

집먼지진드기 체항원을 이용한 개 옴 감염증에 대한 면역효과

윤인수 · 김재원 · 지차호*

충북대학교 수의과대학 및 동물의학연구소
(게재승인: 2003년 11월 20일)

Immunologic effects of somatic antigens of house dust mite (*Dermatophagoides pteronyssinus*) against canine sarcoptic mite (*Sarcoptes scabiei* var. *canis*) infestation

In-Soo Yoon, Jae-Won Kim and Cha-Ho Jee*

College of Veterinary Medicine and Research Institute of Veterinary Medicine
Chungbuk National University, Chungju 361-763, Korea
(Accepted: November 20, 2003)

Abstract : Canine sarcoptic mite (*Sarcoptes scabiei* var. *canis*) burrow usually in the stratum corneum of the skin of dogs and rabbits. Antigens from the burrowing mites induce cutaneous inflammatory reaction and humoral and cell-mediated immune response in the host. The effect of immunization induced by somatic antigens of house dust mite (*Dermatophagoides* spp.) has been evaluated to control the canine sarcoptic mite in this experiment. Twelve common antigens (187, 142, 126, 120, 109, 92, 80, 68, 51, 30, 25, 17 kDa) were found using SDS-PAGE with silver staining and Western blot between canine sarcoptic mite and house dust mite. In order to evaluate the immunologic effect of these common antigens 10 New Zealand white rabbits were divided as 4 groups such as negative control (group I), positive challenged control (group II), vaccinated (group III), and vaccinated-challenged (group IV) groups. Group II was artificially infested with about 1,000 canine sarcoptic mites and group III and IV were immunized with somatic antigens of house dust mite. In addition group IV was artificially infested with about 1,000 canine sarcoptic mites and group II, IV were treated with ivermectin. At the 8 weeks of the vaccination with common antigen, the antibody titers of all groups of II, III and IV had been increased. Both infestation score and live canine sarcoptic mite counts of group IV were lower than group III. Infestation score of group II become 0 by 2 weeks and group IV by 4 weeks after infestation. These results suggest that house dust mite, which is easy to culture in vitro, can be a vaccine candidate for protection of canine sarcoptic mite infestation.

Key words : Canine sarcoptic mite (*Sarcoptes scabiei* var. *canis*), house dust mite (*Dermatophagoides* spp.), somatic antigens, infestation score, vaccination

서 론

개 옴(*Sarcoptes scabiei* var. *canis*)의 생활사는 수정된 암컷이 숙주의 피부 속을 뚫고 들어가 굴을 파고 충란(egg)을 하루에 1~2개씩 일생 동안 40~50개의 알을 낳는다. 이 충란은 3~5일 내에 부화되어 6개의 다리를 지닌 유충(larva)으로 발육하며, 약충은 숙주피부의 각질층으로 뚫고 들어가 탈피낭을 형성하여 암컷과 수컷으로

발육하며 성충으로 완전히 발육하기까지는 약 17일이 소요된다. 개 옴은 숙주의 표피각질층 밑이나 표피 하 또는 진피에 굴을 파고 숙주의 림프액을 빨아먹고 또한 신생표피 세포도 먹으며 [9] 숙주를 떠나서도 적당한 조건에서는 3주간 생존할 수 있다 [4]. 개 옴이 감염되는 부위는 겨드랑이, 사타구니, 머리, 귀 또는 눈 부위이며 구진성 피부염, 림프성 가피형성, 구진 파열, 가려움으로 병소를 굵게 되어 염증이 더욱 악화된다. 이러한 피

*Corresponding author: Cha-Ho Jee
College of Veterinary Medicine, Chungbuk National University, Chungju 361-763, Korea
[Tel: 82-43-261-2985, Fax: 82-43-267-3150, E-mail: chjee@cbu.ac.kr]

부의 염증에서는 삼출물이 흘러나와 표면에 가피를 형성하고 각피화와 결합조직의 증식으로 피부는 비후되며 주벽이 생기며 탈모와 2차 감염이 일어나고 자기손상(selfmutilation)이 일어날 수 있다 [6]. 옴은 한 번 감염되면 근절하기 어려울 뿐만 아니라 개 옴에 감염된 것을 진단하는 것은 더욱 어려운 일이다. 개 옴증을 진단하기 위해 주로 참고표본에서 개 옴의 충란이나 총체를 확인하지만 그 방법의 정확도는 50% 미만인 것으로 보고되고 있다 [3].

개 옴이 숙주에 감염되면 숙주 체내에서 세포성 면역와 순환항체(circulating antibody)가 형성된다 [21, 25]. 이러한 항체를 이용하여 숙주가 서로 다른 옴들의 체항원(somatic antigen)에 대한 교차 면역반응을 확인하고 그것을 이용하여 서로 다른 옴들의 감염증에 대한 진단 및 예방에 이용하기도 하였는데, 예를 들어 여우 옴의 항원을 이용하여 돼지 옴의 진단에 사용한 연구 [16]와 사람에게 감염된 사람의 항체를 이용하여 개 옴과 돼지 옴의 항원을 찾아낸 연구 [7]는 좋은 보기라 할 수 있다. 특히 집먼지진드기(*Dermatophagoides pteronyssinus*, house dust mite, HDM) 체항원의 교차 면역반응을 이용한 다른 옴 감염증의 진단 및 예방에 관한 연구가 활발히 수행중인데, 그들에게서 발견된 항원은 사람은 물론 개에게 있어서도 아토피성 피부염(atopic dermatitis)을 일으키고 순환 IgE와 IgG의 형성을 유도한다 [18, 23, 26]. 이러한 점을 이용하여 Arlian 등 [11]은 집먼지진드기 체항원을 이용한 옴의 면역효과 실험에서 교차면역 및 전기영동 방법으로 찾아낸 집먼지진드기와 개 옴 체항원 사이에 존재하는 7개의 공통항원을 이용하여 좋은 면역 효과를 얻은 바 있고 Bornstein 등 [13]의 돼지 옴에 대한 면역효과 실험에서도 돼지 옴과 집먼지진드기 체항원 사이의 공통항원을 이용해 좋은 면역효과를 얻은 바 있다.

