

개 디스토펜퍼바이러스에 감염된 장기병변의 병리조직학적 관찰 및 조직내 항원분포 조사에 관한 연구

성 승 규 · 서 일 복*

동화약품주식회사 · 세명대학교 한의과대학*
(1995년 10월 4일접수)

Histopathological observations and investigations of antigen distribution on the lesions induced by canine distemper virus in dogs

Seung-kyoo Seong, Il-bok Seo*

Dong Wha Pharm. Co., LTD.
*Department of Oriental Medicine, Se Myung University**
(Received Oct 4, 1995)

Abstracts : This study was carried out to investigate the distribution of inclusion bodies in the tissues as well as to observe the general histopathological lesions of dogs infected with canine distemper. And also, the reliability of diagnostic values of inclusion bodies and the distribution of viral antigen in tissues were inspected by immunohistochemistry with monoclonal antibody.

The results obtained were as follows;

1. Pneumonia observed in dogs infected with canine distemper virus was classified into interstitial, broncho-, and broncho-interstitial pneumonia histopathologically. Each occurring ratio was 35, 45 and 20%.

2. Histopathological classification of the canine distemper encephalitis was 20% in acute, 60% in subacute, and 20% in chronic encephalitis, respectively.

3. The organs in which inclusion bodies were predominantly distributed were stomach(82.6%), cerebellum(62.9%), lung(62.1%), cerebrum(50.0%), urinary bladder (46.1%), kidney(36.0%) and pancreas(25.0%). Intracytoplasmic inclusion bodies were mainly observed in the organs except the brain.

4. Canine distemper virus antigens were detected in the numerous tissues as well as in the inclusion bodies observed in the various organs. Antigen detection ratios in the lung, cerebellum and cerebrum were 68.9, 70.4 and 52.2%, respectively. These ratios were somewhat higher than those of inclusion bodies observed in the organs.

5. Canine distemper virus was mainly distributed in astrocytes and ependymal cells in the brain

These results suggested that the histopathologic diagnosis of canine distemper was reliable, and the spread of canine distemper virus in the brain was related with cerebrospinal fluid pathway.

key words : Canine distemper, Pneumonia, Encephalitis, Immunohistochemistry.

서 론

Canine distemper는 전세계적으로 애완동물에서 높은 이환율과 폐사율을 보이는 중요한 바이러스성 질병으로 1760년이래 개와 다른 육식동물에서 전염성이 매우 높은 급성 또는 아급성의 열성질환으로 알려져 왔다¹.

Canine distemper(CD)는 paramyxovirus과, morbillivirus속에 속하는 Canine distemper virus(CDV)에 의한 질병으로² 개, 여우, 늑대 등의 개과동물과 너구리과, 족제비과 등 비교적 넓은 숙주역을 지닌다^{1,3}.

CDV 감염으로 인한 임상증상은 감염의 정도와 특이장기의 관련여부에 따라 다양한데 발열과 카타르성 안루, 비루, 인두염, 기관지염이 흔하며 설사 등의 소화기 증상도 동반을 하고 피부의 과각화와 부전각화로 인한 hardpad disease와 운동실조, 후지마비, 전신적 경련 등의 신경증상도 관찰이 가능하다^{1,3}.

CDV 감염의 특징적인 병변은 간질성 폐렴, 림프장기의 림프구소실 및 비화농성 뇌염 등이다⁴. 이 밖에 retinopathy⁵, 심근의 국소적 괴사⁶와 신생자견이 감염될 경우 치아발생기에 있는 에나멜아세포층의 낭포성 변성 및 괴사로 인한 에나멜질의 저형성⁴ 등이 보고된 바 있다.

CDV 감염시에 특징적으로 관찰할 수 있는 호산성의 핵내 또는 세포질내 봉입체는 질병의 양상에 따라 그 분포와 수가 다양하다^{3,8}. Dobos-Kovacs⁹는 CDV 감염시 호산성의 핵내, 세포질내 봉입체의 관찰은 진단적으로 가치가 있으며 방광, 기관지, 폐포, 뇌, 신장칼대기(renal pelvis) 및 위에서 봉입체의 관찰이 흔하다고 하였다.

뇌염의 발생은 병변의 분포로 보아 백혈구관련 바이러스혈증(leukocyte-associated viremia)에 의해 뇌조직으로 바이러스가 침투하여 야기된 것으로 보이며¹⁰, 뇌

내에서 바이러스의 전파는 뇌척수액의 흐름을 따라 이루어진다고 알려져 있다³. Canine distemper encephalitis는 measles virus에 의한 뇌염과 병변 및 병리 발생이 유사하여 measles virus에 의한 뇌염의 질환모델로 여겨진다^{11,12}. 그러나 CDV 감염시 탈수초가 왜, 어떻게 일어나는지는 아직도 불확실하나, 감염초기에는 CDV가 백색질에 직접적으로 작용하여 탈수초가 일어나며, 만성탈수초는 국소적 면역반응과 관련하여 일어난다고 설명하고 있다¹³.

CD의 진단은 임상증상, 실험실 진단법¹⁴, 조직소견상 봉입체의 관찰^{4,9}, 혈청중화시험¹⁵, ELISA 기법¹⁶, 면역조직화학기법¹⁷, 및 바이러스 입자의 전자현미경적 관찰¹⁸을 통해 이루어진다. 조직학적 진단법으로 호산성의 다양한 크기를 갖는 핵내 또는 세포질내 봉입체를 관찰하는 이외에 뇌병변부위에서의 합포체 관찰이 진단에 도움이 된다는 보고¹⁹도 있으나, Palmer 등²⁰은 다양한 바이러스 strain을 인공적으로 감염시킨 실험을 통해서 감염에 중 합포체가 발견된 예는 9%에 불과하다는 점을 들어 합포체 관찰의 진단적 가치에 대해서 의혹을 제기하기도 하였다.

