

사람 및 동물에 대한 소 엔테로바이러스 항체 분포 조사

박종현^{1,*} · 김수미¹ · 방민우¹ · 이광녕¹ · 고영준¹ · 이향심¹ · 심향섭² · 조인수¹

¹국립수의과학검역원 해외전염병과, ²경기도 축산위생연구소

(게재승인: 2009년 8월 18일)

Existence of antibodies against bovine enterovirus in humans and various animals in Korea

Jong-Hyeon Park^{1,*}, Su-Mi Kim¹, Min-Woo Bang¹, Kwang-Nyeong Lee¹, Young-Joon Ko¹,
Hyang-Shim Lee¹, Hang-Sub Shim², In-Soo Cho¹

¹Foreign Animal Disease Division, National Veterinary Research and Quarantine Service, Anyang 430-757, Korea

²Gyeonggi-do Veterinary Service, Suwon 441-460, Korea

(Accepted: August 18, 2009)

Abstract : Bovine enteroviruses (BEVs) were separated into two groups, BEV-1 and BEV-2. BEVs, found in cattle worldwide, usually cause asymptomatic infections and are excreted in the feces of infected animals. Antibodies against BEV have been found in different species including human, cattle, sheep, goats, dogs, horses and monkeys in the world. This study aimed to investigate prevalence of the neutralizing antibodies for BEVs in human and animals in Korea. Antibodies against BEV-1 in humans, cattle, pigs, goats, horses and dogs were shown to be 46.8%, 48.3%, 70.6%, 11.5%, 11.5% and 6.3% respectively. Also, antibodies against BEV-2 were shown to be 98.7%, 68.1%, 89.2%, 59.4%, 9.4% and 96.9% respectively. We found that the neutralizing antibodies against these viruses are common in Korea. The prevalences of antibodies against BEV-1 were lower than those against BEV-2 in humans and in all animals except horses. These results showed that the BEV is considered endemic in cattle in many regions in Korea.

Keywords : animals, antibody, bovine enterovirus, human, Korea

서 론

소 엔테로바이러스(bovine enterovirus; BEV)는 Picornaviridae family의 *enterovirus genus*에 속한다. 바이러스 입자는 비외막 정이십면체 입자모양이며, 직경은 27-30 nm 이다. 유전체는 약 7.5 kb 길이의 단쇄의 positive-sense RNA를 포함하고 있다. Picornaviridae에 속해있는 병원체는 사람의 소아마비 바이러스가 대표적이며, 동물 전염병 병원체는 구제역, 돼지 수포병, 돼지 뇌심근염, 돼지 텃센병 등 축산 경제에 있어서 중요한 전염병들이 많이 속해 있다 [1]. BEV는 1985년 이전까지 국제 분류기준상 7개의 혈청형으로 분류되었던 것을 Knowles

등 [9]은 2종류의 혈청형(BEV-1, BEV-2)으로 재분류하여 현재까지 표준분류법으로 사용되고 있다. 그 이후 계통분류학적으로 BEV 계놈의 전체 염기서열을 분석하여 A와 B의 2개 종으로 또는 2-3개 정도의 유전형/혈청형으로 더 자세히 구분하기도 하였다 [22]. 이 바이러스는 환경오염의 지표로도 널리 알려져 있다 [11]. 또한, BEVs는 병원성이 거의 없는 바이러스이지만 감염 시 세포를 파괴하는 현상 때문에 암치료제로 연구된 바 있으며 [6, 18, 19], 배양된 세포에서 증식성이 빠르고 높은 역가의 바이러스를 생산할 수 있고, 외부유전자를 발현할 수 있는 유전자 전달 벡터로서 개발 가능성이 높기 때문에 많이 연구되고 있는 바이러스 중의 하나이다 [12].

