

국내에서 유행한 Respiratory Syncytial 바이러스의 염기서열 및 계통분석

고려대학교 의과대학 미생물학교실, 고려대학교 바이러스병연구소 및
¹고려대학교 의과대학 이비인후과학교실

권순영¹ · 최영주 · 김소연 · 송기준 · 이용주 · 최종욱¹ · 성인화

=Abstract=

Sequence and Phylogenetic Analysis of Respiratory Syncytial Virus Isolated from Korea

Soon Young Kwon¹, Young Ju Choi, So Youn Kim, Ki Joon Song, Yong Ju Lee, Jong Ouck Choi¹ and In Wha Seong

Department of Microbiology, College of Medicine, Institute for Viral Diseases,

¹Department of Otolaryngology, College of Medicine, Korea University, Seoul, Korea

Respiratory Syncytial virus (RSV) is an important cause of acute lower respiratory tract infections in human, with infants and young children being particularly susceptible. In the temperate zones, sharp annual outbreaks of RSV occur during the colder months, in both the northern and the southern hemisphere. RSV is unusual in that it can repeatedly reinfect individuals throughout life and infect babies in the presence of maternal antibody. RSV isolates can be divided into two subgroups, A and B, on the basis of their reactions with monoclonal antibodies, and the two subgroups are also distinct at the nucleotide sequence level. The specific diagnosis of RSV infection was best made by isolation of virus in tissue culture, identification of viral antigen, or by specific serologic procedures. Recently, rapid detection of RSV and analysis of RSV strain variation became possible by development of methods of reverse transcription and polymerase chain reaction amplification.

In this study, to determine the genetic diversity of RSV found in Korea, 173 bp and 164 bp spanning selected regions of the RSV F and SH genes were enzymatically amplified and sequenced, respectively. Eight for F gene and three for SH gene were detected in 66 nasopharyngeal swap samples tested. Two major antigenic subgroups, A and B were confirmed from Korean samples (seven for subgroup A and one for subgroup B). At the nucleotide level of the F gene region, Korean subgroup A strains showed 95-99% homologies compared to the prototype A2 strain of subgroup A and 93-100% homologies among Korean subgroup A themselves. For the SH gene region, Korean subgroup A strain showed 97.5% homology compared to the prototype A2 strain of subgroup A, and Korean subgroup B strain showed 97% homology compared to the prototype 18537 strain of subgroup B. Most of base changes were transition and occurred in codon position 3, which resulted in amino acid conservation. Using the maximum parsimony method, phylogenetic analysis indicated that Korean RSV strains formed a group with other RSV strains isolated from the United States, Canada, the Great Britain and Australia.

Key Words: RS virus, sequence, phylogeny

서 론

Respiratory Syncytial (RS) 바이러스는 *Paramyxoviridae*과의 *Pneumovirus*속으로 분류되는 single-strand, negative-polarity의 RNA 바이러스로 특히 유소아기에 급성 호흡기 질환을 일으키는 가장 중요한 원인체 중의 하나로 알려져 있다. RS 바이러스는 1956년 실험실에서 사육중인 감기와 유사한 임상증상을 보이는 chimpanzee로부터 처음 분리되어 chimpanzee coryza agent (CCA)로 불리어졌으나 [1] 그후 폐렴을 앓고 있는 소아로부터 동일한 바이러스가 분리되고 세포배양상 syncytial cytopathic effect를 나타내며 대부분의 유소아에서 이 바이러스에 대한 항체가 증명됨에 따라 현재와 같은 이름으로 명명되었다 [2, 3].

RS 바이러스는 *Paramyxoviridae*과의 다른 바이러스들에서 관찰되는 hemagglutinin과 neuraminidase를 갖고있지 않아 *Pneumovirus*속으로 따로 분류되며 현재까지 규명된 10개의 gene들이 3'-NS1-NS2-N-P-M-SH-G-F-M2-L-5'의 순서로 배열되어 있는 구조를 가지고 있다. 이들 gene중 NS1, NS2 및 SH gene이 coding하는 NS1 (1C), NS2 (1B) 및 small hydrophobic (SH) 단백질은 RS 바이러스의 virion에서는 발견되지 않으며 감염된 세포에서만 발견되는 비구조 단백질이며, N, P 및 L gene이 coding하는 핵단백 (nucleoprotein, N), 인단백 (phosphoprotein, P) 및 large protein (L)은 RS 바이러스의 nucleocapsid를 구성하는 구조단백 및 viral RNA의 전사와 복제에 관여하며, M 및 M2 gene이 coding하는 matrix (M) 및 M2 단백질은 RS 바이러스의 inner envelope의 주성분으로, F 및 G gene은 syncytium을 형성하는 fusion (F) 단백질 및 숙주세포 수용체와 결합하는 G단백을 coding하는 것으로 알려져 있다 [4, 5]. 이들 단백질중 F와 G단백은 중화항체 생성과 연관된 중요한 단백질로 알려져 있으며 특히 F단백이 G단백에 비해 중화항체 생성에 보다 밀접한 연관성을 나타내며 [6, 7], G단백의 경우에는 각 strain들 간의 아미노산 서열의 변이가 크며 특히 extracellular domain에서의 변이가 심한 것으로 규명되어 있다 [8, 9].

1985년 Anderson등이 RS 바이러스의 항원적 특성을 면역항체법으로 분석보고한 이래 [10] RS 바이러스의 항원성 및 염기서열등에 대한 많

은 연구가 수행되었고 현재까지 규명된 바에 의하면 RS 바이러스는 혈청학적으로 한 종류만이 보고되고 있으며, 단클론 항체를 이용한 항원검사법으로는 subgroup A와 B로 분류되며 두 subgroup 간의 항원적인 연관성은 F 당단백의 경우에는 50%이상이나 G 당단백의 경우에는 5%로 매우 낮은 것으로 알려져 있다 [11]. 그러나 전체적인 아미노산 서열상의 동질성은 다른 subgroup간에서 약 87%이상이며 같은 subgroup내에서는 96% 이상으로 보고되고 있다 [12].

RS 바이러스감염의 특성은 모체로부터 태반을 통하여 받은 항체가 존재하는 생후 6주에서 6개월사이 기간의 감염율이 가장 높으며 재감염이 흔히 발생한다는 점이며 [13] 과거에는 면역병리학적인 기전이 RS 바이러스감염의 병인성에 중요한 역할을 하는것으로 생각되었으나 지속적인 연구결과에 따라 세포면역기능이 중요하며 혈액내 및 분비항체가 함께 RS 바이러스감염 및 재감염의 방어기전에 작용한다는 사실들이 알려졌으나 현재까지 RS 바이러스감염의 병인론에 대한 정확한 기전은 규명되지 못한 실정이다.

RS 바이러스감염은 전세계적으로 보고되고 있으며 유소아 호흡기질환의 가장 중요한 원인으로서는 대부분의 유소아들이 생후 2년이내에 1회이상 감염되며 온대지역의 경우 늦은 가을에서 봄사이에 주로 발생하며 이 시기에는 유소아의 50%이상 감염되는 것으로 보고되고 있다 [14-18]. 한편 RS 바이러스, parainfluenza 바이러스, adeno 바이러스, rhino 바이러스 등 호흡기 감염을 일으키는 바이러스들이 급성중이염이나 삼출성중이염과 밀접한 관계가 있다는 보고가 있었으며 이중에서도 RS 바이러스가 중요한 역할을 한다고 하였다 [19-24]. 유소아에서 후천성 청력소실의 가장 흔한 원인인 삼출성중이염은 청소년기와 청년기의 만성중이염의 소인이 되기도 하는데 호흡기 질환을 일으키는 바이러스가 삼출성중이염을 일으키는 기전에 대한 정보는 한정되어 있기는 하지만 바이러스에 의한 상기도 감염이 E-tube의 기능과 섬모운동기능의 장애를 일으켜서 발생하는것으로 생각되고 있으며 [23, 25], 바이러스의 감염이 있는 경우에 급성중이염의 이환기간이 길어지며 약물요법의 실패율이 높아진다는 보고가 있었다 [22, 26-29].

