

Malignant catarrhal fever virus 감염과 관련된 goat (*Capra hircus*)의 mural folliculitis와 alopecia

김옥진¹ · Timothy B. Crawford²

¹미국 농무부 동물질병연구소, ²워싱턴 주립대학교 수의과대학 수의병리학교실

Mural folliculitis and alopecia caused by infection with malignant catarrhal fever virus in goat (*Capra hircus*)

Okjin Kim¹, Timothy B. Crawford²

¹United States Department of Agriculture-ARS, Animal Disease Research Unit,

²Department of Veterinary Pathology, College of Veterinary Medicine, Washington State University

Abstract: Malignant catarrhal fever (MCF) is a systemic disease of ruminants caused by a gamma herpesvirus, ovine herpesvirus 2 (OvHV-2). Four 1-year old goats (*Capra hircus*), which were infected with MCF virus, OvHV-2, by being housed together with MCF virus-infected seep, were referred with a 1-month history of chronic dermatitis. On the other hand, MCF virus-negative goats, which were isolated for negative control, had not those kinds of skin problems. Examination of the affected goats revealed generalized alopecia, patchy erythema, and superficial erosions with histologic evidence of mural folliculitis. Fungal culture tests and external parasite tests with the scraping skin samples were negative. However, polymerase chain reaction revealed the existence of MCF virus DNAs in the lesion. These results suggested that MCF virus may induce mural folliculitis and alopecia in goat.

Key words: alopecia, goat, malignant catarrhal fever virus, mural folliculitis, ovine herpesvirus 2

서 론

Malignant catarrhal fever (MCF)는 gamma herpesvirus인 ovine herpesvirus 2 (OvHV-2)와 alcelaphine herpesvirus 1 (AIHV-1)의 감염에 의하여 감수성 있는 숙주동물에서 고열과 점막의 염증 및 전신림파구 증식에 의한 치명적인 임상결과를 초래하는 질병이다.¹ AIHV-1 감염은 아프리카에 국한되어 유행하고 있으나, OvHV-2 감염은 전세계적으로 발생하고 있다.² 이들 MCF virus는 자연숙주로 알려져 있는 sheep에서는 증상이 없으나, 바이러스를 분비함으로써, 주변의 다른 반추류에 전염원의 역할을 하는 것으로 추정되고 있다. 또한, MCF virus 감염에 의하여 임상 질병이 유발되는 감수성 있는 반추류로는 cattle,³ deer,⁴ bison⁵ 등이 있으며, 최근에는 돼지에도 감수성이 있다고 보고되었다.^{6,7} 그러나, 실험감염에 의하여 OvHV-2가 자연숙주 이외의 다른 반추류에 감염되는 것은 cattle과 deer⁸의 경우를 제외하고는, 현재까지 보고된 자료들이 없는 실정이다. 이런 이유로, 본 연구그룹에서는 OvHV-2에 감염된 sheep과 함께 사육된 goat에서 MCF virus의 감염이 이루어지는지를 알아보고자 실험을 수행하였

으며, 실험의 진행 중에, 실험중인 goat들에서 피부에 탈모 병변을 주로 하는 문제들을 접하게되었다. 본 연구는 이들 goat들의 병변이 MCF virus 감염과 관계가 있는지를 알아보고자 수행되었다.

재료 및 방법

공시동물

USDA-ARS, Animal Disease Research Unit에서 진행중인 malignant catarrhal fever virus의 goat에 대한 실험감염 연구를 위하여, OvHV-2에 감염된 16두의 5개월령의 웅성 Dorset 종 sheep들과 6두의 1년령의 웅성 mixed-breed domestic goat을 함께 사육하였다. 사육중인 goat의 감염여부를 확인하기 위하여, 일주일에 한 번 goat의 혈액을 채취하여, 혈청을 이용한 OvHV-2, 즉 MCF virus에 대한 항체검사와, 말초혈액 림파구 (peripheral blood lymphocyte; PBL)를 사용한 OvHV-2에 특이적인 polymerase chain reaction (PCR)을 수행하였다. 대조를 위하여 별도의 사육사에 따로 사육된 2두의 동일 연

령의 goat들에 대한 검사도 동시에 수행되었다. 실험 수행 3주 후, OvHV-2에 감염된 sheep들과 함께 사육되던 6두의 goat들 중 4두에서 전신 피부에 산발적으로 발생된 탈모를 동반한 피부 병변이 관찰되었으며, 이들 피부 병변은 이 후 본 연구가 이루어질 때까지, 1개월 이상 지속되고 있었다. 본 연구에 사용된 동물들은 이들 피부 병변을 가진 4두의 goat들 (Group A-I)과 피부 병변이 없는 나머지 2두의 goat들 (Group A-II) 및, 대조를 위해 격리 사육되던 2두의 goat들 (Group B-I)이었다.