*Corresponding author: Jong-Hyeon Park

Foreign Animal Disease Division, National Veterinary Research and Quarantine Service, Anyang 430-757, Korea
[Tel: +82-31-467-1719, Fax: +82-31-449-5882, E-mail: parkjh@nvrqs.go.kr]

미국, 유럽, 일본 등 여러 나라에서 BEV 항체의 분포 및 바이러스 분리에 대한 보고가 있다 [2, 4, 8, 12, 23]. 보통 표준주로서 사용되는 바이러스들은 Kunin 등 [10]이 정상 분변에서 분리한 바이러스로서 소 엔테로바이러스 혈청형 1형(LC-R4 주) [9, 20]과, 미약한 열과 호흡기 증상을 나타내는 소의 분변으로부터 Moll 등 [15]이 분리한 혈청형 2형(M2 주)이다.

우리나라에서는 아직 BEV에 대한 혈청학적인 분포 조사 및 바이러스의 분리 보고가 없는 실정이다. 비록 병원성이 미약한 바이러스이긴 하나 항후 유전자원으로서 활용이 가능한 비병원성 바이러스의 확보 및 항체분포 상황을 확인함으로써 이 바이러스의 유용성 등을 구체적으로 연구할 필요가 있다. 따라서, 본 실험에서는 소 엔테로바이러스 표준주(LC-R4, M2)를 이용하여 국내 소, 사람, 돼지, 염소, 말, 개에 대한 혈청학적 시험을 통하여 각종 동물에서의 엔테로바이러스의 중화항체 보유 상황과 존재 가능성에 대해 알아보기 위하여 항체 분포 조사를 실시하게 되었다.

재료 및 방법

바이러스, 세포 및 혈청

소 엔테로바이러스는 LC-R4주(serotype-1, VR-248)과 M2주(serotype-2, VR-754)를 American tissue culture collection(USA) 사에서 구입하여 사용하였으며, 혈청중화시험을 위한 배양세포로는 국립수의과학검역원에서 보관 중인 소 신장 유래 세포주인 MDBK를 사용하였다.

혈청중의 BEV-1 및 BEV-2에 대한 중화항체를 측정하기 위하여 전국을 대상으로 Table 1과 같이 2008년 농장 당 2-3두로 소, 돼지 혈청을 지역별 6개 농장 이상의 혈청을 고루 확보하여 실험에 공시하였다(Fig. 2). 또한 사람, 염소, 말, 개에서도 항체 유무를 알기 위해 인수공통질병 또는 동물 질병예찰용으로 확보된 국내 혈청을 Table 1과 같이 실험에 공시하였다.

혈청중화시험

혈청중화시험은 확보된 혈청을 조직배양용 96 well 마이크로플레이트에서 4배부터 2 fold dilution하여 BEV-1 및 2 type 각각의 바이러스 200 TCID₅₀/0.1 mL 를 50 mL 을 넣고 1시간 반응하였다. 그 반응액을 3.5 × 10⁶의 MDBK 세포에서 72시간 반응한 후 세포변성효과(cytopathic effect)를 관찰하였다. 바이러스 증식억제효과가 확인되는 혈청희석 배수의 역수를 항체역가로 판정하였다. 2회 반복 시험하여 4배 미만을 음성으로 4배 이상을 양성으로 판정하였다. 통계처리는 Graphpad Instat (Ver 3.05; GraphPad Software, USA)를 이용하여 two tailed t-test 또는 one-way analysis of variance를 실시하였다.

결 과

소 및 돼지에서 항체 분포

국내에서의 BEV에 대한 소 및 돼지에서의 양성항체 분포를 조사하였다(Table 1). BEV-1에 대한 항체는 소에서 48.3%, 돼지에서는 70.6%의 양성율을 보였고, BEV-2는 소에서 68.1%, 돼지에서 89.2% 로 상대적으로 높은 항체 양성율을 보였다.

소에서 BEV-1의 항체 양성율은 48.3%로 BEV-2의 68.1% 보다는 낮았지만 국내 사육되는 많은 소에서 이 바이러스들에 대한 항체를 보유하고 있었다(Fig. 2). 돼지에서는 BEV-1에서 상대적으로 적은 70.6% 이었으나 BEV-2에서는 89.2%로 항체 양성율이 상당히 높게 분포되어, 국내에서 BEV-1 보다는 BEV-2가 소 및 돼지에서 좀 더 유행하는 바이러스 혈청형임을 확인하였다. 또한 BEV-1 및 2에 대한 항체를 함께 가진 개체를 조사하였던 바, 소에서 31.9%, 돼지에서 48.3%로 나타났다(Table 1).