RS 바이러스감염의 진단은 호흡기 분비물내의 항원을 ELISA법이나 간접형광항체법으로 확

인하거나 세포배양을 통해 바이러스를 분리하는 것이 가장 좋은 방법으로 권장되고 있으며, 항체 검사법은 성인이나 나이가 든 소아의 경우에서 중화항체가나 보체결합항체를 측정하여 재감염 여부 판정에 사용되고 있으나 유소아의 초기 감염 진단으로는 권장되지 않는다. 최근에는 polymerase chain reaction (PCR)법을 이용한 RS 바이러스의 진단 및 염기서열 분석을 통한 항원성에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으며 [30, 31], 이 새로운 방법은 세포배양의 어려움으로 인한 이 바이러스 연구의 제약을 극복할수 있는 좋은 도구로 널리 활용되고 있다. 한편 국내의 경우 RS 바이러스감염의 진단은 주로 임상증상에 의존하여 왔으며 바이러스학적 진단 및 역학적인 조사는 초기단계에 머물고있는 실정이며 국내에서 유행하고 있는 RS 바이러스의 염기서열 분석이나 유전학적인 연구는 보고된 바 없다.

본 연구에서는 RS 바이러스감염의 유행시기에 호흡기감염 또는 중이염을 주소로 하는 환자를 대상으로 Nested Reverse Transcription-PCR (Nested RT-PCR)법을 이용하여 호흡기 분비물로부터 RS 바이러스 검사를 실시하고 이에 따른 PCR산물을 이용하여 국내에서 유행하는 RS 바이러스의 F 및 SH gene 부위의 염기서열을 분석함으로써 기존에 알려진 외국에서 유행한 RS 바이러스의 염기서열과의 비교분석과 국내에서 발견되는 RS 바이러스의 염기서열상의 특성 및 변이등을 조사하고 계통분석을 실시하여 국내에서 유행하는 RS 바이러스에 대한 유전정보를 확립하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 대상 및 검체 채취

1994년 11월부터 95년 2월까지 고려대병원 이비인후과에 내원한 환자 중 비염, 상기도감염 등의 급성호흡기질환 또는 중이염을 주소로 하는 1-9세 사이의 환자중 66명을 검사 대상으로 하였다. 비인두분비물 채취 대상례의 연령분포는 1세 1명, 2세 8명, 3세 8명, 4세 8명, 5세 16명, 6세 9명, 7세 7명, 8세 7명, 9세 2명이었고 남녀비는 2.5:1 이었다. 총 66례중 25례에서 중이염만 있었고 17례에서는 비루, 인두통, 발열등의 상기도감염 증세가 있었으며 나머지 4례에서는 중이염과 상기도감염이 동반되었다. 가검물채취 시기

는 1994년 11월이 50례 (75.8%)로 가장 많았으며 1995년 2월이 5례 (7.6%)로 가장 적었다.

검사대상 66명의 환자의 비인두분비물 채취는 구강을 통하여 비인두부를 도포한 면봉을 바이러스 수송배지 (VTM pH7.0; total 500ml중, Hank's BSS 430ml, 10% Fraction V BSA, 5-6% NaHCO₃ 7-12ml, PN 500U/ml, GM 0.1mg/ml, Amphotericin B 2mg/ml) 1ml에 넣어 이송하였다.

2. 검체내의 RS 바이러스 RNA 분리

실험실로 이송된 검체는 가급적 바로 처리하였으며 처리가 지연될 경우에는 -70℃에 보관하였다가 급속 해빙하여 Ultraspec™-II RNA Kit (BIOTECX Lab, USA)를 이용하여 RNA를 분리하였다. 검체 0.3ml를 Ultraspec™ RNA 0.9ml과 잘 섞은 다음 chloroform 0.2ml을 첨가하고 15초간 혼합하여 얼음수조에 5분간 방치하였다. 4℃에서 12,000×g로 15분간 원심분리하여 얻은 상층액에 상층액의 0.5 volume의 isopropanol을 첨가하여 잘 섞고 상층액의 0.05 volume의 RNA Tack™ Resin을 첨가하여 30초간 혼합하고 1분간 원심분리한 후 상층액을 버리고 침전물을 75% ethanol로 2회 세척하여 진공건조시키고 40μl의 diethylpyrocarbonate (DEPC)를 처리한 증류수에 용출시켜 -70℃에 보관하였다.

3. Primer

본 연구에서는 RS 바이러스의 F 및 SH gene부위를 coding하는 각 부위의 2쌍의 primer를 사용하였다 (Table 1). F 부위의 cDNA 합성을 위하여 RSV1-F1을 이용한 후 Nested RT-PCR법의 1차 primer쌍으로 RSV1-F1과 RSV1-F2을, 2차 primer쌍으로 RSV2-F3과 RSV2-F4을 사용하였다. SH 부위의 cDNA 합성을 위하여 RSSHAF1과 RSSHBF1을 이용한 후, RSSHAF1으로 합성된 cDNA에서는 Nested RT-PCR법의 1차 primer쌍으로 RSSHAF1과 RSSHR1을, 2차 primer쌍으로 RSSHF2과 RSSHR2을 사용하였고 RSSHBF1으로 합성된 cDNA에서는 1차 primer쌍으로 RSSHBF1과 RSSHR1을 2차 primer쌍으로는 RSSHF2와 RSSHR2을 사용하였다.

4. RS 바이러스 cDNA 합성

반응액 20μl당 RNA template 6μl, 1nM primer, 20 unit RNase inhibitor (Perkin Elmer, Brabchburg, NJ), 50mM Tris-HCl (pH 8.3), 7.5 mM KCl, 3mM

Table 1. Oligonucleotide primers used in this study

Region	Name	Sequence	Position
F	RSV1F1	5'-GGT GGT GGA TCT GCA ATC GCC A-3'	6040-6061
	RSV1F2	5'-TTT GTT ATA GGC ATA TCA TTG-3'	6416-6396
	RSV2F3	5'-AAG TGC TCT ACT ATC CAC A-3'	6117-6135
	RSV2F4	5'-CAC TAA ATT CCC TGG TAA TC-3'	6328-6309
SH	RSSHAF1	5'-GGG GCA AAT AAT CAT TGG AGG-3'	4172-4192
	RSSHBF2	5'-GGG GTA AAT AGA CAT TAG TTA G-3'	4172-4193
	RSSHAF2	5'-AAA TAC ATC CAT MAC AAT AG-3'	4261-4280
	RSSHBF2	5'-ATK GAW GAA TRC TAT GTF TT-3'	4461-4442
	RSSHAF1	5'-TTG TTY GTT TWT AAA TRC AAG-3'	4503-4483

K=(G,T) M=(A,C) R=(A,G) W=(A,T) Y=(C,T)

MgCl₂, 1mM DTT, 250μM dNTPs, 100unit Superscript II (GIBCO BRL, Gaithersburg, MD)를 넣고 mineral oil을 첨가한 후 95℃에서 3분간 annealing하고 RS 바이러스의 F gene 부위의 cDNA 합성은 42℃에서 45분간 반응시켰고 SH gene부위의 cDNA 합성은 37℃에서 45분간 반응시켰다.