항체검사

공시동물들로부터 혈액 7 cc를 각각 EDTA가 첨가된 tube에 채혈하여, Histopaque (Sigma, St. Louis, Mo)을 사용하여 혈청 및 PBL을 분리하였다. 이후, 분리된 혈청을 사용하여, MCF virus에 대한 항체검사를 실시하였다. 항체검사는 Malignant Catarrhal Fever Virus Antibody Test Kit (VMRD, Pullman, WA)를 이용하여, competitive enzyme-linked immunosorbent assay (cELISA)가 수행되었다.

피부 생검

피부 병변을 가진 4두의 Group A-I의 공시동물들로부터, 피부 생검을 실시하여, 각각 병리조직 검사와 pathogenic fungal culture tests와 external parasite tests 및 MCF virus에 대한 PCR 검사의 재료로 사용하였다. 피부 병변이 없는 Group A-II 및 Group B의 동물들의 피부도 동일 방법으로, 동일 위치의 피부를 생검하여, 각각의 검사에 대조를 위하여 제출되어 사용되었다. Pathogenic fungal culture test와 external parasite test는 Washington Animal Disease Diagnostic Laboratory (WADDL; Pullman, WA)에 의뢰하여, 검사가 수행되었다.

병리학적 검사

피부 병변부의 육안 소견을 관찰한 후, 생검을 실시하여, 채취한 조직을 10% 중성 포르말린에 고정 후, 병리조직학적 검사를 위한 통상적인 방법을 사용하여 파라핀포매한 후, 4 µm 두께로 절편하여 H&E 염색 후 병리조직학적인 소견을 관찰하였다.

Polymerase Chain Reaction

공시동물들의 PBL 및 생검 조직으로부터, PCR 검사를 위한 DNA를 추출하였다. 생검 조직은 각각 소량의 조직을 무균적으로 채취하여 멸균된 PBS에 혼합하여, homogenization한 후, 1000 rpm으로 5분간 원심하고, 상층액 500ul를 사용하여 DNA를 추출하였고, PBL은 1 ml의 PBS에 부유시킨 후, 500 ul를 사용하여 DNA를 추출하였다. 각각의 부유액에 0.2%

SDS와 20 mg/ml proteinase K (Roche, Indianapolis, IN)를 첨가 후 37°C에서 3시간 반응시키고, phenol/chloroform을 사용하여 단백질을 제거한 후 ethanol 침전과정을 거쳐, DNA를 추출하였다. 추출된 DNA는 100 ul의 DEPC 처리된 증류수로 재부유하고, OD₂₆₀에서 정량 후 PCR 검사에 사용하였다. PCR을 이용한 특이 핵산의 증폭은 OvHV-2의 바이러스 핵산 염기서열에 특이적인 primer 556과 primer 555를 사용하였다.⁹ Primer 556인 5'-AGTCTGGGTATATGAATCCAGATGGCTCTC-3' (Nucleotide position: 121692-121722)과 primer 555 5'-TTCTGGGGTAGTGGCGAGCG AAGGCTTC-3' (Nucleotide position: 121484-121510)을 사용하여 PCR을 수행하였다. Primer의 nucleotide position은 AIHV-1의 DNA polymerase 염기서열에 기초하였다.¹⁰ PCR을 위한 반응조성물은 1 ug의 template DNA, 10 mM Tris-HCl, 50 mM KCl, 2 mM MgCl₂, 400 uM의 dATP, dCTP, dGTP, dTTP (Roche), 20 pmol primer 556 및 555, 5 U Taq DNA polymerase (Roche)가 50 ul의 반응용량에 각각 포함되도록 하였다. Thermal cycler 9700 (Perkin-Elmer, Foster, CA)을 이용하여 94°C 5분의 denaturation 과정 후, 94°C 30초, 60°C 1 min, 72°C 1분의 cycle을 40회 실시한 후 72°C 7분의 최종 extension 단계를 거쳐 OvHV-2에 특이 핵산을 증폭하였다. PCR을 수행한 후 ethidium bromide를 함유한 2% agarose gel에서 전기영동을 한 후 UV에서 238 bp 크기의 핵산증폭물의 유무를 확인하였다.