사람, 염소, 말 및 개에서 항체 분포

BEV에 대한 사람 및 염소, 말, 개의 양성율은 Table

Table 1. Prevalence of bovine enterovirus (BEV)-type 1 and 2 neutralizing antibody

Species	Antibody against BEV-1			Antibody against BEV-2			Both antibodies against BEV-1 and BEV-2		
	No. of tested	No. of positive	Positive rate (%)	No. of tested	No. of positive	Positive rate (%)	No. of tested	No. of positive	Positive rate (%)
Human	77	36	46.8	77	76	98.7	77	36	46.8
Cattle	172	83	48.3	144	98	68.1	72	23	31.9
Pigs	160	113	70.6	148	132	89.2	60	29	48.3
Goats	96	11	11.5	96	57	59.4	96	5	5.2
Horses	96	11	11.5	96	9	9.4	96	0	0.0
Dogs	96	6	6.3	96	93	96.9	96	6	6.3

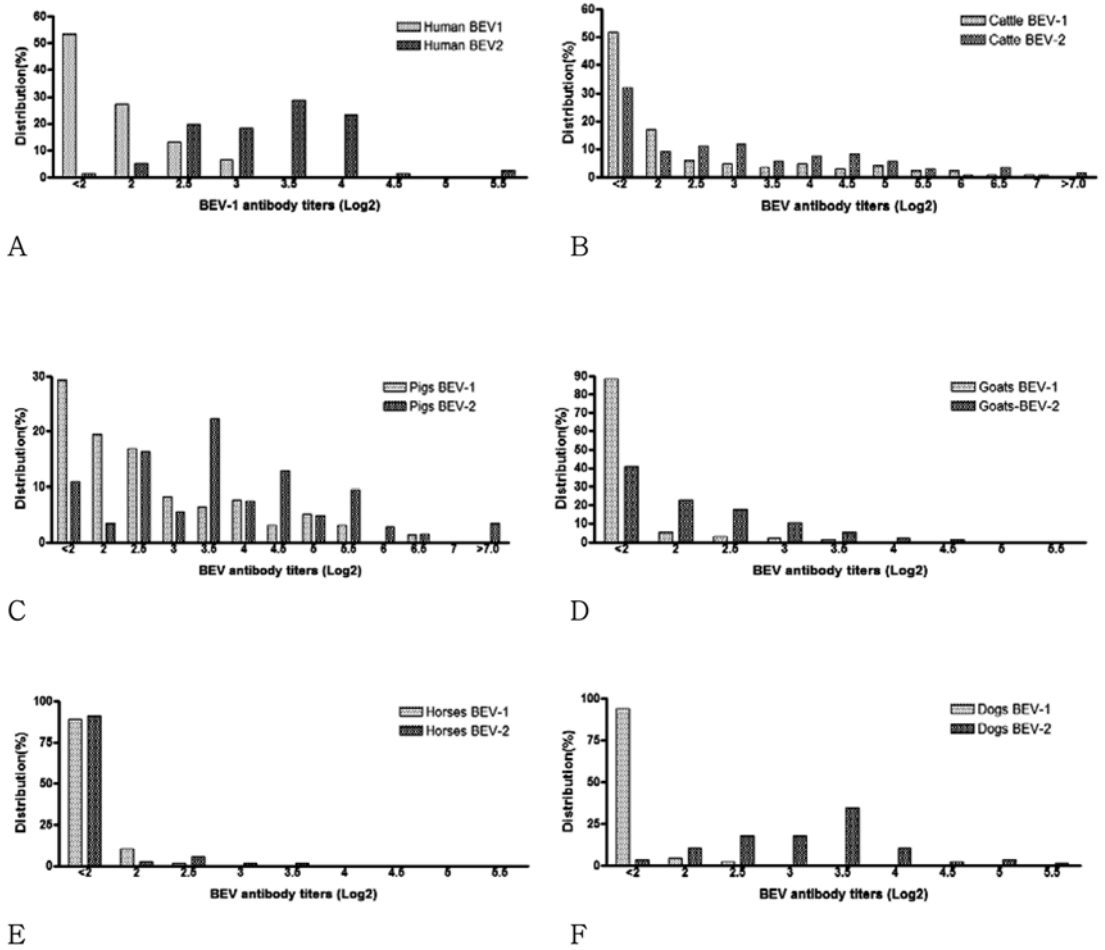


Fig. 1. Distribution of bovine enterovirus (BEV)-1 and 2 antibody titers in human and animals. The sera from (A) human, (B) cattle, (C) pigs, (D) goats, (E) horses and (F) dogs were tested by serum neutralization test.

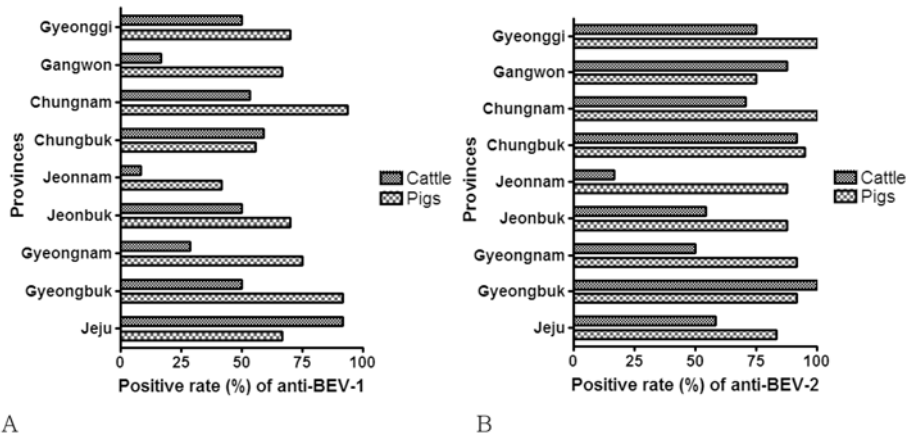


