

한국에 서식하는 조류와 다람쥐의 *Hantavirus* 감염에 대한 생태학적 연구

단국대학교 자연과학대학 미생물학과

이연태 · 박철희 · 조규봉 · 송재응 · 박은병 · 최승구

=Abstract=

Ecologic Study of *Hantavirus* Infection in Avians and Squirrels in Korea

Yun-Tai Lee, Chul-Hee Park, Kyu-Bong Cho, Jae-Ong Song, Eun-Byung Park and Sung-Gu Choi

Department of Microbiology, College of Natural Science, Dankook University, Cheon An City, Korea

Hantavirus is the etiologic agent of hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS). It has been known that the natural reservoirs of *Hantavirus* are not only field mice but also other animals in parts of the world. In this study, to research on the host range of *Hantavirus*, immunofluorescent antibody against *Hantavirus* was investigated in wild birds from 1991 to 1992, duck from 1991 to 1992 and squirrels (*Tamias sibiricus*) in 1990 in Korea.

The results were as follows:

1. Of total 179 wild birds of 14 species, *Emberiza elegans elegans* and *Passer montanus dybowsky* were antibody positive. The positive rates were 3.92% (2 out of 51) and 1.64% (1 out of 61), respectively.
2. The antibody titers of wild birds were 1:16 and 1:64 in *Emberiza elegans elegans*, 1:16 in *Passer montanus dybowsky*.
3. The positive rate of antibody in ducks was 2.3% (3 out of 129).
4. The positive rate of antibody in squirrels was 48.10% (38 out of 79).

According these results, we newly showed that *passer montanus dybowsky*, domestic ducks and *Tamias sibiricus* possessed the antibody against *Hantavirus*.

Key Words: HFRS, *Hantavirus*, antibody

서 론

한타바이러스 (*Hantavirus*)는 신증후출혈열 (Haemorrhagic Fever with Renal Syndrom, HFRS) 를 일으키는 원인바이러스로 분야바이러스과 (*Bunyaviridae*)에 속하는 바이러스이다 [1,2].

신증후출혈열은 한국동란시 철의 삼각지를 중심으로
이 논문은 1993년 8월 2일 영국 Glasgow, Scotland 제9차 국제 바이러스학회에 발표되었음.

심으로, 1951년부터 1954년 사이에 약 3,000명 이상의 UN 군 사망자를 내어 [3] 세계적인 관심의 대상으로 부각되었으며, 최근에도 내국인에게 수백명의 환자가 발생하여 5-7% 정도의 사망율을 기록하고 있다 [4]. 또한, 1992년 말부터 미국의 New Mexico, Utah, Colorado 주에서 22명의 환자가 발생하여 75%의 사망율을 기록하였다 [5].

이러한 한타바이러스중에서 한탄바이러스 (*Hantaan virus*)가 1976년 등줄쥐 (*Apodemus agrarius coreae*)의 폐장으로부터 국내에서 세계최초로

분리되었으며 [6], 이후 대륙발취 (*Clethrionomys glareolus*)에서 푸말라바이러스 (*Puumala virus*) [7], 집쥐 (*Rattus norvegicus*와 *Rattus rattus*)에서 서울바이러스 (*Seoul virus*) [8], 미국의 갈밭쥐 (*Microtus pennsylvanicus*)에서 프로스펙 힐 바이러스 (*Pro-spect Hill virus*)가 분리되어 [9] 서로 다른 혈청형으로 인정되어 왔으며, 태국의 족제비 (*Bandivota*)에서 분리된 타일랜드 바이러스 (*Tailand virus*), 인도의 따쥐 (*Indian shrew*)에서 분리된 쏘타팔리얌 바이러스 (*Thottapalayam virus*) 등이 [10] 새로운 혈청형으로 추인되고 있다.

이상과 같이 아직도 전세계적으로 많은 환자를 발생시키고 있는 한타바이러스의 새로운 혈청형이 추가로 분리되어지고 있으며, 설치류에 국한되어 있던 숙주영역이 새로운 숙주들이 발견됨으로서 점차 넓어지는 추세에 있다 [11,12]. 또한 한타바이러스에 대한 불활화백신이 개발되어 보급되고 있는데도 불구하고 신증후출혈열의 의미있는 감소에 대하여 논란이 일고 있다. 따라서 신증후출혈열의 발생을 억제하기 위하여 미지의 한타바이러스 숙주들을 규명하고 그들의 역할을 규명하는 것이 무엇보다 중요하겠다 [13, 14].