결 과

병리학적 소견

Group A-I의 4두의 goat들에서, 정도의 차이는 있으나, 피부에 전신적으로 산재하여 있는 alopecia 병변을 관찰할 수 있었다. 이들 병변부에서는 또한, patchy erythema와 superficial erosion 병변 또한, 관찰되었다. Group A-II와 Group B-I의 동물들에서는 피부에 특이한 병변이 관찰되지 않았다(Table 1). 피부 생검의 병리조직학적 소견은 Group A-I의 4두의 goat들에서 동물에 따라 정도의 차이는 있으나, 유사한 것을 알 수 있었다. 병변은 피부의 epidermis와 dermis에 염증세포의 침윤 소견을 관찰할 수 있었고, hair follicle 주변으로 현저히 세포 침윤이 이루어졌다는 것이 특징이었다(Fig 1). 일부 hair follicle들은 벽 (wall)에도 세포침윤이 되어, 구조가 상실된 소견을 관찰할 수 있었다(Fig 2). 염증세포는 epithelioid macrophage들과 multinucleated giant cell들 및 소수의 임파구들로 구성되어 있었으며, 조직학적으로 이들 병변부위에서 다른 세균이나, 기생충, 또는 진균으로 의심되는 병원체들의 소견은 관찰되지 않았다. 염증세포 침윤은 또한, 때때로 epidermis에서도 관찰할 수 있었고, epidermis와 dermis의 경계부위에서는 간혹 histiocyte, lymphocyte와 plasma cell 및 소수의 neutrophil

Table 1. Pathological observation of dermal lesions of the studied goats

Group ^{a)}	Animal No.	Gross findings			Histopathological finding		
		Alopecia	Erythema	Erosion	Epidermatitis	Granulomatous inflammation	Folliculitis
A-I	101	+ ^{b)}	++	+	++	+	+
	102	++	++	++	++	+	++
	103	+	+	+	+	+	+
	104	+++	++	+	++	++	+++
A-II	201	-	-	-	-	-	-
	202	-	-	-	-	-	-
B-I	301	-	-	-	-	-	-
	302	-	-	-	-	-	-

a) A-I: goats with skin problems, which had been housed with OvHV-2-infected seep, A-II: goats without skin problems, which had been housed with OvHV-2-infected seep, B-I: negative control goats.

b) -: no lesion, +: mild, ++: moderate, +++: severe lesion.

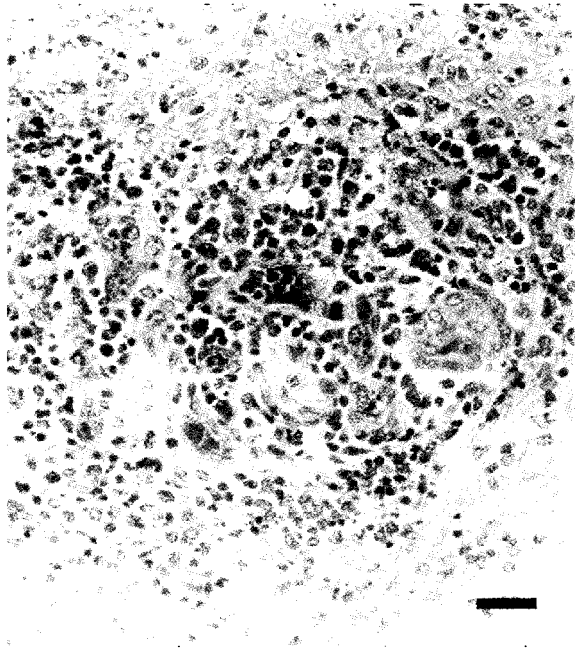


Fig. 1. Skin; goat. Dermatitis secondary to infection with MCF virus. H&E, Bar=80 um.

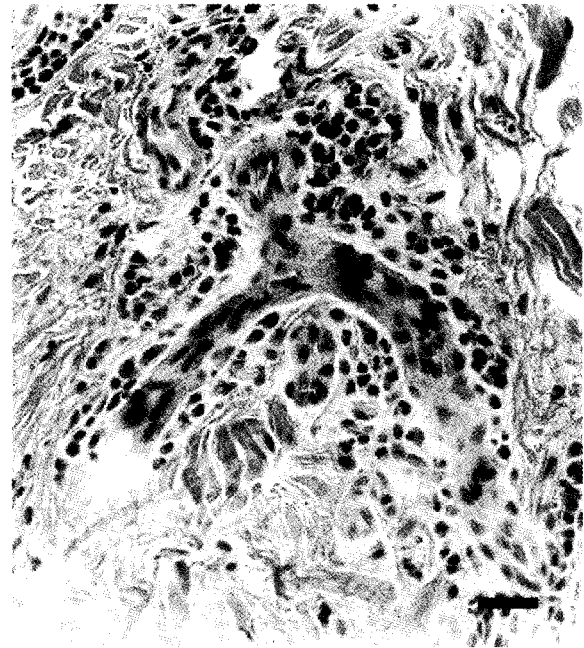


Fig. 2. Skin; goat. Dermatitis secondary to infection with MCF virus. H&E, Bar=80 um.

