

국내산 메기, *Silurus asotus*의 상피종

유진하 · 박성우[†] · 김동완^{*}
군산대학교 수산생명의학과, ^{*}동경미생물개발

Epithelioma of farmed catfish *Silurus asotus* in Korea

Jin-Ha Yu, Sung-Woo Park[†] and Dong-Wan Kim^{*}

Department of Aquatic Life Medicine, Kunsan National University, Gunsan, Jeollabukdo, 573-701, Korea
^{*}Dongkyung Microbial Technology, Iksan, Jeollabukdo, 570-912, Korea

Catfish *Silurus asotus* sampled from a pond farm in Korea, was affected with an epithelial tumor resembling catfish *Ameiurus nrbulosus* lip and mouth epithelioma. The neoplasm appeared in the form of solitary, multiple, large and fleshy masses upon the skin, fin or barbel. The epithelial tumor proliferation causes papillary folds supported by connective tissue cords. These folds extended above the normal skin surface and into the underlying dermis. In some area, proliferation of mucous cells or club cells were observed. The epithelial cells of the tumor were dispersed with no orderly arrangement. This is the first report on epithelioma of catfish in Korea.

Key words: Epithelioma, Catfish, *Silurus asotus*, Tumor

메기, *Silurus asotus*는 메기과 메기목에 속하는 담수어종으로서 한국, 대만, 중국, 베트남, 일본 등지의 담수계에 널리 분포하고 있다(Kim and Lee, 1993). 특히 메기는 차널메기, *Ictalurus punctatus*와 더불어 국내에서 상당한 양식이 이루어지고 있으며 맛이 좋아 차널메기보다 소비자들에게 더욱 더 각광받고 있는 양식어종으로 손꼽히고 있다. 이러한 이유로 메기의 수요가 늘어남에 따라 많은 메기 양식장에서는 고밀도 사육과 함께 빠른 성장유도를 위하여 과다한 사료공급을 실시하게 되었다. 또한 메기의 주 서식지는 하천이라는 점을 감안하여 주로 노지식으로 양식을 하게 되었고, 현재 국내 메기 양식은 종묘 육성장을 제외하고 거의 대부분 노지식으로 양식이 되고 있는 실정이다. 이러한 환경조건 때문에 많은 메기 양식장에서는 다양한 질병들이 발

생하여 이로 인한 많은 양식어민들의 경제적 손실이 일어나고 있다.

종양(tumor)이란 정상세포가 어떤 자극을 받아 유전자의 형질변화가 발생해 형태적 및 생화학적 변화가 일어나고 이로 인하여 세포들이 과도하게 증식되어 변형세포의 집단이 생기게 되는 것을 말한다(David, 2001; Blazer *et al.*, 2007). 모든 종양은 크게 악성(malignant)과 양성(benign)으로 나뉘는데, 유두종은 상피표면에 사마귀처럼 돌출하는 양성 상피성으로서 인간을 비롯한 육상 척추동물과 조류 등에게 발병이 되며 때로는 어류와 같은 수산 동물에게도 발병이 되곤 한다. 어류의 상피종은 *Oncorhynchus masou* virus (OMVD)로 잘 알려진 연어의 herpesvirus 병과 넙치를 비롯한 해산어에 주로 발병되는 lymphocystis가 있다(Aso *et al.*, 1994; Bekesi *et*

[†]Corresponding Author : Sung-Woo Park, Tel : 063-469-1884
E-mail : psw@kunsan.ac.kr

al., 1986; Paperna *et al.*, 2001). 이외에 관상어를 비롯한 수많은 담수 및 해산어에서 원인을 알 수 없는 상피종이 발생되고 있다.

2007년 11월 충북에 위치하고 있는 메기 노지 양식장에서 상피종으로 의심되는 질병이 발생하였다. 발병당시 양식장 수온은 10-12°C 정도였다. 그러나 수온이 내려갈수록 점점 심해져 거의 모든 개체 (80-90%)에서 증상이 발현되었지만, 폐사는 발생하지 않았다. 수원은 지하수를 사용하고 있었으며, 사료는 메기전용 배합사료를 투여하고 있었다.

본 연구에서는 병어의 전반적인 병리학적 상태를 확인하고, 병소부위의 조직학적인 변화를 관찰하였다.