5. 역전사 중합효소연쇄반응 (Nested RT-PCR)

1차반응은 반응액 100 l 당 상보 DNA template 2μl, 50nM 일차 primer쌍, 10mM Tris-HCL (pH8.8), 50mM KCl, 0.1% Triton X-100, 4mM MgCl₂, 200μM dNTPs, 1unit DynaZyme (Finnzyme OY, Finland)를 넣고 mineral oil을 첨가한 후 Single Block Thermal Cycler (Elicomp, San Diego, CA)로 35회 주기로 증폭하였다. F gene부위의 증폭에 사용한 주기는 94℃ 1분, 43℃ 1분, 72℃ 3분이었으며, SH gene부위의 주기는 94℃ 1분, 35℃ 1분 30초, 72℃ 2분 30초이었으며 첫번째 주기는 94℃ 5분, 마지막 주기는 72℃ 10분을 이용하였다. 2차반응은 각 부위별 위와 동일한 방법으로 2차 primer쌍을 사용하여 증폭한 후 1% agarose gel상에서 F gene부위는 213bp, SH gene부위는 204bp 크기의 각각의 PCR 산물을 확인한 다음 Centricon-100 (Amicon, USA)를 이용하여 manual에 따라 정제한 후 -20℃에서 보관하였다.

6. RS 바이러스 cDNA의 염기서열 결정

Cyclist ExoPfu Sequencing Kit (Stratagene, La Jolla, CA)를 사용하여 G, A, T, C 각 tube에 해당하는 ddNTP를 3μl씩 분주한 후 반응액 30μl 당 200fM template, 33nM primer, 4μl 10X sequencing buffer, 10 Ci [*a*-³⁵S]ATP, 2.5unit ExoPfu DNA

polymerase, 4μl DMSO를 혼합하여 제조한 혼합액 7μl를 각 tube에 첨가하고 mineral oil을 가하여 Thermal Cycler로 30회 주기로 증폭하였다. 증폭에 사용한 주기는 F gene부위는 95℃ 30초, 60℃ 30초, 72℃ 1분, SH gene부위는 95℃ 30초, 45℃ 40초, 72℃ 1분이었으며 첫번째 주기는 95℃ 5분을 사용하였고 5μl의 stop dye mix를 oil층 아래에 첨가하여 반응을 정지시켜 -20℃에 보관하였다. 위 반응액을 85℃에서 5분간 변성시킨 후 4μl씩을 sequencing apparatus (GIBCO BRL, Gaithersburg, MD)를 사용하여 8% polyacrylamide sequencing gel에 2000V로 전기영동하고 gel dryer (Hoffer, San Francisco, CA)로 건조시킨 후 2일간 X-ray film (AGFA, German)에 노출한 후 현상하여 판독하였다.

7. RS 바이러스 염기서열의 분석

환자 검체에서 얻은 RS 바이러스들의 F 및 SH gene부위의 cDNA의 염기서열과 이미 보고된 미국과 유럽의 RS 바이러스 strain들 (Table 2)의 염기서열의 homolgy와 nucleotide의 변이의 양상을 비교분석하고 Phylogenetic Analysis Using Parsimony Version 3.1 (PAUP; Illinois Natural History Survey, Champaign, IL) [33]을 이용하여 이들 염기서열들의 계통수를 작성하였다.

결 과

1. RS 바이러스 검출

총 66례의 비인두분비물 검체중 8례 (12.1%)에서 RS 바이러스가 검출되었다 (Table 3). 8례의 RS 바이러스 검출 양성례는 모두 1994년 11월에 채취한 검체에서 검출되어 11월 한달의 기간만

```

6136                                     6225
A2 AACAAAGGCTGTAGTCAGCTTATCAAATGGAGTTAGTGTCTTAACCAGCAAAGTGTAGACCTCAAAAATATATAGATAAACAAATTGTTA
Long .....C.....
Tracy .....C.....
RSS2 .....G.....
RSV16 .....G.....
RSV22 .....G.....C.....A.....T.....G.....
RSV53 .....C.....T.....T.....G.....C.....
RSV56 .....G.....
RSV57 .....G.....
RSV60 .....G.....
RSV61 .....G.....
18537 .....A.....TC.....G.....C.....T.....T.....G.....T.....C.....A.....C.....G.....A.....

```

```

6226                                     6308
A2 CCTATTGTGAACAAGCAAAGCTGCAGCATATCAAATATAGAACTGTGATAGAGTCCAAACAAAAGAACAACAGACTACTAGA
Long .....T.....A.....
Tracy .....T.....A.....
RSS2 .....T.....C.....T.....
RSV16 .....C.....T.....A.....
RSV22 .....C.....T.....
RSV53 .....C.....A.....T.....
RSV56 .....T.....A.....
RSV57 .....T.....A.....
RSV60 .....T.....A.....
RSV61 .....T.....A.....
18537 .....C.....A.....A.....TC.....A.....G.....TC.....C.....C.....C.....T.....A.....T.....A.....G.....G.....T.....T.....G.....T.....GT.....G.....

```

Fig. 1. Alignment and comparison of nucleotide sequences of the F gene region (bases 6136 to 6308) of the subgroup A strains in RS virus isolated in Korea. For comparison, corresponding sequences are shown for subgroup A strains from USA (Long), Canada (Tracy), UK (RSS2) and Australia (A2), for subgroup B strain from UK (18537).

```

4281                                     4370
A2 AATTCTCAAGCAAATTCGGCCTTACTTTACACTAATACACATGATCACAACAATAATCTCTTTGCTAATCATAATCTCCATCATGATTG
Long .....C.....
RSS2 .....A.....
RSB1202 .....T.....A.....C.....
RSB1734 .....C.....T.....A.....C.....
RSG1504 .....A.....C.....
RSG4988 .....A.....
RSV22 .....A.....
RSV53 .....A.....

18537 .....A.....T.....T.....T.....TT.....TCC.....A.....T.....A.....T.....T.....
RSB641 .....A.....T.....C.....T.....T.....TT.....TC.....A.....T.....A.....T.....T.....
RSN2 .....A.....T.....T.....T.....T.....TT.....TC.....A.....T.....A.....T.....T.....
RSN1599 .....A.....T.....T.....T.....T.....TT.....TC.....A.....T.....A.....T.....T.....
RSN7454 .....A.....T.....C.....T.....T.....TT.....TC.....A.....T.....A.....T.....T.....
RSV14 .....A.....T.....C.....T.....T.....TT.....TC.....A.....T.....A.....T.....T.....

4371                                     4441
A2 CAATACTAAACAAACTTTGTGAATATAACGTATTCCATAACAAAACCTTTGAGTTACCA-AGA-GC-TCGAGTC
Long .....C.....C.....
RSS2 .....C.....C.....
RSB1202 .....C.....C.....
RSB1734 .....C.....C.....
RSG1504 .....A.....C.....
RSG4988 .....C.....C.....
RSV22 .....C.....C.....
RSV53 .....C.....C.....

18537 .....T.....G.....AA.....C.....AAC.....TGC.....TC.....AC.....GG.....C.....T.....TA.....A.....A.....
RSB641 .....T.....G.....AA.....C.....AAC.....TG.....TC.....ACA.....GG.....C.....T.....TA.....A.....A.....
RSN2 .....T.....G.....AA.....C.....AC.....TG.....TC.....AC.....GG.....C.....T.....TA.....A.....A.....
RSN1599 .....T.....G.....AA.....C.....AAC.....TG.....TC.....AC.....GG.....C.....T.....TA.....A.....A.....
RSN7454 .....T.....G.....AG.....C.....AAC.....TG.....TC.....ACA.....GG.....C.....T.....TA.....A.....A.....
RSV14 .....T.....G.....AA.....C.....ACC.....TG.....TC.....ACA.....GG.....C.....T.....TA.....A.....A.....

```

Fig. 2. Alignment and comparison of nucleotide sequences of the SH gene region (bases 4281 to 4441) of the subgroup A and B strains in RS virus isolated in Korea. For comparison, corresponding sequences are shown for subgroup A strains from USA (Long), Australia (A2) and UK (RSS2, RSB1202, RSB1734, RSG1504, RSG4988), for subgroup B strain from UK (18537, RSB641, RSN2, RSN1599, RSN7454).