이상과 같이 CD는 애완동물 폐사의 주요한 원인이며 또한 CDV에 의한 뇌염이 사람에서 measles virus 감염으로 유발되는 질병에 대한 질환모델로 여겨져 광범위한 연구가 수행되고 있으나 국내에서의 연구는 거의 전무한 실정이다. 이에 국내에서 자연발생한 CD의 병리조직학적 관찰 및 장기별 봉입체의 관찰빈도를 살펴보고 봉입체의 진단적 가치를 면역조직화학적 방법을 통해 검증하고, 조직내 CDV의 분포 및 뇌에서의 CDV의 전파경로를 간접적으로 확인하기 위해 본 실험을 수행하였다.

재료 및 방법

공시동물 : 공시동물은 1989년 1월부터 1994년

8월 사이에 서울대학교 수의과대학, 강원대학교 수의학과 및 수의과학연구소 병리진단과에 부검 의뢰된 예증 병리학적으로 CD로 진단된 31예를 대상으로 하였다.

병리조직학적 관찰: 폐사하거나 안락사시킨 개를 부검하여 육안소견을 관찰한 후 병리조직검사를 위해 폐장, 위, 췌장, 간장, 신장, 방광, 비장, 림프절, 소뇌 및 대뇌 등을 10% 중성포르말린에 고정하였다. 고정된 조직은 일반적인 조직처리과정을 거쳐 파라핀에 포매한 후 4 μ m 두께의 조직절편을 준비하여 탈파라핀하고 hematoxylin and eosin (H & E) 염색을 하였으며, 중추신경계 병변의 관찰을 위해 뇌조직은 Luxol-fast blue 염색을 실시하여 광학현미경으로 관찰하였다.

면역조직화학적 관찰: 면역조직화학적 염색은 Hsu 등²¹이 사용한 ABC 법을 응용하여 실시하였다. 일차항체는 mouse monoclonal anti-CDV(스웨덴 국립 미생물연구소 바이러스과, Örvel 박사 제공)를 사용하였으며 이차항체 및 avidin-biotin complex는 Vectastain Elite ABC kit(Vector Lab., USA)를 사용하였다. 염색도중 조직이 떨어지는 것을 방지하기 위해 poly-L-lysine으로 슬라이드를 처리하였으며 일률적으로 4 μ m 두께로 조직을 절편하여 탈파라핀시킨 후 일반적인 면역염색과정으로 염색하였다.

결 과

공시동물의 폐사일령과 임상증상: CD로 폐사한 총 31예중 2개월령 이하가 7예(22.6%), 2-7개월령이 13예(41.9%), 7-12개월령이 10예(32.3%), 12개월령 이상이 1예(3%)로 나타났다. 임상증상에 대한 조사결과 비루, 기침 등을 보이는 호흡기 증상과 경련, 후구마비 등의 신경증상이 가장 많이 관찰되었고 설사와 구토소견도 관찰되었으며 대부분의 환견에서는 이러한 임상증상이 복합적으로 관찰되었다. Table 1에 임상증상의 발현빈도를 정리하였다.

육안소견: 폐렴이 관찰되었던 대부분의 예는 기관 및 기관지강내에 황백색의 끈끈한 거품액이 차 있었으며 좌우 폐장의 점염, 심염 및 횡격막염

Table 1. Clinical signs in 31 cases of histopathologically diagnosed canine distemper

Symptoms	NO. of Animals	Percentage
Respiratory symptom	23	74.2
Nervous sign	15	48.4
Diarrhea	10	32.3
Vomiting	2	6.5

에는 아대엽성내지 대엽성의 자적색 경화소가 산재하였다. 폐를 제외한 기타의 장기에서는 육안적으로 인지할만한 소견이 관찰되지 않았다.

병리조직학적 소견: CD로 폐사한 31예중 20예에서 폐렴의 소견이 관찰되었으며, 폐렴을 병리조직학적으로 간질성폐렴, 기관지간질성폐렴 및 기관지 폐렴으로 분류하였다. 폐포벽이 큰폐포세포(alveolar pneumocyte type 2)의 증식 및 염증세포의 침윤으로 두텁게 비후되고 기관지강 및 폐포강내에 염증삼출물이 관찰되지 않는 간질성 폐렴이 7예(35%), 기관지강과 폐포강내에 다수의 호중구와 대식세포가 삼출된 소견과 함께 폐포벽이 림프구와 큰폐포세포의 증식으로 다소 비후된 기관지간질성폐렴이 4예(20%), 호중구가 주인 염증세포가 삼출되어 기관지와 폐포강을 채우고 있는 기관지폐렴이 9예(45%)로 나타났다(Table 2).

CD로 폐사한 31예중 15예에서 병리조직학적으로 뇌염의 소견이 관찰되었다. 관찰된 뇌염소견을 Vandeveldt 등²²의 분류방법에 준하여 급성, 아급성 및 만성뇌염으로 분류하였다. 단핵구의 혈관주위 침윤소견 없이 백색질(white matter)에 다양한 크기의 탈수초 병변을 형성하는 반면 재활성화된 별아교세포(astrocyte)와 gitter cell의 출현이 보이지 않은 급성뇌염이 3예(20%)로서 별아교세포의 핵내에서 호산성의 붕입체가 확인되었으며(Fig 1), 탈수초 병변과 함께 소수의 gemistocyte, gitter cell이 출현하고 탈수초 병변주위 별아교세포의 핵내에 붕입체가 관찰된 아급성 뇌염(Fig 2)은 9예(60%), 탈수초 병변과 함께 단핵구성 세포들로 이루어진 혈관주위 세포침윤과 다수의 gemistocyte 및 gitter cell이 나타나는 만성뇌염은 3예(20%)에서 관찰되었다(Table 3).

