韓家衛誌 第29卷 第3號
Korean Vet Serv(2006) 29(3) : 309-316

유산양에서 관절염·뇌염 발생

손소연[1], 류대열, 손현수, 강신석, 박재명, 변현섭, 최해연

충청북도 축산위생연구소 남부지소
(접수 2006. 8. 8. 게재승인 2006. 9. 8.)

Outbreak of carprine arthritis-encephalitis in dairy goat flocks

So-Yeon Son[1], Hyeon-Soo Son, Dae-Yeol Ryu, Sin-Seok Kang, Jae-Myoung Park, Hyeon-Seop Byeon, Hae-Yeon Choi

Southern Branch of Chungbuk Livestock and Veterinary Research Institute, Yeongdong, 370-803, Korea
(Received 8 August 2006, accepted in revised from 8 September 2006)

Abstract

This is a case report on the occurrence of caprine arthritis-encephalitis (CAE) disease among dairy goats in a local farm located in Yeongdong-gun, Chungbuk. Previously, it was reported that the farm experienced intermittent deaths numbering 15 of the 97 goats raised for 5 months. Most of the goats less than 6 months of age were suffering from ataxia and posterior paresis, body tremor and abnormal head posterior. Affected animals frequently had stunted growth and had a rough coat. Goats more than 6 months of age were affected with an insidious, chronic arthritis characterized by articular swelling ("big knee") of the carpal, hock, and stifle joints. Necropsy revealed severely swollen mesenteric lymph nodes, under-flow of 2-3㎖ synovial fluid in the articular space and fibrous proliferation of synovial membrane. Histopathological examination showed perivascular accumulations of mononuclear inflammatory cells in the white matter of the brain, proliferative synovitis characterized by villous hypertrophy, synovial cell hyperplasia and infiltration by mononuclear inflammatory cells. Pulmonary lesions consists of patchy interstitial pneumonia with hyperplasia of lymphoid tissues and an extensive mononuclear inflammatory cell infiltration into the alveolar septa. Confirmation by nested PCR in-

[1]Corresponding author
Phone : +82-43-220-5642, Fax : +82-43-220-5643
E-mail : bksangel@hanmail.net

volves amplification of a 296 bp (1st PCR) and 184 bp (2nd PCR) fragments corresponding to the gag region of the CAE virus. This is the first time CAE has been reported in a local farm in Korea and emphasizes the importances of developing preventive measures against CAE.

Key words : Dairy goat, Caprine arthritis-encephalitis virus, First PCR, Nested PCR

서 론

산양의 관절염·뇌염 (carprine arthritis-encephalitis, CAE)은 산양을 사육하고 있는 대부분의 국가에서 발생하고 있으며[1], 캐나다, 미국 (1980년대)[2], 남미, 뉴질랜드 등지에서도 보고되었고, 일본에서는 2002년에 발생을 확인하였고 현재 청정화사업이 완료되었다[1].

유산양의 관절염·뇌염의 원인체는 *Retroviridae*과, *Lentivirus*속에 속하는 carprine arthritis-encephalitis virus (CAEV)이다[3,4].

이 외에도 *Retroviridae*과, *Lentivirus*속에 속하는 가축의 전염병 바이러스로서는 CAEV와 유전성 및 항원성이 유사한 면양의 Maedi-Visna 바이러스[5], 말전염성빈혈바이러스 (EIAV), 사람의 후천성 면역 결핍증 바이러스 (HIV)[6]가 있으며, 이들은 비종양성 바이러스로서 지속감염으로 느리게 병원성을 일으키는 것이 특징이다[7].