집먼지진드기는 1864년 Bogdanoff에 의해 처음 발견되었고 전 세계적으로 고루 분포되어 있는 것으로 확인되었다 [2]. 또한 그것들에서 발견된 항원이 사람의 천식유발에 가장 중요한 원인물질로 확인됨에 따라 그에 대한 많은 연구가 진행되고 있으며, 실험실내 인공배양도 손쉬워져서 적은 비용과 공간에서도 대량으로 배양이 가능해졌기 [14] 때문에 다른 옴과의 교차 항원 반응에 대하여 많은 연구가 진행되어져 왔다.

대부분의 옴들은 숙주 특이성이 높아서 숙주 이외의 다른 동물에 감염되어도 일시적인 감염만이 될 뿐 완전한 생활환을 이루지는 못한다. 그러나 개 옴을 다른 동물에 인공감염시킨 결과 토끼에서는 개 옴의 인공감염이 성공하였으며 돼지와 guinea pig에서는 일시적인 감염만이 되었고 mouse와 rat에서는 감염이 되지 않았다 [13]. 위의 연구를 바탕으로 개 옴과 집먼지진드기의

항원의 유사성이나 면역성을 알아보기 위한 연구에서 개 옴의 종숙주인 개 대신 토끼(New Zealand white rabbits, *Oryctolagus cuniculus*)를 많이 사용하였는데 [9, 11, 10] 이는 토끼에 인공감염시킨 개 옴의 형태학적 변화가 없었고, 토끼에 감염되었던 개 옴이 다시 개에게로 감염이 된다는 것 [5]에 기초를 둔 것이다. 본 실험에서는 위와 같은 연구들을 바탕으로 관리가 어려운 개 대신 토끼를 실험에 사용하게 되었다.

본 실험에서는 위의 연구들을 바탕으로 개 옴과 집먼지진드기의 체항원에 대하여 SDS-PAGE (sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis), Western blotting 및 효소면역흡착법(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)을 실시하여 각각의 항원구조와 두 항원간의 교차면역반응을 확인한 후, 토끼를 실험동물로 사용하여 확인된 집먼지진드기의 체항원을 이용한 개 옴증에 대한 면역효과를 알아보려고 본 실험을 실시하였다.

재료 및 방법

개 옴 및 집먼지진드기

(1) 개 옴 및 집먼지진드기 수집

개 옴은 옴을 인공감염시킨 개의 피부에 생긴 가피와 인공감염시킨 토끼의 귀 안쪽에 생긴 가피를 찰과하여 회수하였고, 집먼지진드기는 연세대학교 의과대학 기생충학 실험실에서 분양 받은 것을 본 실험실에서 인공배양하여 수집하였다.

(2) 체항원 제조

체항원 제조는 Arlian 등 [11]의 연구에서 사용된 방법에 따라 개 옴과 집먼지진드기 체항원(somatic antigen)을 인산완충용액(phosphate buffered solution : PBS, pH 7.4)으로 세척한 후 막자사발로 분쇄하여 PBS로 용해하고 탈지방화하기 위해 동량의 chloroform과 혼합 후 10,000 g에서 15분간 원심분리 후 상층액을 회수한 다음 0.45 μm 필터로 여과하여 사용하였다.

실험동물 및 혈청

(1) 실험동물 및 혈청

본 실험에서는 2~2.5 kg 된 암컷 토끼(New Zealand white rabbit, 연암 원예축산대학) 10마리를 각 group별로 음성대조군(group I) 2마리, 양성대조군(group II) 2마리, 면역대조군(group III) 2마리, 면역실험군(group IV) 4마리로 나누어 실험에 사용하였다.

4개 group으로 나눈 10마리 토끼에서 실험시작일로부터 실험종료일까지 1주 간격으로 귀정맥에서 혈액을 채취하여 Ependorff tube에 넣은 후 1,500 rpm에서 15분간 원심분리 후 상층의 혈청을 효소면역흡착법에 사용

하였다.

항원구조 및 항원성 비교 분석

(1) SDS-PAGE

본 실험에서는 12.5% SDS-PAGE gel을 사용하고, 전기영동은 Blackshear [12]의 방법에 준하여 실시하였으며 Silver staining은 Merrill 등 [8]의 방법에 준하여 각 항원의 분획을 확인하였다. 전기영동한 gel의 Silver staining은 50% methanol/10% acetic acid 용액에 한 시간동안 2~3회 용액을 교체하면서 천천히 반응시킨 후 시약 A로 15분간 천천히 교반하면서 반응시켰다. 반응된 gel은 시약 B로 gel 전체가 노란색으로 발색될 때까지 천천히 염색한 후 세척하였으며, 1% acetic acid로 반응을 멈춘 후 개 음과 집먼지진드기 체항원 간의 분획을 관찰하였다.