Fig. 2. Regional sero-prevalence of (A) BEV-1 and (B) BEV-2 neutralizing antibody in cattle and pigs. The sera from various provinces were tested by serum neutralization test. The p value in one-way analysis of variance is $p < 0.01$.

1와 같으며, BEV-1에 대한 항체는 사람에서 46.8%로 비교적 높은 양성율을 보였으며, 염소, 말 및 개에서는 각각 11.5, 11.5 및 6.3%의 낮은 양성율을 보였다. 반면, BEV-2는 사람 및 개에서 각각 98.7%와 96.9%로 매우 높았으며, 염소에서 59.4%, 말에서 9.4%로 말을 제외한 모든 동물에서 BEV-2에 대한 항체양성율이 높게 나타났다(Table 1). BEV-1 및 2의 항체를 함께 가진 개체는 사람 46.8%, 염소 5.2%, 개 6.3% 이었고, 말에서는 관찰되지 않았다(Table 1).

사람 및 동물별 항체역가 및 지역별 분포

국내의 사람, 소, 돼지, 염소, 말, 개에 대한 엔테로바이러스의 전국적 중화항체 분포 상태를 분석한 결과(Fig. 1), 전체적으로 BEV-1이 낮은 역가에서 많은 개체가 양성으로 확인되었으나 BEV-2는 BEV-1에 비해 비교적 항체역가가 높은 개체 수가 많았다.

소에서는 항체역가 추이가 고루 분포되어 있었으며, 사람, 돼지 및 개에서는 BEV-2 중화항체 10배 내외에서 분포도가 높았으며, 말과 염소는 모두 낮은 역가분포를 보였다(Fig. 1). 소 및 돼지에서 지역별 항체 양성 빈도와 분포를 조사한 바, 항체 음성인 지역은 없었으며, 지역에 상관없이 전국적으로 BEV-1 및 BEV-2 대한 항체 양성 동물이 관찰되었다(Fig. 2).