본 질병은 주로 1-4개월된 어린 유·산양에서는 보행실조, 후구마비, 전신경련, 두부자세 등의 이상 등의 증상을 나타내는데 이환된 동물은 종종 수척해지며 털은 거칠고 건조해지며 준임상적인 또는 임상적인 간질성 폐렴을 일으킨다. 일반적으로 발열은 없으며, 기민해져 주위상황에 민감하고 경계태세를 취하는 모습을 볼 수 있다. 어린 일령에서는 임상증상으로 볼 때 뇌염형과 폐렴형이 관찰되며, 성축의 경우 뇌염형에서 살아남은 동물은 무릎관절, 손목관절 등에 비화농성 관절염이 잠행성으로 진행되어 관절의 종대가 나타나 소위 "big knee"라고 불리워지는 관절염형과 회복 불가능의 비유량이 떨어지는 유방염형의 형태로 진행된다. 이와 같이 임상증상에 따라 주로 6개월 미만의 어린 유산양에서 관찰되는 뇌염형에서는 운동실조, 후구마비, 침울, 사경, 선회운동 등의 신경증상이 확인된다. 유방염형은 유방이 단단해지고, 비유량이 줄어들다가 1-2주 후 자연 치유된다고 알려져 있으나 유량은 정상으로 회복은 되지 않는 특징이 있으며, 폐렴형에서는 간질성 폐렴이 일어나 만성적으로 기침을 한다[4,7].

대표적인 조직병리학적 소견으로는 뇌조직에서 대뇌 백질부의 혈관주위에 단핵염증세포의 침윤을 특징으로 하는 비화농성 혈관주위염과 신경섬유의 탈수초화, 관절조직에서 활액막 융모의 비후 및 활액막하 혈관주위의 단핵염증세포의 침윤을 특징으로 하는 증식성 활액막염을 들 수 있으며, 폐조직에서는 폐포벽에 단핵염증세포의 침윤으로 인해 림프결절이 형성되는 간질성 폐렴의 소견이 관찰된다[4,7].

산양의 관절염 뇌염 바이러스의 주요 감염표적세포는 단핵구와 거대세포[4]이며, 유즙 특히 초유중의 대식세포[8]에 의한 수직감염이 주요 전파경로이지만, 태반감염과 접촉감염도 드물게 이루어짐이 확인되었다[7,9]. 또한 모든 종류의 산양이 감수성이 있고 실험적으로 면양도 감염이 이루어진 바[9]가 있으나, 그중 유산양이 가장 감수성이 높은 것으로 알려져 있다[7].

본 병의 진단은 병력청취, 임상증상, 조직병리학적 소견을 기초로 하여 한천겔면역확산법 (AGID)과 효소면역측정법 (ELISA)을 통한 항체확인[2,10], PCR을 이용한 바이러스 핵산 검출 및 바이러스 분리로써 가능하다[7].

최근 충북 관내 양축농가에서 전염병 발생 신고를 통하여 역학조사 및 정밀검사를 실시한 결과 산양의 CAE로 진단되어 국내 발생 사실이 확인되었기에 보고하는 바이다.

증 례

유산양에서 관절염 발생 신고 접수

2006년 2월, 충청북도 가축전염병대책상황실에서 영동군 소재의 유산양 사육농가로부터 산양에서 관절염이 발생하고 있다는 신고를 접수하였고 동년 7월까지 수차례에 걸쳐 검사를 의뢰받았다.

발생상황

발생 농장주로부터 첫 신고 당시의 역학조사 결과 총 사육두수는 97두(암 92두, 수 5두)이었고, 호주 및 뉴질랜드 산으로 수입 4-5세대의 유산양(자아넨) 중 8두가 관절의 종창, 파행, 다리의 외전 등의 임상증상을 보였으며, 일부는 기립불능 상태였다.

축종은 충남 서산지역에서 사육하던 유산양 전체를 인수하였으며, 2005년 10월에 현 장소로 입식 사육한 이후부터 2006년 2월까지 약 23두가 발생하여 도태 또는 폐사하였으며, 원 사육지에서도 동일한 임상사례가 있었다고 품고하였다.

본 연구소에서는 임상증상을 종합한 결과[7] 산양의 CAE와 유사하다고 판단되어 생후 3년 된 유산양 생축 1두와 환축의 혈액 5점, 건강축의 혈액 11점을 국립수의과학 검역원에 정밀검사 의뢰하였다.

PCR을 이용한 유전자 검출 및 CAEV 표준주와의 유전자 염기서열 분석 결과 96%의 동질성을 보여 국내에서는 처음으로 산양의 CAE로 진단되었다.