(2) Western blotting

개 음의 체항원을 12.5% SDS-PAGE gel로 전기영동 후 집먼지진드기 체항원으로 면역시킨 토끼로부터 얻은 혈청과 음에 인공감염된 토끼로부터 얻은 혈청을 이용하여 Arlian [10]의 방법을 수정하여 Western blotting을 실시하여 집먼지진드기 체항원에 의한 항원과 개 음 체항원 간의 공통분획을 알아보았다.

(3) 효소면역흡착법

효소면역흡착법은 Arlian 등 [9]의 방법에 준하여 실시하였으며 준비된 개 음 체항원을 Carbonate-bicarbonate buffer(pH 9.6)로 1 µg/ml 되도록 희석한 다음 각 well에 100 µl씩 분주하였다. 항원이 분주된 plate는 37°C에서 1시간 반응시켜 coating 하였다. Coating 후 상층액을 제거한 다음 0.05% PBS-Tween 20으로 3회 세척하고 0.05% PBS-Tween 20을 완전히 제거하였다. 그런 후에 blocking buffer(5% non-fat dry milk in PBS)를 100 µl씩 분주한 다음, 37°C에서 2시간 이상 반응시킨 후, 0.05% PBS-Tween 20으로 3회 세척하였다. 1차 항체(실험시작 전부터 실험종료일까지 Group I, II, III, IV 혈청)는 PBS-Tween 20으로 100배 희석하여 사용하였으며, 희석된 혈청은 각 well에 100 µl씩 첨가한 후 37°C에서 1시간 배양한 다음 0.05% PBS-Tween 20으로 3회 세척하였다. 2차 항체(alkaline phosphatase conjugated goat anti-rabbit IgG, KPL, USA)는 0.05% PBS-Tween 20으로 2,000배 희석하여 각 well에 100 µl씩 첨가하여 37°C에서 1시간 반응시켰다. 1시간 후에 세척액으로 3회 세척하며, 기질 [p-nitrophenyl phosphate(PNPP), Diethanolamine 1 ml, MgCl₂ 0.006 g, D.W 9 ml]은 각 well에 100 µl씩 첨가한 후 실온 암시야에서 40분간 방치한 후 ELISA reader (ELx808, BIO-TEK.)를 이용하여 405 nm에서 흡광도를 측정하였다.

면역 및 면역효과 실험

(1) 면역

10마리의 New Zealand white rabbit를 4개 group으로 나누고 group III와 group IV는 집먼지진드기 체항원으로 면역시켰다.

집먼지진드기의 체항원 양을 2.5 mg/ml로 적정하고 동량의 Freund's complete adjuvant를 섞어 emulsion을 제조하여 group III와 group IV 토끼의 등 부위에 피하주사하였다. 준비한 항원과 Freund's incomplete adjuvant를 동량으로 섞어 emulsion을 만들고 1차 접종 후에 2주 간격으로 2회 추가 접종하였다. 3차 접종까지 마친 group III와 group IV의 토끼의 귀에서 혈액을 채취 후 혈청을 분리한 후 효소면역흡착법을 실시하여 항체가를 알아봄으로써 면역여부를 확인하였다.

(2) 개 음 인공감염

살아있는 개 음을 입체현미경(×40)으로 보면서 회수하여 집먼지진드기 체항원으로 면역을 하지 않은 group II와 면역을 끝낸 group IV의 토끼 귀에 각각 약 1,000 마리씩 인공감염시켰다.

(3) 항체가 변화 측정

4개 group으로 나눈 10마리의 토끼에서 효소면역흡착법을 실시하기 위해 실험시작일부터 실험종료일까지 1~2주 간격으로 토끼의 귀정맥에서 혈액을 채취(2 ml) 한 다음 혈액을 1,500 rpm에서 10분간 원심분리 후 상층의 혈청만을 수거하여 이렇게 얻은 혈청은 실험기간동안 냉동보관하였다.

실험기간 동안 얻은 각 group의 토끼 혈청을 이용하여 항체가 변화를 알아보기 위하여 효소면역흡착법을 실시하였다.

(4) 개 음 치료 반응

각 group 간 개 음의 치료 반응을 알아보기 위해 개 음 인공감염 8주 후 group II, IV의 토끼 6마리에 각각 ivermectin(Ivomec® 1.0%w/v injection, Merck Sharp & Dohme B.V, Netherlands)을 피하주사(0.05 ml/2.5 kg) 한 후 4주 동안 치료반응을 관찰하였다.

(5) 개 음의 감염지수 및 마리 수 측정

Group II와 group IV의 ivermectin 주사 후 면역에 따른 치료반응을 알아보기 위해 개 음 감염지수와 개 음

Table 1. Grouping and immunization

Items	Group I	Group II	Group III	Group IV
HDM ^a immunization	No	No	Yes	Yes
SS ^b challenge	No	Yes	No	Yes
No. of rabbits	2	2	2	4

^aHouse dust mite

^bCanine sarcoptic mite

Table 2. Experimental designs

Groups	Weeks				
	0	2nd	4th	6th	15th
Group I					
Group II				C	T
Group III	I	I	I		
Group IV	I	I	I	C	T

I : Immunization with HDM

C : Challenge with sarcoptic mites

T : Treatment

의 마리 수를 확인하였다. 감염지수는 귀 안쪽에 생긴 가피의 크기를 기준으로 하고 가피 크기가 2.2×2.2 mm 인 것을 감염지수 1로 정하였으며 가피가 육안으로 관찰되지 않은 경우에는 감염지수 0으로 하였다. 마리 수는 개 음의 인공감염 시와 같은 기준(가피 2.2×2.2 mm 당 살아있는 음 약 100마리)으로 측정하였다. 개 음의 감염지수와 마리 수 계산은 group II, IV의 토끼에 개 음을 인공감염시킨 후 8주와 개 음 치료 후 4주 때 각각 측정하였다.