Table 2. RS virus strains compared in this study

Virus strain	Place of origin	Date isolated	Sub-group
Long	Baltimore (USA)	1956	A
A2	Melbourne (Australia)	1961	A
18537	Washington (USA)	1962	B
RSN2	Newcastle (U.K.)	1972	B
RSG1504	Glasgow (U.K.)	1972	A
RSN1599	Newcastle (U.K.)	1975	B
RSG4988	Glasgow (U.K.)	1976	A
RSS2	Salisbury (U.K.)	1976	A
SRN7454	Newcastle (U.K.)	1988	B
RSB641	Birmingham (U.K.)	1989	B
RSB1202	Birmingham (U.K.)	1989	A
RSB1734	Birmingham (U.K.)	1989	A

Reference: Cane PA et al.,³²⁾

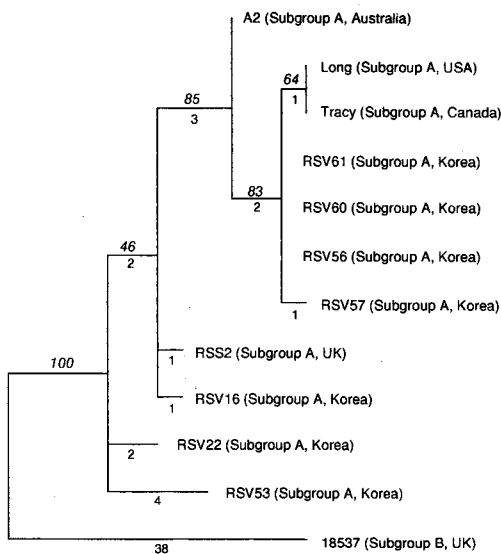


Fig. 3. Phylogenetic tree based on the 173bp region of the F gene of RS virus strains isolated in Korea, and corresponding sequences of RS virus strains from USA, Canada, UK and Australia, constructed by the PAUP method.

으로 본 검출율은 16.0%이었으며, 검출례의 연령분포는 2-7세이었다. 검출양성인 8례의 임상상에 따른 분포양상은 4례는 상기도감염 환자이었고 3례는 급성중이염 환자이였으며 1례는 상기도감염과 급성중이염이 동반되어 있었다. RS 바이러스의 subgroup에 따른 분포에서는 7례 (87.5%)은 RS 바이러스 subgroup A 이었고, 1례 (12.5%)는 RS 바이러스 subgroup B로 A, B 두 subgroup이 모두 국내에서 유행하고 있음을 알수 있었으며 1994-1995년 겨울에는 subgroup A가 주로 유행한 것으로 추정되었다. Nested RT-PCR에 따른 항원검출 양상에서는 7건의 subgroup A 중 2건은 RS 바이러스의 F 및 SH gene 부위의 primer pair를 이용한 검사 모두에서 증폭되었으나 5건은 F

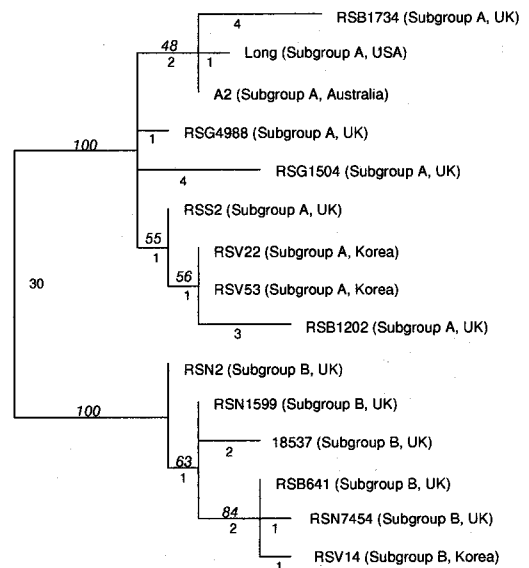


Fig. 4. Phylogenetic tree based on the 161bp (subgroup A) and 164bp (subgroup B) regions of the SH gene of RS virus strains isolated in Korea, and corresponding sequences of RS virus strains from USA, UK and Australia, constructed by the PAUP method.

Table 3. Profiles of positive cases for RS virus by PCR in nasopharyngeal swab

Strain	Age	Sex	Disease	Month of sampling	Subgroup	PCR region
RSV 14	2	M	AOM	1994. 11	B	SH
RSV 16	2	F	URI	1994. 11	A	F
RSV 22	6	M	AOM	1994. 11	A	F, SH
RSV 53	5	F	URI	1994. 11	A	F, SH
RSV 56	7	M	URI	1994. 11	A	F
RSV 57	4	F	AOM	1994. 11	A	F
RSV 60	4	M	AOM, URI	1994. 11	A	F
RSV 61	7	F	URI	1994. 11	A	F

AOM: Acute otitis media, URI: Upper respiratory infection.

Table 4. Nucleotide homologies of the F gene region in RS virus strains isolated in Korea and different geographic areas

Virus strain	A2 (Australia)	Long (USA)	RSS2 (U.K.)	Tracy (Canada)	RSV 56 (Korea)	RSV 60 (Korea)	RSV 61 (Korea)	RSV 57 (Korea)	RSV 22 (Korea)	RSV 16 (Korea)	RSV 53 (Korea)	18537 (USA)
	Percentage homologies of nucleotide sequences											
A2 (Australia)	98.3	97.7	98.3	98.8	98.8	98.8	98.8	98.3	9.60	97.7	94.8	77.5
Long (USA)		96.0	100.0	99.4	99.4	99.4	99.4	98.8	94.2	96.0	93.1	76.9
RSS2 (U.K.)			96.0	96.5	96.5	96.5	96.5	96.0	97.1	98.8	96.0	78.6
Tracy (Canada)				99.4	99.4	99.4	99.4	98.8	94.2	96.0	93.1	76.9
RSV 56 (Korea)				100.0	100.0	100.0	100.0	99.4	94.8	96.5	93.6	77.5
RSV 60 (Korea)					100.0	100.0	100.0	99.4	94.8	96.5	93.6	77.5
RSV 61 (Korea)						100.0	100.0	99.4	94.8	96.5	93.6	77.5
RSV 57 (Korea)							99.4	99.4	94.8	96.5	93.6	77.5
RSV 22 (Korea)								99.4	94.8	96.5	93.6	77.5
RSV 16 (Korea)									94.2	96.0	93.1	76.9
RSV 53 (Korea)										97.1	96.5	78.0
18537 (USA)											96.0	76.9

Note. Pairwise differences based on 173 nucleotide sequences of the F gene region are presented as a triangular matrix.

