

개 파보바이러스장염의 감염일령에 따른 병변의 병리조직학적 및 면역조직화학적 관찰

구자록 · 서일복 · 임창형
서울대학교 수의과대학 병리학교실
(1994년 6월 23일 접수)

Histopathological and immunohistochemical studies on the intestinal lesions related to the infected age in spontaneous canine parvovirus enteritis

Ja-lok Ku, Il-bok Seo, Chang-hyeong Lim

Department of Veterinary Pathology, College of Veterinary Medicine, Seoul National University
(Received June 23, 1994)

Abstract : Ninety seven cases of histopathologically diagnosed spontaneous canine parvovirus enteritis(CPE) were studied gross pathologically, histopathologically, immunohistochemically, to investigate histopathological types of small intestinal lesions, and antigen distributions in each pattern related to the infected age. And also, reliability of histopathological method in diagnosis of CPE was inspected with immunohistochemistry. The results were as follows :

1. Age-related occurring ratio in histopathologically diagnosed CPE was 53.6% in 4-8 weeks, 26.8% in 9-15 weeks, 8.25 in 16-19 weeks and 11.3% in 20-45 weeks of the dog age.
2. In histopathologic classification based on patterns of villi/crypts lesions of small intestine(jejunum), the ratio of A type (initial phase of necrosis of crypt epithelia, desquamated epithelial cells in the dilated lumen of the crypt) was 20.6%; the ratio of B type(middle phase of atrophy and fusion of the villi, collapse of the mucosa, loss of normal crypt structure) was 62.9%, and C type(regenerative phase of the crypt architecture) was 16.5%.
3. The ratio of A, B, C type in 4-8 weeks old, respectively, was 23.5%, 61.5%, 15.4%; in 9-15 weeks old was 19.2%, 65.4%, 15.3%; in 16-19 weeks old was 25.0%, 75.0%, 0.0%, and in 20-45 weeks old was 9.0%, 54.5%, 36.4%.
4. The antigen distribution in the nuclei of the crypt epithelial cells was higher than of the cytoplasm and numerous desquamated epithelial cells in dilated crypts in A type; The antigen cytoplasm and numerous desquamated epithelial cells in dilated crypts in A type; The antigen distribution in the nuclei of the collapsed crypt epithelial cells was not higher than that of the cytoplasm, crypts were lined by and filled with released viral antigens from the destructed epithelial cells in B type; and its distribution was also higher than in the epithelial cells adjacent to the tips of the villi, but it was not reacted in the regenerative crypt epithelial cells in C type.
5. Immunohistochemically detected antigen ratio in the small intestine of histopathologically diagnosed CPE was 94.6%, and this result indicates that histopathological diagnosis is very reliable method in diagnosis of CPE.

Key words : canine parvovirus enteritis, age-related occurring ratio, histopathological types, immunohistochemistry, antigenic distribution, histopathological diagnosis

서 론

Canine parvovirus(CPV)는 1970년대 후반에 3~8주령의 자견에서는 비화농성심근염으로 인한 심부전, 호흡곤란 등의 임상증상을 보인 후 급성으로 폐사하고¹⁻³, 8주령 이상의 자견과 성견에서는 심한 구토와 설사를 주증으로 하는 개에서의 새로운 질병의 병원체로 보고된⁴⁻⁹ 이래로, 이 질병은 한 등의 국내발생보고¹⁰ 이후로 국내 뿐만아니라 전세계적으로도¹¹⁻¹⁴ 아직까지 근절되지 않은채 수의계에 있어서 아주 중요한 질병으로 여겨져 왔다. CPV 감염의 주된 특징이^{4,15} 자견에서 치사율이 매우 높고, 구토, 식욕결핍, 혈변, 발열, 탈수, 백혈구감소증 등의 임상증상과 혈액화학적소견을 나타내며 증상발현 후 2일 이내에 급성으로 폐사하는 것 등으로 이와 유사한 질병인 고양이 범백혈구감소증(feline panleukopenia)과의 연관관계^{6,16}에 대해서도 많은 논란이 제기되어 왔다.

CPV감염의 주된 병리학적인 소견은^{4,15} 소장 crypt의 확장, crypt상피세포의 괴사 및 용모상피세포의 소실이 특징이며 병변이 진행되면 crypt상피세포의 재생이 관찰되며 여러 림프장기에서의 림프구의 괴사 및 소실이 관찰된다고 한다.

CPV가 복제하기 위해서는 DNA합성이 왕성한 S기(synthetic phase)에 있는 숙주세포에 친화성이 있어 자견에 심근염과 장염을 일으키며, CPV감염은 연령, 장내 세균총의 변화, 장관내 기생충감염 등 crypt 상피세포의 유사분열을 촉진시키는 요소가 있을 시 바이러스에 대한 crypt 상피세포의 감수성이 높아져 병변이 더욱 심하게 나타난다고 하며, 또한 감염바이러스의 양, 감염경로, 바이러스감염시 crypt 상피세포의 교체율, 개체의 면역상 및 영양상태 등에 따라서도 CPV감염의 발생 및 정도에 차이가 있음이 알려져 있다.^{9,19,20}

CPV감염의 발생은 일반적으로 CPV에 대한 모체가 항체의 지속기간과 관계가 있으며, 수많은 백신이 개발되어 왔지만 이 모체항체의 수준의 다양성 때문에 아직까지 효과적인 백신은 없는 실정이다.^{21,22} 장염의 병리발생에 대해서는 많은 학자들에 의해 제기되어 왔지만²³⁻²⁵, 주된 경로는 비강, 인두, 편도선, 장관막립프절 등이 처음으로 바이러스가 복제되어 증폭되는 장소이며 다른 림프장기로 바이러스가 전파된다고 하였다.