결 과

항원성 비교분석

(1) SDS-PAGE

개 음과 집먼지진드기의 체항원을 12.5% SDS-PAGE gel을 이용하여 전기영동한 후 silver staining에 의해 항원을 확인한 결과, 개 음과 집먼지진드기의 체항원

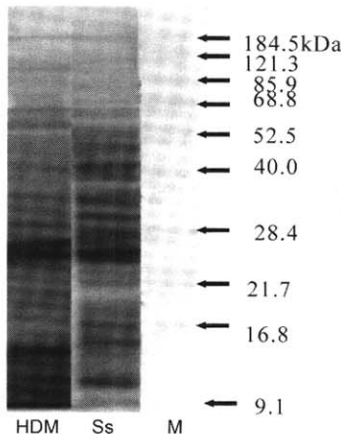


Fig. 1. The comparative somatic antigens of sarcoptic mite and house dust mite in 12.5% SDS-PAGE and silver staining. [M : Marker, HDM : Somatic antigens of house dust mite, Ss : Somatic antigens of sarcoptic mite]

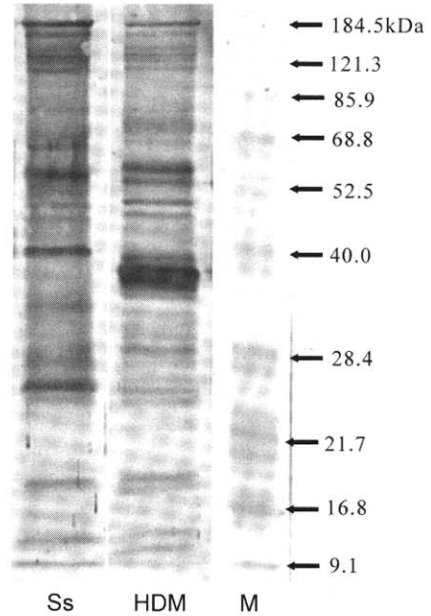


Fig. 2. The comparative antibodies of sera of the house dust mite immunized and the Ss artificially infested rabbits with somatic antigens of canine sarcoptic mite by Western blotting. [M : Marker, HDM : Serum of HDM immunized rabbit, Ss : Serum of the artificially infested rabbit with sarcoptic mites]

이 10~187 kDa에 걸쳐 넓게 분포함을 확인할 수 있었다 (Fig. 1).

(2) Western blotting

개 음의 체항원을 이용하여 12.5% SDS-PAGE gel로 전기영동 후 집먼지진드기 체항원으로 면역시킨 토끼로부터 얻은 혈청과 개 음에 인공감염된 토끼로부터 얻은 혈청을 이용하여 Western blotting을 실시하여 집먼지진드기 체항원과 음 체항원간의 공통분획을 알아본 결과, 187, 142, 126, 120, 109, 92, 80, 68, 51, 30, 25, 17 kDa의 공통분획이 존재함을 확인하였다(Fig. 2).

면역효과 비교분석

(1) 효소면역흡착법 OD값 측정

1) 효소면역흡착법 OD값 비교

각 group의 면역효과를 알아보기 위해 효소면역흡착법으로 값을 측정해 본 결과 면역을 시키지 않은 음성 대조군(group I)의 OD값은 실험 기간동안 0.260에서 0.334의 범위 내에서 거의 일정한 값을 보였다. 집먼지진드기 체항원으로 면역을 시킨 면역대조군(group III)의 OD값은 0.224에서 1.236으로 증가하였으며, 면역을 마친 후 12주 동안 비슷한 수준의 OD값을 나타냈다. 면

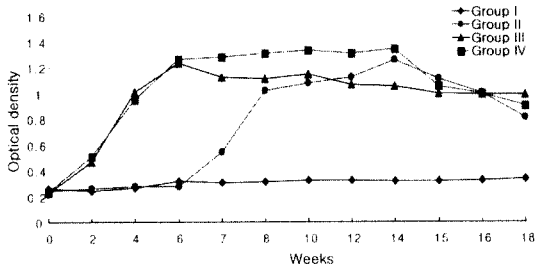


Fig. 3. Changes of antibody titer on the house dust mite (HDM) in New Zealand white rabbit. Group III and IV were immunized on week 0, 2, 4 with HDM. Group II and IV were challenged with sarcoptic mites. Treatment of sarcoptic mites was executed on week 14 in Group II and IV.

역을 시키지 않은 양성대조군(group II)은 개 음을 인공 감염시킨 후 OD값이 0.279에서 1.260까지 증가하였고 면역실험군(group IV)은 집먼지진드기 체항원으로 면역시킨 후 OD값이 0.240에서 1.261로 증가하였으며 개 음 인공감염 후에는 1.261에서 1.346으로 증가하였다 (Fig. 3).

2) 개 음 치료 후 효소면역흡착법 OD값 비교

Group II, IV의 개 음을 Ivermectin으로 치료한 후 4주 경과 후 OD값을 비교한 결과, 양성대조군(group II)의 OD값이 1.260에서 0.813으로 감소하였으며 면역실험군(group IV)은 1.346에서 0.903으로 감소하였다(Fig. 3).