Table 5. Base substitution patterns of the F gene region in RS virus strains isolated in Korea and different geographic areas compared to prototype strain of subgroup A(A2)

Strain Name	Transition										Transversion						Total change	Percent Transition	Position			Percent of 3 position change			
	to CC					to CT					G-T			A-T					G-C				A-C		
	G to G	A to A	C to C	T to T	Subtotal	G to G	A to A	C to C	T to T	Subtotal	G-T	A-T	G-C	A-C	Subtotal	1			2	3					
Long	0	0	1	1	2	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	3	67	0	0	3	100	
Tracy	0	0	1	1	2	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	3	67	0	0	3	100	
RSS2	0	1	1	1	3	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1	4	0	0	4	75	0	0	4	100	
RSV16	1	1	1	0	3	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1	4	0	0	4	75	0	0	4	100	
RSV 22	1	2	2	1	6	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1	7	0	0	7	86	0	0	7	100	
RSV 53	0	1	3	2	6	0	0	2	1	3	0	0	1	1	9	1	2	6	67	50	0	2	100		
RSV 56	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	1	2	0	0	0	2	50	0	0	2	100	
RSV 57	0	1	0	1	2	0	0	0	1	1	0	0	1	1	3	0	0	0	3	67	0	0	3	100	
RSV 60	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	1	1	2	0	0	0	2	50	0	0	2	100	
RSV 61	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	1	1	2	0	0	0	2	50	0	0	2	100	
18537	6	9	5	9	29	1	0	4	5	10	1	0	4	5	39	6	3	30	74	74	6	3	30	77	

Table 6. Nucleotide homologies of the SH gene region in RS virus subgroup A strains isolated in Korea and different geographic areas

Virus strain	A2 (Australia)		Long (USA)		RSS2 (U.K.)		RSB 1202 (U.K.)		RSB 1734 (U.K.)		RSG 1504 (U.K.)		RSG 4988 (U.K.)		RSV 22 (Korea)		RSV 53 (Korea)	
	to CT	to CC	to T	Subtotal	G-T	G-C	A-T	A-C	Subtotal	change	Percent Transition	Position 1	Position 2	Position 3	Percent of 3 position change			
A2 (Australia)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Long (USA)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
RSS2 (U.K.)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
RSB 1202 (U.K.)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
RSB 1734 (U.K.)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
RSG 1504 (U.K.)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
RSG 4988 (U.K.)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
RSV 22 (Korea)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
RSV 53 (Korea)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Percentage homologies of nucleotide sequences

Note. Pairwise differences based on 161 nucleotide sequences of the SH gene region are presented triangular matrix.

Table 8. Base substitution patterns of the SH gene region in RS virus strains isolated in Korea and different geographic areas compared to prototype strain of subgroup A(A2) and B(18537)

Strain Name	Transition				Transversion				Total change			Position			Percent of 3 position change
	G to AA	to CT	to CC	to T	G-T	G-C	A-T	A-C	Subtotal	change	Transition	1	2	3	
Subgroup A															
Long	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	100	0	1	0	0
RSS2	0	0	2	0	0	0	0	1	1	3	67	1	0	2	67
RSB1202	0	0	3	1	0	0	0	1	1	5	80	0	1	4	80
RSB1734	1	0	1	1	0	0	0	1	1	4	75	1	1	2	50
RSG1504	1	0	2	0	0	0	1	0	1	4	75	2	1	1	25
RSG4988	0	0	3	0	0	0	0	0	0	3	100	1	1	1	33
RSV22	0	0	3	0	0	0	0	1	1	4	75	1	0	3	75
RSV53	0	0	3	0	0	0	0	1	1	4	75	1	0	5	75
Subgroup B															
RSB641	0	0	1	2	0	0	1	0	1	4	75	0	2	2	50
RSN2	0	0	0	2	0	0	0	1	1	3	67	0	1	2	67
RSN1599	0	0	0	2	0	0	0	0	0	2	100	0	1	1	50
RSN7454	0	1	1	2	0	0	1	0	1	5	80	1	2	2	40
RSV14	0	0	1	2	0	0	1	1	2	5	60	1	2	2	40

gene 부위의 primer pair를 이용한 검사에서만 증폭이 확인되었으며 subgroup B는 SH gene 부위만 조사하였고 1건이 증폭되었다.

2. 분리된 RS 바이러스 F gene 염기서열 분석

1994년 11월에 국내 환자에서 검출된 7건의 RS 바이러스 subgroup A의 F gene 부위의 173bp 염기서열을 subgroup A의 원형인 A2 strain 및 Genebank상의 Long, Tracy, RSS2 염기서열과 subgroup B의 원형인 18537 strain의 염기서열과 비교정렬하여 Figure 1과 같은 결과를 얻었다. 국내에서 관찰된 RS 바이러스 subgroup A인 RSV16, RSV22, RSV53, RSV56, RSV57, RSV60, RSV61 strain들은 subgroup A의 원형인 A2 strain과 비교시 2-9개의 염기서열상의 변이로 95-99%의 동질성을 보였으며, 국내 strain들 상호간의 비교시에는 0-12개의 변이로 93-100%의 동질성을 나타내었다 (Table 4,5). 염기서열상의 변이양상에서는 deletion이나 insertion 변이는 관찰되지 않았으며 모든 변이는 base substitution으로 각 strain별로 50-86%의 변이가 transition이었고 특히 cytosine이 thymine으로나 thymine이 cytosine으로의 변이가 65% 이상으로 주종을 이루고 있었다 (Table 5). 또한 F gene의 open reading frame의 codon 위치상에서 codon위치 세번째의 변이가 대부분을 차지하여 RSV53 strain에서만 codon위치 첫번째, 두번째에서의 변이가 관찰되었고 다른 국내 strain들에서는 codon위치 세번째의 변이만이 관찰되었다 (Table 5). 따라서 대부분의 변이는 silent mutation으로 RSV16, RSV22 strain에서는 아미노산의 변이를 초래하는 base substitution은 관찰되지 않았으며 RSV56, RSV57, RSV60, RSV61 strain에서는 6252위치의 cytosine이 adenine으로 변이함

에 따른 Serine (Ser)에서 Argine (Arg)으로의 변이 1개만이 관찰되었고, RSV53 strain에서만 6263 및 6284위치의 변이로 인한 Isoleucine (Ile)에서 Asparagine (Asn)으로의 변이 및 Glutamine (Gln)에서 Leucine (Leu)으로의 변이 2개가 관찰되었다.

3. 분리된 RS 바이러스 SH gene 염기서열 분석

환자에서 검출된 2건의 RS 바이러스 subgroup A 및 1건의 RS 바이러스 subgroup B의 SH gene 부위 161bp (subgroup B는 164bp)의 염기서열을 subgroup A의 원형인 A2 strain 및 Long, RSS2, RSB1202, RSB1734, RSG1504, RSG4988 strain들의 염기서열과 subgroup B의 원형인 18537 strain 및 RSB641, RSN2, RSN1599, RSN7454 strain들의 염기서열과 비교정렬하여 Figure 2와 같은 결과를 얻었다. 국내에서 관찰된 RS 바이러스 subgroup A인 RSV22와 RSV53 strain의 염기서열은 F gene부위에서의 차이와는 달리 동일하였으며 subgroup A의 원형인 A2 strain과 비교시 4개의 염기서열상의 변이로 97.5%의 동질성을 보였으며, subgroup B인 RSV14 strain은 subgroup B의 원형인 18537 strain과 비교시 5개의 염기서열상의 변이로 97.0%의 동질성을 나타내었다 (Table 6-8). 염기서열상의 변이양상에서는 F gene 부위와 마찬가지로 deletion이나 insertion 변이는 관찰되지 않았으며 모든 변이는 base substitution으로 transition 변이 특히 cytosine이 thymine으로나 thymine이 cytosine으로의 변이가 주종을 이루고 있었다 (Table 8). 한편 SH gene의 open reading frame의 codon 위치상의 변이양상에서는 subgroup A인 RSV22와 RSV53 strain에서는 codon위치 세번째의 변이가 4개의 변이중 3개이며 나머지

Table 7. Nucleotide homologies of the SH gene region in RS virus subgroup B strains isolated in Korea and different geographic areas

Virus strain	18537 (USA)	RSB641 (U.K.)	RSN2 (U.K.)	RSN1599 (U.K.)	RSN7454 (U.K.)	RSV14 (Korea)
Percentage homologies of nucleotied sequences						
18537 (USA)		97.6	98.2	98.8	97.0	97.0
RSB641 (U.K.)			98.2	98.8	99.4	99.4
RSN2 (U.K.)				99.4	97.6	97.6
RSN1599 (U.K.)					98.2	98.2
RSN7454 (U.K.)						98.8
RSV14 (Korea)						

Note. Pairwise differences based on 164 nucleotide sequences of the region are presented triangular matrix.