급성, 아급성 및 만성 of 모든 예에서 Luxol-fast blue 염색시 다양한 크기의 해면양 탈수초병변이 확인되었다.

폐렴과 뇌염의 병리조직학적 분류와는 별도로 각 장기 및 조직에서 병리조직학적 병변을 관찰하였던 바,

Table 2. Incidence of canine distemper pneumonia according to histopathological classification

	Interstitial pneumonia	Broncho pneumonia	Broncho-interstitial pneumonia	Total No.
No. of animals	7	9	4	20
Percentage	35	45	20	100

Table 3. Incidence of canine distemper encephalitis according to histopathological classification

	Acute encephalitis	Subacute encephalitis	Chronic encephalitis	Total No.
No. of animals	3	9	3	15
Percentage	20	60	20	100

Table 4. Distribution of inclusion bodies in each organs

Organs	No. of inspected animals	No. of detected animals	Percentage
Lung	29	18	62.1
Stomach	23	19	82.6
Cerebellum	27	17	62.9
Cerebrum	19	8	50.0
Urinary bladder	12	5	41.6
Pancreas	12	3	25.0
Renal pelvis	25	9	36.0

비장은 대부분의 예에서 백수위축 및 피사소견과 함께 세망내피세포의 현저한 증식이 관찰되었다. 위의 주세포(chief cell) 및 벽세포(parietal cell)의 세포질은 밝게 염색되어 나타났으며 한계가 뚜렷한 호산성의 세포질 내 봉입체가 무수히 관찰되었고 때로는 핵내봉입체도 관찰되었다(Fig 3). 방광의 이행상피는 부분적으로 탈락되어 출현소견과 함께 공포성으로 변성되어 있는 소견을 보였으며 이행상피의 세포질내에 크기가 다양한 호산성의 봉입체가 관찰되었다(Fig 4). 25예중 9예(36%)의 신장괄매기(renal pelvis) 이행상피세포의 세포질내에서 호산성의 봉입체가 관찰되었다. 췌장은 총 12예를 관찰하였던 바 3예의 췌장샘포(pancreatic acini)에서 핵내 또는 세포질내 봉입체가 관찰되었다. 이들중 1예에서는 샘포의 피사가 수반되었다. 신경계인 소뇌와 대뇌에서 CD의 특징적 병변인 탈수초 병변은 백색질부와 뇌실막밑백색질(subependymal white matter)에서 관찰되었으며 또한 이 부위에서 봉입체의 관찰이 용이하였고 때때로 소뇌 조롱박신경원(Purkinje cell)의 핵과 세포질에서 호산성의 봉입체가 관찰되었다.

각 장기 및 조직별 봉입체의 관찰빈도는 위, 소뇌, 폐, 대뇌, 방광, 신장 및 췌장의 순이었으며(Table 4),

신경계를 제외하고는 세포질내 봉입체가 주로 관찰되었다.

각 장기별 CDV 항원의 분포 : 병리조직학적으로 각 개체의 장기 조직중 하나 또는 다수의 장기에서 호산성의 핵내 또는 세포질내 봉입체를 확인하여 CD로 진단된 경우에 조직내 항원의 분포를 조사한 결과, 폐장에서는 기관지상피의 세포질내 봉입체에서 양성반응이 주로 관찰되었으나 개체에 따라서는 폐포큰포식세포의 세포질과 기관지주위선의 세포질에서 과립상의 양성반응이 관찰되었다(Fig 5). 위에서 봉입체는 주로 위저부(fundic region)의 위저선 선저부에 위치한 주세포의 핵내 또는 세포질에서 주로 관찰된 반면 항원은 위저선의 경부와 체부에 위치한 세포의 세포질에서 확인되었다. 대뇌에서는 뇌수도와 연관 뇌실막세포(ependymal cell)와 백색질의 별아교세포에 항원이 주로 분포하였으며 때로는 신경원의 세포질에도 항원이 분포하였고, 회색질(gray matter)에는 항원이 거의 분포하지 않았다. 소뇌에서 항원은 백색질, 뇌실막세포 및 제4뇌실을 구성하는 앞쪽수뇌천장(rostral medullary velum)과 뒤쪽수뇌천장(caudal medullary velum)의 뇌실막밑백색질에 주로 분포하였으며(Fig 6), 때때로 맥락얼기

Table 5. CDV antigen distribution in various organs and tissues

Organs	Rate	Organs	Rate
Lung		Cerebellum	
Broncho-bronchial epith.	++	white matter	+++
Alveolar epith.	+	gray matter	+
Alveolar macrophage	++	ependymal cell	+++
Bronchial glandular epith.	++	RMV	++
Stomach		CMV	+
Chief cell	++	Kidney	
Parietal cell	+	parenchyma	--
Cerebrum		renal pelvis	++
White matter	++	Pancreas	
Gray matter	--	islet	--
		acinus	++

RMV : rostral medullary velum, CMV : caudal medullary velum.

-- : negative, + : mild, ++ : moderate, +++ : severe.

Table 6. Antigen detection and inclusion bodies observation ratio in lung and brain

Organs	No. of inspected animals	No. of IB detection	No. of antigen positive animal
Lung	29	18(62.1)	20(68.9)*
Stomach	27	17(62.9)	19(70.4)
Cerebellum	19	8(50.0)	10(52.6)

IB : inclusion body.

* : numbers in parenthesis indicate the percentage of inclusion body observation and antigen

(choroid plexus)의 세포질에서도 양성반응이 관찰되었다. 신장에서는 신장깎때기상피에, 췌장에서는 췌포에만 분포하여 붕입체를 관찰하였던 부위와 대체로 일치하였다(Table 5).

폐장과 소뇌, 대뇌에 한하여 붕입체의 관찰비율과 항원의 검출율을 비교한 결과 붕입체를 관찰할 수 없었던 예에서도 항원이 검출되었으나 붕입체의 관찰비율과는 커다란 차이를 보이지는 않았다(Table 6).