고 찰

세계적으로 BEV에 대한 항체의 분포는 많이 보고된 바 없으나 최근 터키에서 소, 염소, 양, 사람, 원숭이, 야생동물 등을 대상으로 BEV-1에 대한 항체 분포를 조사한 바 있으며, 그 결과 소에서 64.8%로 가장 높았으며, 양에서 32.8%, 염소에서 27.6%, 사람에서 30.3%, 말에서는 12.8%, 개에서는 3.2%로 항체 양성률이 확인되었다 [3]. 본 실험에서는 언어진 BEV-1에 대한 실험 결과는 Gür 등 [3]이 조사한 결과와 유사하게 우리나라 소에서 BEV-1은 48.3%, BEV-2에 대한 항체 양성율은 68.1%로 나타났고, BEV-2에 대한 사람, 돼지 및 개의 항체 양성율은 68~99% 정도로 매우 높은 것을 확인할 수 있다. BEV-1은 이미 소, 물소, 아프리카버팔로, 양, 염소 및 임팔라 등 숙주영역이 광범위하다고 알려져 있고 [5, 7, 13], 여러 동물들에서 중화 항체가 존재한다 [16, 21]. 그러나 BEV-2는 사육되는 소에서만 검출되어 왔고, 여러 동물에서 항체의 존재가 확인되지 않았다 [3]. BEV-2에 대한 항체 조사에 대한 자료는 세계적으로도 거의 없는 실정이다.

본 시험에서 사람 및 돼지에서 BEV-1 및 2에 대한 높은 항체양성율이 나타났고, 또한 BEV-2의 경우 염소 및

개에서 많은 개체에서 항체 양성률이 확인된 것은 소에서 검출되어 왔던 바이러스에 대한 항체가 다른 축종에서 발견된 흥미로운 결과이다.

BEV는 분변-경구 감염의 방법이 주요 전파경로로 알려져 있고 감염된 개체의 분변에서 많은 양의 바이러스를 배출한다 [20]. pH 2 및 10에도 견딜 정도로 환경에 강하며 [20], 높은 열 및 염도에서도 저항성이 있으며, 소독제에도 비교적 저항성이 있는 바이러스로 환경오염의 지표로도 널리 알려져 있다 [11]. 그러므로 소에서 분리된 엔테로바이러스가 돼지 축종에서 항체가 보다 높게 형성된 것은 소 분변을 통해 바이러스가 오염된 물 또는 매개물 등 주변 환경에서 경구 감염경로를 통하여 쉽게 전파되어 항체가 형성된 것으로 추정할 수 있으며, 위 장관과 환경에서의 높은 안정성과 넓은 숙주 영역은 [3, 11], 사람과 동물들 간의 이동도 가능하리라 보여진다.

Picornavirus과에 속하는 enterovirus는 소 뿐 아니라 다른 축종에서도 분리되는 바이러스로 상당히 다양한 혈청형으로 구성되어 있다. 사람에서 enterovirus는 66개의 혈청형이 존재하며, 대부분 무증상 감염을 일으키며 뇌염, 심근염 등을 일으키는 바이러스도 존재 한다 [14, 17]. 사람의 소 엔테로바이러스 항체의 존재는 알려져 있으나 [3], 임상증상을 보이는 감염보고는 없다. BEV-2의 높은 항체 양성율은 쉽게 사람 또는 동물로 전파가 가능하다는 것을 의미한다. BEV-1에 대한 항체를 갖는 사람 혈청은 BEV-2에 대해서도 모두 양성 결과를 보였다. 따라서 BEV는 오염된 환경에서는 무증상을 나타내며 대부분의 사람에게로 전파되어 항체가 형성되었다고 생각된다.