CPV감염의 조직내 항원분포에 대해서는 많은 연구가 이루어지지 않았으나²⁶, 초기 병변에서는 crypt상피세포에서 항원이 관찰되며, 병변이 진행됨에 따라 crypt상피세포에서 항원은 점차 소실되거나 적게 관찰되고 장관의 탈락된 상피세포에서 더 많이 관찰되며,

집중 12~13일 후에는 조직내 바이러스항원은 거의 관찰되지 않는데 이것은 CPV에 영향을 받은 crypt상피세포가 빠르게 괴사되며 바이러스복제가 극도로 짧은 기간동안에 진행되기 때문이라고 한다.

현재까지 개 파보바이러스장염에 대한 많은 연구가 이루어져 왔으나 감염일령에 따른 소장병변의 경과와 폐사일령간의 상관관계에 대해서는 별로 연구된 바 없었으며, 소장병변의 경과 또는 진행도에 따른 조직내의 항원분포의 특성에 관한 연구는 극히 드물었다. 따라서 본 연구에서는 폐사일령과 소장병변의 상관관계를 알아보고자 소장병변의 경과에 따른 장관내 항원분포를 관찰하였으며, 아울러 개 파보바이러스장염의 진단에 있어서 병리조직학적인 진단법의 신뢰성을 검증하였다.

재료 및 방법

공시동물의 폐사일령조사 : 공시동물은 1990년 1월부터 1993년 9월까지 서울대학교 수의과대학 병리학교실에 부검의뢰되어 병리조직학적으로 개 파보바이러스장염으로 진단된 4~45주령의 87예와 동기간 중 강원대학교에서 진단된 10예를 포함하여 총 97예를 대상으로 하였다. 공시동물의 폐사일령 및 임상증상은 부검기록을 추적하여 조사하였으며 폐사일령 및 임상증상을 확인할 수 없었던 예는 조사에서 제외하였다.

육안진단의 분류 : 공시동물의 부검기록을 토대로 하여 출혈성, 카타르성, 섬유소성장염으로 구분하였으며 장염의 소견을 나타내지 않았던 예는 기타로 분류하였다.

병리조직학적 관찰 : 병리조직학적 검사를 위하여 소장등의 장기를 10%중성완충포르말린에 고정된 조직을 파라핀 포매후 H-E염색한 다음 광학현미경으로 관찰하였다.

소장병변의 병리조직학적 분류 : 소장병변을 아래와 같은 Macartney et al⁹의 분류방법에 준하여 용모상피세포의 전반적인 탈락과 부분적인 융합과 위축, crypt상피세포의 편평화, crypt내강의 확장, 변성된 crypt상피세포의 핵내봉입체가 관찰되는 감염초기인 A형, 용모의 표면상피세포의 완전한 탈락과 심하게 용모가 위축되었거나 융합되었으며, 정상적인 crypt구조가 완전히 상실되고 고유층이 심하게 증식된 감염중기인 B형, crypt상피세포의 다양한 유사핵분열상과 재생성상피세포가 관찰되는 재생기인 C형으로 분류하였다.

면역조직염색방법(immunoperoxidase staining) :

파라핀조직상에서 CPV항원의 분포를 알아보기 위하여 avidin-biotin-peroxidase complex(ABC)법을 Hsu et al²⁷의 방법에 준하여 실시하였다. 1차항체는 국내분리 CPV V11을 마우스에 면역시켜 생산된 monoclonal anti-mouse IgG to canineparvovirus를 가축위생연구소에서 공여받아 사용하였고, 2차항체인 biotinylated anti-mouse rabbit IgG와 avidin-biotin-peroxidase complex는 Vector Elite Kit(Vector Labs., PK-6102)를 사용하였다.

결 과

공시동물의 폐사일령조사 소견 : 폐사일령의 확인이 가능했던 총 97예 중, 4~8주령이 52예(53.6%), 9~15주령이 26예(26.8%), 16~19주령이 8예(8.2%), 20~45주령이 11예(11.3%)로 나타났다. 주령별 폐사율은 개파보바이러스에 대한 감수성의 시기에 따라 폐사주령을 4가지 시기인 이유전과 모체이행항체가 유지되는 시기인 4~8주, 이후와 모체이행항체가 완전히 소실되는 시기를 9~15주, 수동항체를 획득하는 시기를 16~19주, 감염되더라도 준임상형을 띠는 시기를 20주령 이상으로 하여 구분하였다.

임상증상 : 병리조직학적으로 개 파보바이러스장염으로 진단된 예 중에서 임상증상의 기록이 확실한 87예의 임상증상을 보면 혈색성 혹은 점액성의 설사(80.5%), 구토(56.3%) 및 식욕결핍(43.7%) 등이 주된 임상증상으로 관찰되었고 그 외 탈수, 발열, 쇠약, 침울, 경련 등의 신경증상 등이 관찰하였다.

육안진단 소견 : 97예의 육안진단은 대부분이 출혈성장염의 형태로 나타났으며(63.9%), 그외에 카타르성장염(15.4%) 섬유소성장염(6.2%)의 순으로 나타났고, 장염의 형태를 보이지 않았던 예도 상당히 많았다(14.4%). 특히 출혈성장염으로 진단된 예에서는 소장외 장막하에 출혈과 침침대의 적색반점이 밀발하고, 장막의 표면에는 소량의 섬유소가 덮여 있었으며 장간막림프절은 발적 종창되어 있는 소견이 종종 관찰되었다.

병리조직학적 소견 : 소장의 병변을 Macartney et al⁹의 분류방법에 준하여 A, B, C형으로 분류하였던 바 97예 중, A형(Fig 1)이 20예(20.6%)였으며, 장선상피세포에서 뚜렷한 호산성의 핵내포입체도 관찰할 수 있었다. 또한 B형(Fig 2)이 61예(62.9%), C형(Fig 3)이 16예(16.5%)로 나타났으며 B형과 C형에서는 재생성거대상피세포도 관찰할 수 있었다.