(2) 개 음 감염지수 비교

1) 치료 전 개 음 감염지수 비교

집먼지진드기 체항원으로 면역을 시킨 Group IV와 면역을 시키지 않은 Group II에 각각 1,000마리씩의 개 음을 인공감염시킴으로써 음에 대한 집먼지진드기 체항원의 면역효과를 감염지수로 비교해 보았다.

개 음을 인공감염 후 8주까지 양성 대조군(Group II)의 감염지수는 0에서 3.25까지 증가하였으며 실험군

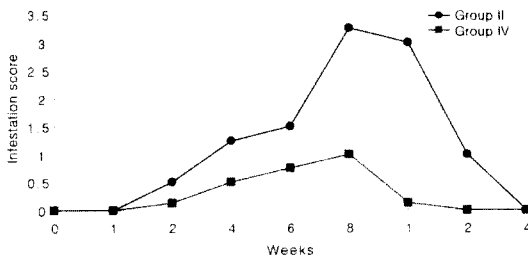


Fig. 4. Infestation score of sarcoptic mites in group II and IV. Group II and IV were challenged with sarcoptic mites.

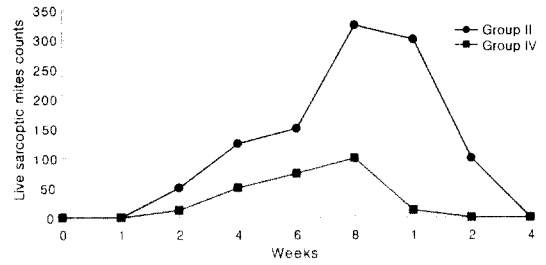


Fig. 5. Number of live sarcoptic mites of Group II and IV. Group II and IV were challenged with sarcoptic mites.

(Group IV)은 0에서 1까지 증가하였다(Fig. 4).

2) 치료 후 개 음 감염지수 비교

Group II, IV의 개 음을 이보멕(ivermectin)으로 치료하고 4주 경과 후, 개 음 감염지수를 비교 한 결과 양성 대조군(group II)은 3.25에서 0으로 감소하였으며 면역실험군(Group IV)은 1에서 0으로 감소하였다(Fig. 4).

(3) 개 음 마리 수 비교

1) 치료 전 개 음 마리 수 비교

집먼지진드기 체항원으로 면역을 시킨 면역실험군(group IV)과 면역을 시키지 않은 면역대조군(group II)에 각각 1,000마리씩의 개 음을 인공감염시킴으로써 개 음에 대한 집먼지진드기 체항원의 면역효과를 개 음 마리 수로 비교해 보았다. 개 음을 ivermectin으로 치료하기 전 8주까지 양성대조군(group II)의 개 음 마리 수는 0에서 388까지 증가하였으며 면역실험군(group IV)는 0에서 108까지 증가하였다(Fig. 5).

2) 치료 후 개 음 마리 수 비교

Group II, IV의 개 음을 ivermectin으로 치료하고 4주 경과 후 개 음의 마리 수를 비교한 결과 양성대조군(group II)은 388에서 0으로 감소하였으며 면역실험군(group IV)은 108에서 0으로 감소하였다(Fig. 5).

고 찰

개 음은 세계적인 분포를 보이고 있으며 각종 포유류의 가죽과 야생동물의 피부에 굴을 뚫고 들어가 기생하면서 숙주의 림프액을 먹고살면서 천공개선충증(sarcoptic mange)을 일으키는 중요한 외부기생충이다[1, 8]. 개 음은 한번 감염되면 근절하기 어려울 뿐만 아니라 진단방법으로 흔히 쓰고 있는 피부 찰과의 진단율은 50% 내외인 것이 지금의 현실이다 [3]. 이와 관련하여 외국에서는 항원-항체 반응을 이용한 면역효과에 관심을 기울이고 있는데 그 중에서도 눈길을 끄는 것이 바로 집먼지진드기 체항원을 이용한 면역효과이다 [4, 19, 8].

과거는 물론 현재까지도 많은 연구자들에 의해 집먼

지진드기 체항원과 개 옴의 체항원을 비교분석하고 그들의 공통된 항원을 이용해 개 옴의 면역효과에 대한 연구 [16, 19]가 활발히 진행중인데 개 옴 자체의 항원을 이용하지 않고 집먼지진드기의 공통항원을 이용한 이유는 집먼지진드기가 오래 전부터 사람과 개의 알러지성 천식의 주요원인으로 알려짐으로써 그에 대한 연구가 활발히 진행된 만큼 인공배양 및 대량생산이 가능하게 되어 많은 양의 체항원을 얻을 수 있다는 것이 가장 큰 이유인 것 같고 이와 비슷한 연구들이 진행중이다. 또한 토끼에 인공감염시킨 개 옴의 형태학적 변화가 없었고, 토끼에 감염되었던 개 옴이 다시 개에게로 감염이 된다는 것 [10]에 착안하여 본 실험에서는 사육 관리가 어려운 개 대신에 토끼를 실험에 사용하게 되었다.

본 실험에서도 위와 같은 연구들을 바탕으로 개 옴과 집먼지진드기 체항원의 항원구조와 항원성을 조사하여 두 체항원간의 공통항원을 확인하고 확인된 집먼지진드기 체항원을 이용하여 토끼에게 면역을 시킴으로써 개 옴 감염에 대한 면역효과를 알아보는 것을 최종 목적으로 하였다.