또한, 여러 축종에서 유래된 유사한 바이러스들의 중화를 유발시키는 항원의 유사성에 의한 교차 간섭반응의 소지도 없지 않으나 같은 축종에서 분리된 바이러스의 경우 타 축종에서 분리된 바이러스 보다 유전적으로 상동성이 높은 것 [2, 22]과 BEV-1 및 2 혈청형 간에도 같은 개체에서 항체의 역가가 다르게 나타나는 것으로 보아, 타 축종에서 유래된 엔테로바이러스에 대한 간섭에 의한 항체 양성으로 될 가능성은 비교적 낮은 것으로 추정된다. 소 및 돼지에서 지역별로 분석한 결과에서도 강원, 전남 및 경남지역의 BEV-1에 대한 일부 낮은 항체를 나타내는 지역을 제외하고는 대부분 다른 지역과의 격차는 크게 보이지 않았으므로 거의 전국적으로 유행되고 있을 가능성을 보여주었다. 그러나 병원성을 보이는 소 엔테로바이러스의 분리 및 검출이 현재까지 국내에서는 확인되지 않았다. 다만 소 엔테로바이러스가 정상개체에서도 분리될 수 있고, 비병원성 바이러스이므로 국내에서는 바이러스 분리를 시도되지 하지 않

있음을 감안할 경우 국내에 유행하는 바이러스의 존재 가능성은 높다고 할 것이다. 또한, 본 실험결과 국내에서 사람을 비롯한 소, 돼지, 염소, 말 및 개의 다양한 축종에서 소 엔테로바이러스에 대한 항체가 매우 넓게 분포하는 사실을 처음 확인하였다. 그러나 소 엔테로바이러스 분리에 대한 연구를 수행하고 국내에서 분리된 바이러스의 생물학적 특성과 병인기전에 대한 연구를 적극적으로 시도하여야 할 것이다.

결 론

소 엔테로바이러스에 대한 중화항체 분포 실태를 사람, 소, 돼지, 염소, 말 및 개를 대상으로 시험하였다. 그 결과 BEV-1에 대한 항체는 염소, 말, 개에서는 10% 내외의 낮은 항체 양성율을 보였으나, 사람, 소, 돼지에서는 46.8-70.6%의 비교적 높은 양성율을 보였다. BEV-2에 대한 항체는 9.4%인 말을 제외한 조사한 모든 사람 및 동물에서 59.4-98.7%의 높은 항체 양성율을 보였다. 위의 결과로 국내에 소 엔테로바이러스의 유입가능성이 높고, 사람 및 동물에서 항체가 매우 넓게 분포한다는 사실을 확인하였다.

감사의 글

이 과정은 국립수의과학검역원의 연구비로 수행한 결과입니다. 혈청 샘플 수집에 도움을 주신 질병진단센터의 엄재구, 이경기 박사님, 바이러스과의 임성인 선생님, 중화시험을 수행하는 데 도움을 주신 해외전염병과의 정기식 님께 감사를 드립니다.

참고문헌

1. Gillespie JH, Timoney JF. The Picornaviridae. In: Hagan WH, Bruner DW, Gillespie JH, Timoney JF (eds.). Hagan and Bruner's Infectious Diseases of Domestic Animals: with Reference to Etiology, Pathogenicity, Immunity, Epidemiology, Diagnosis, and Biologic Therapy. 7th ed. pp. 595-628, Comstock Publishing Associates, Ithaca, 1981.
2. Goens SD, Botero S, Zemla A, Zhou CE, Perdue ML. Bovine enterovirus 2: complete genomic sequence and molecular modelling of a reference strain and a wild-type isolate from endemically infected US cattle. J Gen Virol 2004, **85**, 3195-3203.
3. Gür S, Yapkiç O, Yilmaz A. Serological survey of bovine enterovirus type 1 in different mammalian

