

## 말에서 감염의 조기진단을 위한 haptoglobin 지표 연구

조길재<sup>1</sup>, 조광현\*

한국마사회 유전자검사실<sup>1</sup>, 경상북도가축위생시험소\*  
(접수 2004. 5. 31, 게재승인 2004. 7. 23)

### Haptoglobin as an early indicator of infection in horses

Gil-Jae Cho<sup>1</sup>, Kwang-Hyun Cho\*

<sup>1</sup>Laboratory of Equine Genetics, Korea Racing Association, Gwacheon, 427-711 Korea  
\*Gyeongbuk Veterinary Service Laboratory, Daegu, 702-210 Korea  
(Received 31 May 2004, accepted in revised form 23 July 2004)

#### Abstract

The objective of present study was to assess the diagnostic value of the concentration of haptoglobin, one of a series of acute phase proteins that is found in the blood of both humans and animals. A total of 79 random horse sera(10 dam and 69 foals) with clinically normal were analyzed by ELISA. The mean serum concentrations of haptoglobin of dam and foals were  $1.67 \pm 0.52$ mg/ml(range 1.08~2.12 mg/ml),  $1.65 \pm 0.50$  mg/ml(range 0.50~2.66 mg/ml), respectively.

These results may provide basic information for developing a useful marker system to monitor infections early in horses.

Key words : Acute phase protein, Haptoglobin, Horse

#### 서 론

국내에서 사육되고 있는 더러브렛 말은 번식을 목적으로 하는 씨암말 1,500여두, 씨수말 50여두로서 이들 사이에서 태어나는 망아지는 연간 1,000두 이상이며, 또한 경마를 목적으로 사육되는 경주마는 약 2,500여두 그리고 승용마는 1,000여두 등 대략 6,000여두 이상이 사육되

고 있으며 그 수가 매년 증가하는 추세에 놓여 있다.

국내 말 생산 및 사육은 제한된 공간에서 다두사육으로 인해 준임상적 상태의 질병을 진단하기에 많은 어려움이 있으며 감염기에 감염유무를 진단할 수 있는 효율적인 검사법의 정립은 말산업의 향상을 위해서 매우 중요한 문제로 대두되고 있다.

<sup>1</sup>Corresponding author

Phone : +82-2-509-1933, Fax : +82-2-509-2672

E-mail : chogj@kra.co.kr

## 재료 및 방법

### 공시동물

국내에서 사육중인 건강한 더러브렛 말 79두(씨암말 10두, 망아지 69두)의 혈청을 실험에 사용하였다.

### Haptoglobin 측정

혈청내 haptoglobin의 정량은 ELISA Kit (Tridelta사, 아일랜드)를 이용하여 제조사의 protocol에 따라 분석하였다. 조건은 사람의 표준 haptoglobin(Sigma)과 증류수를 이용하였다. 정량 분석은 먼저 calibrator(C1, C2, C3, C4, C5)를 준비한 다음 96 well microplate (U형, 녹십자)의 첫 번째 well에 각각의 calibrator 7.5  $\mu$ l, 두 번째 well에 검사혈청 7.5  $\mu$ l를 분주한 다음 reagent I 100  $\mu$ l와 reagent II 140  $\mu$ l을 혼합하여 실온(22~25°C)에서 5분간 반응시킨 후 Ultra Microplate Reader (Bio-Tek사, 미국)를 이용하여 630nm에서 흡광도를 측정하고 검사 결과를 분석하였다. 모든 실험은 duplicate로 실시하여 평균치를 산출하였다.

## 결 과

### ELISA법에 의한 haptoglobin 측정기법 확립

말의 haptoglobin 정량분석전에 calibrator를 이용하여 calibration한 결과 C1(평균 haptoglobin 농도는 2.0 mg/ml)은 OD값이 0.581, C2(평균 haptoglobin 농도는 1.0 mg/ml)는 0.285, C3(평균 haptoglobin 농도는 0.5 mg/ml)는 0.139, C4(평균 haptoglobin 농도는 0.25 mg/ml)는 0.075, C5(평균 haptoglobin 농도는 0 mg/ml)는 0을 나타내었다.