주령별 폐사율 및 소장병변의 형태 : CPV장염으로

폐사되는 주령은 4~8주령에서 가장 높게 나타났고, 준임상형을 띠는 시기인 20주령이상에서도 11.3%의 높은 폐사율이 관찰되었다. 폐사주령과 상관없이 모든 주령군에서 B형태의 경과를 취하는 것이 가장 높게 나타나(62.9%) 폐사주령과 각 병변의 형태와는 관련성이 없었다. Table 1에 주령별 폐사율 및 병변의 형태에 관한 결과를 요약하였다.

Table 1. Relationships between age groups of death and types of intestinal lesions

Age Type	4-8wks	9-15wks	16-19wks	20-45wks	total
A	12 (23.0)	5 (19.2)	2 (25.0)	1 (9.0)	20 (20.6)
B	32 (61.5)	17 (65.4)	6 (75.0)	6 (54.5)	61 (62.9)
C	8 (15.4)	4 (15.3)	0 (0.0)	4 (36.4)	16 (16.5)
Total	52 (53.6)	26 (26.8)	8 (8.2)	11 (11.3)	97 (100.0)

소장병변의 형태별 조직내 항원의 분포 : 병리조직학적으로 개 파보바이러스장염으로 진단된 경우에 소장병변의 경과에 따른 조직내 항원 분포의 특성을 조사한 결과, A형에서는 확장된 crypt 강내의 탈락된 상피세포의 핵내와 세포질내에서 많은 양의 항원을 검출할 수 있었으며(Fig 4), 또한 많은 crypt상피세포의 핵내 또는 세포질내에서 항원이 관찰되었으나 핵내에서 더 많이 관찰되었고, 부위에 따라서는 핵과 세포질에서 동시에 관찰되기도 하였다(Fig 5). B형에서는 고유층내에 불규칙하게 흩어진 붕괴된 crypt상피세포의 핵과 세포질 모두에서 관찰할 수 있었으며(Fig 6), 파괴된 crypt상피세포에서 유리된 것으로 보이는 항원이 조직내로 확산되어 나타났다(Fig 7). C형에서는 용모에 근접한 부위의 상피세포의 핵과 세포질에서 항원이 관찰되었으며, 파괴된 상피세포에서 유리된 듯한 항원이 강내에 흩어져 있었고 용모를 회복하고 있었다. 그러나 재생성 crypt상피세포에서는 항원이 거의 검출되지 않았다(Fig 8).

병리조직학적으로 개 파보바이러스장염으로 진단된 예에 대해서 면역조직화학적염색을 적용하여 조직내 항원을 검출한 바 면역조직화학적염색을 실시한 93예 중, 88예(94.6%)에서 항원이 검출되어 CPV장염의 병리조직학적 진단법이 매우 우수함이 확인되었다.

고 찰

CPV는 3~8주령의 자견에서는 비화농성심근염을 보이며¹⁻³, 8주령 이상의 자견에서는 심한 구토, 설사를 주 증상으로 하고⁹, 24주령 이상의 성견에서는 준임상적으로 발현된다고 하였는데²⁸, 본 연구의 자연발생 병례에서는 임상증상관찰이 가능했던 87예 중 70예(80.5%)에서 설사를, 49예(50.3%)에서 구토를 나타냈으며 그 밖에 식욕부진(43.7%), 신경증상(9.3%), 침울과 쇠약(8.0%) 등의 임상증상이 관찰되어 설사와 구토가 가장 특징적인 임상증상으로 관찰되었다.

CPV감염증의 자견의 주령에 따라서 심근염과 장염을 일으키는 것은 CPV가 빠르게 분열 증식하는 세포에 친화성이 있다는 것과 관련성이 있다.^{23,29} 즉, 개의 심장은 생후 2주동안에는 주로 증생에 의해서 8주까지는 증생과 비대에 의해서 성장하며 비대성장시에는 DNA합성과 핵의 활성이 있어 심근세포는 이 시기에 파보바이러스에 감염되어 비화농성 심근염을 일으킨다고 한다. 소장중에서 십이장과 공장의 crypt 상피세포의 분열속도가 빠르지만²⁶, 모유섭취기간중에는 crypt 상피세포의 유사핵분열은 적으며³⁰, 대부분의 이유시기인 6~7주령 후 부터는 먹이의 변화, 장내 세균총의 변화, 기생충이나 다른 바이러스의 감염, 스트레스 등의 영향으로 장상피세포의 전환율이 증가하고, crypt 상피세포의 유사핵분열상이 활발해져 8주령 이상의 자견에서는 장염을 일으키게 된다고 한다.^{9,19,26}

본 연구에서 조사한 바에 의하면 97예 중 4~8주령의 어린 개체에서도 52마리(53.6%)의 높은 폐사율이 관찰되었고, 20~45주령의 나이가 많은 개체에서도 11마리(11.3%)의 높은 폐사율이 관찰되었던 바 이는 CPV장염은 8주령 이상에서 가장 많이 발생되고 24주령 이상에서는 준임상형으로 경과된다는 지금까지의 보고와²⁸는 차이를 나타내고 있다. 본 연구에서 관찰된 이러한 차이는 국내의 조기이유 경향과 모체이행항체의 소실 시기의 현격한 차이에 기인되는 것 같다.

CPV에 대한 모체이행항체의 반감기는 약 9.7일이며, 모전 이행항체의 약 50%가 자견에 전달되며, 이들 중 약 90%가 초유를 통해서 전달된다고 한다. 또한 모체이행항체의 HI역가가 80보다 작을 때에 CPV에 감수성이 있으며, 모체이행항체 수준이 혈청반응성이 될 때까지는 생후 8~12주가 소요되기 때문에 모체이행항체가 완전히 소실되는 마지막 2~5주간이 CPV에 감염되거나 면역될 수 있는 “한계기간(critical period)”이며, 따라서 이 기간중에 백신접종을 거듭하여도 모체이행항체에 의해 백신반응이 생기지 않기에 모체이행항

체가 완전히 소실된 이후에 바이러스의 침입이 있으며 CPE가 발생할 수 있다고 한다.²²

이상과 같은 이유로 4~8주령에서 폐사율이 높은 것은 모체이행항체의 수준이 낮은 애완견을 번식하여 판매하는 곳에서 상업적인 이유로 조기에 이유(주로 4주령)시키기 때문에 CPV에 감수성이 있게 되어 병증발현이 일어났거나, 또는 주로 8주령에서 1차 백신접종을 하기에 모체이행항체의 수준이 낮은 개체가 CPV에 감염되어 병이 발생된 것으로 사료된다. 또한 20주령 이상에서도 폐사율이 높은 것은 모체이행항체수준이 아주 높게 유지되어 백신접종에 대해 반응하지 않다가 모체이행항체 수준이 CPV에 감수성이 있을 정도까지 떨어졌을 때에 crypt 상피세포의 유사핵분열상을 높이는 여러 가지 요인들이 복합적으로 작용하여 높은 연령에서도 발생된 것으로 보인다.