이에 농장에서 사육중인 유산양 전체에 대한 CAE 감염여부를 조사하기 위해 전두수 채혈하였고 PCR 결과 92두 중 52두에서 CAE 양성반응이 나왔다. 따라서 본 연구소에서는 동 질병의 국내 첫 발생이라는 점과 그 발생 정도의 심각성을 파악하여 농가에 대한 지속적인 모니터링을 실시하였다. 2006년 3월 중 생후 7일경부터 후구마비, 경련과 같은 신경증상을 나타내었던 15일령 된 산양의 폐사체 1두를 추가로 병성감정 의뢰받았고 검사결과 간질성 폐렴을 주요 병리소견으로 보였으며 PCR 결과 CAE 양성반응을 나타내었다.

상기 농장에서는 2006년 5월경 뉴질랜드에서 수입한 유산양 45두를 추가로 농장에 입식하였으며, 6월경에는 호주에서 수입한 유산양 109두를 추가로 입식하여 7월 현재 사육두수는 260두로 파악되었다. 또한 기존의 CAE 양성축으로부터 태어나 어미로부터 격리되어 56℃에서 60분간 멸균시킨 초유로 사육된 3-4개월령의 어린 유산양 14마리를 채혈하여 검사한 결과 총 4마리에서 PCR 양성반응을 확인할 수 있었으며, 그 중 2마리에서 사경, 사지 마비 등의 현저한 신경증상이 관찰되었다.

상기한 CAE 발생 농가 이외의 본 연구소 관내 유산양 농가 9호에 대한 임상적 예찰실시 결과 전 농가에서 과학적으로 확인된 바는 없었으나 농장의 품고조사 결과 CAE 와 유사한 증상을 나타내고 있어 정밀 검사시 양성으로 진단될 가능성이 있다고 판단되었으며, CAE발생 농가와 인접한 흑염소 사육 8농가에 대한 예찰실시결과 유산양에서와 같은 증상은 관찰되지 않았다.

환경위생 상태

CAE 발생농장은 충북 영동군 심천면 산간오지에 위치한 농장으로 방역상 주변 환경과는 격리된 지역이었으며 사육형태는 겨울철엔 축사 내 방사, 여름철은 임간방목을 실시하는데, 월 2회 이상 정기소독을 실시하는 등 비교적 방역위생관리를 잘 하고 있었다.

임상증상

Fig 1. abduction and swelling of the carpal joint

Fig 2. Most of the infected animals exhibited the signs of depression, ataxia and posterior paresis

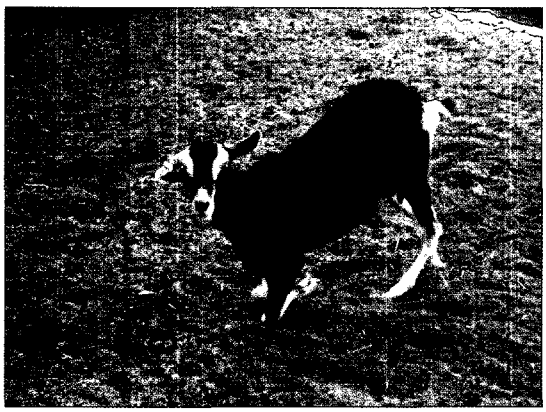

Fig 3. The animal showing the signs of chronic arthropathy

환축은 대부분 6개월령 이상의 성축으로서 주요 증상은 관절부의 확연한 종창으로 절뚝거리며 주로 무릎관절이나 비관절보다는 손목관절에서 발생 예가 많았다. 촉진 결과 열감이 없고 종대 및 경화된 상태이었고, 중증예에서는 다리를 땅에 딛지 못하고 들고 다니며 기립불능, 다리의 외전이 있었으며 수척해지다가 빠르면 1개월, 느리면 3-4개월 만에 폐사로 이어졌다(Fig 1-3). 성축의 CAE 양성축에서 유방염 증상은 대부분 관절의 종대와 동시에 나타났으며, 한번 증상이 나타나면 정상적인 비유량으로의 회복은 어려웠다.

6개월 미만의 어린 유산양(3-4개월령) 에서는 관절염에 의한 증상보다는 뇌염이나 폐렴에 의한 증상이 두드러지는 경향이 있었다. 뇌염에 의한 증상으로는 보행실조, 후구마비, 전신경련, 두부자세의 이상 등이 있었다.

부검소견

전반적으로 실질장기의 특이적인 병변소견은 없었으며 관절부에 병소가 집중되었다. 관절골두가 비대해지고 경화되었으며, 관절강 내부에는 섬유소성 염증산물인 섬유소가 거미줄처럼 얽혀져 있었으며, 2-3㎖의 혈액성 관절액이 저류되어 있었다. 특이적인 소견으로서 연골부위에 궤양(반흔)소가 관찰되었다(Fig 4-6).