의 침윤이 관찰되었다. Sebaceous gland들에서는 특이한 병변들이 관찰되지 않았다.

원인 병원체 검출을 위한 검사 결과

MCF virus에 대한 항체 검사를 cELISA로 수행한 결과, Group A-I의 동물들에서 항체 양성반응 결과를 얻었다. 반면, Group A-II 및 Group B-I의 동물들은 cELISA로 항체 음성이었다(Table 2). WADDL에 의뢰하여 수행된 피부 생검 조직에

대한, pathogenic fungal culture tests와 external parasite tests의 결과, Group A-I을 포함한 공시동물 모두에서 특이한 병원체는 검출되지 않았다. 반면, 공시동물들의 PBL과 피부 생검 조직들로부터 추출한 DNA 샘플들을 이용하여 PCR 검사를 수행한 결과, Group A-I 동물들에서만 MCF virus에 특이적인 유산증폭물을 확인할 수 있었다(Fig. 3).

Table 2. Results of various analyses using the studied goats for the detection of pathogenic agents

Group ^{a)}	Animal No.	Blood			Skin	
		Antibody	PCR (PBL)	Fungal ^{b)} culture	Parasite ^{b)}	PCR (Skin)
A-I	101	+ ^{c)}	+	-	-	+
	102	+	+	-	-	+
	103	+	+	-	-	+
	104	+	+	-	-	+
A-II	201	-	-	-	-	-
	202	-	-	-	-	-
B-I	301	-	-	-	-	-
	302	-	-	-	-	-

a) A-I: goats with skin problems, which had been housed with OvHV-2-infected seep, A-II: goats without skin problems, which had been housed with OvHV-2-infected seep, B-I: negative control goats.

b) These tests were submitted to Washington Animal Disease Diagnostic Laboratory.

c) +: positive, -: negative.

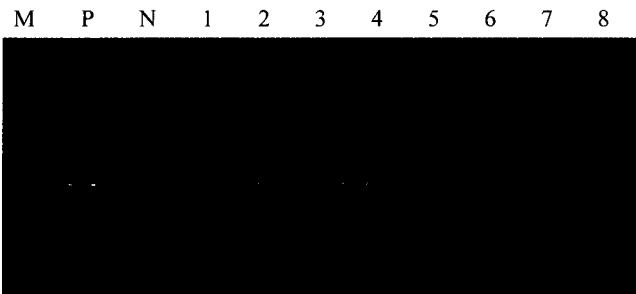


Fig. 3. Gel electrophoresis of amplicons of PBL DNAs by MCF virus-specific PCR. M, 100 bp DNA ladder; P, Positive control; N, Negative control; 1, Animal 101; 2, Animal 102; 3, Animal 103; 4, Animal 104; ; 5, Animal 201; 6, Animal 202; 7, Animal 301; 8, Animal 302.

고 찰

MCF는 감수성 있는 동물들에서 전신 임파구 증식 및 침윤증을 특징으로 하는 치명적인 임상결과를 초래하지만, 자 연속주로 알려져있는 sheep에서는 별다른 증상을 유발하지 않는 것으로 알려져있다.^{1,2,4,5} 그러나, 현재까지 goat에서의 MCF virus의 병원성에 대한, 유용한 보고가 없으며, 이런 이유로 본 연구 그룹에서는 MCF virus인 OvHV-2의 goat에 감염 및 병원성의 발현 여부에 대한 연구를 수행해오고 있었다. MCF virus에 감염된 sheep들과 함께 사육되던 goat들에서 alopecia를 동반한 피부 병변들이 발견되어, MCF 바이러스와 이들 피부 병변들과의 관련성을 알아 보기위하여 본 연구가 수행되었다. 연구 결과, 피부 병변을 가진 Group A-I의 동물들 모두는 MCF virus에 대한 항체 양성이었으며, PBL에