재료 및 방법

총 10 마리의 병어(평균체장: 32.5±3.1 cm)의 아가미를 절취하여 광학현미경으로 기생충의 감염 여부를 조사하였다. 세균의 검출을 위하여 간, 신장 및 비장을 절취하여 도말표본을 만들어 그람염색을 실시함과 동시에 절취 조직의 일부는 brain heart infusion agar(BHIA, BD, USA)에 접종하여 25°C에 24시간 배양하였다. 또 발병어와 비슷한 증상을 나타내는 lymphocystis, papillomas virus 및 (OMVD)의 감염 여부를 확인하기 위하여 병어의 환부, 아가미, 지느러미, 간, 비장 및 신장의 조직을 따로 적출하여 DNA extraction kit(Bioneer Co. Korea)을 이용하여 DNA를 추출하였다. 해당 Primers로는 lymphocystis(Oh *et al.*, 2006), papillomas virus(Romero *et al.*, 2005), OMVD(Aso *et al.*, 2001)의 특이 primers를 각각 선택하여 각 장기별의 추출 DNA를 사용하여 PCR을 실시한 후 1.5% agarose gel에서 amplicons 유무를 확인하였다(Table. 1). 또한 병어의 종양 환부와 아가미를 떼어내어 24시간 동안 10% 중성 포르말린에 고정하여 상법에 따라 알콜계열로 탈수한 후 파라핀에 포매한 다음 5 μm의 조직절편을 만들었다. 조직 절편은 Mayer's

haematoxylin-eosin, periodic acid-Schiff stain(PAS) 또는 Azan염색한 다음 광학현미경으로 관찰하였다.

결과 및 고찰

병어는 피부, 턱, 수염, 지느러미, 두부 및 복부 등에 직경이 약 3-15 mm의 종양이 산발적으로 관찰되었고, 꼬리지느러미는 약간의 부식을 보이고 있었다(Fig. 1A.). 특히 종양은 단단하고 불규칙한 모양으로 가장자리는 유백색이며, 중심부는 황색으로 출혈을 동반한 종양도 관찰되었다. 또한 종양은 성장하면서 인접한 종양과 결합하여 크기가 더욱 증대되어 전신으로 퍼져 있었으며 내부에는 수많은 혈관들로 가득 차 있었다. 병어의 아가미는 빈혈과 약간의 울혈이 관찰되었으며, 아가미 흡충도 기생하고 있었다. 그러나 내부 장기는 뚜렷한 육안적 증상은 발견되지 않았다.

간, 신장 및 비장의 도말표본을 그람염색시 세균이 관찰되지 않았으며, BHIA에 배양 후에도

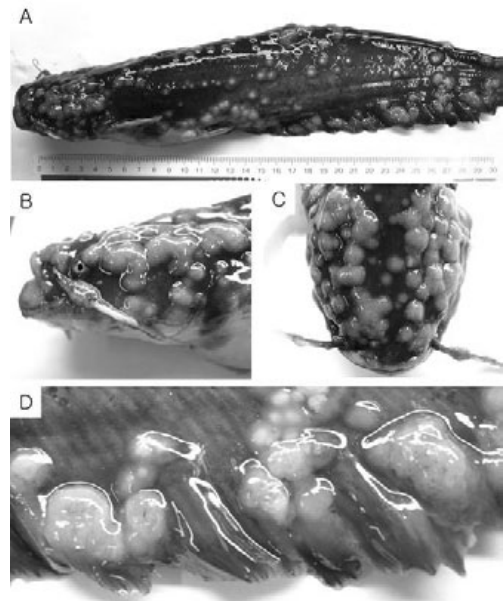


Fig. 1. Epithelioma on the body of catfish (A). The tumors extend to head, barbel and fins (B & C). Some large tumors showing numerous vessels (D).

Table 1. Specific primers and PCR conditions to detect amplicons of lymphocystis, papilloma virus and OMVD

Diseases	Lymphocystis	Papilloma virus	OMVD
Primers	LCDV _s -F: 5'-YTG GTT CAGTAA ATT ACCRG-3'	ΔL1TmlPVF: 5'-CAG GGG CAT AAG AAT G-3'	F10: 5'-GTA CCG AAA CTC CCG AGT C-3'
	LCDV _s -R: 5' GTA ATC CAT ACT TGH ACR TC-3'	ΔL1TmlPVR: 5'-GAG GGG AGA CTG ATC GAG TTC TG-3'	R5: 5'-AAC TTG AAC TAC TCC GGG G-3'
PCR conditions	95°C for 1 min	94°C for 1 min	94°C for 30 sec
	55°C for 1 min	50°C for 1 min	56°C for 30 sec
Amplicons	72°C for 1 min	72°C for 2 min	72°C for 30 sec
	30 cycles	40 cycles	30 cycles
	609 bp	458 bp	439 bp

원인균으로 추정되는 세균집락이 발육되지 않았다. 또한 바이러스 검사를 위한 PCR반응에서도 각 장기로부터 lymphocystis, papillomas virus와 OMV에 해당하는 특이 amplicons는 전혀 생성되지 않았다(자료 미제시).