조직학적 소견

뇌조직 소견으로는 대뇌 백질부의 혈관주위에 단핵염증세포의 침윤이 인정되었으며 대뇌피질부에서는 층상괴사, 괴사소에서는 혈관주위강의 확대, 신경망의 해면상 변화, 신경세포의 괴사 및 혈관주위로 단핵염증세포의 침윤이 관찰되었다(Fig 7, 8). 소뇌에서는 Purkinje cell의 염색질 융해로 핵이 완전히 소실된 소견이었다(Fig 9). 폐조직에서는 폐포벽에 단핵염증세포의 침윤으로 폐포벽이 비후되고 국소적으로 림프구성 결절이 생성되는 간질성 폐렴

소견이 관찰되었다 (Fig 10, 11). 기타 장기에서는 특이소견이 관찰되지 않았다.

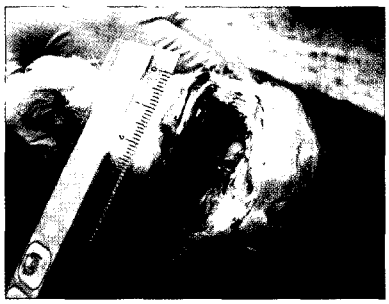

Fig 4. articular swelling and existence of fibrinous exudate in cavum articulare

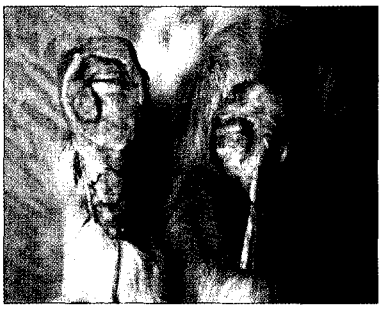

Fig 5. Normal size of joint (left) and swollen joint (right)

Fig 6. Underflow of synovial fluid and ulcerative inflammation of the articular lesion.

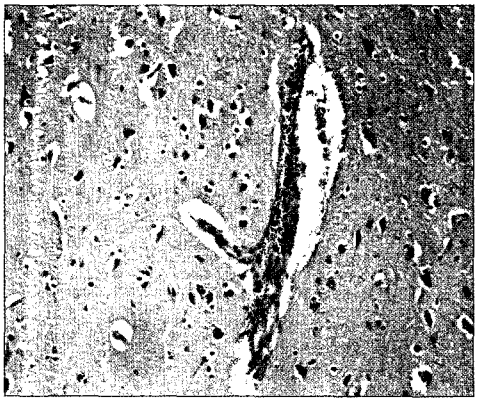

Fig 7. Spongioid degeneration of nerve fiber and perivascular cuffing in cortex of cerebrum. H&E, × 200

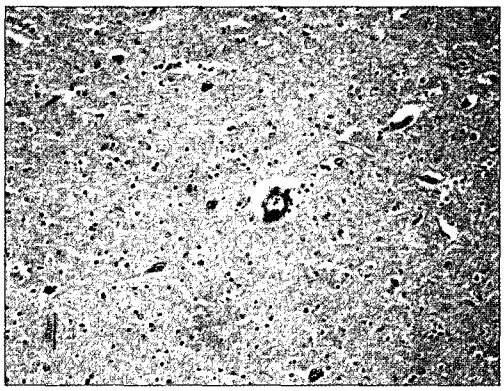

Fig 8. Perivascular cuffing in the white matter of cerebrum. H & E, × 100

PCR 진단법 수립

Nested PCR을 이용한 산양 CAEV의 특이 유전자 검출을 위하여 Konishi 등[1]이 사용한 실험방법을 참고로 하였다.