### 말의 혈청내 haptoglobin 수치

확립된 ELISA법에 의해 더러브렛 말 79두(씨암말 10두, 자마 69두)에 대한 혈청내 haptoglobin 수치를 측정된 결과 성마(씨암말)

사람과 동물에서 급성기 반응(acute phase response: APR)은 감염이나 염증 혹은 면역학적 질병에 대한 전신적 반응으로 염증부위에서 방출되는 interleukin(IL)-1, tumour necrosis factor- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ), IL-6와 같은 cytokines에 의해 중재되며 열을 방출하거나 leukocytosis를 유발하고 혈관 투과성이나 혈액내 호르몬 및 혈장단백질의 농도 변화 등을 일으킨다<sup>1-2)</sup>. 따라서 염증반응의 경우 이들에 대한 효과를 정량할 수 있으며 말에 있어서 임상가들이 염증을 모니터링하거나 진단하는데 이용하고 있는 실정이다<sup>3)</sup>.

주요 급성기 단백질(acute phase proteins: APPs)에는 C-reactive protein(CRP), serum amyloid A(SAA), haptoglobin, fibrinogen, ceruloplasmin, complement 등이 알려져 있다<sup>4)</sup>. 이들의 공통적인 특징은 염증시 혈청내 농도가 증가하므로 염증성 질병의 모니터링과 진단에 이용하고 있다. 이러한 중요한 급성기 단백질은 일반적으로 질병을 일으키는 인자에 비특이적으로 반응하여 생성됨으로서 생체의 병리학적 과정의 작용과 지침으로서 활용되고 있다<sup>2)</sup>. APPs, 즉 fibrinogen, haptoglobin, CRP, SAA는 감염성이거나 비감염성의 염증자극에 반응하는 것으로 알려져 있다<sup>5-9)</sup>. 말의 SAA는 주요한 APP로서 조직 손상 후 천배이상 증가하나 fibrinogen, haptoglobin, CRP는 2-10배의 중등도 APPs로 알려져 있다<sup>2)</sup>. Fibrinogen과 serum protein electrophoresis(SPE)는 염증성 질병을 확인하기 위해 말 임상에 공통적으로 이용되고 있고 특이한 APPs의 측정은 전기영동을 이용한 기법으로 전환되고 있다<sup>10)</sup>.

선진국에서는 말에서 염증자극후에 증가하는 급성기 단백질을 질병의 감염유무와 목장 전체의 위생상태를 측정하는 건강상태의 지표로서 설정하고 있으나 국내에서는 말의 질병진단에 적용하지 않고 있는 실정이다. 이와같은 배경하에서 질병의 감염초기에 건강상태를 조기에 검색할 수 있는 haptoglobin 측정법을 확립하고자 건강한 성마(씨암말)와 자마(망아지)의 혈청으로부터 haptoglobin 수치를 측정된 결과를 보고하는 바이다.

Table 1. Serum haptoglobin concentrations in normal healthy horses

Sample	Number of horses	Range haptoglobin concentration (mg/ml)	Mean ( $\pm$ SD) haptoglobin concentration(mg/ml)
Foal	69	0.50~2.66	1.65 $\pm$ 0.50
Dam	10	1.08~2.12	1.67 $\pm$ 0.52

는 1.08~2.12 mg/ml로서 평균 1.67  $\pm$  0.52 mg/ml을 나타냈으며 자마(망아지)는 0.50~2.66 mg/ml로서 평균 1.65  $\pm$  0.50 mg/ml을 나타내었다(Table 1, Fig 1 및 2).

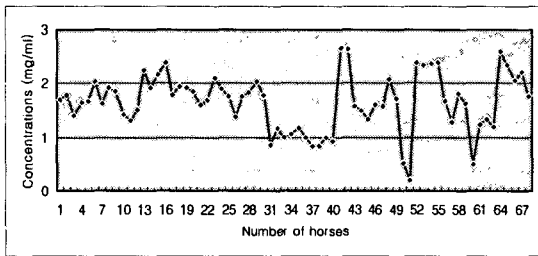


Fig 1. Changes of haptoglobin concentrations (mg/ml) in 69 healthy foals.

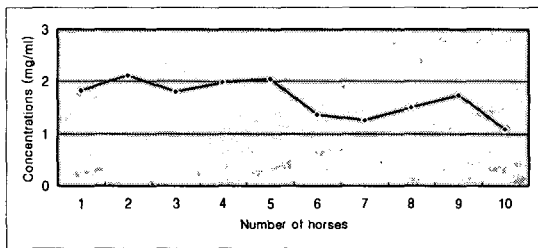


Fig 2. Changes of haptoglobin concentrations (mg/ml) in 10 healthy dam.