CPV장염의 육안적 소견은 다양하며 비특이적인데²⁸, 초기의 병변은 원위십이지장에서 잘 나타나고, 이후에는 공장이 가장 심하게 영향을 받는다고 하였다. 소장의 점막은 심한 충혈을 동반하고 수양성 및 출혈성의 내용물을 가지며 얇은 조직결손부가 관찰되며, 병변은 분절상으로 나타난다고 하였다. 또한 장간막림프절은 종창되고 피막에는 점상출혈소가 다수 존재하며, 홍선은 피질의 괴사가 뚜렷하며, 심한 경우에는 단지 얇은 레이스와 같은 잔유물만 남아있다고 하였다. 또한 출혈성장염에 대해서는 CPV에 의해 crypt 상피세포의 파괴가 일어나고, 이 때문에 용모의 표면상피세포를 보충하지 못해 고유층이 노출되고 혈관과 림프관이 손상되어 혈액과 림프액등의 체액이 소장강내로 유출되어 출혈성설사변을 배설하게 된다고 한다.⁹ 카타르성장염은 장관내에 면역복합체나 CPV가 계속해서 노출되어 T세포가 배상세포의 분비활성을 조절하는 면역개재성반응으로 인해 배상세포에서의 점액분비가 항진되기 때문에 일어나며³¹⁻³⁴, 섬유소성장염은 출혈성장염의 시기에 이어서 혈관을 통한 섬유소의 석출로 인해 일어난 것 같다.

본 연구에서는 총 97예 중 출혈성장염이 가장 높은 비율을 나타내었고(63.9%), 카타르성장염(15.4%), 섬유소성장염(6.2%) 등의 순서로 발생하여 CPV장염은 출혈성장염이 가장 일반적이나 병의 경과에 따라서 카타르성장염 및 섬유소성장염의 형태도 나타남을 알 수 있었다.

CPV장염의 병리조직학적인 소견은^{11,15,35} crypt의 기저부에서 용모의 침단부까지 장상피세포의 급성의 괴사소견이 보이며, crypt 상피세포는 종창되고 거의 전 부분에 걸쳐 탈락되며, 용모는 길이가 짧아지거나 소실

된다고 하며, 때때로 남아있는 상피세포에서 핵내봉입체가 관찰된다고 하였다. 또한 보다 진행된 병변에서는 상피세포의 재생과 고유층에 염증세포의 침윤이 보인다고 하였으며, 병변은 주로 소장에 한정되어 나타나지만, 심한 경우 상부맹장까지도 파급될 수 있다고 하였는데, 본 연구에서의 관찰결과와 대체로 일치하였다.

Macartney et al⁹의 분류방법에 준하여 소장 의 음모와 crypt의 병변의 경과와 진행도에 따라 세가지 형태로 분류하였던 바, 각 병변의 형태를 취하면서 폐사하는 비율이 A형이 20.6%, B형이 62.9%, C형이 16.5%로 나타나 감염증기인 B형태를 취하면서 폐사하는 비율이 가장 높았다. 이 시기는 임상적으로나 병리조직학적으로 가장 위험한 시기로서, 병리조직학적으로 정상적인 crypt 구조의 완전한 붕괴와 고유층내의 심한 섬유화, 표면상피세포의 완전한 탈락과 음모의 위축과 융합등이 보이며, Pollock과 Coyne의 보고²⁸와 같이 이미 손상된 고유층분포혈관과 림프관을 통해 혈액과 림프액 등 상당히 많은 양의 체액이 소장강내로 소실되고, 또한 음모를 통한 영양분의 흡수가 이루어지지 않아 임상적으로는 물론 설사와 탈수, 구토, 식욕부진 등의 증상이 나타난 것으로 보인다.

A형에서 일부에서는 손상된 혈관과 림프관을 통해서 체액이 소실되어 심한 혈액이 섞인 설사와 구토 등의 임상증상을 보이지만 남아있는 음모를 통한 영양분의 흡수가 이루어지며, 아직은 영향을 덜 받은 회장등의 하부소장에서 영양분의 흡수로 폐사율이 낮았던 것으로 보인다. C형에서는 자견이 위험시기인 B형의 경과를 견디어 내어 바이러스가 거의 배설되어 일부의 crypt 상피세포의 재생이 이루어지게 되고 결국은 음모의 재형성과 재생음모를 통한 영양분의 흡수가 이루어져 어느 정도 저항하다가 폐사한 것 같다.

그러나 CPV 감염 후 1~4일 만에 A형, B형, C형의 모든 경과가 진행되며, 장상피세포의 심한 손상 후에야 장의 병변과 연관된 임상증상이 나타나고^{2,3,23}, 임상증상 발현 후 5일 이내에 폐사되기에 본 연구에서는 폐사 주령을 기준으로 병변의 형태를 분류하였으나 CPV 감염은 감염에서 폐사까지가 급성으로 경과하기에 감염 주령과 폐사주령이 비슷한 시기라 생각되며 따라서 감염주령이 어릴 수록 폐사율은 증가한다고 사료된다. 또한 폐사예의 병변의 단계는 감염주령과 상관없이 B형태에서 폐사되는 경우가 가장 흔하다고 평가된다.

