

大腸菌백신의 最近 研究動向

김 종 만*

1. 머리말

집단적으로 소나 돼지를 사육하는 목장이나 양돈장에서 사양관리상 가장 문제가 되고 있는 질병이 무엇인가를 묻는다면 단연 호흡기병과 설사증이라고 할 것이다. 이 중에서 분만직후부터 이유기를 전후한 시기까지 어린 돼지나 송아지에서 한번은 거쳐가는 질병으로 인식될 정도로 빈발하고 있는 설사증은 비교적 어린 나이에 발병하는 질병이므로 발육부진, 위축, 사료효율 감소, 폐사 등으로 막대한 경제적 손실을 초래하고 있다.

이러한 설사는 일종의 임상증상을 뜻하는 것으로 그 발생 원인은 매우 다양하며 세균성으로는 대장균(*E. coli*), 살모넬라균(*Salmonella*), 캄피로박터(*Campylobacter*) 그리고 장독혈증균(*Cl. perfringens*) 등을 들수 있고 바이러스성으로는 로타바이러스(*Rota virus*), 코로나바이러스(*Corona virus*), 기생충성으로 대표적인 것에 콕시듐증(*Coccidiosis*)이 있으며 비전염성으로 중독증과 과식 등에 의한 생리적 설사가 있다.

이중에서 송아지가 어린돼지 설사발생의 60~70%를 점하고 있는 병원성대장균에 의한 피

해가 가장 심각한 문제가 되고 있으며 이러한 문제점을 해결하고자 많은 연구가 이루어져 왔다. 최근에는 대장균성설사 발생의 병원성요인인 pili나 toxin을 순수분리 정제하여 만든 subunit 백신뿐만 아니라 유전공학을 이용한 백신들도 활발히 개발되고 있어 본란을 통하여 대장균백신의 최근 연구개발 동향을 소개코저 한다.

2. 병원성대장균에 의한 설사발생 기전

가축에서 대장균에 의한 설사발생 기전은 다음의 세가지로 요약할 수 있다.

첫째가 어린가축의 급성설사 발생원인의 많은 부분을 차지하고 있는 pili를 갖고 toxin을 생산할 수 있는 병원성대장균인 ETEC(*Enterotoxigenic Escherichia coli*)에 의한 설사이다. 일반적으로 체내에 정상 세균총으로 상재하는 비병원성대장균은 대장에 머무르면서 축체에 아무런 해로움을 주지 않는다. 그러나 ETEC에 속하는 병원성대장균들은 균체표면에 솜털모양의 가늘고 긴 pili라는 단백질 성분의 돌기를 갖고 있어 이것을 이용하여 소장상부 점막에 부착하여 증식하면서 장독소(enterotoxin)를 분비하므로서 toxin에 감수성이 높은 십이지장이나 공장 상피세포를 자극하여 수분과 전해물질을

*가축위생연구소

장관내로 분비케 함으로써 설사가 발생한다. 따라서 toxin을 생성할 수 있는 능력을 갖고 있는 균주라도 pili가 없으면 장벽에 부착할 수가 없기 때문에 장내용물과 함께 배설되므로 설사를 유발할 수가 없다.

둘째로 장점막 상피세포내로 대장균이 침투하여 증식하므로써 설사를 유발하는 ETEC(*Enteroinvasive E. coli*)가 있으며 이들은 혈청학적으로나 여러모로 *Shigella*균과 유사한 점이 많아 *Shigella-like E. coli*라고도 부른다.

셋째가 EPEC(*enteropathogenic E. coli*)로 분류되는 대장균으로 이들은 enterotoxin을 생성하지도 않을 뿐만아니라 장점막세포 침투능력도 없는 균으로 이들은 cell-associated cytoxin을 생성하여 설사를 일으키게 된다.

가. pili

pili란 병원성대장균 균체표면에 솜털 모양의 가늘고 긴(0.5~3 μ m) 단백질 성분의 세포표면 항원으로 균체당 약 100개 정도가 돌아나와 있으며 이것에 의해 앞에서도 언급한 바와 같이 소장상부 점막이나 뇨로감염증에서는 뇨관점막에 부착하게 되며 fimbriae라고도 한다.