- species in Turkey. Zoonoses Public Health 2008, **55**, 106-111.
4. Hamada N, Masunaga K, Ohtsu Y, Kato H, Tsuji K, Maeda H, Shingu M, Toyoda T. Nucleotide sequence of the gene encoding the RNA polymerase and the 3' non-coding region of a bovine enterovirus Japanese isolate: rapid synonymous substitutions between European and Japanese strains. Arch Virol 1998, **143**, 815-821.
5. Hamblin C, Knowles NJ, Hedger RS. Isolation and identification of bovid enteroviruses from free-living wild animals in Botswana. Vet Rec 1985, **116**, 238-239.
6. Hodes ME, Morgan S, Hubbard JD, Yu PL, Lukemeyer JW. Tissue culture and animal studies with an oncolytic bovine enterovirus (bovine enterovirus 1). Cancer Res 1973, **33**, 2408-2414.
7. Jain NC, Batra SK. Isolation and characterization of ovine enteroviruses. Indian J Virol 1985, **1**, 17-25.
8. Jiménez-Clavero MA, Escribano-Romero E, Mansilla C, Gómez N, Córdoba L, Roblas N, Ponz F, Ley V, Sáiz JC. Survey of Bovine Enterovirus in Biological and Environmental Samples by a Highly Sensitive Real-Time Reverse Transcription-PCR. Appl Environ Microbiol 2005, **71**, 3536-3543.
9. Knowles NJ, Barnett IT. A serological classification of bovine enteroviruses. Arch Virol 1985, **83**, 141-155.
10. Kunin CM, Minuse E. The isolation in tissue culture, chick embryo and suckling mice of filtrable agents from healthy dairy cattle. J Immunol 1958, **80**, 1-11.
11. Ley V, Higgins J, Fayer R. Bovine enteroviruses as Indicators of Fecal Contamination. Appl Environ Microbiol 2002, **68**, 3455-3461.
12. McCarthy FM, Smith GA, Mattick JS. Molecular characterisation of Australian bovine enteroviruses. Vet Microbiol 1999, **68**, 71-81.
13. Mehrotra ML. Isolation and characterization of cytopathogenic viral agents resembling enteroviruses of buffalo. Indian J Anim Sci 1973, **43**, 624-628.
14. Melnick JL. Enteroviruses: polioviruses, coxsackieviruses, echoviruses, and newer enteroviruses. In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM (eds.). Fields Virology. 3rd ed. pp. 655-712, Lippincott-Raven, Philadelphia, 1996.
15. Moll T, Ulrich MI. Biologic characteristics of certain bovine enteric viruses. Am J Vet Res 1963, **24**, 545-550.
16. Moscovici C, Laplaca M, Maisel J, Kempe H.

- Studies of bovine enteroviruses. *Am J Vet Res* 1961, **22**, 852-863.
17. **Muir P, Kämmerer U, Korn K, Mulders MN, Pöyry T, Weissbrich B, Kandolf R, Cleator GM, Van Loon AM.** Molecular typing of enteroviruses: current status and future requirements. *Clin Microbiol Rev* 1998, **11**, 202-227.
 18. **Shingu M, Chinami M, Taguchi T, Shingu M Jr.** Therapeutic effects of bovine enterovirus infection on rabbits with experimentally induced adult T cell leukaemia. *J Gen Virol* 1991, **72**, 2031-2034.
 19. **Taylor MW, Cordell B, Souhrada M, Prather S.** Viruses as an aid to cancer therapy: regression of solid and ascites tumors in rodents after treatment with bovine enterovirus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1971, **68**, 836-840.
 20. **Taylor MW, Su R, Cordell-Stewart B, Morgan S, Crisp M, Hodes ME.** Bovine Enterovirus-1: characterization, replication and cytopathogenic effects. *J Gen Virol* 1974, **23**, 173-178.
 21. **Yamada S.** Studies on bovine enteroviruses. IV. Neutralizing antibodies in the Kyushu district. *Nippon Juigaku Zasshi* 1965, **27**, 317-323.
 22. **Zell R, Krumbholz A, Dauber M, Hoey E, Wutzler P.** Molecular-based reclassification of the bovine enteroviruses. *J Gen Virol* 2006, **87**, 375-385.
 23. **Zheng T.** Characterisation of two enteroviruses isolated from Australian brushtail possums (*Trichosurus vulpecula*) in New Zealand. *Arch Virol* 2007, **152**, 191-198.