CAEV의 gag region 부분을 증폭하기 위한 first PCR primer로서 P1 (5′-caa gca gca gga ggg aga agc tg-3′)와 P2 (5′-tcc tac ccc cat aat ttg atc cac-3′)를, nested PCR primer로서 P3 (5′-gtt cca gca act gca aac agt agc aat g-3′)와 P4 (5′-acc ttt ctg ctt ctt cat tta att tcc c-3′)를 바이오니아사 (Chungbuk, Korea)에 의뢰하여 주문제작하였다. 전혈로부터 백혈구를 추출하기 위하여 Histopaque 용액 3 ㎖와 헤파린 처치된 전혈 3 ㎖를 이용하여 백혈구층을 분리한 뒤, PBS 용액을 이용하여 재부유시킨 다음 2,000 ×g에서 원심 후 상층액을 제거하여 세척하는 과정을 3회 반복하였다.

백혈구, 관절액, 기타 실질장기로부터의 DNA 추출은 G-DEX™ Genomic DNA Extraction kit (iNtRON, Korea)를 이용하여 공시된 방법에 준하여 수행하였다. 추출된 DNA는 -20℃에 보관 후, CAEV 유전자검출을 위한 template DNA로 이용하였다.

PCR을 수행하기 위해 i-StarTaq Maxime PCR PreMix kit (iNtRON, Korea)를 이용하였다.

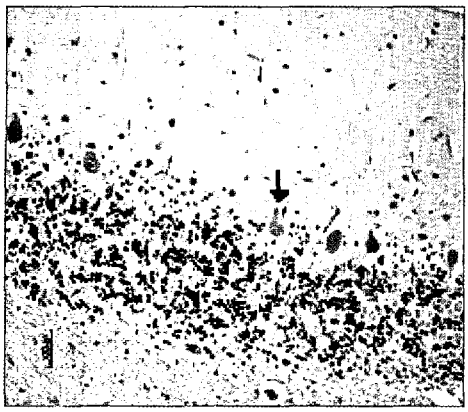

Fig 9. Loss of nucleus in Purkinje cell in cerebellum. H&E, × 100

Fig 10. Patchy interstitial pneumonia with hyperplasia of lymphoid tissue. H&E, × 100

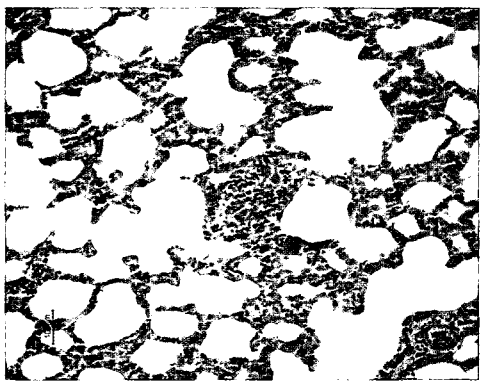

Fig 11. Extensive mononuclear inflammatory cell infiltration into the alveolar septa. H&E, ×100

First PCR에서는 template DNA를 1 ㎕, 각 primer (10 pmol/㎕)를 0.5 ㎕씩 적용하고, 18 ㎕의 DW를 넣어 최종 반응 volume을 20 ㎕로 하여 PCR 반응을 수행하였으며, nested PCR에서는 first PCR에서의 산물을 template DNA로 하고 다른 primer를 적용한 것 이외의 반응 조건은 first PCR과 같게 하였다. First PCR과 nested PCR 반응조건은 같게 하였으며 94℃에서 2분간 predenaturation시킨 후, 94℃에서 20초, 60℃에서 10초, 72℃에서 30초간의 반응을 37회 반복한 후 최종적으로 72℃에서 5분간 final extention 과정을 거치도록 하였다.

증폭산물을 확인하기 위하여 각 PCR 산물을 2.0% agarose gel에서 전기영동을 시행한 후 결과를 분석하였다. 먼저, 백혈구에서 추출한 DNA를 이용한 PCR에서는 임상증상을 나타내거나 나타내지 않는 유산양 4마리 중 2마리에서 CAEV gag region의 first PCR 산물에 해당하는 296 bp의 밴드를 확인할 수 있었으며, nested PCR에서는 4마리 모두 CAEV gag region에 해당하는 184 bp의 특이적인 밴드를 검출해낼 수 있었다 (Fig 12).

신경증상을 현저히 나타내는 생후 3-4개월된 유산양의 백혈구, 뇌, 관절액 및 장간막 림프절에서 추출해낸 DNA를 이용한 PCR에서는 백혈구 및 관절액에서 CAEV에 특이적인 밴드를 관찰할 수 있었다 (Fig 13).