이들 대장균 pili는 숙주인 사람과 동물의 종류에 따라 pili type과 분자량 등이 다르다. 돼지에서는 분자량 25,000의 K88ab, K88ac, K88ad, 분자량 18,500의 K99, 18,900의 987P가, 양에서는 K99와 최근 밝혀진 29,500의 F41이 사람에서는 CFA/I(colonization factor antigens)와 CFA/II가 지금까지 알려져 있는 숙주별 pili type들이다.

필자가 3년간 설사하는 송아지에서 분리한 대장균의 63.7%가 pili를 갖고 있는 것으로 나타나 우리나라 송아지설사의 상당부분이 이들 pili를 갖고 있는 ETEC에 의한 것으로 추정된다. 이러한 대장균에서의 pili 증명은 전자현미경에 의한 관찰이나 D-mannose를 가한 뒤 여러 종류의 혈구응집능 그리고 전기영동법에 의한 분리 pili의 분자량 확인방법 등으로 알 수가 있다.

나. Enterotoxin

ETEC가 생산 분비하는 toxin은 60°C 열 처리에 의한 불활화 여부로 이열성장독소(heat-labile toxin, LT)와 내열성장독소(heat-stable toxin, ST)로 분류된다. 이들은 단백질로 LT는 분자량 25,500의 LT-A와 11,000의 LT-B로 다시 나누어지며 분자량이 비교적 커서 항체생성을 유도할 수 있는 면역원성이 있으며 *Vibrio cholera*가 생성하는 cholera toxin과 항원성이나 감수성있는 포유동물 장점막세포에 작용기전에서 유사한 점이 많다. 이들 toxin들은 장점막 세포의 세포질막에 있는 glycolipid receptor에 흡착 침투하여 cyclic AMP의 농도를 증가시키므로써 세포로부터 장관내로 수분과 전해물질을 분비케 하여 설사를 일으킨다.

ST는 분자량이 약 5,000 정도로 면역원성이 없어 ST만으로는 항체생성을 유도할 수 없으며 감수성세포에서 작용기전도 LT와 다르다.

대장균 배양물이나 장내용물에서 이들 toxin의 증명방법으로 LT를 Y₁ adrenal cell 조직배양세포에 접종하면 세포모양이 둥글게 부풀어 오르며 변화하는 것으로, ST는 2-3일령 수유마우스의 위장으로 접종하면 장에 액체들이 축적되어 증가된 장의 무게를 측정함으로써 알 수가 있다.

3. 백신생산 동향

지금까지 대장균백신은 송아지나 돼지에 따라 빈발하는 혈청형 예를 들면 돼지에서는 O₈, O₄₅, O₁₃₈, O₁₃₉, O₁₄₁, O₁₄₇, O₁₄₉, O₁₅₇, 송아지에서는 O₁, O₂, O₈, O₉, O₁₅, O₂₀, O₂₆, O₅₅, O₇₈, O₈₇, O₁₀₁, O₁₃₇중에서 4~5종의 균주를 배양한 것을 혼합하여 생균으로 임신축에 먹이거나 불활화시켜 gel이나 oil 같은 adjuvant에 흡착시켜 비경구적으로 접종하여 생성된 항체를 초유와 유즙을 통해 송아지 및 어린돼지에 급여함으로써 장관면역을 형성케 하여 설사발생을 예방하여 왔다.

그러나 생균백신을 먹일 경우 비교적 좋은 면

역형성능을 주는 반면 분변을 통하여 대량의 병원성대장균을 배출하게 되므로서 축사 등 환경을 오염시켜 병원성대장균의 악순환을 유발시킨다. 또한 사균백신은 안전성은 있으나 비교적 낮은 면역원성과 항원으로 사용한 균주들과 동일한 혈청형의 대장균만 방어하게 되므로 기대한 만큼의 만족한 예방효과를 주지 못해왔다.