CDV 단클론항체를 이용한 면역염색으로 CDV의 뇌내 전파를 간접적으로 확인하기 위해 19예의 소뇌와 10예의 대뇌에 대한 CDV 항원의 분포를 관찰하였던바, 소뇌의 뇌실막세포, 별아교세포 및 맥락열기(choroid plexus)에서, 대뇌의 뇌실막세포와 맥락열기에서 주로 항원이 관찰되었으나, 소수의 예에서는 소뇌 조롱박신경원의 세포질과 돌기 및 과립세포(granular cell)의 세포질과 대뇌 백색질에 위치한 신경원(neuron)과 주위 신경망(neuropil)에서도 항원이 검출되었다. 그 결과를 Table 7에 요약하였다.

Table 7. Sites of antigen positive reaction in cerebrum and cerebellum

Sites	No. of antigen positive animal
Cerebellum(19)*	
Choroid plexus	4
Ependymal cell	14
Astrocyte	8
Molecular cell	1
Purkinje cell	3
Granular cell	4
Cerebrum(10)	
Ependymal cell	4
Astrocyte	6
Neuron	1

* : numbers in parenthesis indicate the numbers of inspected tissue.

고 찰

CD는 1760년대 이후 개과동물 및 기타 육식동물에 감염되어 호흡기 증상과 신경계 증상을 주증으로 하는 급성 또는 아급성의 열성질환으로 알려진 이래 현재까

지 전세계적으로 발생하고 있으며 국내에서도 애완견 폐사의 주요 원인이 되고 있다.

CDV 감염증은 지속적인 감염²³, 재발과 완화에 의해 특징되는 임상적 징후²⁴ 및 면역개재성 탈수초¹³ 등 사람에서 발생하는 subacute sclerosing panencephalitis(SSPE) 또는 multiple sclerosis(MS)와 유사한 특성들을 지님으로써 이 질병들의 중요한 질환모델이 되고 있다^{11,12}.

Summers와 Appel¹⁹은 CDV protein gene의 특성으로 인해 CDV 감염시 세포들간 합포체의 형성이 특징이라 하였으나 Palmer 등²⁰은 다양한 바이러스 strain을 접종시킨 감염실험에서 합포체를 발견한 예는 9%에 지나지 않았다는 점을 들어 그 진단적 가치가 제한적이라 하였다.

임신모체의 태반을 통해 바이러스가 전파되어 감염된 예도 보고²⁵된 바 있으나 바이러스를 함유한 비말은 외기에 비교적 저항성이 있어 비말을 통해 주로 전파된다²⁶.

개에서 모체이행항체의 반감기는 8.5일이며²⁷, 대부분은 초유를 통해 전달된다. Moise²⁸는 백신접종을 하지 않을 경우 모체이행항체가 완전히 소실되는 12-16주령이 가장 민감한 연령이라 하였다.

Gillespie 등²⁹은 8주령에 백신을 1차 접종하고 12-14주령에 2차 접종하면 백신효과가 가장 극대화된다고 하였으나, Greene과 Appel⁸은 CD에 대한 면역은 지속적이긴 하나 반드시 견고하지만은 않다 하였다. 특히 Carmichael³⁰은 백신접종 실패의 가장 큰 이유로 모체이행항체의 농도가 지속되는 때에 백신접종을 하여 항원항체 중화반응에 의해 능동면역의 형성이 방해받기 때문이라 하였다. 따라서 CD백신의 효과를 극대화시키는 방법은 Gillespie 등²⁹의 백신 프로그램을 따르면서 매년 또는 2년에 한 차례씩의 추가접종을 실시하는 것이 필요하다고 생각된다. 최근 국내에서는 백신접종 후에도 CD가 발병되는데 이는 국내에서 시판되는 백신이 DHPPL 종합백신이므로 CD항체의 역가가 믿을만한 수준이 아닌 때문이기도 하겠지만 국내 여건상 확실한 접종프로그램이 형성되지 않은 것이 그 근본적인 이유라 하겠다.

폐장에 CDV 단독감염시 초기에는 큰폐포세포(alveolar pneumocyte type 2)의 증식으로 인한 재상피화(epithelialization)가 나타나며 기관지강과 폐포강내에는 호중구 등 염증세포의 삼출소견이 관찰되지 않는 데 비

해 임상증상 발현 5-6주 후가 되면 재상피화된 큰폐포 세포는 탈락, 변성되어 소실되며 이차적인 세균감염이 없으면 폐포내의 모든 탈락세포, 염증세포들이 감소하게 되나 이차적인 세균 또는 바이러스 감염이 있으면 호중구와 대식세포가 폐포강과 기관지강내에 삼출되어 보다 심한 폐렴을 유발한다^{4,8}.

본 연구에서도 총 20예의 개 디스토펜페렴증 CDV에 의한 단독감염으로 폐렴이 유발된 간질성 폐렴은 7예(35%)였으며 다른 세균이나 바이러스와의 혼합감염이 의심되는 기관지 폐렴과 기관지간질성 폐렴은 13예(65%)였다.

개 디스토펜바이러스 감염의 또다른 특징은 비화농성 뇌염으로 이는 백혈구 관련 바이러스(leukocyte-associated virus)가 혈관내피세포에 부착되어 혈관내피와 혈관주위를 둘러싸고 있는 별아교세포(astrocyte)의 돌기에 바이러스가 전파되어 일어난다¹⁰. Mutinelli 등³¹은 별아교세포의 표지(marker)인 glial fibrillary acidic protein과 CDV에 대한 단클론항체 이중표지면역염색(double-labeling immunostaining) 기법을 통해 CDV 양성세포중 94.4%가 별아교세포임을 밝혀 CDV의 표적세포(target cell)는 별아교세포라 하였다. 본 연구에서도 뇌내에서 항원은 주로 별아교세포에서 관찰되어 CDV의 표적세포는 별아교세포임을 알 수 있었다. 수초층(myelin)을 생산하는 회돌기아교세포(oligodendrocyte)와 신경원에서도 항원 양성반응이 관찰되기는 하였으나 개 디스토펜 뇌염으로 인한 탈수초를 설명하기에는 부족한 점이 있다. 지금도 많은 사람들이 탈수초 기전을 연구하고 있지만 확실한 기전이 밝혀지지 않은 실정이다.