먼저 개 옴과 집먼지진드기 체항원을 이용하여 silver staining을 실시한 결과, 개 옴과 집먼지진드기 체항원의 주요 공통 분획은 10~187 kDa에 걸쳐 넓게 분포함을 확인할 수 있었으며 Western blotting의 결과에서는 개 옴의 체항원과 집먼지진드기의 체항원의 공통분획은 187, 142, 126, 120, 109, 92, 80, 68, 51, 30, 25, 17 kDa 등 총 12개의 공통분획을 확인할 수 있었다. 이러한 결과를 미루어 집먼지진드기 체항원을 이용한 개 옴의 면역효과의 가능성을 알 수 있었다. Schumann 등 [23]의 연구에서 개 옴과 집먼지진드기 항원이 알러지성 피부염에 걸린 83마리의 개 혈청 내 IgE와 반응하는 10개의 공통항원(218.4, 187, 142.5, 126.8, 109.2, 92.4, 79.9, 68.0, 50.9, 32.8 kDa)을 확인하였는데 본 실험에서 확인한 공통항원과는 다소 차이가 있었다. 이는 실험에 사용한 혈청이 서로 다르기 때문에 생긴 차이로 생각된다. 일찍이 Arlian 등 [11]은 집먼지진드기 체항원을 이용한 개 옴의 면역 효과 실험에서 집먼지진드기와 개 옴 체항원 사이에 존재하는 공통항원을 이용하여 좋은 면역 효과를 얻은 바 있고 Bornstein 등 [13]은 돼지 진드기에 대한 면역효과 실험을 통해 돼지 옴과 집먼지진드기 체항원 사이의 공통항원을 이용해 좋은 결과를 얻은 바 있다.

본 실험에서 개 옴과 집먼지진드기 체항원을 이용하여 토끼에게 면역을 시킨 후 각 group의 면역효과를 알아보기 위해 효소면역흡착법으로 OD 값을 측정해 본 결과 집먼지진드기 체항원으로 면역을 시키지 않은 음성대조군(group I)의 OD값은 실험 기간동안 0.260에서 0.334로 거의 일정한 값을 보였으며 집먼지진드기 체항

원으로 면역을 시킨 면역대조군(group III)의 OD값은 0.224에서 1.236으로 증가하였으며 면역을 마친 후 12주 동안 비슷한 OD값을 나타냈다. 이와 같은 결과는 집먼지진드기 체항원이 숙주인 토끼로부터 항체를 만들어 내고 만들어진 항체는 최소 12주까지 지속되는 것을 확인시켜주고 있다. 집먼지진드기의 체항원으로 면역을 시키지 않은 양성대조군(group II)은 개 옴을 인공감염시킨 후 OD값이 0.279에서 1.260까지 증가하였고 면역실험군(group IV)은 집먼지진드기 체항원으로 면역을 시킨 후 OD값이 0.240에서 1.261로 증가하였으며 개 옴 인공감염 후에는 1.261에서 1.346으로 증가하였는데 이는 앞에서 집먼지진드기로 면역을 시켰을 때 OD값이 증가한 것과 마찬가지로 개 옴의 감염으로 항체가 생성되었음을 간접적으로 알 수 있다. 또한 group IV에서는 집먼지진드기 체항원으로 면역을 시킨 후 다시 개 옴을 인공감염시킨 경우인데 이 경우에는 개 옴만을 인공감염시켜 얻은 항체가(group II)보다 더 높은 항체가 유지됨을 보여주고 있다. 개 옴의 인공감염에 대한 집먼지진드기 면역의 효과를 알아보기 위해 개 옴 인공감염 이후 2주마다 감염지수 및 살아있는 개 옴의 수를 확인하게 되었다. Arlian 등 [10, 11]의 연구에서 집먼지진드기 항원을 이용한 개 옴 및 돼지 옴의 면역효과는 주로 항체가, 감염지수와 살아있는 옴의 수를 통해 알아보았으며 새싹이진드기를 이용한 면역효과 실험 [1, 2, 20]에서는 항체와 새싹이진드기(*Ornithonyssus sylviarum*)의 마리 수를 비교하여 면역효과를 측정하였다. 본 실험에서도 면역에 따른 항체의 변화와 감염지수, 살아있는 옴 마리 수를 비교해 면역효과의 판정기준으로 삼았다.

효소면역흡착법의 결과 면역실험군(group IV)의 OD값은 면역 후 형성된 값보다 개 옴 인공감염 이후에 더 증가했음을 알 수 있었고 이후 개 옴을 ivermectin으로 치료한 이후 OD값이 감소했음을 알 수 있다. Group II도 개 옴 인공감염이후 OD값이 증가하고 ivermectin으로 치료한 이후 OD값이 감소했지만 집먼지진드기 체항원으로 먼저 면역을 시킨 group IV에 비해 낮은 수준으로 OD값이 변화되는 것을 알 수 있었다. 이와 같은 결과는 집먼지진드기 체항원을 이용해 먼저 면역을 시킨 group IV가 그렇지 않은 group II에 비해 개 옴 감염에 따른 항체가 booster 효과를 보여주고 있는 것이다.