가. pili 정제백신(pili subunit vaccine)

앞에서 언급한 바와 같이 병원성대장균의 종류는 수백종에 이르나 ETEC에 속하는 병원성대장균들의 지금까지 밝혀져 있는 pili type은 축종별로 2~3종에 국한되어 있어 이들을 균체에서 순수분리하여 만든 정제백신은 특히 혈청형에 관계없이 이들 대장균들을 장벽에 부착증식하는 것을 막으므로서 설사를 예방할 수 있다. 이러한 pili백신의 문제점은 지금까지 밝혀진 것 외에 다른 pili type이 있을 경우와 이외에 다른 기전에 의해 설사를 일으키는 대장균의 경우 방어할 수 없는 단점이 있다.

그러나 대장균설사증에서 이러한 경우는 지금까지 연구결과로 보아 그리 많은 비중을 차지하지 않고 있어 종래의 특정 혈청형에 한정된 균체백신 보다는 월등히 좋은 방어효과를 나타낼 것으로 기대된다.

나. 독소 정제백신

앞에서의 pili 정제백신은 병원성대장균이 장벽에 부착하는 것을 막아 toxin 생성기회를 주지 않으므로서 설사를 예방하는 것이나 toxin을 항원으로 만든 백신은 모체에서 독소에 대한 중화항체를 생성케 하여 유즙을 통해서 자돈이나 송아지의 장벽에 면역을 부여하는 방법이다. 그러나 분자량이 큰 LT만이 항원성이 있으며 ST는 단독으로는 항체생성 능력이 없으므로 백신항원으로 사용할 수가 없었으나 최근에 LT에 Carbodiimide라는 약품으로 ST를 융합시키므로서 두 toxin 모두가 항원성을 갖게하는 기술이 개발되어 송아지설사에서 많이 문제가 되는 ST에 의한 설사도 예방할 수 있게 되었다.

또한 V. cholera toxin이 LT와 항원성이 동일하다는 것이 밝혀진 이후 이 toxin으로 백신을 만들어 대장균설사를 예방하는 데도 이용하고 있다.

다. 유전공학을 이용한 백신

유전공학에 관한 연구가 많이 이루어지면서 대장균등에는 유전자를 지배하는 chromosome 외에 독립된 유전물질인 plasmid라는 것이 있으며 이들을 제한효소를 이용하여 인공적으로 필요한 유전자 일부를 떼어내고 재조합시켜 대장균에 다시 넣어 주므로서 그 대장균이 plasmid gene에 있는 유전자의 특성을 나타내게 할 수 있게 되었다. 따라서 이러한 plasmid상에 pili와 toxin생성을 지배하는 유전자가 있다는 것이 밝혀진 뒤로 대장균백신도 이러한 유전자조작에 의한 효과 높고 성력적인 백신 개발을 목적으로 많은 연구가 진행되고 있다. 한 예로 pili나 toxin은 대장균을 배양할 경우 매우 소량이 생산되어 대량으로 백신을 생산하는데 문제가 되고 있으나 유전자조작에 의한 pili나 toxin을 대량 생산하는 plasmid를 재조합하므로서 이들 항원을 대량 생산케 할 수 있으며 한 plasmid 상에 모든 pili-type 유전자를 결합시켜 대장균에 넣어 주므로서 한 균주만을 배양하더라도 필요한 pili 항원을 모두 생산할 수도 있을 것이다. 이미 plasmid-DNA를 조작하여 많은 량의 pili를 생성하는 균주를 만들어 백신을 생산하는 나라도 있어 머지않은 장래에 첨단과학을 이용한 좋은 예방약들이 많이 개발될 것으로 기대된다.