고 찰

충북 관내 유산양 농가에서 사육 중인 유산양은 1994년부터 주로 호주와 뉴질랜드에서 수입되었으며, 수입당시 수입위생검역조건에서 CAE는 별도로 관리하지 않았으나 1999년 12월 7일부터 호주 및 뉴질랜드산 우제류 동물 및 그 생산물의 수입위생조건에 따라 검역 후 수입이 허용되기 시작했다. 그동안 국내에서는 만성적인 영양실조와 단순관절염, 외상 등으로 오인하여 추정되는 원인에 의하여 문제시 되지 않아 발생확인이 공식적으로 이루어지지 않았었다.

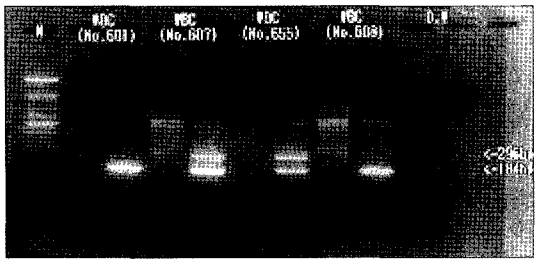

Fig 12. PCR patterns for CAEV.
First PCR product : 296 bp, nested PCR product : 184 bp, Lane M : 100 bp DNA ladder, Lane 1, 2, 3, 4 : PBL extracted from healthy animal, Lane 5, 6, 7, 8 : PBL extracted from diseased animal, Lane 9, 10 : D. W. (control)

Fig 13. PCR patterns for diseased animal showing severe clinical signs. First PCR product : 296 bp, nested PCR product : 184 bp. Lane M : 100 bp DNA ladder, Lane 1, 2 : PBL, Lane 3, 4 : brain, Lane 5, 6 : Synovial fluid, Lane 7, 8 : mesenteric lymph node, Lane 9, 10 : D. W. (control)

산양의 CAE는 전 세계적으로 효과적인 예방약이나 치료제는 없는 것으로 알려져 있다. 그러나 일본의 경우를 보면 사육축에 대한 CAE 항체 검사 후 감염축을 제거하며, 수직감염을 예방하기 위해 분만과 동시에 어미와 새끼를 격리하여 사육하고 초유나 우유는 저온처리(56℃, 60분)하여 새끼에게 급여하거나 인공초유 및 대용유로 급여함으로써 청정화에 성공한 사례가 있다. 또한 CAE 항체 양성농장에 대해서는 항체음성군과 양성군을 격리사육하며, 질병의 지속적인 감염을 예방하기 위해 페놀 또는 4급 암모니아 혼합액을 사용하여 사육용 기자재의 주기적 소독을 실시하는 것이 바람직하다.

본 질병은 현재까지 국내 발생사례가 없기에 현행 가축전염병예방법상 법적관리를 받지 못하고 있는 실정이나 금회 발생확인 됨으로 인하여 향후 수요증가가 예상되는 유산양 농가의 피해방지를 위한 적절한 방역대책을 마련할 필요가 있다. 또한 CAE의 감염이 유산양 사이에서 흔하게 발생되는 점이 없지 않아 있지만 모든 품종의 산양에서 감수성이 있다는 문헌적 자료[7]를 고려하여 볼 때, 한국산 재래산양의 감수성 여부에 대한 정밀 역학조사가 필요한 것으로 사료된다.

이번 충북 영동에서 CAE 발생이 국내에서는 첫 발생인 점을 감안하여 볼 때, 각 시 · 도 방역기관에서는 관할 유산양 농가에서 사육중인 유산양 중 CAE 감염축(항체 양성축)과 비감염축(항체음성축)을 가려낼 수 있도록 신속하게 혈중 항체를 검출할 수 있는 AGID법과 혈중 항체를 검출하는 신뢰도가 96% 이상으로 알려진 ELISA[2,10] 및 CAEV의 유전자 확인이 가능한 PCR 등을 진단법으로 이용할 수 있도록 실험실에 대한 지원대책을 마련하도록 힘써야 할 것이다. 아울러 타농장의 감염여부 확인 및 CAE 발생 동향을 조사하기 위해 CAE 비발생 농장과 흑염소 사육농장에 대한 혈청학적 모니터링 검사가 꼭 필요하다고 본다. 인접 일본 동물질병연구소 사례에 따르면 2002년도에 첫 발생보고 이후 정부차원에서 청정화 사업을 전개하였으며, 청정화의 근거로 발생농장에 대한 감염 및 예방수칙 지도, 정기적인 혈청검사 결과 양성개체의 도태, 양성군의 정기검사 결과 3회 이상 연속 음성 판정 시 청정농장으로 인증하여 2002년도 발생 이후 현재에 이르러서는 전국적인 청정화 선포단계에 있다. 다행히 국내에서 유산양 사육농가는 제한적이고 그 수가 많지 않아 비교적 초기단계에서 국가적 차원에서 방역 및 청정화 사업에 힘쓸 경우 감염이 만연되거나 상황이 심각해지기전에 청정화가 가능할 것으로 보이며, 스위스의 CAE 청정화 program[11]같은 경우 좋은 본보기가 된다고 할 수 있다.