본 연구에서는 97예 중 감염초기인 A형의 몇 예에서만 crypt 상피세포에서 호염성의 핵내 봉입체가 관찰되었다. 이러한 결과는 핵내봉입체가 관찰되는 시기는 임상적으로 설사가 나타나지 않는 감염초기에 나타나

데³⁶, 본 연구에서 관찰한 대부분의 예는 임상증상을 보이며 폐사한 개체를 대상으로 하였기 때문이라고 생각된다. 따라서 CPV장염의 진단에 있어서 핵내봉입체의 관찰을 토대로 진단하기란 부적당하다고 생각된다.

Macartney et al²⁶은 면역조직화학적기법을 이용하여 crypt의 병변이 진행됨에 따라 crypt 상피세포에서의 항원은 적게 관찰된다고 하였으며, 여러 연구자들은^{2,3,37-39}, 전자현미경을 통하여 강의 crypt 상피세포에서 CPV입자를 관찰하고 숙주세포에서의 바이러스가 복제되는 장소는 대부분 광학현미경으로 관찰할 양염색성(amphophilic)의 봉입체와 일치한다고 하였다. 또한 잔존하고 있는 crypt에 남아있는 상피세포의 핵에서는 바이러스입자가 분산되어 있거나 포도송이 모양으로 배열되어 있었으며, 이러한 바이러스입자가 현저하게 변성되어 탈락과정 중에 있는 세포에서는 핵에서 뿐만 아니라 세포질내에서도 관찰되었는데, 아마도 세포질내 입자는 숙주세포의 핵막의 파괴에 의해 유리되었을 것이라고 하였다. 또한 crypt 강내탈락상피세포의 핵에서 virus입자는 격자모양으로 배열한다고 하였으며, 탈락상피세포와 세포붕괴물주변의 수 많은 작은 바이러스 입자의 집괴는 탈락된 상피세포와 파괴된 상피세포의 세포질에서 유래되었을 것이라고 하였다.

Waldvogel et al⁴⁵은 parvovirus에 감염된 개와 고양이 에 *in situ* hybridization을 적용하여 장상피세포 및 폐 이어판과 림프절의 단핵구세포의 핵내에서 뿐만 아니라 세포질에서도 바이러스항원을 확인하였는 바, 이는 viral mRNA에 대한 hybridization이 세포질 내에서도 존재하거나 파괴된 세포의 핵막의 붕괴 후 바이러스와 바이러스의 구성분이 세포질로 확산되었을 것이라고 하였다.

본 연구에서는 면역조직화학적기법을 이용하여 소장 병변의 경과에 따른 조직내 항원의 분포를 확인한 결과 대부분 위의 결과와 일치하는 소견을 보였다. 즉, 주로 A형, 즉 감염초기에는 탈락되지 않고 남아있는 crypt 상피세포에는 핵내에 항원이 주로 분포하였으나, 세포질내에서도 관찰되었다. 항원의 핵내분포가 우세하였던 것은 감염초기에는 핵내에서 복제되기 때문이라 사료되며 복제이후 핵막의 붕괴로 항원이 세포질로 유리되었으리라 생각된다. 탈락된 상피세포에서는 핵내와 세포질 모두에서 많은 양의 항원의 분포가 확인되었고, 특히 핵내에서의 분포가 뚜렷하였으며, 모든 crypt 상피세포에서 관찰되지 않고 일부의 잔존하고 있는 crypt 상피세포에서만 항원의 분포가 확인된 점은 CPV가 모든 crypt 상피세포에 감염이 되지 않거나 상피세포의 분화단계에 따라 감염의 시기가 다르기 때문

인 것 같다.

감염증기인 B형에서는 고유층내에 불규칙하게 흩어진 붕괴된 crypt 상피세포의 핵과 세포질 모두에서 항원을 관찰할 수 있었는데 crypt의 붕괴 후 고유층의 섬유화가 진행된 이후에도 남아있는 탈락상피세포에 항원이 남아있기 때문이라 여겨지며, 핵과 세포질의 주변과 조직에 과립모양으로 확산되어 양성반응을 나타내는 것은 이전의 보고에서와 같이 파괴된 핵과 세포질에서 유리된 항원이 조직내로 확산되어 나타났으리라 생각된다.

C형에서는 용모에 근접한 부위의 상피세포의 핵과 세포질에서 항원이 관찰된 것은 역시 위와 같은 이유인 것 같으며, 특히 재생성 crypt 상피세포에서 항원이 별로 검출되지 않은 것은 이미 B형의 경과를 취하면서 항원의 배출이 거의 이루어져 감염이 이루어지지 않은 것으로 보인다.

개 파보바이러스장염을 진단하는데, 임상증상과 부검소견 등으로 인해 확진이 어려울 뿐만 아니라, 혈중 항체거나 분변내 항체의 측정, 투과전자현미경을 이용한 분변에서의 바이러스의 확인, 최근에는 ELISA법을 이용한 분변내 항원의 검출등을 통해 확인할 수 있다고 하나^{40,41}, 방법이 까다롭고 실험장비가 구비된 장소에서나 가능한 일이다. 폐사 후에는 병리조직학적인 방법으로 소장 crypt를 포함한 장상피세포의 광범위한 괴사, 림프조직의 괴사, crypt 상피세포에서의 특징적인 핵내포입체 등을 통하여 CPE를 진단하며, 면역형광기법과^{26,28,42}, 면역조직화학적기법으로 조직내의 항원의 검출을 통한 방법²⁶과 CPV에 대한 DNA probe를 이용하여 검출하는 방법⁴³이 소개되었으나, 이 역시 항체의 준비와 비용이 많이 들기 때문에 진단에 이용하기란 어려운 점이 많다. 따라서 본 연구에서는 개 파보바이러스장염을 진단하는데 있어 가장 널리 쓰이는 병리조직학적인 진단법의 신뢰성을 검증하여 본 결과 면역조직화학적 방법에서 94.6%의 양성반응을 확인하여 결과적으로는 병리조직학적인 진단법이 매우 신뢰성이 높은 것을 알 수 있었으며, 음성반응을 나타낸 경우에도 대부분이 심한 자가용해로 인해 장점막의 구조를 거의 확인할 수 없었던 점을 감안한다면 조직이 더 신선했다면 항원의 검출율은 더 높았으리라 사료된다.