지 1개의 변이도 codon위치 첫번째의 변이이지만 아미노산의 서열은 보존되는 변이인 반면 subgroup B인 RSV14 strain은 5개의 변이중 3개가 codon위치 첫번째, 두번째의 변이이며 모두 아미노산서열의 변화를 초래하는 변이로 관찰되었다 (Table 8). RSV14 strain의 아미노산 서열의 변화 양상을 보면 4335, 4400, 4425위치의 변이로 인한 Proline (Pro)에서 Leucine (Leu), Threonine (Thr)에서 Proline (Pro), Leucine (Leu)에서 Glutamine (Gln)으로의 변이가 관찰되었다.

4. 분리된 RS 바이러스의 계통분석

RS 바이러스 strain들의 F 및 SH gene 부위의 염기서열을 RS 바이러스의 원형 및 기존에 알려진 strain들의 염기서열과 함께 PAUP법으로 분석하여 Figure 3,4와 같은 계통수를 작성하였다. 각 계통수는 가장 적은 branch 길이를 갖는 consensus 계통수를 선택하여 mid-portion rooting에 의해 작성하였으며 각 branch의 상단에는 bootstrap의 확률을 퍼센트로 표시하였고 하단에는 염기의 변화 갯수를 표시하였다. 각 branch의 길이는 염기의 변화 갯수에 비례하여 표시되었으며 bootstrap의 확률은 1000 resampling을 하여 구하였다.

F gene 부위의 염기서열에 의해 작성된 계통수 (Fig. 3) 상에서 국내에서 유행한 RS 바이러스 subgroup A strain들은 기존에 미국, 캐나다, 영국, 호주등지에서 분리된 subgroup A strain들과 밀접한 연관관계를 나타내었다. 특히 RSV56, RSV57, RSV60, RSV61 strain들은 약40년전인 1956년에 미국의 볼티모어 지역에서 분리되었던 Long strain과 83%의 확률로 한그룹을 형성하였다.

SH gene 부위의 염기서열에 의해 작성된 계통수 (Fig. 4) 상에서 국내에서 유행한 RS 바이러스 및 기존에 미국, 영국, 호주등지에서 분리된 RS 바이러스 strain들은 subgroup의 차이에 따라 100%의 확률로 자기 다른 두그룹을 형성하였으며, 국내에서 유행한 RS 바이러스 subgroup A 및 B strain들은 각각 기존에 알려진 subgroup A 및 B strain들과 밀접한 연관성을 나타내었고 국내 strain들만의 독특한 양상은 관찰되지 않았다.

고 찰

호흡기 감염은 유소아에서 가장 흔한 감염증이며 특히 하기도 감염증으로 국내 대학병원 및

수련병원에 입원하는 환자의 비율은 10-20%이며[32-34] 이의 원인으로는 폐렴구균, *Hemophilus influenza*, *Mycoplasma*, 포도상구균등의 세균성 감염과 *RS virus*, *adenovirus*, *parainfluenza virus*, *influenza virus*등의 바이러스성 감염을 들 수 있다. 선진국의 경우에는 세균성 감염보다는 바이러스감염의 비율이 높게 나타나고 있으며 바이러스성 감염에서는 *RS virus* 감염이 가장 높은 빈도를 나타내는 것으로 보고되고 있고 국내 연구결과에서도 바이러스 감염중 *RS virus* 감염이 가장 많은 것으로 보고되었다 [35].

RS virus 감염의 항원진단법으로는 세포배양법, 단클론 항체를 이용한 ELISA법 및 형광항체법, RT-PCR법 등이 있으며, 이들은 하기도 감염증에서 HEp-2 세포를 이용한 *RS virus* 분리율은 27.2% 였다고 보고하였다 [35].

급성중이염 및 삼출성중이염은 여러가지 복합적인 요인에 의하여 발생하며 그 중 감염에 의한 것은 주로 폐렴구균과 *H. influenza* 등의 세균성 감염이 주로 알려져왔으며 세균이 배양되지 않는 무균성 중이염도 30-45%정도 되는 것으로 보고되고 있다 [23,36]. 근래에는 삼출성중이염에서 바이러스 감염에 대한 연구가 활발히 진행되었으며 특히 *RS virus* 감염과의 연관성에 관한 연구가 Klein 등 이후 많이 진행되어 중이삼출액에서의 *RS virus* 항원 검출율이 18.9%~61.8%로 보고되었다 [20,24,37]. Cherry 등의 연구에 의하면 *RS virus* 항원검출은 발병 3주 이내, 특히 발병 5일내의 검체에서 높은 것으로 보고되고 있으나 [38,39] 현실적으로 삼출성 중이염의 치료는 내과적 치료가 우선으로 되어 있고 재발이 심한 경우나 내과적 치료로 호전되지 않고 만성화되는 경우에 고막절제술등의 외과적 치료를 시행하도록 권하고 있기 때문에 [36,40] 발병 5주이전의 중이삼출액을 채취하기가 어려웠으며 특히 고막절제술을 시행하기 위하여서는 소아의 경우 전신마취를 시행해야 하는 어려움으로 인하여 2세 이하의 영아나 발병 3주이전의 삼출액을 채취하는 것이 어려웠다.

RS 바이러스감염은 온대지역의 경우 뚜렷한 계절성을 나타내어 주 유행시기가 늦은가을에서 봄사이로 여름철에는 거의 발생하지 않는 것으로 알려져 있다 [14-18]. 또한 유행지속기간은 약 5개월 정도이고 40%의 감염이 유행시기중 한달 정도의 기간에 집중적으로 발생하여 유행시기에

는 유소아의 50%이상이 감염되는 것으로 보고되고 있다 [41]. 국내에서도 이들의 [35] 보고에 의하면 조사기간 동안 RS 바이러스 감염은 매년 발생하여 1990년부터 1994년까지 5년간 겨울에 지속적으로 유행한 것을 알 수 있었다. 따라서 국내에서는 매년 겨울철에 상기도 감염 증상을 보이는 소아환자의 경우 RS 바이러스 감염을 우선적으로 의심하여야 할 것으로 사료되었다.

RS 바이러스는 현재까지 규명된 바에 의하면 혈청학적으로는 하나의 혈청형만이 보고되고 있으며 중화항체가에서 3-4배의 차이를 보이는 두 종류의 subgroup A와 B가 동시에 유행하는 것으로 알려져 있다 [10,11]. 이러한 두 subgroup간의 항원적 차이는 주로 G 당단백의 구조적 차이에 의한 것으로 알려져 있으나 RS 바이러스의 높은 재감염율이나 유행양상과 subgroup간의 항원적 차이와의 연관성은 아직 명확히 밝혀진 바 없으며 많은 재감염의 경우 동일한 subgroup에 의한 감염이 다른 subgroup에 의한 감염보다 높은 것으로 알려져 있다 [42]. 또한 RS 바이러스의 subgroup간의 분리비율에 있어서는 subgroup A가 subgroup B에 비하여 보다 많이 분리되는 것으로 알려져 있으며 한 유행시기에 두 subgroup이 동시에 분리되는 경우가 보통이나 그 비율에 있어서는 주 유행 subgroup이 10:1의 비율로 다수를 점하는 것으로 알려져 있다 [43]. 본 연구결과에서도 두 subgroup이 모두 검출되었으며 subgroup A와 subgroup B의 비율이 7:1이었다.