아직까지 본 질병에 대한 유효한 백신이

없는 관계로 CAEV에 대한 효과적인 예방 백신 및 치료법 개발에 대한 연구가 더 진행되어져야 할 것이며, 한국산 재래 산양(흑염소)에 대한 CAE 감수성 연구 및 전국적인 유산양 농가에 대한 예찰활동이 강화되어져야 할 것으로 사료된다.

결 론

충북 영동에서 발생된 산양의 지속적인 관절염 발생 사례는 임상증상, 병리조직소견, 혈액 등의 CAEV 핵산검출, CAEV 표준주와의 96% 상동성이 확인되어 국내 최초로 "산양의 관절염·뇌염(carprine arthritis-encephalitis : CAE)으로 확인보고하며, 역학조사, 임상증상, 조직병리학적 소견 등을 기초로 CAEV의 유전자 검출 및 확인에 의한 진단법을 수립하였다.

참고문헌

1. Konishi M, Tsuduku S, Haritani M, et al. 2004. An epidemic of caprine arthritis encephalitis in Japan : isolation of the virus. *J Vet Med Sci* 66(8) : 911-917.
2. Herrmann LM, Cheevers WP, McGuire TC, et al. 2003. Competitive-inhibition enzyme-linked immunosorbent assay for detection of serum antibodies to caprine arthritis-encephalitis virus : diagnostic tool for successful eradication. *Clin Diagn Lab Immunol* 10(2) : 267-271.
3. 최원필, 강신영, 고홍범 등. 1996. 최신수의미생물학·면역학. 경북대학교출판부, 대구 : 314-316.
4. 최원필, 송희종, 김순재 등. 1994. 수의전염병학. 경북대학교출판부, 대구 : 158.
5. Saman E, Van Eynde G, Lujan L, et al. 1999. A new sensitive serological assay for etection of lentivirus infections in small ruminants. *Clin Diagn Lab Immunol* 6(5) : 734-740.
6. Morin T, Guiguen F, Bouzar BA, et al. 2003. Clearance of a productive lentivirus infection in calves experimentally inoculated with caprine arthritis-encephalitis virus. *J Virol* 77(11) : 6430-6437.
7. Timoney JF, Gillespie JH, Scott FW, et al. 1988. Hagan and Bruner's microbiology and infectious diseases of domestic animals. 8 eds. Cornell University Press, Ithaca : 873-875.
8. Le Jan C, Bellaton C, Greenland T, et al. 2005. Mammary transmission of caprine arthritis encephalitis virus : a 3D model for *in vitro* study. *Reprod Nutr Dev* 45(4) : 513-523.
9. Pisoni G, Quasso A, Moroni P. 2005. Phylogenetic analysis of small-ruminant lentivirus subtype B1 in mixed flocks : evidence for natural transmission from goats to sheep. *Virology* 339(2) : 147-152.
10. Herrmann LM, Cheevers WP, Marshall KL, et al. 2003. Detection of serum antibodies to ovine progressive pneumonia virus in sheep by using a caprine arthritis-encephalitis virus competitive-inhibition enzyme-linked immunosorbent assay. *Clin Diagn Lab Immunol* 10(5) : 862-865.
11. Shah C, Huder JB, Boni J, et al. 2004. Direct evidence for natural transmission of small ruminant lentiviruses of subtype A4 from goats to sheep and vice versa. *J Virol* 78(14) : 7518-7522.