본 연구에서는 국내에서 CPE에 의해서 폐사된 예를 대상으로 폐사일령에 따른 소장병변의 단계와 소장병변의 단계에 따른 조직내 항원분포를 관찰하였으며 아울러 CPE를 진단하는데 있어서 병리조직학적방법의 신뢰성을 검증하여 보았다. 국내에서 뿐만 아니라 전세계적으로 CPE로 인한 자건의 폐사는 점점 증가되고

있고 CPE의 발병에 있어서 장선상피세포의 분열을 촉진시키는 인자의 중요성이 알려져 있다. 따라서 국내의 자건에 흔해 감염되어 있으리라 짐작되는 개 코로나바이러스감염과 CPE의 상관관계에 대한 보다 세밀한 조사 및 연구가 수행되어야 할 것으로 본다.

결 론

본 연구는 개 파보바이러스장염(canine parvovirus enteritis)의 감염일령과 병변의 진행정도와 상관관계를 규명하고자 병리조직학적으로 진단된 97예에 대해서 병리조직학적 및 면역조직화학적기법을 이용하여 폐사일령에 따른 병변의 단계와 조직내 항원분포를 확인하기 위하여 실시하였으며 병리조직학적 진단법의 신뢰성을 검증하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1 개 파보바이러스장염의 연령별 발생비율은 4~8, 9~15, 16~19 및 20~45 주령에서 각각 53.6, 26.8, 8.2 및 11.3%였다.

2. Crypt 상피세포의 괴사와 다양한 확장, 확장된 강내에 탈락상피세포가 나타나는 감염초기인 A형은 20.6%, 정상 crypt 구조의 완전한 소실과 고유층에 섬유화, 용모의 위축과 융합을 보이는 감염증기인 B형은 62.9%, 용모의 위축과 융합, crypt 상피의 재생을 특징으로 하는 재생기인 C형은 16.5%로 나타나 감염증기인 B형으로 폐사하는 예가 가장 많았다.

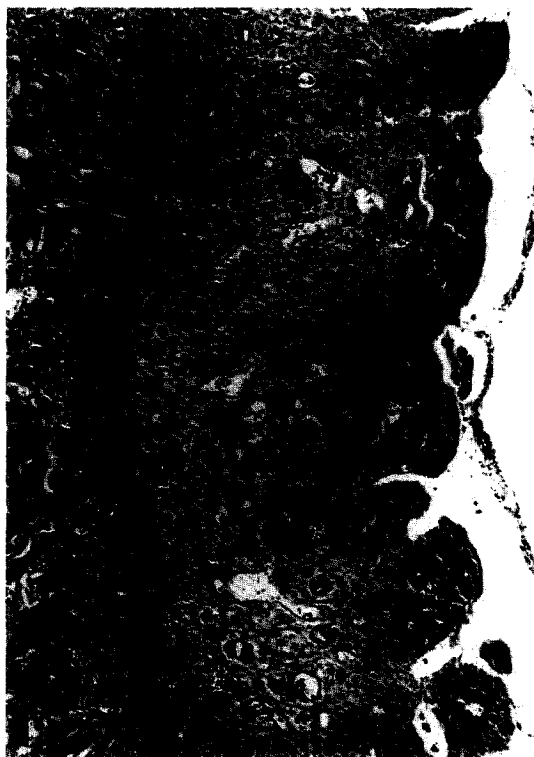
3. 각 주령별 발생비율에서 4~8주령에서의 발생비율은 A, B, C형에서 각각 23.5%, 61.5%, 15.4%였고, 9~15주령에서 19.2%, 65.4%, 15.3%였으며, 16~19주령에서는 25.0%, 75.0%, 0.0%였고, 20~45주령에서는 9.0%, 54.5%, 36.4%였다.

4. 병변의 경과에 따른 조직내 항원분포가 A형에서는 소장의 crypt 상피세포의 핵내에서 세포질에서 보다 우세하였으며, 확장된 crypt 강내의 탈락된 상피세포에서도 많은 양이 관찰되었다. B형에서는 붕괴된 crypt에서 유리된 상피세포의 핵과 세포질 모두에서 관찰되었고, 붕괴된 crypt 상피세포에서 유리된 항원이 조직내에 확산되어 나타났다. C형에서는 용모에 근접한 부위의 상피세포의 핵과 세포질에서 항원이 검출되었으나, 재생성 crypt 상피세포에서는 관찰되지 않았다.