## 고 찰

현재 국내에서 사육되고 있는 말의 두수는 경주나 승마, 번식 등의 제한적인 용도로 인하여 다른 가축에 비해 상대적으로 낮은 비율을 차지하고 있다. 또한 말의 질병 발생의 희소성으로 인해 말의 질병이나 사양 등에 대한 관심이 매우 미흡한 실정이다. 그러나 말은 다른 동물에 비해 고가이며 집단적으로 관리되는 것이 일반적이기 때문에 전염병이 발생되면 큰 경제

적 손실을 초래할 수 있으므로 국내 말 산업의 활성화와 말의 보건 위생의 효율향상을 위한 많은 연구가 요구되고 있지만 아직까지는 미진한 실정이다.

국내에서 동물의 급성기 반응과 관련된 연구 중에는 haptoglobin 농도에 관해서 돼지에서 보고<sup>11~12)</sup>된 바 있으며 외국에서는 cytokines, prostaglandin metabolites, APP, SAA, haptoglobin 등에 관해 많은 연구자들<sup>5~9,13)</sup>이 보고한 바 있다. 또 Bone surgery에서는 fibrinogen의 농도가 증가되는 것으로 보고되어 있다<sup>5)</sup>. Haptoglobin은  $\alpha_2$ -globulin fraction의 부분이기 때문에  $\alpha_2$ -globulin 농도의 증가는 haptoglobin 농도의 증가를 기대할 수 있으나 Hulten 등<sup>2)</sup>은 말의 비감염성 관절염의 연구에서 haptoglobin 농도는  $\alpha_2$ -globulin 농도에 영향을 미치지 않으며, amphotericin B로 인한 한쪽의 관절염을 유발시킨 후 전신적인 급성염증 반응의 지표로서 SAA, haptoglobin, fibrinogen,  $\alpha_2$ -globulin 의 농도를 측정된 결과 2주까지 증가되었다고 보고한 바 있다. 건강한 말의 haptoglobin 농도는 0.42-1.7 g/l로 보고<sup>14)</sup>한 바 있으나 Hulten 등<sup>2)</sup>은 비감염성 관절염을 가진 말에서 haptoglobin 농도가 1.4-2.7 (평균 2.0)g/l으로 보고하였다. 또 haptoglobin 농도는 말에서 화농성 질환, 세균 혹은 바이러스 감염, *Strongylus vulgaris* 감염시 질병의 지표로서 유용하다고 보고한 바 있다<sup>15~16)</sup>.

또 McGrotty 등<sup>17)</sup>은 병원에 내원한 개를 대상으로 haptoglobin 농도를 측정된 결과 3-10g/l으로서 이는 건강한 개의 haptoglobin 농도보다 3배 정도 높은 수치라고 하였으며 haptoglobin 농도는 염증이나 전염성 질병의 진행을 진단하고 또한 예후나 치료 방향을 모니터링하는데 매우 유용한 수치라고 보고한 바

있다.

국내에서 사육중인 건강한 더러브렛 말 79두 (싸암말 10두, 망아지 69두)의 혈청내 haptoglobin의 농도를 ELISA 기법으로 측정 한 본 실험 결과 싸암말은 1.08~2.12(mg/ml)로서 평균 1.67±0.52 mg/ml을 나타냈으며 망아지는 0.50~2.66(mg/ml)로서 평균 1.65±0.50 mg/ml 을 나타냈다. 이는 Hulten 등<sup>2)</sup>, Willett와 Blackmore<sup>14)</sup>가 보고한 건강한 성마의 haptoglobin 수치인 0.42-1.7 g/l와 유사하여 질병을 가진 말을 대상으로 haptoglobin 농도를 측정할 때 기준이 될 것으로 사료되며 앞으로 국내에서 사육되는 말의 염증 및 전염성 질환을 조기에 검사하여 질병의 치료 및 관리에 도움을 주기 위해서는 haptoglobin 농도뿐 아니라 fibrinogen, CRP, SAA, cytokines, prostaglandin metabolites, α<sub>2</sub>-globulin에 대해서도 건강한 말과 질병을 가진 말을 대상으로 측정법 및 판독 기준을 정립하여야 할 것으로 사료된다.