한편 국내 일부지역에서 포획한 몇종의 야생조류에서 한타바이러스에 대한 항체검출이 보고되어 [15] 다른 종들에 대한 연구가 필요하며, 한타바이러스에 대한 항체가 검출되지 않았다고 보고되어진 [16] 오리에 대한 확인 실험도 필요할 것으로 사료되었다. 또한 한타바이러스의 주숙주동물인 등줄쥐와 유연관계가 가까운 다람쥐도 한타바이러스의 생활환에서 일정한 역할을 할 가능성이 많아 보였다. 따라서, 본 연구에서는 국내에 서식하는 야생조류 오리와 다람쥐 등에서 한타바이러스에 대한 면역형광항체 보유여부를 조사하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물 채집

1) 야생조류

1991년부터 1992년까지 충청남도 천안시, 청원군, 연기군, 당진군에서 새그물을 이용하여 14종 총 179마리를 포획하였다.

2) 오리

1991년 충청남도 연기군에서 49마리, 1992년

경기도 안성군에서 80마리 등 총 129마리를 농가에서 사육하는 오리로부터 채혈하였다.

3) 다람쥐

1990년 10월 강원도 홍천에서 야생하는 다람쥐 (*Tamias sibiricus*) 79마리를 포획하였다.

2. 채혈

야생조류와 다람쥐는 심장채혈, 오리는 날개 정맥에서 채혈하였으며, 분리한 혈청은 -60℃ 냉동고에 보관하면서 실험에 사용하였다.

3. 항원

간접형광항체법에 사용한 항원슬라이드는 등줄쥐의 폐에서 분리된 한타바이러스 76-118주를 세포단층이 형성된 Vero E6 세포에 감염시킨후 maintenance medium (EMEM, Gibco)으로 1주일동안 배양시킨 후 spot slide 에 동량의 정상세포를 24시간 혼합배양하여 제작하였다.

4. 항체검사

항체검사를 위한 간접형광 항체법은 이 등 [17]의 방법을 사용하였다. 각 동물의 혈청은 0.01M(PH 7.2)로 16배 희석한 후 well당 20 μ 씩 가하여 37℃에서 30분간 반응시켰으며, PBS로 세척 건조 후, 조류혈청에는 fluorescence isothiocyanate (FITC)-conjugated goat anti-chicken IgG (Cappel, Lab., Wester chester, Pennsylvania, U.S.A)를, 다람쥐 혈청에는 FITC-conjugated goat anti-mouse IgG (Cappel, Lab., Wester chester, Pennsylvania, U.S.A)를 8unit로 희석후 well당 20 μ 씩 가하였다. 반응 조건은 37℃ 30분으로 하였으며 세척건조후 polyvinyl alcohol-glycerin buffer를 가한 후 형광현미경 (Axioscop, Zeiss, West Germany)로 관찰하였다. 양성대조 혈청으로는 항체가가 1:1024인 사람의 혈청을 사용하였으며, 항체양성은 항체가가 1:16 이상인 것을 양성으로 판정하였다.

성 적

1. 야생조류에 대한 한타바이러스 항체양성

1991년부터 1992년까지 충청남도에서 포획한 14종 총179마리의 야생조류 중 참새 (*Passer montanus*)와 노랑턱멧새 (*Emberiza elegans elegans*)가 한타바이러스에 대한 항체를 보유하고 있었으며, 이것들의 항체 양성율은 참새가 1.64%

Table 1. Immunofluorescent antibody against *Hnataan virus* in different species of the wild birds(1991-1992)

| Species | No. of positive / No. of tested(%) |
|---|------------------------------------|
| <i>Carpodacus roseus</i> | 0 / 5 (0.00) |
| <i>Coccothraustes coccothraustes coccothraustes</i> | 0 / 4 (0.00) |
| <i>Emberiza cioides castaeiceps</i> | 0 / 4 (0.00) |
| <i>Emberiza elegans elegans</i> | 0 / 1 (0.00) |
| <i>Lanius bulcephalus bulcephalus</i> | 2 / 51 (3.92) |
| <i>Phoenicurus aureoreus aureoreus</i> | 0 / 2 (0.00) |
| <i>Paradoxomis webbiana fluvicauda</i> | 0 / 6 (0.00) |
| <i>Parus alter amurensis</i> | 0 / 17 (0.00) |
| <i>Parus major minor</i> | 0 / 8 (0.00) |
| <i>Parus plaustris hellmayi</i> | 0 / 4 (0.00) |
| <i>Parus varius varius</i> | 0 / 1 (0.00) |
| <i>Passer montanus dybowski</i> | 1 / 61 (1.64) |
| <i>Punella montanella badia</i> | 0 / 10 (0.00) |
| <i>Turdus naumanni eunomus</i> | 0 / 1 (0.00) |
| Total | 3 / 137 (0.00) |