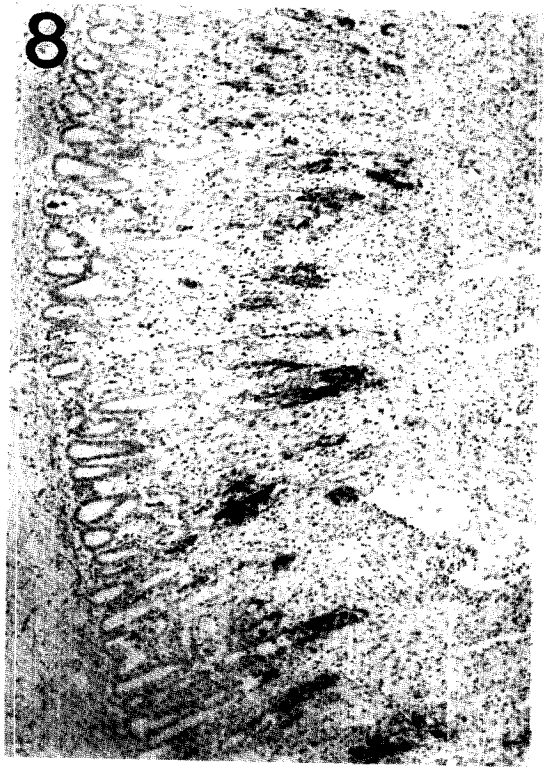
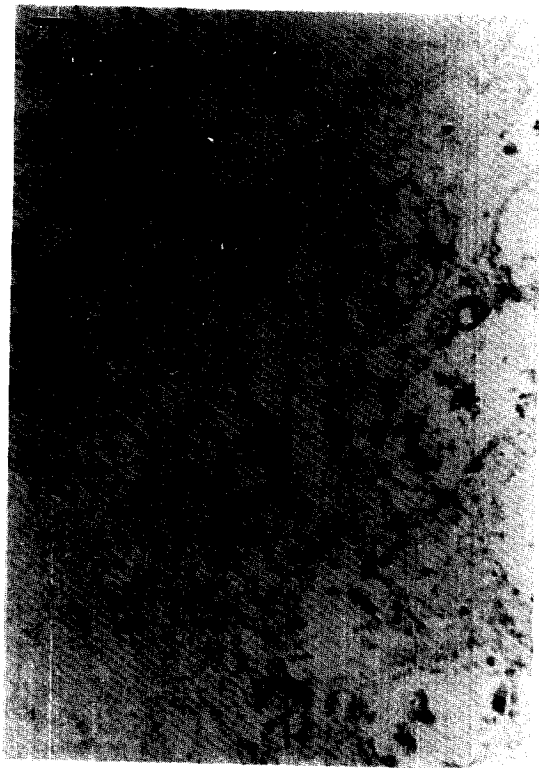
5. 병리조직학적으로 개 파보바이러스장염으로 진단된 예에서 면역조직화학적기법을 이용한 조직내 항원의 검출율은 94.6%로 나타나 개 파보바이러스장염을 진단하는데 있어 병리조직학적인 진단법이 매우 신뢰성이 높음을 알 수 있었다.

Legends for figures

- Fig 1. Small intestine of the affected dog (A type): Intestinal villi are stunted and most of their superficial epithelia are lost. Crypt lumina are dilated in variable size, and filled with necrotic debris and desquamated epithelia. H-E stain, $\times 100$.
- Fig 2. Small intestine of the affected dog (B type): Intestinal villi are indistinct or totally fused each other. Severe fibrosis is occurred in lamina propria and crypts are totally collapsed. H-E stain, $\times 100$.
- Fig 3. Small intestine of the affected dog (C type): Regeneration of crypt architecture is shown. Note increased cellularity and elongation of the intestinal crypts. H-E stain, $\times 200$.
- Fig 4. Small intestine of the affected dog (A type): The viral antigen, denoted by a dark stain precipitate, is apparent in desquamated cells in the dilated crypts. ABC stain, $\times 100$.
- Fig 5. Higher magnification of Fig 4. Viral antigen is present within the nuclei and cytoplasm of desquamated epithelial cells. Note viral antigen is prominently presented in the nuclei (arrow head). ABC stain, $\times 400$.
- Fig 6. Small intestine of the affected dog (B type): Viral antigen within remaining crypts epithelial cells and nuclei and cytoplasm of collapsed crypt epithelial cells (arrow head are irregularly dispersed in lamina propria. ABC stain, $\times 200$.
- Fig 7. Small intestine of the affected dog (B type): Crypts are lined by and filled with released viral antigens from the destructed epithelial cells (arrow). Some intact epithelial cells with nuclear viral antigens are present (arrow head). ABC stain, $\times 200$.
- Fig 8. Small intestine of the affected dog (C type): Viral antigens characteristic of dark stain precipitates are present in adjacent the tip of villi, but, absent in regenerative crypt epithelial cells. ABC stain, $\times 100$.







참고 문헌

1. Jezyk PF, Haskins ME, Jones CL. Myocarditis of probable viral origin in pups of weaning age. *JAVMA* 1979; 174: 1204-1207.
2. Robinson WF, Huxtable CR, Pass DA. Canine parvoviral myocarditis: A morphologic description of the natural disease. *Vet Pathol* 1980a; 17: 282-293.
3. Robinson WF, Wilcox GE, Flower RLP. Canine parvovirus disease: Experimental reproduction of the enteric form with a parvovirus isolated from a case of myocarditis. *Vet Pathol* 1980a; 17: 589-599.
4. Eugster AK, Bendele RA, Jones LP. Parvovirus infection in dogs. *JAVMA* 1978; 173: 1340-1341.
5. Appel MJG, Cooper BJ, Greisen H, et al. Canine viral enteritis. I. Status report on corona- and parvovirus-like viral enteritides. *Corn Vet* 1979a; 69: 123-133.
6. Appel MJG, Scott FW, Carmichael LE. Isolation and immunisation studies of a canine parvo-like virus from dogs with haemorrhagic enteritis. *Vet Rec* 1979b; 105: 156-159.
7. Cooper BJ, Carmichael LE, Appel MJG, et al. Canine viral enteritis. II. Morphologic lesions in naturally occurring parvovirus infection. *Corn Vet* 1979; 69: 134-144.
8. Else RW. Fatal hemorrhagic enteritis in a puppy associated with a parvovirus infection. *Vet Rec* 1979; 106: 14-15.
9. Macartney I, McCandlish IAP, Thomposon H, et al. Canine parvovirus enteritis I: Clinical, haematological and pathological features of experimental infection. *Vet Rec* 1984a; 115: 201-210.
10. 한홍율, 황의경, 유규연 등. 개 파보바이러스 감염의 국내발생. *Kor J Vet Res* 1982a; 22: 171-174.
11. Eugster AK, Nairn C. Diarrhea in puppies; Parvovirus-like particles demonstrated in their feces. *Sou West Vet* 1977; 30: 59-60.
12. Thomson GW, Gagnon AN. Canine gastroenteritis associated with a parvovirus-like agent. *Can Vet J* 1978; 19: 346.
13. Johnson RH, Spradbrow PB. Isolation from dogs with severe enteritis of a parvovirus related to feline panleukopenia virus. *Aus Vet J* 1979; 151: 55.
14. McCandlish IAP, Tompson H, Cornwell HIC, et al

