서 馬傳染性 貧血症에 關한 研究動向

報告者 : David T. Shen, Ph. D, Microbiologist
Animal Disease Research Unit, USDA, SEA-AR
Western Region, Pullman, Washington-U. S. A.

家畜衛生研究所
韓台愚 訳

말傳染性貧血症은 中共에 있어서 1千2百万
頭의 말에 대한 심각한 문제의 질병이다. 馬匹
中 2百万頭가 Harbin의 Heilongjiang省에 있다.
中共의 몇몇지역에 있어서의 馬傳染性貧血感染
率은 약 30% 정도로 높다. Dr. Shen은 Harbin
가축위생연구소 馬傳染性貧血研究室(실장 D.
Shen Dongxie)에서 12名の 연구원(여자 4 명)과
함께 2일간 오후를 보냈다. 馬傳染性貧血研究
室은 연구원 12명, 기능직 6 명, 동물사육 5명 계
23명으로 구성되어 있다. 최근들어 그들은 馬傳
染性貧血에 대한 효과있는 예방약을 개발하기
위하여 馬傳染性貧血에 반응하는 体液性 및 세
포순화성면역에 관하여 연구하고 있다. 그들은
또한 馬傳染性貧血에 걸린 말을 찾아내기 위하
여 새로운 진단방법에 관하여 실험을 하고 있다.
말傳染性貧血研究에 보통으로 사용하는 실험실
진단방법에는 補體結合反應(CF) 당나귀白血球
培養에 있어서 細胞變性效果(CPE) 말 또는 당
나귀接種試驗 寒天gel免疫擴散法 그리고 최근
개발한 ELISA방법이 포함된다. ELISA 방법
은 Dr. Shen의 1979年 보고서에 의해서 실험을
행하고 있었다. 螢光抗体法을 말傳染性貧血Virus

진단에는 보통 이용하지 않고 있다. Harbin에서 사용되는 免疫拡散法은 Coggins방법에 따라 설계되어 있다. 미국에서도 최근 Coggins 방법이 馬傳染性貧血의 患馬를 찾아내는 有-한 진단방법이다. 중공의 免疫擴散法에 사용되는 組織培養抗原과 미국이나 일본에서 사용되는 馬傳染性貧血抗原에 대한 比較檢討試驗은 아직 해 본바가 없다. Harbin연구소의 연구원들은 말白血球培養에 있어서 말傳染性貧血Virus를 增殖시키는 데는 小林方法을 사용하고 있다. 말白血球를 培養해서 말傳染性貧血 Virus를 증식시키기가 곤란하여 代替方法이 연구되어왔다. 그들은 당나귀白血球培養이 말傳染性貧血 Virus를 增殖 培養 保存하는데 있어서 보다 용이한 방법이라는 것을 발견하였다. 또 10년간의 노력끝에 그들은 말전염성빈혈순화Virus를 당나귀白血球 培養에 連續 繼代하므로서 효과적인 馬傳染性貧血生毒株를 作出하여 生毒Vaccine제조에 성공하였다. 馬傳染性貧血순화주를 作出하는 기본체제는 다음과 같다.

- 1) 馬傳染性貧血 환마로부터 分離한 Virus이다.
- 2) 分離株는 말에서 5~10回 繼代되며 Virus力值 10^6 TCID₅₀/ml이다.
- 3) 馬傳染性貧血 分離株는 당나귀白血球로 옮겨 45回 繼代하였다. 그때 2分離株는 말과 당나귀에서 강한 독력이 있었다. 이 強毒株는 시험연구에 사용되는 동물을 攻擊하는데 쓰이는 보존용Virus이다.
- 4) 그후 強毒株는 당나귀백혈구에서 120回 繼代하여 抗原性은 있고 毒力이 없는 馬傳染性貧血順化株를 作出하였다. 馬傳染性貧血 환마의 血液으로부터 3가지 分離株를 얻었다. 이들은 L. H. Y. 病毒株라고 命名하였다. 이들 3分離株는 抗原성과 病原性에 있어서 相違點이 없었다. 따라서 中共分離株는 外國의 分離株와 比較試驗을 한 바는 없다. 이 연구에 사용되는 馬匹은 馬傳染性貧血의 발생이 없는 지역에서 구입했으며 사용전 3개월간 隔離수용하였고 免疫擴散法으로 馬傳染性貧血Virus陰性을 확인한후

시험에 공하였다. 馬傳染性貧血Virus의 最初分離는 당나귀白血球 培養한것에 感染白清를 接種하므로써 이루어진다. 일단 細胞變性(CPE)이 일어나면 다음 繼代는 서로 親和性Virus를 遊離시키기 위하여 感染細胞를 凍結 融解(2回程度)함으로서 Virus가 遊離되고 이렇게 한 上層液을 未感染당나귀白血球培養에 接種함으로 繼代된다. 동시에 陰性對照群는 正常당나귀血清을 사용한다.