서 바이러스의 특이핵산을 검출할 수 있어, MCF virus에 감염되어있음을 확인할 수 있었으나, MCF 바이러스에 감염되지 않은 Group A-II와 Group B-I의 동물들에서는 피부 병변이 관찰되지 않았다. 피부 생검 조직에 대한 검사결과, 다른 진균이나 외부 기생충과 같은 병원체가 검출되지 않았고, MCF virus의 특이 핵산만이 검출되었다. 이러한, 결과들을 종합하여, Group A-I의 goat들에서 유발된 피부 병변은 MCF virus 감염증과 관련이 있는 것으로 판단할 수 있었다. 피부 병변들은 비록 주된 증상은 아니지만, MCF를 가진 다른 감수성 동물들에서, 흔히 관찰되는 소견이다.^{11,12} 이들 보고된 피부 병변들의 특징적인 임상 소견들로는 erythema 및 exudation 등이며, 조직학적 소견으로는 vasculitis와 dermal lymphoid infiltration이었다. 그러나, 본 연구에서 관찰된 goat의 피부 병변들은, 기존에 보고된 다른 반추류의 MCF 피부 소견들과는 다소 차이가 있는, granulomatous folliculitis에 의한 alopecia가 주된 병변이었다. Mural folliculitis는 dog에서 cefadroxil 및 amitraz와 같은 약물의 부작용에 의한 전신 반응과 관련되는 것으로 보고되고 있으며, 다른 동물들에서는 alopecia mucinosis 또는, dermatophytes와 같은 병원체들의 감염에 의하여 유발될 수 있다고 보고되고 있다.¹³ 본 연구의 goat들은 약물 처치를 받지 않았기 때문에, 약물 부작용에 의한 기전은 배제할 수 있었다. Alopecia mucinosis는 피부 병변에서 mucinous change를 관찰할 수 없었기 때문에, 이 또한 피부 병변의 원인에서 배제되었다. 또한, dermatophytes와 같은 감염증은 병원체 검사의 결과로부터, 배제되었다. 따라서, 본 연구의 goat에서의 mural folliculitis에 의한 alopecia는 MCF virus의 감염증에 의하여 유발된 것으로 판단되었다.

참고문헌

1. Plowright W. Malignant catarrhal fever virus. *In: Virus Infections of Ruminants*, ed. Dinter Z, Morein B, pp. 123-150. Elsevier, New York, USA, 1990.
2. Crawford TB, O'Toole D. Malignant catarrhal fever. *In: Current Veterinary Therapy IV: Food Animal Practice*, ed. Howard JL, pp. 306-309. W. B. Saunders, Philadelphia, USA, 1999.
3. Bridgen A, Reid HW. Derivation of DNA clone corresponding to the viral agent of sheep-associated malignant catarrhal fever. *Res Vet Sci* **50**:38-44, 1991.
4. Reid HW, Buxton D, et al. Malignant catarrhal fever in Père-Davids deer. *Vet Rec* **121**:276-277, 1987.
5. O'Toole D, Li H, et al. Malignant catarrhal fever in a bison (*Bison bison*) feedlot, 1993-2000. *J Vet Diagn Invest* **14**:183-193, 2002.
6. Loken T, Aleksandersen M, et al. Malignant catarrhal fever caused by ovine herpesvirus 2 in pigs in Norway. *Vet Rec* **143**:464-467, 1998.
7. Albin S, Zimmermann W, et al. Identification and quantification of ovine gammaherpesvirus 2 DNA in fresh and stored tissues of pigs with symptoms of porcine malignant catarrhal fever. *J Clin Microbiol* **41**:900-904, 2003.
8. Imai K, Nishimori T, et al. Experimental transmission of sheep-associated malignant catarrhal fever from sheep to Japanese deer (*Cervus nippon*) and cattle. *Vet Microbiol* **79**:83-90, 2001.
9. Li H, Shen DT, et al. Investigation of sheep-associated malignant catarrhal fever virus infection in ruminants by PCR and competitive inhibition enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Microbiol* **33**:2048-2053, 1995.
10. Ensser A, Pflanz R, et al. Primary structure of the alphaherpesvirus 1 genome. *J Virol* **71**:6517-6525, 1997.
11. Selman IE, Wiseman A, et al. A clinico-pathological study of bovine malignant catarrhal fever in Great Britain. *Vet Rec* **94**:483-490, 1974.
12. Sanford SE, Little PB, et al. The gross and histopathologic lesions of malignant catarrhal fever in three captive sika deer (*Cervus nippon*) in southern ontario. *J Wildlife Dis* **13**:29-32, 1977.
13. Scott DW, Miller WH, et al. Acquired alopecias. *In: Muller and Kirk's small animal dermatology*, eds. Scott DW, Miller WH, et al., 6th ed., pp. 887-912. WB Saunders, Philadelphia, USA, 2001.