Table 2. Immunofluorescent antibody titer against *Hantaan virus* in different species of the wild birds (1991-1992)

| Species | Date of collection | Area | Titier | | | No. of positive |
|---------------------------------|--------------------|-----------|--------|-----|-----|-----------------|
| | | | 16× | 32× | 64× | |
| <i>Emberiza elegans elegans</i> | Dec. 1991 | Chung Nam | + | + | + | 1 |
| | Feb. 1992 | Chung Nam | + | — | — | 1 |
| <i>Passer montanus dybowski</i> | Feb. 1991 | Chung Nam | + | — | — | 1 |
| Total | | | | | | 3 |

Table 3. Annual and areal distribution of immunofluorescent antibody against *Hantaan virus* in the Korean domestic ducks

| Year and area | No. of positive / No. of tested(%) | Total |
|----------------------------|------------------------------------|---------------|
| 1991 (Chungnam yungi-gun) | 3 / 49 (6.1) | 3 / 129 (2.3) |
| 1992 (Kyunggi Anseung-gun) | 0 / 80 (0.0) | |

(61마리중1마리), 노랑턱멧새가 3.92% (51마리중 2마리)이 있다 (Table 1과 2).

참새와 노랑턱멧새의 항체는 연기군에서 1991년 12월에 포획한 노랑턱멧새가 1:64를, 1992년 2월에 포획한 노랑턱멧새가 1:16을 나타내었으며, 1991년 2월에 천안시에서 포획한 참새는 1:16을 나타내었다 (Table 2).

2. 오리에 대한 한타바이러스 항체양성률

129마리의 집오리중 충남연기군에서 1991년도에 채혈한 오리 3마리가 한타바이러스에 대한 항체를 보유하고 있었다. 전체적인 항체양성률

Table 4. Sexual distribution of immunofluorescent antibody against *Hantaan virus* in the Korean domestic ducks

| Sex | No. of positive / No. of tested(%) | Total |
|--------|------------------------------------|---------------|
| Male | 3 / 61 (4.9) | 3 / 129 (2.3) |
| Female | 0 / 68 (0.0) | |

은 2.3%이었으며, 양성인 오리는 모두 수컷이었다 (Table 3과 4).

3. 다람쥐에 대한 한타바이러스 항체양성률

1990년 10월 강원도 홍천지역에서 채집한 다람쥐가 한타바이러스에 대한 항체를 보유하고 있었으며, 이것들의 항체양성률은 79마리중 38마리가 항체를 보유하므로써 항체양성률 48.10%를 나타내었다 (Table 5).

고 찰

신증후출혈열은 한국형출혈열 (korean hae-

Table 5. IFA antibodies against *Hantaan virusin Tamias sibiricus*

| Test | No. of positive / No. of tested(%) |
|------|------------------------------------|
| IFA | 38 / 79 (48.10) |

morr-hagic fever, KHF) [18], 소련의 출혈성신우신염 (Haemorrhagic nephrosonephhritis) [19] 스칸디나비아 제국의 유행성 신염 (Nephropathia epidemica) [20], 중국의 송고열 (Songo fever) [21] 등을 총칭하는 명칭으로 동북아시아와 러시아 지역은 한탄바이러스가, 북유럽은 푸말라바이러스가 주원인 바이러스로 알려져 있으며, 이러한 바이러스들의 숙주동물로는 설치류들이 주로 알려져 있으나, 새로운 숙주동물과 새로운 혈청형으로 의심되는 바이러스주들에 대한 보고가 계속되고 있는 실정이다 [11,12,22].

조류의 한타바이러스에 대한 항체검사에서도, 이등 [15]과 백등 [23]은 노랑턱멧새가 한탄바이러스에 대한 항체를 보유하고 있다고 보고하였으며, Tkachenko 등 [11]은 바이러스의 분리를 보고하였다. 본 연구에서도 충청남도에서 포획한 노랑턱 멧새의 3.92%가 한탄바이러스에 반응하는 항체를 지니고 있다는 것을 입증하였으며, 항체가는 1:16과 1:64로 백등의 1:32와 유사하였다.

한편 61마리의 참새중 1마리가 한탄바이러스에 반응하는 항체를 지니고 있었으며, 항체가는 1:16이었다. 백등의 보고에서는 참새에서 한타바이러스에 대한 항체검출을 하지 못한 것으로 보고되었는데, 일차적으로 원인은 4마리라는 작은 표본수에 기인한 결과인 것 같다.