개 옴 감염지수 및 옴 마리 수의 실험결과 집먼지진드기로 면역을 시킨 group IV와 면역을 시키지 않은 group II 모두 비슷한 양상을 보였다. 즉 개 옴을 group II와 group IV에 각각 1,000마리씩 인공감염시킨 후 8주까지 개 옴 감염지수 및 살아있는 개 옴의 마리 수는 증가하였고 ivermectin으로 치료 후 4주까지 개 옴 감염지수 및 살아있는 개 옴의 마리 수는 감소하였다. 하지만 수치면에

있어서 음 감염지수의 경우 집먼지진드기 체항원으로 먼저 면역시킨 group IV는 0-1-0으로 변했고 면역시키지 않은 group II의 경우 개 음 감염지수가 0-3.25-0으로 되었으며 감염지수가 0으로 되는 기간도 group IV의 경우 ivermectin 치료 후 2주인데 반해 면역시키지 않은 group II는 4주가 걸렸다. 살아있는 개 음의 마리 수를 확인하는 실험 역시 개 음 감염지수 결과와 비슷하였다. 이와 같은 결과는 Arlian 등 [11] 연구와 새뿔이진드기를 이용한 Devaney 등 [15, 22]의 연구에서도 같은 결과를 볼 수가 있는데 처리군과 대조군 모두 인공감염 이후 4주 쯤까지 진드기 수가 증가하다가 5주째부터 감소하는 양상을 보여주고 있으며 처리군이 대조군보다 낮은 수준으로 유지되는 것을 볼 수 있었다. 위와 같은 결과로 미루어 볼 때 집먼지진드기 체항원을 이용해 면역시켰을 때 만들어진 항체가 개 음 감염 및 치료에 영향을 미친다는 것을 미뤄 짐작할 수 있었고 그 효과도 있는 것으로 보여진다. 이와 같이 토끼에게 집먼지진드기 체항원을 면역시킨 후 어떤 기전으로 개 음의 감염과 치료에 작용을 하는지에 대한 기전은 정확히 밝혀진 바는 없지만 Arlian 등 [9]의 연구에서 T-helper cell type 1 (Th1) 과 Th2가 개 음에 대한 병원성과 발현(expression)에 중요한 역할을 한다고 밝히고 있다. 즉 Th2는 형질세포에서 항체를 증가시키고 Th1은 세포성 면역반응을 유도해 개 음의 감염에 대해 방어한다는 것이다. 본 실험과 유사한 실험을 한 바 있는 Arlian 등 [12]의 연구 결과를 보면 집먼지진드기로 면역시킨 실험군 중 개 음을 감염시킨 후 감염지수는 1.8, 마리 수는 100이었다. 반면 면역을 시키지 않은 양성 대조군은 감염지수는 4.4, 마리 수는 300이었다. 이런 연구결과는 본 실험에서 나타난 실험성적과 유사하였다.

이상의 결과를 종합해 볼 때 집먼지진드기 체항원을 이용한 개 음의 면역효과가 있는 것으로 확인되었고 면역항체가 최소 12주까지 지속된다는 것을 확인할 수 있었다. 현재 개 음에 감염되면 그 근절이 어려울 뿐 아니라 개 음을 진단하는 데에도 많은 어려움이 있다는 것을 감안한다면 집먼지진드기 체항원을 이용한 개 음의 백신개발은 음의 근절 및 방에 큰 효과가 있을 것으로 사료되고 또한 개 음과 집먼지진드기 체항원간의 공통항원만을 분리하여 면역에 사용하고 더 나아가 집먼지진드기에 대한 면역항체의 지속시간을 연구한다면 더 좋은 효과가 있을 것으로 기대된다.

결 론

집먼지진드기 체항원을 이용한 개 음의 면역효과를 알아보기 위하여 개 음과 집먼지진드기 체항원을 SDS-

PAGE, Western blotting, 효소면역흡착법을 실시하여 두 항원의 항원구조 및 항원성을 비교하였으며 집먼지진드기 체항원을 이용해 토끼에게 면역시켜 효소면역흡착법 OD 값, 개 음의 감염지수 그리고 개 음의 마리 수 등을 조사하여 면역효과에 대해 조사한 결과는 다음과 같았다.

1. 개 음과 집먼지진드기 체항원은 전기영동 후 silver staining 결과, 10~187 kDa에 걸쳐 넓게 분포함을 확인하였으며 개 음을 인공감염시킨 토끼의 혈청과 집먼지진드기로 면역시킨 토끼의 혈청으로 Western blotting을 실시한 결과 187, 142, 126, 120, 109, 92, 80, 68, 51, 30, 25, 17 kDa의 공통분획이 존재함을 확인할 수 있었다.

2. 개 음으로 인공감염시킨 group II, IV와 집먼지진드기 체항원으로 면역시킨 group III, IV에서 효소면역흡착법에 의한 OD값이 증가한 것으로 나타났다.

3. 집먼지진드기 체항원을 이용해 면역시킨 group IV에 개 음을 인공감염시킨 면역효과 실험에서 면역시키지 않은 group II에 비하여 group IV가 감염지수와 개 음 마리 수에서 낮은 수치를 보였으며 치료 반응에서는 group II와 group IV가 결과적으로는 같은 치료반응을 나타내었으나 group IV가 group II에 비하여 시간적으로 약 2주일 정도의 빠른 치료 효과를 보였다.

이러한 결과를 종합해 볼 때, 개 음 체항원과 집먼지진드기 체항원 사이에는 공통적인 항원이 존재하며 이러한 공통항원을 이용하여 개 음 감염증에 대해 인공배양 및 대량생산이 가능한 집먼지진드기 체항원으로 개 음 감염증에 대한 면역을 유도하여 치료기간을 단축시키는 것이 가능할 것으로 사료된다.