## 결 론

국내에서 사육중인 더러브렛 말을 대상으로 혈청내 haptoglobin 수치를 측정한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

Kit를 이용한 ELISA법의 조건을 설정한 다음 건강한 말의 혈청내 haptoglobin 수치는 성마(싸암말)의 경우 1.08~2.12(mg/ml)로서 평균 1.67 ± 0.52 mg/ml을 나타내었으며, 자마(망아지)는 0.50~2.66(mg/ml)로서 평균 1.65 ± 0.50 mg/ml을 나타내었다. 이 방법은 앞으로 질병을 가진 말을 대상으로 haptoglobin 농도를 측정할 때 기준이 될 것으로 사료되며 향후 국내에서 사육되는 말의 질병을 조기에 검사함으로써 질병의 치료 및 관리에 도움이 될 것으로 사료된다.

## 참고문헌

1. Dinarello CA. 1984. Interleukin-1 and the pathogenesis of the acute phase response.

*New Engl J Med* 311 : 1413~1418.

2. Hulten C, Gronlund U, Hirvonen J, et al. 2002. Dynamics in serum of the inflammatory markers serum amyloid A (SAA), haptoglobin, fibrinogen and α<sub>2</sub>-globulins during induced noninfectious arthritis in the horse. *Equine Vet J* 34 : 699~704.
3. Kuschner I, Mackiewicz A. 1993. The acute phase response: an overview. In: *Acute phase proteins. Molecular Biology, Biochemistry and Clinical Applications*. Eds: A. Mackiewicz, I. Kuschner and H. Baumann. CRC Press. Boca Raton. Florida. pp 6-7.
4. Kent J. 1992. Acute phase proteins: their use in veterinary diagnosis. *Br Vet J* 148 : 279~281.
5. Allen BV, Kold SE. 1988. Fibrinogen response to surgical trauma in the horse. *Equine Vet J* 20 : 441~443.
6. Taira T, Fujinaga T, Okumura M, et al. 1992. Equine haptoglobin: isolation, characterisation and the effects of aging, delivery and inflammation on its serum concentration. *J Vet Med Sci* 54 : 435~442.
7. Yamashita K, Fujinaga T, Okumura M, et al. 1991. Serum C-reactive protein (CRP) in horses: the effect of aging, sex, delivery and inflammations on its concentration. *J Vet Med Sci* 53 : 1019~1024.
8. Pepys MB, Baltz ML, Tennent GA, et al. 1989. Serum amyloid A protein(SAA) in horses: objective measurement of the acute phase response. *Equine Vet J* 21 : 106~109.
9. Hulten C, Tulamo RM, Suominen MM, et al. 1999. A non-competitive chemiluminescence enzyme immunoassay for the equine acute phase protein serum amy-

- loid A(SAA)-a clinically useful inflammatory marker in the horse. *Vet Immunol Immunopath* 68 : 267~281.
10. Kaneko JJ. 1997. Serum proteins and the dysproteinemias. In: *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 5th ed. Eds: J. J. Kaneko, J. W. Harvey and M. L. Bruss. Academic press. London. pp 117-138.
  11. 문진산, 남향미, 구복경 등. 1996. 돼지에서 감염의 조기진단 지표로서의 Haptoglobin 적용에 관한 연구. *대한수의학회지* 36 : 615~619.
  12. 오윤택, 조정곤. 2002. 오제스키병에 감염된 돼지의 serum amyloid A와 haptoglobin의 농도 변화. *한가위지* 25 : 45~52.
  13. Gibson KT, Hodge H, Whittem T. 1996. Inflammatory mediators in equine synovial fluid. *Aust Vet J* 73 : 148~151.
  14. Willett K, Blackmore DJ. 1979. Haptoglobin in the serum of Thoroughbreds in training. *Res Vet Sci* 26 : 308~314.
  15. Kent JE, Goodall J. 1991. Assessment of an immunoturbidimetric method for measuring equine serum haptoglobin concentrations. *Equine Vet J* 23 : 59~66.
  16. Sheldrick R, Kent JE, Blackmore DJ, 1982. Haemaglobin binding capacity of serum as an indicator of infection in the horse. *Vet Rec* 111 : 128~129.
  17. McGrotty YL, Knottenbelt CM, Ramsey IK, et al. 2003. Haptoglobin concentrations in a canine hospital population. *Vet Rec* 152 : 562~564.