- Isolation of a parvovirus from dogs in Britain. *Vet Res* 1979; 105: 167-168.
15. Appel MJG, Cooper BJ, Greisen HH, et al. Status report: Canine viral enteritis. *JAVMA* 1978; 173: 1516-1518.
 16. Lenghaus C, Studdert MJ. Relationships of canine panleukopenia(enteritis) and myocarditis parvovirus to feline panleukopenia virus. *Aus Vet J* 1980; 56: 152-153.
 17. Afshar A. Canine parvovirus infections -a review. *Vet Bull* 1981; 51: 605-612.
 18. Kollock R, Tseng BY, Goulian M. DNA Polymerase requirements for parvovirus H-1 DNA replication in vitro. *J Virol* 1982; 41: 982-989.
 19. Leshner S, Walburg HE, Sacher GA. Generation cycle in the duodenal crypt cells of germ-free and conventional mice. *Nature* 1964; 202: 884-886.
 20. Eugster AK. Studies on canine parvovirus infections: Development of an inactivated vaccine. *Am J Vet Res* 1980; 41: 2020-2024.
 21. Gooding GE, Robinson WF. Maternal antibody, vaccination and reproductive failure in dogs with parvovirus infection. *Aus Vet J* 1982; 59: 170-174.
 22. Pollock RVH, Carmichael LE. Maternally derived immunity to canine parvovirus infection: Transfer, decline interference with vaccination. *JAVMA* 1982; 180: 37-42.
 23. Potgieter LND, Jones JB, Patton CS, et al. Experimental parvovirus infection in dogs. *Can J Comp Med* 1981; 45: 212-216.
 24. Meunier PC, Cooper BJ, Appel MJG, et al. Pathogenesis of canine parvovirus enteritis: Sequential virus distribution and passive immunization studies, *Vet Pathol* 1985a; 22: 617-624.
 25. Meunier PC, Cooper BJ, Appel MJG, et al. Pathogenesis of canine parvovirus enteritis: The importance of viremia. *Vet Pathol* 1985b; 22: 60-71.
 26. Macartney L, McCandlish IAP, Thompson H, et al. Canine parvovirus enteritis 2: Pathogenesis. *Vet Rec* 1984b; 115: 453-460.
 27. Hsu SM, Raine L, Fanger H. Use of avidin-biotin-peroxidase complex(ABC) in immunoperoxidase techniques; A comparison between ABC and unlabeled antibody(PAP) procedures. *J Histochem Cytochem* 1981; 29: 577-580.
 28. Pollock RVH, Coyne J. Canine parovirus: Gastroenterology: The 1990s. *Vet Clin Nor Am Sm Ani Prac* 1993; 23: 555-568.
 29. Menier PC, Cooper BJ, Appel MJG, et al. Experimental viral myocarditis: Parvoviral infection of Neonatal pups. *Vet Pathol* 1984; 21: 509-515.
 30. Koldovsky O, Sunshine P. Cellular migration of intestinal epithelia in suckling and weaned rats. *Nature* 1966; 212: 1389-1390.
 31. Walker WA, Wu M. Stimulation by immune complexes of mucus release from goblet cells of the rat small intestine. *Science* 1977; 197: 370-372.
 32. Laker AM, Bloch KJ, Neutra MR, et al. Intestinal goblet cell mucus release: II. In vitro stimulation by antigen in the immunized rat. *J Immunol* 1979; 122: 834-837.
 33. Carman S, Povey C. Successful experimental challenge of dogs with canine parvovirus-2. *Can J Comp Med* 1982a; 46: 33-38.
 34. Carman S, Povey C. The failure of an inactivated mink enteritis virus vaccine in four preparations to provide protection to dogs against challenge with canine parvovirus-2. *Can J Comp Med* 1982b; 46: 47-50.
 35. Pollock RVH, Carmichael LE. Canine viral enteritis: Canine parvoviral enteritis. *Infectious diseases of dog and cat*, 1st ed. W.B. Saunders company, pp.269-297, 1990.
 36. O'sullivan G, Durham PJK, Smith JR, et al. Experimentally induced severe canine parvoviral enteritis. *Aus Vet J* 1984; 61: 1-4.
 37. Fletcher KC, Eugster AK, Schmid RE, et al. Parvovirus infection in maned wolves. *JAVMA* 1979; 175: 897-900
 38. Yasoshima A, Doi K, Kajima A, et al. Electron microscopic findings on epithelial cells of Lieberkuhn's crypts in canine parvovirus infection. *Jpn J Vet Sci* 1982; 44: 81-88.
 39. Matsui T, Matsumoto J, Kano T, et al. Intranuclear inclusions in the stratified squamous epithelium of the tongue in dogs and cats with parvovirus infection. *Vet Pathol* 1993; 30: 303-305.
 40. Mathys A, Mueller R, Pedersen NC, et al. Comparison of hemagglutination and competitive enzyme-linked immunosorbent assay procedures for de-

- tecting canine parvovirus in feces. *Am J Vet Res* 1983b; 44: 152-154.
41. 신진호, 김두희, 이중복 등. 단크론항체이용 면역효소법에 의한 분변내 개 파보바이러스 검출. 농시논문집(가축위생편) 1992; 34: 32-37.
42. Nelson DT, Eustis SL, McAdaragh JP, et al. Lesions of spontaneous canine viral enteritis. *Vet Pathol* 1979; 16: 680-686.
43. Waldvogel AS, Hassam S, Stoerckle N, et al. Specific diagnosis of parvovirus enteritis in dogs and cats by *In Situ* hybridization. *J Comp pathol* 1992; 107: 141-146.
-