당나귀白血球培養地의 馬傳染性Virus 繼代

- 1) 細胞變性은 初期繼代에 있어서는 接種후 5~6日 차이를 보이나 繼代回數가 늘어남에 따라 3~4日차이로 줄어들었다.
- 2) 補體結合反應力値는 70年 繼代에서 부터 지속적으로 높아갔다.
- 3) 당나귀白血球 培養繼代株의 力値는 100代繼代以內는 10^6 TCID₅₀/ml 이고 100~150代繼代에서는 10^7 TCID₅₀/ml이었고 170代 繼代에서는 $10^{8.5}$ TCID₅₀/ml의 최고에 달했다.
- 4) 말과 당나귀에 대한 毒力은 繼代數가 增加함에 따라 감소하였다. 가축들에게 120~150代 繼代株로 接種되었을 경우 아무런 臨床所見도 없었다. 接種방법은 靜脈 皮下 筋肉이다.

馬과 당나귀에 繼代

- 1) 14頭의 馬들에 95~105代 繼代Virus를 接種하였다. 馬은 接種后 30日, 48日, 97日, 175日에 採血하였다. 每採血時 頭當 200ml式 血液을 당나귀들(馬 1頭當 당나귀 1頭)에 接種하였다. 당나귀들은 모두 接種后 아무런 臨床의 증상이 없었다. 그후 당나귀들은 馬傳染性貧血Virus의 強毒株로 攻擊하였으며 攻擊에 의하여 모두 罹患되어 사망하였다.
- 2) 8頭의 당나귀가 125代繼代한 保有Virus 10ml를 接種하였다. 接種后 45일 60일 80일 90일에서 각각 2頭式 屠殺 血液 및 內臟(脾臟 淋巴節 肝 骨髓)을 採取 混合하여 感受性있는 당나귀에 接種하였다. 당나귀들은 接種后 모두 正常狀態를 維持하였다. 強毒으로 攻擊한 후에는 모두 感染되거나 사망하였다.

3) 順化Virus馬과 당나귀에서 back passage 되었다. 順化Virus는 여러가지로 試圖를 하였으나 3代繼代 以上에서는 增殖안된다는것이 밝혀졌다. 血液(5-15ml) 또는 臟器가 繼代材料로 使用되었다. 繼代間隔은 2-4 個月의 範圍였다. 順化Virus 존재에 관한 시험은 補体結合 反應(CF) 強毒攻擊 臨床所見에 準하였다.

4) 당나귀 白血球 培養順化Virus 予防接種后의 말과 당나귀에 있어 免疫關係를 試驗하였다. 당나귀白血球培養繼代(90 95 100 105 115 118 119 122 124 125 129 131 135)代數에 대한 62頭의 말에 대해서 여러가지 感染經路와 稀釋比率에 따라 接種되었다. 그 2~4 個月間隔 以后에 다시 強毒으로 攻擊하였다. 그 결과 42頭는 正常을 維持하였고 4頭는 中等度의 증상을 보였다. 3頭는 疑心스러운 정도였으며 13頭는 臨床症狀를 나타냈다. 그 13頭中 5頭는 臨床症狀가 나오면서 사망하였다. 전반적인 防禦率은 79%였다. 예방접종을 받지않은 对照群은 攻擊에 의하여 100% 臨床症狀를 나타냈고 70%가 사망하였다. 攻擊后의 증상을 보면 예방접종을 한 말들은 예방접종받지않은 对照群에 비하여 有意性있는 장기간의 潛伏期와 낮은 폐사율을 나타냈다. 馬傳染性貧血Virus의 攻擊株는 예방약 효과가 있고 없고를 불문하고 병원성이 있을 것이므로 強毒Virus는 靜脈內接種은 避하도록 하여야 한다. 말이나 당나귀에서 免疫을 產生할 수 있는 細胞培養으로부터 얻는 順化株의 最高稀釋 比率은 10^{-5} 이다.