감염초기에는 조직내 CDV항원의 양에 비례하여 수 초층이 파괴되는 것으로 보아 CDV의 어떤 직접적 작용에 의해 탈수초가 일어나며¹³, 감염이 진행되면 CDV와 이에 대한 항체 복합물에 의해 뇌내 대식세포 즉, 미세아교세포(microglial cell)에서 reactive oxygen species(ROS)를 분비하여 바이러스에 감염된 별아교세포는 물론이고 수초층을 형성하는 회돌기아교세포까지 파괴된다³². 본 연구에서도 급성뇌염에 비하여, 단핵구의 cuffing이 특징인 만성뇌염에서 더욱 심한 탈수초 병변이 관찰되었으며, 이는 항원항체 복합물에 의해 미세아교세포가 감작을 받아 ROS를 생산했기 때문이라 사료된다.

CNS가 손상을 받을 경우 별아교세포는 종창, 비대

및 증식되는데 아직도 그 정확한 기전은 밝혀지지 않고 있다. 본 연구에서도 탈수초병변주위 특히 뇌간의 백색질에서 간유리상(glassy appearance)의 호산성 세포질을 보이는 비대된 별아교세포, 이른바 gemistocyte가 다수 관찰되었다.

Summers 등³⁵은 뇌내에서 바이러스항원이 뇌실막세포와 뇌실막백색질에 주로 분포하는 것으로 보아 뇌척수액의 흐름을 따라 바이러스가 전파된다고 하였다. 본 연구에서도 소녀의 제4뇌실을 구성하는 앞쪽수뇌천장(rostral medullary velum)과 뒤쪽수뇌천장(caudal-medullary velum)의 뇌실막세포 및 뇌실막백색질의 별아교세포에서 강한 CDV 양성반응이 관찰되어 CDV의 뇌내 전파는 CSF의 흐름을 따라 일어나는 것임이 확인되었다.

CDV는 모든 상피세포, 신경세포 등에 친화성이 있어 오래전부터 CDV 감염시 특징적으로 나타나는 붓입체의 각 장기 및 조직별 분포에 많은 연구자들이 관심을 가져왔다. Lauder 등⁴은 폐장, CNS, 방광, 신장 및 췌장의 순으로 붓입체가 관찰이 용이하다고 하였으며, Dobos-Kovacs⁹는 H&E 염색을 통해 방광, 기관지, 폐포, 제3안검, 신장갈매기, 기관 및 위등에서 붓입체가 주로 관찰된다고 하였다. 일반적으로 붓입체의 분포는 감염의 정도, 질병의 양상에 따라 그 분포와 수가 다양한데³, 본 연구에서는 위, 소뇌, 폐, 대뇌, 방광, 신장, 췌장의 순으로 붓입체가 관찰되었다. 이전 연구자에 비해 방광에서 그 관찰빈도가 낮은 이유는 검사를 한 개체수가 적었고 사체를 오래 방치할 경우 방광내용물에 의해 이행상피가 쉽게 탈락되기 때문에⁹ 방광상피의 관찰이 용이하지 않았기 때문이라 생각된다. 이전 연구자들에 의하면 붓입체는 감염 10~14일에 출현하여 5~6주간 지속된 후 조직내에서 빠르게 사라지며⁴, 특히 림프장에서 제일먼저 소멸되며, 신경계를 제외한 장기중에는 폐장에서 가장 오래 존재하는 것으로 알려져 있다³. 본 연구에서는 뇌를 제외하고는 모든 장기에서 세포질내 붓입체의 관찰이 용이하였으며 이는 Dobos-Kovacs⁹의 연구결과와 일치하였다.

CDV의 일차증식이 림프기관에서 이루어지므로 실험적으로 유발된 CDV에서는 감염초기에 림프구소실(lymphoid depletion)이 특징적으로 관찰되나, 실제 자연감염시 이 시기에 폐사되는 예가 극히 드물어 감염초기에 나타나는 림프구소실은 관찰이 힘들다³. 인

공감염 9일째에는 림프절내 림프구가 피사되어 소실되는 데 비장에서도 이와 유사한 병변이 나타나 백수내에 작은 피사소가 산재하기도 한다⁸.

본 연구에서 관찰한 12예의 비장중 7예에서 백수위축과 림프구피사소견이 관찰되었다. 이는 질병말기에 나타난 림프구소실소견이라 생각되며 위축된 백수는 증식된 세망내피세포에 의해 대체되어 있었다.

본 연구에서는 붓입체의 광학현미경적 관찰을 통한 CD 진단의 유용성을 증명하기 위해 폐장과 소뇌 및 대뇌에서 붓입체의 관찰비율과 CDV 단클론항체를 이용한 항원의 검출율을 비교해 보았던 바 각 장기들에서 각각 6.8%, 7.5% 및 2.6%의 수준으로 항체검출율이 다소 높게 나타났으나 단클론항체를 이용한 면역염색의 시간적, 경제적 어려움을 고려한다면 붓입체의 광학현미경적 관찰을 통한 CD 진단이 보다 유용하리라 사료된다.