참고문헌

1. 이재구. 최신수의기생충학. 대한교과서주식회사. 1999, 333-340.
2. 조백기. 집먼지진드기. Allergy. 1981, 1, 138-144.
3. Arlian, L. G. and Morgan, M. S. Serum antibody to *Sarcoptes scabiei* and house dust mite prior to and during infestation with *S. scabiei*. Vet. Parasitol. 2000, 90, 315-326.
4. Arlian, L. G. and Vyszynski-Moher, D. L. Life cycle of *Sarcoptes scabiei* var. *canis*. J. Parasitol. 1988, 74, 427-430.
5. Arlian, L. G., Runyan, R. A. and Estes, S. A. Cross infestivity of *Sarcoptes scabiei*. J. Am. Acad. Dermatol. 1984, 10, 979-986.
6. Arlian, L. G., Bruner, R. H. and Vyszynski-Moher, D. L. Histopathology in hosts parasitized by *Sarcoptes scabiei*. J. Parasitol. 1990, 76, 889-894.
7. Arlian, L. G., Morgan, M. S. and Arends, J. J.

- Immunologic cross-reactivity among various strains of *Sarcoptes scabiei*. J. Parasitol. 1996, **82**, 66-72.
8. **Arlian, L. G., Morgan, M. S., Christine, M. R. and et al.** The development of protective immunity on canine scabies. Vet. Parasitol. 1995, **62**, 133-142.
 9. **Arlian, L. G., Rapp, C. M. and Morgan, M. S.** Resistance and immune response in scabies-infested hosts immunized with *Dermatophagoides* mites. Am. J. Trop. Med. Hyg. 1996, **52**, 539-545.
 10. **Arlian, L. G., Vyszynski-Moher, D. L. and Ahmed, S. G. and et al.** Cross-antigenicity between the scabies mite, *Sarcoptes scabiei* and the house dust mite, *Dermatophagoides pteronyssinus*. J. Invest Dermatol. 1991, **96**, 349-354.
 11. **Arlian, L. G., Vyszynski-Moher, D. L. and Gilmore, A. M.** Cross-antigenicity between *Sarcoptes scabiei* and the house dust mite, *Dermatophagoides farinae* (Acari: Sarcoptidae and Pyroglyphidae). J. Med. Entomol. 1988, **25**, 240-247.
 12. **Blackshear, P. J.** Systems for polyacrylamide gel electrophoresis. Meth. Enzymol. 1984, **104**, 237-255.
 13. **Bornstein, S. and Zakrisson, G.** Clinical picture and antibody response in pigs infected by *Sarcoptes scabiei* var. *suis*. Vet. Dermatol. 1993, **4**, 123-131.
 14. **Chew, G. L.** House dust mite allergen. Am. Industrial Hygiene Association Journal 1996, **57**, 573-574.
 15. **Devaney, J. A. and Patricia, C. A.** Correlation of estimated and actual northern fowl mite populations with the evolution of specific antibody to a low molecular weight polypeptide in the sera of infested hens. Poultry Sci. 1988, **67**, 549-556.
 16. **Hollanders, W., Vercruyse, J., Raes, S. and et al.** Evaluation of an enzyme-linked immuno sorbent assay (ELISA) for the serological diagnosis of sarcoptic mange in swine. Vet. Parasitol. 1997, **69**, 117-123.
 17. **Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and et al.** Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 1951, **193**, 265-275.
 18. **Masuda, K., Tsujimoto, H., Fujiwara, S. and et al.** IgE sensitivity and cross-reactivity to crude and purified mite allergens (Der f1, Der f2, Der P2, Der P2) in atopic dogs sensitive to *Dermatophagoides* mite allergens. Vet. Immunol. Immunopathol. 1999, **72**, 303-313.
 19. **Merril, C. R., Goldman, D. and Vankeuren, M. L.** Gel protein stains: Silver stain. Meth. Enzymol. 1984, **104**, 441-446.
 20. **Minefield, N. M., Carroll, J., Young, K. and et al.** Antibody development against northern fowl mites (Acari: Macronyssidae) in chickens. J. Med. Entomol. 1993, **30**, 360-367.
 21. **Morsy, G. H. and Gaafar, S. M.** Responses of immunoglobulin-secreting cells in the skin of pigs during *Sarcoptes scabiei* infestation. Vet. Parasitol. 1989, **33**, 165-175.
 22. **Murano, T., Namiki, K. and Uchino, T.** Development of precipitating antibody in chickens experimentally infested with northern fowl mite, *Ornithonyssus sylviarum* (Acari: Macronyssidae). Poultry Sci. 1988, **68**, 842-845.
 23. **Noli, C. and Willemse, W. E.** The significance of reactions to purified fractions of *Dermatophagoides pteronyssinus* and *Dermatophagoides farinae* in canine atopic dermatitis. Vet. Immunol. Immunopathol. 1996, **52**, 147-175.
 24. **Schumann, R. J., Morgan, M. S., Glass, R. and et al.** Characterization of house dust mite and scabies mite allergens by use of canine serum antibodies. Am. J. Vet. Res. 2001, **62**, 1344-1348.
 25. **Stemmer, B. L., Arlian, L. G., Morgan, M. S. and et al.** Characterization of antigen presenting cells and T-cells in progressing scabietic skin lesions. Vet. Parasitol. 1996, **68**, 347-358.
 26. **Wellington, J. R., Miller, W. H. Jr. and Erb, H. N.** *Dermatophagoides* mites in house dust as an allergen source in atopic dogs. Cornell. Vet. 1991, **81**, 429-434.