5) 100%防禦率을 除外하고는 비슷한 결과가 당나귀에 대한 예방접종결과에서도 얻어졌다.

6) 免疫의 成立은 予防藥接種后 約2 個月이 걸린다.

7) 予防接種后 約3 個月에 이르는 동안 그 가속은 免疫擴散法에 의한 陽性抗体力価를 가질 것이다. 이 기간이 지난 후에는 抗馬傳染性貧血抗体는 이 방법으로는 검출이 안된다.

8) 여러온도에 대한 순화Virus에 대한 안전성을 시험하였다. 그Virus는 10~20℃에서 7일간 0℃에서는 최소 60일간 -50℃에서는 최소

400일간 안전성이 있었다.

9) 중공 여러곳에 있는 馬200萬頭에 대해서 시험을 하였다. 馬傳染性貧血感染率은 Heilongjiang 지역에서 1~2%로 저하된것으로 보고되었다. 免疫持續期間은 현재 연구중이다. 또 Dr. Shen는 병리연구실도 방문하였다. Dr. Lu가 실장인데 그는 40대 중년이며 매우 유능한 免疫學者였다.

Dr. Lu는 말傳染性貧血에 대해 예방접종된 말에 있어서 효과적인 免疫學的기전에 관한 연구를 하고 있었다. 그의 연구는 아직 初期段階이고 予備調査成績은 細胞性免疫이 馬傳染性貧血Virus의 增殖抑制에 중요한 역할을 하고있음을 지적하고있다. 그는 T淋巴球의 總數는 예방약 접종후에 急激히 감소한다는 사실을 발견하였다. 그러나 T淋巴球의 總수는 예방접종후 3~5 개월에 정상으로 되돌아온다. 그는 또한 예방접종된 馬들은 접종후 10일만에 현저한 백혈구 migration inhibition(LMI)의 억제를 나타내며 이러한 현상은 오랜 기간 持續된다는 것을 발견하였다. 어떤 예로는 4년간 淋巴球 전이抑制를 나타낸적도 있다 한다. 최근에 그는 백혈구 細胞毒性試驗을 遂行中에 있다. 저자는 그들이 馬傳染性貧血 予防藥開發을 해온데 대해서 그들의 노력에 깊은 감명을 받았다. 그들의 인내 정열 노력 그리고 그들의 방대한 자원은 그들로 하여금 위대한 업적을 성취할 수 있도록 해주었다. 8 시간 방문으로서 과거 15년간의 업적을 평가한다는 것은 저자나 다른사람도 불가능한 일이라 생각된다. 본병은 가축의 病毒性疾患으로서 75년전부터 발생하였고 현재도 繼續發生하고있다. 여러가지 기타 slow virus질병과 마찬가지로 持續的인 Virus感染을 시키는 기전이 해결되어야할 가장 기본적인 생물학적 현상이다. 얼마안된 일이지만 일본의 어느 연구자는 馬傳染性貧血患馬에서 抗原의 標流가 일어날수 있는 몇가지 증명을 얻은바 있다고 하였으나 아직도 아무도 그들의 觀察成績을 확인한 바 없다. 그 예방접종결과 성적은 일본인들의 觀察成績을 꼭 동의하지 않는것은 아니나 당나귀白血球培