본 연구에서 각 장기 및 조직에서 항원의 분포는 일반적으로 붓입체가 관찰되었던 부위와 일치하였으나, Miry 등³⁴의 결과와 마찬가지로 붓입체가 전혀 관찰되지 않았던 기관지주위 선상피세포의 세포질에서도 강한 CDV 양성반응이 관찰되었다. 위의 경우 붓입체는 주로 위저부의 선저부에 위치한 주세포(chief cell)와 벽세포(parietal cell)에서 관찰되었으나 항원은 그보다 상부에 위치한 주세포와 벽세포의 세포질에 분포하였다. 이는 바이러스의 전파가 혈관을 통한 viremia로 행해지기 때문에 혈관의 분포가 많은 점막상부에 바이러스항원이 많이 분포하는 것이라 사료된다. 소뇌 및 대뇌에서는 뇌실막세포, 백색질 및 제4뇌실을 구성하는 앞쪽수뇌천장, 뒤쪽수뇌천장에 항원이 주로 분포하였다.

Mutinelli 등³¹은 CDV와 별아교세포에 대한 이중면역염색을 통해 CDV는 별아교세포와 매우 친화성이 높다 하였다. 본 연구에서는 별아교세포에서 항원이 주로 검출되었으나 소수의 조분박신경원, 분자세포(molecular cell), 과립세포(granular cell) 및 신경원(neuron)에서 양성한 소견은 별아교세포에서 증식된 바이러스가 주변으로 확산된 결과라 생각된다.

본 연구에서는 국내에서 자연발생한 CD로 폐사한 예를 대상으로 각 장기 및 조직내 붓입체의 관찰빈도와 조직내 항원분포를 관찰하였으며 CD로 진단하는데 있어서 붓입체의 관찰을 통한 병리조직학적 진단방법의 신빙성을 검증하고 아울러 항원분포의 관찰을 통

해 CDV의 뇌내 전파경로에 대해 간접적으로 알아보았다. CD가 사람에서 발생하는 SSPE와 MS에 대한 질환 모델임과 동시에 국내에서 애완견 폐사의 주요 원인 중 하나이지만 국내에서의 연구는 전무한 실정이다. 앞으로 이에 대한 보다 광범위하고 종합적인 연구가 수행되어야 하리라 사료된다.

결 론

본 연구는 병리조직학적으로 개 디스토펜퍼로 진단된 31예의 부검예를 대상으로 개 디스토펜퍼에 의해서 발생하는 폐렴 및 뇌염의 병리조직학적 특성을 관찰하고, 병리조직학적으로 진단적 가치가 있다고 알려져 있는 개 디스토펜퍼 봉입체의 장기별 관찰빈도를 확인하였다 또한 면역조직화학적 방법을 통하여 봉입체를 관찰하는 병리조직학적 진단법의 신뢰성을 검증하고 조직내 개 디스토펜퍼항원의 분포를 살펴봄으로써 개 디스토펜퍼 뇌염의 병리발생을 확인하기 위해서 수행하였으며 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 개 디스토펜퍼 폐렴은 병리조직학적으로 간질성 폐렴,

기관지 폐렴, 기관지간질성 폐렴으로 분류되었으며 각각의 발생비율은 35, 45 및 20%였다.

2. 개 디스토펜퍼 뇌염을 병리조직학적으로 구분하였던 바 급성형이 20%, 아급성형이 60%, 만성형이 20%였다.

3. 각 장기별 봉입체의 발현율은 위, 소뇌, 폐, 대뇌, 방광, 신장 및 췌장의 순이었으며 각각 82.6, 62.9, 62.1, 50.0, 41.6, 36.0 및 25.0%였다. 신경계를 제외하고는 세포질내 봉입체가 주로 관찰되었다.

4. 항원의 분포는 병리조직학적으로 봉입체가 관찰되었던 모든 부위와 일치되었으나 봉입체를 관찰할 수 없었던 예에서도 항원이 검출되었다. 폐장과 소뇌 및 대뇌에서 항원의 검출율은 각각 68.9, 70.4 및 52.6%로 봉입체의 관찰비율과 유사하게 나타났다.

5. 뇌에서 항원은 주로 별아교세포와 뇌실막세포에서 검출되었다.

이상의 결과를 종합하여 볼 때 개 디스토펜퍼의 병리조직학적 진단법은 신뢰성이 있으며, 개 디스토펜퍼바이러스의 뇌내전파는 뇌척수액의 흐름과 관련되리라 사료된다.

Legends for figures

Light Microscopic Findings

Fig 1. Cerebellum of the dog infected with canine distemper virus, showing status spongiosa with intranuclear inclusion bodies in astrocytes(arrows). Perivascular cuffing, reactive astrocytes and microglial cell are not observed. H & E, $\times 400$.

Fig 2. Cerebellum of the dog infected with canine distemper virus. Many reactive astrocytes(gemistocytes, large arrow) and lipid-laden microglial cell(gitter cell, small arrow) are observed around demyelinating lesion. Note intranuclear inclusion bodies in reactive astrocytes(arrow heads). H & E, $\times 400$.