본 연구에서는 F 및 SH gene 부위의 각기 4개 및 5개의 primer를 사용하였다. 현재까지 알려진 RS 바이러스의 10개의 gene들 중에서 이 두 부위에 대한 유전정보가 다른 부위에 비해 많이 규명되어 있어 염기서열 비교에 용이하다는 점 이외에 F gene 부위는 중화항체 생성에 가장 중요한 항원 부위이고 SH gene 부위는 10개의 gene들 중 가장 길이가 짧으며 RS 바이러스의 두 subgroup을 nested RT-PCR법으로 쉽게 구분할 수 있는 장점을 지니고 있어 이 두 부위를 선정하였다. 특히 SH gene 부위의 경우에는 degenerate primer를 고안하여 두 subgroup의 구분뿐만 아니라 동시에 두 subgroup을 증폭할 수 있는 generic primer를 선정하고자 하였다. 그러나 generic primer를 사용한 반응에서는 PCR 산물을 얻을 수 없었으며 그 원인으로서는 primer의 결합 부위의 염기서열이 현재까지 알려진 자료이외에 다양한 양상을 나타

내는 것으로 생각되었다. 또한 F gene 부위의 증폭에서는 7건의 subgroup A strain이 증폭된데 비하여 SH gene 부위의 증폭에서는 7건 중 2건만이 증폭되었다. 증폭된 2건은 염기서열 및 계통분석상 밀접한 연관성을 나타내어 증폭되지 않은 다른 5건의 strain들은 primer 결합부위의 염기서열이 증폭된 2건과는 차이가 있는 것으로 추정되었고 따라서 다른 부위의 새로운 primer를 선정하거나 기존 primer의 염기서열을 조절할 필요가 있는 것으로 사료되었다.

F gene 부위의 염기서열에서 국내에서 발견된 RS 바이러스 subgroup A는 5종류의 다른 유형을 나타내었으며 기존에 알려지지 않았던 염기서열상의 변이들이 관찰되었으나 국내 RS 바이러스 strain에만 특이하게 관찰되는 공통적인 염기서열상의 변이는 관찰되지 않았다. SH gene 부위의 염기서열 분석에서도 국내에서 발견된 RS 바이러스 subgroup A와 B strain들에서 관찰된 변이는 기존에 알려진 염기서열에서 관찰되었던 변이들과 동일한 부위에서의 변이만이 관찰되었다. F 및 SH gene 부위의 염기서열에 따라 작성된 계통수에서도 국내에서 발견된 RS 바이러스 subgroup A와 B strain들은 기존의 미국, 캐나다, 영국, 호주 지역에서 분리된 RS 바이러스 subgroup A와 B strain들과 각 subgroup에 따라 구분되어지는 계통그룹을 형성하였다. Table. 2에 나타난 바와 같이 국내에서 발견된 RS 바이러스 subgroup A와 B strain들과 비교분석한 외국의 RS 바이러스 subgroup A와 B strain들은 시기적으로는 1956년에서 1989년 사이에 분리된 바이러스들이고 지역적으로 북미, 유럽 및 대양주에서 분리된 바이러스들로 1994년 국내에서 발견된 바이러스와는 시기적으로는 최대 약 40년의 차이와 지역적으로는 수천 km가 넘는 거리적인 차이가 있음에도 불구하고 밀접한 연관성을 나타내었다. 이와같은 결과는 RS 바이러스의 유행양상 분석에서 RS 바이러스의 감염은 다른 지역이나 공동체로부터의 바이러스 전파나 유입보다는 한 공동체나 지역내에서 바이러스가 잠재하여 있다가 매년 겨울철에 재유행하는 것으로 분석되고 있는 연구 결과를 [44] 고려하면 바이러스학적이거나 유전학적으로 내포하고 있는 의미가 크다고 할 수 있다. 즉 F 및 SH gene 부위는 그 gene의 구조가 바이러스의 증식이나 전파에 매우 중요하여 높은 안정성을 유지함으로써 거의 변이가 발생하

지 않는 부위이거나, RS 바이러스 자체가 출현한지 얼마 되지 않은 새로운 바이러스로 아직까지 지역적인 특성을 나타낼 정도의 변이가 축적될 수 있는 시간이 부족하였다고 고려될 수 있다. 그러나 호흡기 감염에 의해 전파되는 RS 바이러스가 교통수단의 발달이나 각 지역간의 교류 및 이동의 증가로 인하여 거의 전세계적으로 동일한 바이러스가 유행하고 있거나 또는 RS 바이러스가 새로운 바이러스로 높은 안정성을 갖고 있는가에 관하여서는 앞으로 보다 광범위한 연구가 진행되어야 할 것으로 사료되었다.

결 론

1994년 11월부터 1995년 2월까지 고려대학 병원 이비인후과에 내원한 환자 중 호흡기질환 또는 중이염을 주소로 하는 1-9세 사이의 환자 66명을 대상으로 하여 역전사 중합효소연쇄반응법으로 RS 바이러스 항원검색을 실시하고 증폭된 PCR산물의 염기서열결정과 계통분석을 실시하였다. 비인두분비물 검체를 대상으로한 역전사 중합효소연쇄반응법에 의한 RS 바이러스 검출 양성률은 16.0%(8/66)이었고 RS 바이러스 subgroup A, B 모두 검출되었고 7:1로 subgroup A가 많았다. F gene 부위의 염기서열 분석결과 국내에서 관찰된 RS 바이러스 subgroup A strain들은 subgroup A의 원형인 A2 strain과 95-99%의 동질성을 보였으며, 국내 strain들 상호간의 비교 시에는 93-100%의 동질성을 나타내었다. SH gene 부위의 염기서열 분석결과 국내에서 관찰된 RS 바이러스 subgroup A strain은 subgroup A의 원형인 A2 strain과 비교시 97.5%의 동질성을 보였으며, subgroup B strain은 subgroup B의 원형인 18537 strain과 비교시 97%의 동질성을 나타내었다. 국내에서 관찰된 RS 바이러스 strain들의 F 및 SH gene 부위의 변이는 모두 base substitution이었으며 transition 및 codon위치 세번체의 변이가 주종이었으며 F 및 SH gene 부위의 염기서열에 의해 작성된 계통수상에서 국내에서 유행한 RS 바이러스 strain들은 기존에 미국, 캐나다, 영국, 호주등지에서 분리된 strain들과 밀접한 연관관계를 나타내었다. 이상의 결과로 국내에서 검출된 RS 바이러스들은 기존에 규명된 북미, 유럽, 호주등지에서 유행하는 RS 바이러스들과 유사한 유전정보를 공유하는 동종의 바이러

스로 사료되었다.

참 고 문 헌

1. Morris JA Jr, Blount RE, Savage RE: Recovery of cytopathogenic agent from chimpanzee with coryza. Proc Soc Exp Biol Med 92:544-550, 1956.
2. Chanock RM, Finberg L: Recovery from infants with respiratory illness of a virus related to chimpanzee coryza agent (CCA). II. Epidemiological aspects of infection in infants and young children. Am J Hyg 66:291-300, 1957.
3. Chanock RM, Roizman B, Myers R: Recovery from infants with respiratory illness of a virus related to chimpanzee coryza agent (CCA). I. Isolation, properties and characterization. Am J Hyg 66:281-290, 1957.
4. Collins PL, Wertz GW: Gene products and genome organization of human respiratory syncytial (RS) virus. In: Lerner RA, Chanock RM, Brown F, eds. Modern approaches to vaccines. New York: Cold Spring Harbor Laboratory 297-301, 1985.
5. Venkatesan S, Elango N, Satake M, Camargo E, Chanock RM: Organization and expression of respiratory syncytial virus genome. In: Lerner RA, Chanock RM, Brown F, eds. Modern approaches to vaccines. New York: Cold Spring Harbor Laboratory 37-44, 1984.
6. Orvell C, Norrby E, Mufson MA: Preparation and characterization of monoclonal antibodies directed against five structural components of human respiratory syncytial virus subgroup B. J Gen Virol 68:3215-3135, 1987.
7. Walsh EE, Hruska J: Monoclonal antibodies to respiratory syncytial virus protein: identification of the fusion protein. J Virol 47:171-177, 1983.
8. Gimenez HB, Hardman N, Keir HM, Cash P: Antigenic variation between human respiratory syncytial virus isolates. J Gen Virol 863-870, 1986.
9. Storch GA, Park CS: Monoclonal antibodies demonstrate heterogeneity in the G glycoprotein of prototype strains and clinical isolates of