4. 맺는 말

가축에서 설사의 원인은 앞에서 언급한 바와 같이 매우 많으며 대장균에 의한 설사발생 기전만도 다양하다. 따라서 지금까지 첨단과학기술에 의해 개발된 백신이라 하더라도 완벽하게 설사를 막아 줄 수는 없다. 이에 장관면역기전이 지금까지는 완전히 밝혀져 있지 않아 장관국

소면역에 필수적인 IgA 항체를 효과적으로 생성하고 지속시킬 수 있는 획기적인 방법 등이 아직은 없다는 점과 설사발생이 병원체 외에 환경이나 스트레스 등 여러 요인에 의해 유발되거나 영향을 받기 때문이다. 따라서 이러한 문제들을 해결하기 위한 많은 연구가 진행되고 있으나 우선은 지금까지 개발된 pili나 toxin을 정제하여 만든 대장균 subunit백신과 바이러스성으로 가장 문제가 되고 있는 Rotavirus 등과의 혼합백신 생산과 초유를 통한 모체이행항체의 급여로 인한 짧은 면역기간(생후 2~3주)을 연장할 수 있는 능동면역을 줄 수 있는 기술이 개발된다면 설사에 의한 양축농가의 피해도 상당히 감소되리라 믿는다.

参 考 文 献

1. Bijlsma, I. G. W., Nijs, A. De., Meer, Van Der. and Frik, J. F. : Different pig phenotypes affect adherence of *Escherichia coli* to jejunal brush borders by K88ab, K88ac, or K88ab antigen. *Infection and Immunity*. (1982) 37 : 891-894.
2. Cahill, E. E. and Glantz, P. J. : Demonstration of the K88ac and K88ab antigens of *Escherichia coli* by means of immunoelectrophoresis and immunodiffusion. *Infection and Immunity*. (1978) 20 : 811-815.
3. Dean, E. A. and Isaacson, R. E. : In vitro adhesion of piliated *Escherichia coli* to small intestinal villous epithelial cells from rabbits and the identification of a soluble 987P pilus receptor-containing. *Infection and Immunity*. (1982) 36 : 1192-1198.
4. Dreyfus, L. A., Frantz, J. C. and Robertson, D. C. : Chemical properties of heat-stable enterotoxins produced by enterotoxigenic *Escherichia coli* of different host origins. *Infection and Immunity*. (1983) 42 : 539-548.
5. Freter, R., Brickner, H., Fekete, J., Bickerman, M. M. and Carey, K. E. : Survival and Implantation of *Escherichia coli* in the intestinal tract. *Infection and Immunity*. (1983) 39 : 686-703.
6. Fürer, E., Cryz Jr, S. J. and Germanier, R. : Protection of piglets against neonatal colibacillosis based on antitoxic immunity. *Develop. Biol. Standard*. (1982) 53 : 161-167.
7. Graaf, F. K., Klemm, P. and Gaastra, W. : Purification, characterization, and partial covalent structure of *Escherichia coli* adhesive antigen K99. *Infection and Immunity*. (1980) 33 : 877-883.
8. Isaacson, R. E. : K99 surface antigen of *Escherichia coli* : Purification and partial characterization. *Infection and Immunity*. (1977) 15 : 272-279.
9. Isaacson, R. E. : Regulation of expression of *Escherichia coli* pilus K99. *Infection and Immunity*. (1983) 40 : 633-639.
10. Klemm, P., Orskov, I. and Orskov, F. : Isolation and characterization of F12 adhesive fimbrial antigen from uropathogenic *Escherichia coli* strains. *Infection and Immunity*. (1983) 40 : 91-96.
11. Klipstein, F. A., Engert, R. F. and Houghten, R. A. : Properties of synthetically produced *Escherichia coli* heat stable enterotoxin. *Infection and Immunity*. (1983) 39 : 117-121.
12. Klipstein, F. A., Engert, R. F., Clements, J. D. and Houghten, R. A. : Protection against human and porcine enterotoxigenic strains of *Escherichia coli* in rats immunized with a cross-linked toxoid vaccine. *Infection and Immunity*. (1983) 40 : 924-929.
13. Klipstein, F. K., Engert, R. F. and Sherman, W. T. : Peroral immunization of rats with *Escherichia coli* heat labile enterotoxin delivered by microspheres. *Infection and Immunity*. (1983) 39 : 1000-1003.
14. Klipstein, F. K., Engert, R. F. and Clements, J. D. : Development of a vaccine of cross-linked heat-stable and heat-labile enterotoxins that protects against *Escherichia coli* producing either enterotoxin. *Infection and Immunity*. (1983) 37 : 550-557.
15. Lee, C. H., Moseley, S. L., Moon, H. W., Whipp, S. C., Gyles, C. L. and So, M. : Characterization of the gene encoding heat-stable toxin II and preliminary molecular epidemiological studies of enterotoxigenic *Escherichia coli* heat-stable toxin II producers. *Infection and Immunity*. (1983) 42 : 264-268.
16. Morris, J. A., Thorns, C., Scott, A. C., Sojka, W. J. and Wells, G. A. : Adhesion in vitro and in vivo associated with an adhesive antigen (F41) produced by a K99 mutant of the reference strain *Escherichia coli* B41. *Infection and Immunity*. (1982) 36 : 1146-1153.
17. O'Brien, A. D. and Laveck, G. D. : Purification and characterization of a shigella dysenteriae I-like toxin produced by *Escherichia coli*. *Infection and Immunity*. (1983) 40 : 675-683.
18. Picken, R. N., Mazaitis, A. I., Maas, W. K., Rey, M. and Heyneker, H. : Nucleotide sequence of the gene for heat-stable enterotoxin II of *Escherichia coli*. *Infection and Immunity*. (1983) 42 : 269-275.
19. Runnels, P. L., Moon, H. W. and Schneider, R. A. : Development of resistance with host age to adhesion of K99+*Escherichia coli* to isolated intestinal epithelial cells. *Infection and Immunity*. (1980) 28 : 298-300.
20. Schneider, R. A. and To, S. C. M. : Enterotoxigenic *Escherichia coli* strains that express K88 and 987P pilus antigens. *Infection and Immunity*. (1982) 36 : 417-418.