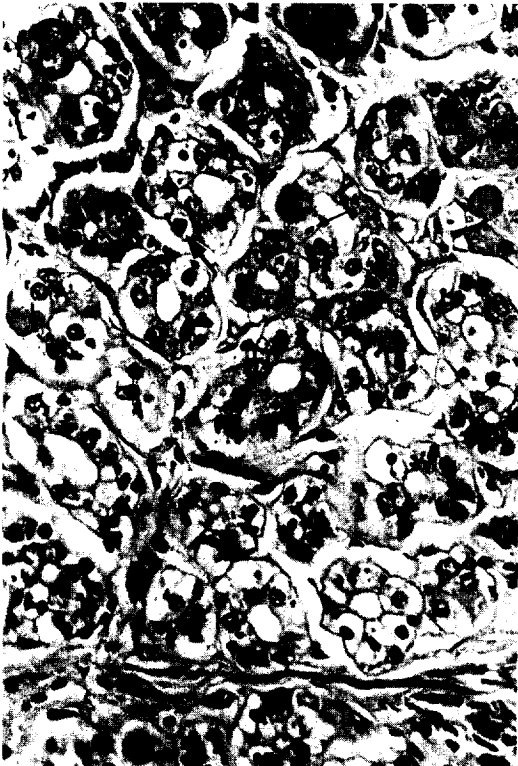
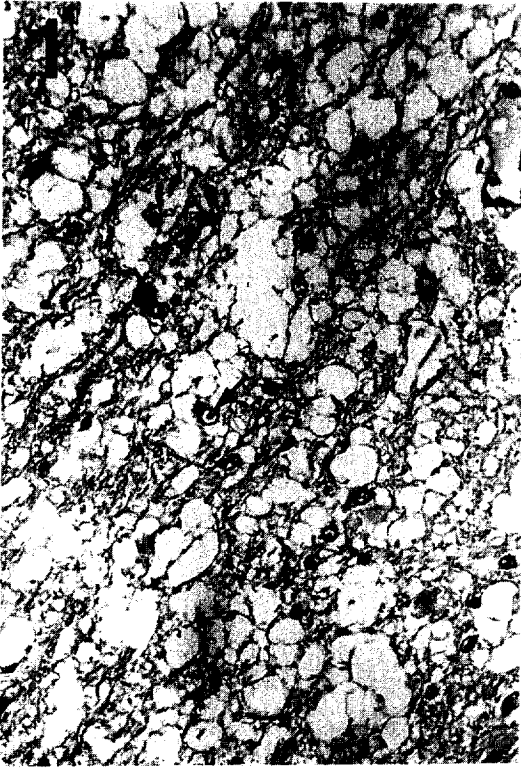
Fig 3. Stomach of the dog infected with canine distemper virus. Many chief cells have both intranuclear(large arrow) and intracytoplasmic(small arrows) inclusion bodies. Inflammatory reaction is not observed except slight cellular swelling. H & E, $\times 400$.

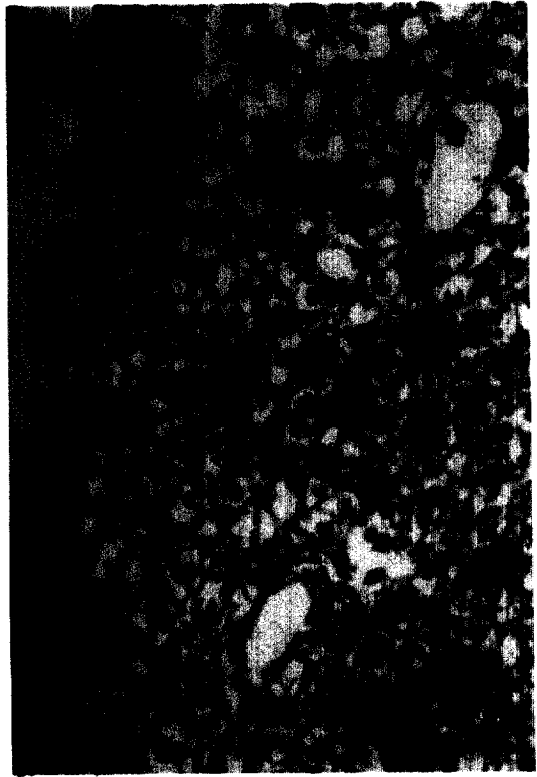
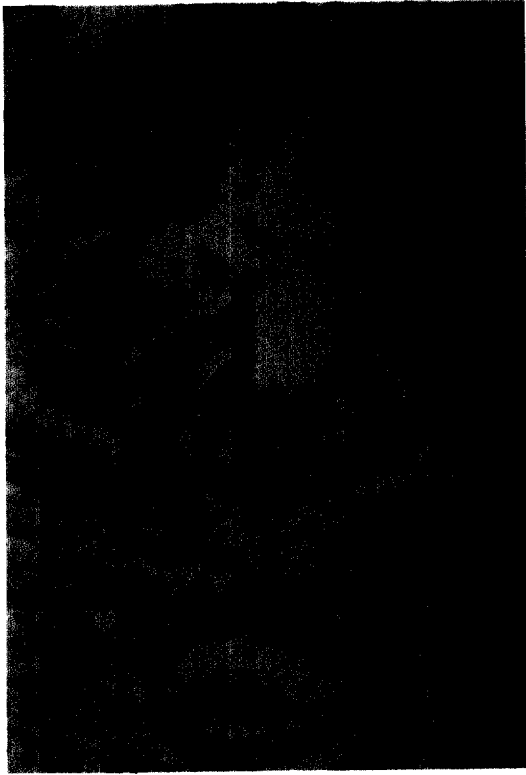
Fig 4. Urinary bladder of the dog infected with canine distemper virus. Transitional epithelium is undergoing vacuolar degeneration and many variable sized intracytoplasmic inclusion bodies(arrows) are observed in the cytoplasm. H & E, $\times 400$.

Immunohistochemical Findings

Fig 5. Lung. Positive reactions of viral antigens are observed in the cytoplasm of bronchial epithelium(small arrow) and bronchial gland(large arrow). ABC stain, $\times 400$.

Fig 6. Cerebellum. Strong positive reactions of viral antigens are observed in the inclusion bodies of the astrocytes (small arrows) and ependymal cell(large arrow) which are in caudal medullary velum of the fourth ventricle. ABC stain, $\times 400$.