이등 [15]과 백등 [23]은 붉은머리오목눈이에서, 백등은 쑥새와 박새에서 한탄바이러스에 대한 항체 검출을 보고하였으나, 본 연구에서는 붉은머리오목눈이와 박새에서 항체검출을 할 수 없었는데, 실험표본수가 적으므로 생기는 차이로 생각되며, 이는 쑥새는 포획하지 못했다. 실험표본수가 적으므로 생기는 차이로 생각된다.

한편 백등은 [23] 붉은머리오목눈이에서 푸말라바이러스에 대한 항체를, 쑥새에서 서울바이러스에 대한 항체를 검출하였으며, 주등 [24]은 조류로부터 분리한 USSR3846주를 RT-PCR-RFLP를 이용한 혈청형분류와 플라크감소중화법에 의해 분석한 결과 한탄바이러스와 유사하였다고 보고하였는데 본 연구에서는 다른 혈청형

을 이용한 항체검사와 항원분리를 하지 못한 아쉬움이 남는다.

또한 이등은 [6] 오리에서 한탄바이러스에 대한 항체를 검출하지 못하였다고 하였으나 본 연구에서는 150수의 오리중 3마리에서 항체를 검출하였다. 항체 양성인 오리가 모두 수컷이었으나, 이러한 결과에 대한 분석은 앞으로 더 연구되어야 될 것 같다.

1977년 신증후출혈열 다발생 지역에서 채집한 1마리의 다람쥐 (*Tamias sibiricus*)로부터 항체를 검출하지 못하였으며, 3마리의 다람쥐에 한탄바이러스를 접종시킨 후 장기내에서 바이러스의 증식을 증명할 수 없었다고 보고되었으나 [25], 본 연구에서는 다람쥐로부터 매우 높은 항체양성율이 확인되어 앞으로 많은 관심의 대상이 되고 있다.

다람쥐는 분류학적으로 한탄바이러스의 숙주동물인 등줄쥐와 같은 쥐목에 속하며 [26], 지역적으로 등줄쥐와 생활지역을 일부 공유하고 있으므로 한탄바이러스에 대한 높은 항체양성율을 지닐 가능성은 충분히 예측되어진다 하겠다.

따라서, 이상의 결과로부터 지금까지 한탄바이러스 항체보유가 국내에서 보고되지 않았던 참새와 오리, 다람쥐에 대한 체계적인 혈청역학적 연구와 항원분리 및 분리항원의 혈청형에 대한 연구가 시도되어야 하겠다.

결 론

신증후출혈열의 원인바이러스인 한타바이러스의 숙주동물영역을 규명하기위해 1991년부터 1992년까지 충남에서 포획한 야생조류 14종 179마리와 1991년과 1992년 충남 및 경기도에서 오리 129마리, 1990년 강원도에서 포획한 다람쥐 79마리에 대하여 한타바이러스에 대한 IFA항체보유 여부를 조사하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 14종의 야생조류중 노랑턱멧새와 참새가 항체를 보유하고 있었으며, 항체보유율은 각각 3.92% (51마리 중 2마리), 1.64% (61마리 중 1마리)이었다.
2. 야생조류의 항체가는 노랑턱멧새가 1:16과 1:64이었으며, 참새가 1:16이었다.
3. 오리의 항체보유율은 2.3% (129마리 중 3마리)이었다.
4. 다람쥐의 항체보유율은 48.10% (79마리 중

38마리)이었다.

이상의 결과로부터 참새와 집오리 및 다람쥐도 한타바이러스에 대한 항체를 보유하고 있는 점으로 보아 한국 자연계에서 한타바이러스의 전파와 야생동물 간에 어느정도 상호 관련되는지 알 수 있으나 계속 연구해야 할 과제로 남아 있다고 판단된다.

감사의 글

본 연구에 참여해서 많은 고생을 한 대학원생 여러분 (기영진, 홍장선, 홍성란, 이용진, 박상욱, 윤정중, 최성학)의 지대한 노고에 의해서 이루어졌음을 알려 드립니다.