養의 120代 繼代后 그들은 Vaccine 製造株로서 완전한 Strain을 얻을 수가 있었다. 저자를 포함한 많은 연구자들은 현재의 馬傳染性 貧血予防藥에 관하여 懷疑의 일지도 모른다. 大學內에 있는 중공과학자들이나 Beijing에 있는 중공농업대학 학술원의 몇몇人事까지도 같은 느낌을 가지고 있을 것이다. 결론을 내리기에 앞서 효능에 대한 앞으로의 평가가 더 필요하다. 만일 그 예방약접종결과 성적이 정확하고 馬傳染性 貧血予防藥이 효과적으로 가축을 防禦할 수 있다면 그때에는 다른 Slow virus 예방약에 관한 연구도 착수되어야 한다. 馬傳染性 貧血은 Slow virus 感染의 mechanisms과 免疫學的인 推移에 대한 기본적인 이해를 하는데 표본이 될 수 있을 것이다. 정부관계당국자는 물론 중공의 연구원들은 그들의 觀察結果를 실증할 수 있는 기본적인 연구의 필요성을 강하게 인식하고 있다. 그리하여 그들은 외부의 협조를 적극적으로 찾고 있는 중이다. Harbin가축위생연구소 소장인 Mr. Xiang Dong Zhi는 미국의 연구원들과 협력하고자 하는 그들의 자발적인 의사를 본인에게 몇번이고 되풀이해서 표명한바 있다. 그러므로 馬傳染性 貧血에 관한 미국 중공간의 협력연구는 상호이익이 될 것이다. Washington의 Pullman에 자리잡고 있는 과학 및 교육행정연구원의 가축질병연구단은 Washington州立大學의 獸醫病理및 微生物學教室과의 협력으로 馬傳染性 貧血에 있어서 Virus存続機轉과 질병의 mechanisms 과 본Virus의 免疫學的인 機轉과 기능에 관한 연구를 하고 있다. 馬傳染性 貧血Virus가 宿主의 免疫反應을 避할수있는 능력 그로 인해서 宿主의 全生애동안 持續的으로 存在할 수 있다는 2가지 현상을 생각할 수 있는데 즉 統合된 Provirus 현체내에 retrovirus가 持續存在하고 있는 潛伏的으로 感染된 細胞의 數的存在 그리고 Virus 感染細胞表面의 抗原變異이다. 疾病으로 나타내는것은 宿主의 免疫體制에 의하여 급격히 統制받지않는 抗原的으로 독특한 Virus의 產生을 誘導하는 Provirus 機能의 억압 解除結果라고 볼 수 있다. 그리하여 다음 사항은 馬疾病研究

에 있어서 급진적인 發展과 이익을 줄것이다.

1) 당나귀白血球培養體系는 저자들의 病毒學研究分野에 사용하고 싶은 기술이다. 현재는 馬白血球培養만이 馬傳染性 貧血Virus을 檢定하는데 쓰일 수 있는 단한가지의 細胞培養體系이다. 그리고 細胞培養에있어 培養用培地를 만드는데 몇가지 알려지지않은 이유로해서 細胞供用者로 特種된 말의 細胞를 써야하는 것과 또 혈청에 있어서도 特種된 소만의 혈청을 써야培養이 잘되므로 그러한 공용자를 얻기 위해서 저자들은 수백리의 말과 소에 대한 예비검사를 해야만했다. 이러한 불편한 일은 저자들의 馬傳染性 貧血研究에 있어서 상당히 많은 애를 먹어왔다. 당나귀白血球培養體系는 본Virus를 保存維持하기 위해서 매우 용이한 것으로 알려져있다.

2) 중공의 馬傳染性 貧血分離株들은 미국에서 사용되는 wyming strain과 疑心할바없는 독력이 강하다. 근래에 와서 저자는 慢性的으로 感染된 말에 傳染性 貧血 Provirus를 研究하는데 있어서 저자의 馬傳染性 貧血株를 가지고는 馬의 慢性傳染性 貧血를 誘發시키기는 곤란한 점등을 경험하고 있다. 중공에서 분리된 毒株는 저자들 自身과 그들의 연구사업에 사용하여야 한다. 왜냐하면 저자들의 실험에 있어 그 毒力은 실험해석을 더욱 용이하게 만들어 줄것이기 때문이다.

3) 중공에 있어서 數百萬頭分의 말의 예방약을 사용하고있지만 예방약으로 사용되는 중공의 順化Virus에 대한 능력과 안전성은 알려지지않고있다. 이 예방약은 철저한 실험설계와 더불어 철저한 연구검토에 의해서 평가가 되어야 한다. 저자는 중공을 도울 수 있는 전문가를 보유하고있다. 만일 예방약 연구결과가 긍정적이라면 그 가치는 확실하다. 그러나 만일 그 결과가 부정적으로 돌아가게 된다면 그러한 협력사업을 통하여 특히 상위한 Virus, strain間 毒力의 특성을 결정짓는데 있어서 저자가 얻게될 전방적인 지식은 馬傳染性 貧血Virus의 기본적인 이해가 더욱 가치가 있을것이다.