참 고 문 헌

1. Fenner FJ, Gibbs EPJ, Murphy FA, et al. Canine distemper in *Veterinary Virology*, 2nd ed Academic press, pp 483~485, 1993.
2. Kingsbury DW, Paramyxoviridae and their replication. *Virology*, 2nd ed Raven press, pp 945~962, 1990.
3. Jubb KVF, Kennedy PC, Palmer N. Canine distemper virus in *Pathology of domestic animals*. 4th ed Academic press, pp 617~624, 1993.
4. Lauder IM, Martin WB, Gordon EB, et al. A survey of canine distemper. *Vet Rec*, 66 : 623~631, 1954.
5. Fischer CA. Affinity for retinal pigment epithelium by certain viruses. *Am J Ophthalmol*, 75 : 164~166, 1973.
6. Higgins RJ, Krakowka S, Metzler AE, et al. Canine distemper virus-associated cardiac necrosis in the dog. *Vet Pathol*, 18 : 472~486, 1981.
7. Dubielzig RR. The effect of canine distemper virus on the ameloblastic layer of the developing tooth. *Vet Pathol*, 16 : 268~270, 1979.
8. Greene CE, Appel MJ. Canine distemper in *Infectious diseases of the dog and cat*. Saunders company, pp 226~239, 1987.
9. Dobos-Kovacs M. Studies on the diagnostic value of cell inclusions in canine distemper. *Acta Vet Academiae Scientiarum Hungaricae*, 25 : 185~200, 1975.
10. Wisniewski H, Brown HR, Thormar H. Pathogenesis of viral encephalitis : Demonstration of viral antigen (s) in the brain endothelium. *Acta Neuropathol (Berl)*, 60 : 107~112, 1983.
11. Dal Canto MC, Rabinowitz SG. Experimental models of virus-induced demyelination of the central nervous system. *Ann Neurol*, 11 : 109~127, 1982.
12. Koestner A. Animal model of multiple sclerosis. *Am J Pathol*, 78 : 361~364, 1975.
13. Vandevelde M, Higgins RJ, Kristensen B, et al. De-

- myelination in experimental canine distemper virus infection : Immunological, pathological, and immunohistologic studies. *Acta Neuropathol(Berl)*, 56 : 285~293, 1982.
14. Wright NG, Cornwell HJ, Thompson H, et al. Canine distemper. current concepts in laboratory and clinical diagnosis. *Vet Rec*, 94 : 86~92, 1974.
 15. Appel M, Robson DS. A microneutralization test for canine distemper virus. *Am J Vet Res*, 34 : 1459~1463, 1973.
 16. Bernard SL, Shen DT, Gorham JR. Antigen requirements and specificity of enzyme-linked immunosorbent assay for detection of canine IgG against canine distemper viral antigens. *Am J Vet Res*, 43 : 2266~2269, 1982.
 17. Baumgärner W, Örvell C, Reinacher M. Naturally occurring canine distemper virus encephalitis : Distribution and expression of viral polypeptide in nervous tissues. *Acta Neuropathol(Berl)*, 78 : 504~512, 1989.
 18. Richter WR, Moise SM. Ultrastructural nature of canine distemper inclusions in the urinary bladder. *Pathol Vet*, 7 : 346~352, 1970.
 19. Summers BA, Appel MJG. Syncytia formation : An aid in the diagnosis of canine distemper encephalomyelitis. *J Comp Pathol*, 95 : 425~435, 1985.
 20. Palmer DG, Huxtable CRR, Thomas JB. Immunohistochemical demonstration of canine distemper virus antigen as an aid in the diagnosis of canine distemper encephalomyelitis. *Res Vet Sci*, 49 : 177~181, 1990.
 21. 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*, 29 : 577~580, 1981.
 22. Vandeveld M, Fankhauser R, Kristensen F, et al. Immunoglobulins in demyelinating lesions in canine distemper encephalitis. An Immunohistochemical study. *Acta Neuropathol(Berl)*, 54 : 31~41, 1981.
 23. Tobler LH, Imagawa DT. Mechanism of persistence with canine distemper virus : Difference between a laboratory strain and an isolate from a dog with chronic neurological disease. *Intervirology*, 21 : 77~86, 1984.
 24. Higgins RJ, Child G, Vandeveld M. Chronic relapsing demyelinating encephalomyelitis associated with persistent spontaneous canine distemper virus infection. *Acta Neuropathol(Berl)*, 77 : 441~444, 1989.
 25. Krakowka S, Confer A, Koestner A. Evidence for transplacental transmission of canine distemper virus : Two case reports. *Am J Vet Res*, 35 : 1251~1253, 1974.
 26. Gorham JR. The epizootiology of distemper. *JAVMA*, 149 : 610~622, 1966.
 27. Baker JA, Robson DS, Gillespie JH. A nomograph that predicts the age to vaccinate puppies against distemper. *Cornell Vet*, 49 : 158~167, 1959.
 28. Moise NS. Viral respiratory diseases. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 15 : 919~928, 1985.
 29. Gillespie JH, Brueckner AL, Hekl T. Conclusions and recommendations of the panel of the symposium on canine distemper immunization. *JAVMA*, 149 : 714~717, 1966.
 30. Carmichael LE. Immunization strategies in puppies - Why failures ? *Compend Contin Educ Pract Vet*, 5 : 1043~1051, 1983.
 31. Mutinelli F, Vandeveld M, Griot C, Richard A. Astrocytic infection in canine distemper virus-induced demyelination. *Acta Neuropathol(Berl)*, 77 : 333~335, 1988.
 32. Bürge T, Griot C, Vandeveld M, Peterhans E. Antiviral antibodies stimulate production of reactive oxygen species in cultured canine brain cells infected with canine distemper virus. *J Virol*, 63 : 2790~2797, 1989.
 33. Summers BA, Greisen HA, Appel MJG. Early events in canine distemper demyelinating encephalomyelitis. *Acta Neuropathol(Berl)*, 46 : 1~10, 1979.
 34. Miry C, Ducatelle R, Thoonen H, et al. : Immunoperoxidase study of canine distemper virus pneumonia. *Res Vet Sci*, 34 : 145~148, 1983.