- respiratory syncytial virus. *J Med Virol* 22:345-356, 1987.
10. Anderson LJ, JC Hierholzer, C Tsou, RM hendry, BF Fernie, Y Stone, K McIntosh. Antigenic characterization of respiratory syncytial virus strains with monoclonal antibodies. *J Infect Dis* 151:626-633, 1985.
 11. Johnson PR, Olmsted RA, Prince GA, Murphy BR, Alling DW, Walsh EE, and Collins PL: Antigenic relatedness between glycoproteins of human respiratory syncytial virus subgroup A and B: evaluation of the contributions of F and G glycoproteins to immunity. *J Virol* 61:3163-3166, 1987.
 12. Johnson PR, Spriggs MK, Olmsted RA, Collins PL: The G glycoprotein of human respiratory syncytial viruses of subgroup A and B: extensive sequence divergence between antigenically related proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 84:5625-5629, 1987.
 13. McIntosh K, Chanock RM: Respiratory syncytial virus. DN Fields and DM Knipfel et al(ed) *Virology* 1045-1072, 1990.
 14. Glezen WP, Taber LH, Frank AL, Kasel JA: Risk of primary infection and reinfection with respiratory syncytial virus. *Am J Dis Child* 140: 543-546, 1986.
 15. Kim HW, Arrobio JO, Brandt CD, Jeffries. BC, Pyles G, Reid JL, Chanock RM, Parrott RH: Epidemiology of respiratory syncytial virus infection in Washington, D.C. I. Importance of the virus in different respiratory tract disease syndromes and temporal distribution of infection. *Am J Epidemiol* 98:216-225, 1973.
 16. Mufson MA, Levine HD, Wash RE, Mocega-Gonzales HE, Krause HE: Epidemiology of respiratory syncytial virus infection among infants and children in Chicago. *Am J Epidemiol* 98:88-95, 1973.
 17. Parrott RH, Kim HW, Arrobio JO, Hodes DS, Murphy BR, Brandt CD, Camargo E and Chanok RM: Epidemiology of respiratory syncytial virus infection in Washington, D.C. II. Infection and disease with respect to age, immunologic status, race and sex. *Am J Epidemiol* 98:289-300, 1973.
 18. Kim HW, Canchola JG, Brandt CD et al: Respiratory syncytial virus disease in infants despite prior administration of antigene inactivated vaccine. *Am J Epidemiol* 89:422-434, 1973.
 19. Henderson FW, collier AM, Sanyal MA, Watkins JM, Fairclough DL, Clyde WA, Denny FW: A longitudinal study of respiratory viruses and bacteria in the etiology of acute otitis media with effusion. *N. Engl J Med* 306:1377-83, 1982.
 20. Klein BS, Dollete FR, Yolken RH: The role of respiratory syncytial virus and other viral pathogens in acute otitis media. *J Pediatr* 101: 16-20, 1982.
 21. Areola M, Ruuskanen O, Ziegler T: Clinical role of respiratory virus infection in acute otitis media. *Pediatrics* 86:848-55, 1990.
 22. Harrison CJ, Belhorn TH: Antibiotic treatment failures in acute otitis media. *Pediatric annals* 20(11):600-8, 1991.
 23. Giebink GS. Otitis media update: Pathogenesis and treatment. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 101: 21-23, 1992.
 24. Yoshitaka O, Kazuo K, Kazuo I, Eiko I, Kiyoshi T, Ishiro S, Itaru M, Janak AP, Pearay LO: Presence of respiratory syncytial virus genomic sequences in middle ear fluid and its relationship to expression of cytokines and cell adhesion molecules. *J Infect Dis* 168:1277-81, 1993.
 25. Sanyal MA. Henderson FW, Collier AM, Stempel EC, Denny FW: Effect of upper respiratory tract infection on eustachian tube ventilatory function in the preschool child. *J Pediatrics* 97: 11-15, 1980.
 26. Chonmaitree T, Owen Datel JA, Hedgpeth D, Horilick D, and Howie VM: Effect of the viral respiratory tract infection on outcome of acute otitis media. *J of pediatrics* 120:856-862, 1992.
 27. Areola M, Ruuskanen O, Ziegler T: Respiratory virus infection as a cause of prolonged symtopms in acute otitis media. *J Pediatrics* 116:697-701, 1990.

28. Harsten G, Prellner K, Lofgren B, Kalm O: Serum antibodies against respiratory tract viruses in episodes of acute otitis media. *J of Laryngology and Otolology* 105:337-340, 1991.
29. Chonmaitree T, Owen MJ, Howie VM: Respiratory viruses interfere with bacteriologic response to antibiotic in children with acute otitis media. *J Infect Dis* 162:546-9, 1990.
30. Adrienne WP, James C, Andrew JL, Paul NG, Ray JH: Rapid detection of respiratory syncytial virus in nasopharyngeal aspirates by reverse transcription and polymerase chain reaction amplification, *J Clinical Microbiol* 30: 901-904, 1992.
31. Wayne MS, Lirong S, Larry JA: Analysis of respiratory syncytial virus genetic variability with amplified cDNAs. *J Clinical Microbiol* 31: 1224-1231, 1993.
32. 박정관, 박영희, 신재훈, 강지희: 시립병원 입원환자에 대한 통계적 고찰. *소아과* 28:206-210, 1985.
33. 송태숙, 정윤석, 박호진, 신미자: 소아과 입원 환자에 대한 통계적 관찰. *소아과* 28:1-15, 1985.
34. 한영철, 김학기, 이병철, 이경수, 조성훈, 이 두봉: 소아과 입원환자에 대한 통계적 관찰. *소아과* 30:385-391, 1987.
35. 이환중, 윤보영, 김미란, 윤종구: 소아 급성 하기도 감염의 원인 바이러스 및 이의 유행 양상. *감염* 27:319-332, 1995.
36. Cummings CW, Fredrickson JM, Harker LA, et al: *Otolaryngology-head and neck surgery*, 2nd ed. Vol IV, CV Mosby Co. 1993.
37. Yoshitaka O, Kazuo K, Koji S, Misao N, Eiko I, Kiyoshi T, Janak AP, Pearay LO: Detection of genomic sequences of respiratory syncytial virus in otitis media with effusion in children. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 101: 7-10, 1992.
38. Cherry JD: *Textbook of pediatric infectious disease*. Philadelphia, PA:WB Saunders, 155-161, 1987.
39. Douglas RG Jr, Alford BR, Couch RB: Atrumatic nasal biopsy for studies of respiratory virus infections in volunteers. *Antimicrob Agents Chemother* 8:340-393, 1968.
40. Paparella MM, Donald AS, Gluckman JL, et al: *Otolaryngology*, Vol II, WB saunders Co. 1991.
41. Brandt CD, Kim HW, Arrobio JO, et al: Epidemiology of respiratory syncytial virus infection in Washington, D.C. III. Composite analysis of eleven consecutive yearly epidemics. *Am J Epidemiol* 98:355-364, 1973.
42. Mufson MA, Belshe RB, Orvell C, Norrby E: Subgroup characteristics of respiratory syncytial virus strains recovered from children with two consecutive infection. *J Clin Microbiol* 25:1535-1539, 1987.
43. Mufson MA, Belshe RB, Orvell C, Norrby E: Respiratory syncytial virus epidemics: variable dominance of subgroup A and B strains among children. *J Infec Dis* 157:143-148, 1988.
44. Gilchrist S, Torok TJ, Gary HE Jr., Alexander JP, Anderson LJ: National surveillance for respiratory syncytial virus, United States, 1985-1990. *J Infec Dis* 170:986-990, 1994.