21. Smit, H., Gaastra, W., Kamerling, J.P., Vliegthart, J.F.G. and DE Graaf, F.K. : Isolation and Structural characterization of the equine erythrocyte receptor for enterotoxigenic Escherichia coli K99 fimbrial adhesin. Infection and Immunity. (1984) 46 : 578-584.
22. Snodgrass, D.R., Nagy, L.K., Sherwood, D. and Campbell, I. : Passive immunity in calf diarrhea : vaccination with K99 antigen of enterotoxigenic Escherichia coli and rotavirus. Infection and Immunity. (1982) 37 : 586-591.
23. Takeda, Y., Honda, T., Taga, S. and Miwatani, T. : In vitro formation of hybrid toxins between subunits of Escherichia coli heat-labile enterotoxin and those of cholera enterotoxin. Infection and Immunity. (1981) 34 : 341-346.
24. Valente, C., Cardaras, P., Fruganti, G. and Kashari, O. : Escherichia coli isolated from calves with diarrhoea : Mannose-resistant hemagglutination and colonization factor. Ann. Rec. Vet. (1983) 14 : 207-210.

지사성탈수에방치료제
스트레스해소제
질병치료보조제

스타라이트

종합전해질
STARLYTE

- * 송아지, 자돈, 가금, 토끼, 사슴, 강아지 등을 위해 지사, 탈수회복을 위한 조제·처방제입니다.
- * 산성, 염기성의 체액균형유지와 체질개선, 삼투압 조절기능으로 항병력향상, 치료제의 약효증진.
- * 본제와 같이 사용하면 항생제, 설파제의 치료효과상승, 강심제 작용으로 병후 신속한 원기회복, 식욕촉진으로 증체유지.
- * 링겔, 포도당액 작용과 보조치료제로서 부작용과 내성이 없는 안전한 경구 투여제입니다.

—국내외의 유명한 임상수의사들이 스타라이트(종합전해질)을 애용하고 있습니다.



주식
회사

대보동물약품 / DAEBO VETCHEM LTD.

본사·공장 : 서울 성동구 화양동167-92

전화 : 464-3134, 464-5559