참 고 문 헌

1. 이호왕, 이평우: 한국형 출혈열. I. 원인 항원 및 항체증명. 대한내과학회지 19: 371-383, 1976.
2. Schaljohn CS and Dalrymple JM: Analysis of Hantaan virus RNA : Evidence for a new genus of Bunyaviridae. Virology, 131: 482-489, 1983.
3. LeDuc JW: A retrospective analysis of sera collected by the haemorrhagic fever collision during the korean conflict. J Infect Dis 162: 1182, 1990.
4. 장우현, 박세광, 장원중, 심승용, 최명식, 김익상: 1992년 및 1993년에 국내에서 발생한 신증후 출혈열의 혈청학적 연구. 대한 미생물학회지 30: 203, 1995.
5. Centers for Disease control: Emerging infectious Diseases, 42, 1993.
6. Lee HW, Lee PW, and Johnson KM: Isolation of the etiologic agent of korean haemorrhagic fever. J Infect Dis 137: 78, 1978.
7. Niklasson B and LeDuc JW: Isolation of the Nephropathia epidemica agent in Sweden. Lancet 1; 8384, 1012, 1984.
8. Lee HW, Baek LJ and Johnson KM: isolation of Hantaan virus, the etiologic agent of korean haemorrhagic fever, from wild urban rats. J Infect Dis 146: 638, 1982.
9. Lee PW, Amyx HL, Yanagihara R, Goldgaber O, Gaidusek DC and Gibbs CJ: Isolation and partial characterization of Prospect Hill virus. proc on first int'l symp. Public Health in Asia

- and Pacific Basin. 39, 1983.
10. Carey DE, Reuben R, Panicker KW, Shope RE and Myers RM: Thottapalayan virus: shrew in india. Indian J Med Research 59: 1758, 1971.
11. Tkachenko EA, Ivanov AP and Donets MA: Potential reservoirs and vectors of hemorrhagic fever with renal syndrom(HFRS) in the USSR. Ann Soc Belge Med Trop 63: 267, 1983.
12. Vander Groen Leirs H, Verhagen R: Polyhostal nature of Hantaan virus. Proc second symposium Advances in Rodent control, KUWAIT, 97-207, 1986.
13. Lee YT and Lee JS: A study on antibody in the korean wild bats against Hantaan virus and Rickettsia. Annual Meeting of Korean Society of virology 1988. Kor Soc Virol 19: 192, 1989.
14. Lee YT and Choi SG: Prevalence of Hantaan virus in street cats(*Felis cattus*) in Korea 3rd Asia pasific congress of Medical virology, Bejing, China. page 280, 1994(Annual meeting abstracts).
15. 이호왕, 백락주, 이연태: 한국산 조류와 박쥐의 hantaan virus 감염에 대한 혈청역학적 조사연구. 대한바이러스학회지 21: 127-134, 1991.
16. 이호왕, 이광평: 한국, 일본, 홍콩 가축의 한타바이러스에 대한 혈청항체 분포. 대한바이러스학회지 19: 25-29, 1989.
17. Lee PW, Gibbs CJ, Gajdusek DC and Yanagihara R : Serotype classification of Hantaviruses by indirect immunofluorescent antibody and plaquereduction neutralization tests. J Clin Microbiol 22: 940-944, 1985.
18. Smadel JE : Epidemic hemorrhagic fever. Am J Publ Hith 43:1327-1330, 1953.
19. Smorodintsev AA, Al'tshuler IS, Dunaevskii ML, Kiselev MV, Churilov AV and Darshkevich V: Etiology and clinical aspects of hemorrhagic nephrosonephritis. Medgiz moscow. 38-48, 1994.
20. Myhrman G: Nephropathia epidemica. a new infectious disease in Nothern Scandinavia, Acta Med Scand 140: 52-56, 1951.
21. Ishii S, Ando K, Watanabe N, Nagayama T and Ishikawa T : Studies on songo fever. Jap Army

- Med J 355: 1755-1758, 1942.
22. Elwell MR, Ward GS, Tingpalapong M and Leduc JW: Serologic evidence of Hantaan-like virus in rodents and man in Thailand. *S Asian J Trop Med Pub Health* 16: 349, 1985.
 23. 백락주, 주용규, 우영대, 이용주, 이호왕: 유행성 출혈열의 생태학 및 병원체에 관한 연구, I. 한국 야생조류의 Hantavirus 감염에 대한 생태학적 연구. *대한바이러스학회지* 29: 89-96, 1994.
 24. 주용규, 백락주, 강철용, Tkachenko EA, Dzagurova T, Drozdov SG, 이용주, 이호왕: 유행성출혈열의 생태학 및 병원체에 관한 연구. II. 세계 여러나라에서 분리된 한탄바이러스의 역전사-중합효소 연쇄반응-제한효소 분석에 의한 계교. *대한미생물학회지* 29: 97-108, 1994.
 25. Lee PW: Ecology of the etiologic agent of Korean hemorrhagic fever and its distribution in the world. *Ann Korean Acad Sci* 17: 177-208. 1978.
 26. 원병희: 한국동식물도감 제7권, 문교부, 1967.
-