병리조직표본에서 환부 종양 부위는 상피세포의 증생이 진피의 결합조직에서부터 시작되어, 증생된 세포들의 집단은 결합조직의 기질에 의해 둘러싸인 채 구획을 형성하였다(Fig 2A). 몇 개의 증생된 세포 구획 중앙에는 점액 세포가 관찰되기도 하였다(Fig. 2B.). 증생된 상피세포는 부정형의 모양으로 질서정연하지 않는 모습을 나타냈으며 증생부위의 외곽에 위치한 상피세포는 현저한 괴사상을 나타내었다(Fig. 3A & B.). 증생된 상피세포의 핵은 원형에서 원추형이지만 일부의 세포에서는 핵이 소실되거나 핵막으로 이동하여 핵막 괴염상을 나타내기도 하였다. 또한 증생된 상피에는 곤봉세포와 점액세포와 함께 다량의 호산성 세포도 관찰되었다(Fig. 4A, B, C & D.). 증생된 상피의 바로 밑 부분인 진피에는 출혈과 울혈이 관찰되었다(Fig. 5A & B). 아가미의 상피세포도 현저한 증생으로 새변이 유착되었다(Fig. 6). 2차 새변에서 일부의 상피가 탈락되거나 증생된 상피세포는 상피세포의 경우와 마찬가지로 핵 소실 또는 핵막괴염상을 나타내었다. 그러나 간과 신장 등의 내부 장기에서는 별다른 병리 조직학적 이상이 관찰되지 않았다. 이러한 세포의 증생이 상피에서만 한정되어

일어나며 결합조직으로 구성된 피막으로 둘러싸여 있었기 때문에 양성 종양이라고 판단할 수가 있었다.

어류에 종양을 유발하는 원인은 다양하지만 iridovirus와 herpesvirus에 의한 바이러스성 종양이 대표적이며, 이외에 retrovirus, adenovirus, birnavirus에 의한 종양이 발생하기도 하였다(Schubert, 1966; Yamamoto *et al.*, 1976; Carlisle, 1977; Bekesi *et al.*, 1986; Sano *et al.*, 1990; Bloch *et al.*, 1986; Andres, 1989; Yoshimizu *et al.*, 1989; Anders and Yoshimizu, 1994). 또한 바이러스 이외의 요인으로서 산란이나 변태 등과 같은 생리학적 변화와 사육수, 사료, 호지 바닥에 있는 여러 유기물 찌꺼기에서 발생하는 다환상방향족 탄화수소(Polycyclic Aromatic Hydrocarbon, PAH)와 같은 발암인자들에 의해 어체의 면역력이 저하될 때 주로 발생될 것이라고 추정하고 있다(Sonstegard, 1977; Anders and Yoshimizu, 1994; Pinkney and Harshbarger, 2005).

바이러스성 종양 중에서 iridovirus의 감염에 의한 lymphocystis는 피부에 커다란 상피종을 형성하기 때문에 외관상 상피의 질을 저하시켜 경제적 손실을 초래하는 질병의 하나로 손꼽히고 있다. Lymphocystis 세포는 결합조직내에 조직학적으로 강한 호염기성의 두꺼운 초자막에 둘러싸인 거대세포가 형성되는 질병으로, 거대 세포는 커다란 핵인을 가진 큰 소엽상의 핵과 호염기성의 세포질내 봉입체가 관찰되는 것이

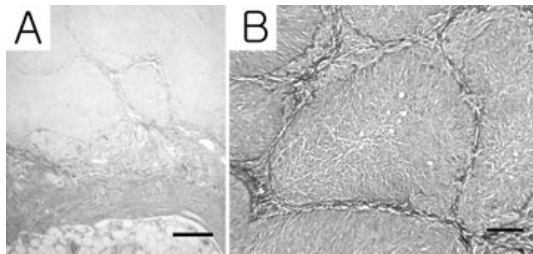


Fig. 2. Microscopic appearance of the epithelioma on catfish skin. Proliferating epidermal cells form folds (A) and supported by connective tissue (B). A: HE; B: Azan. Bars: A, 300 μ m; B, 100 μ m.

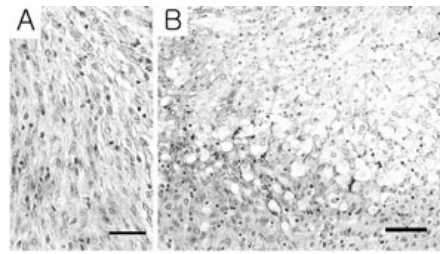


Fig. 3. Epithelioma in the skin showing irregular arrangement (A) and necrosis in the marginal part (B). HE. Bars: A, 30 μ m; B, 50 μ m.

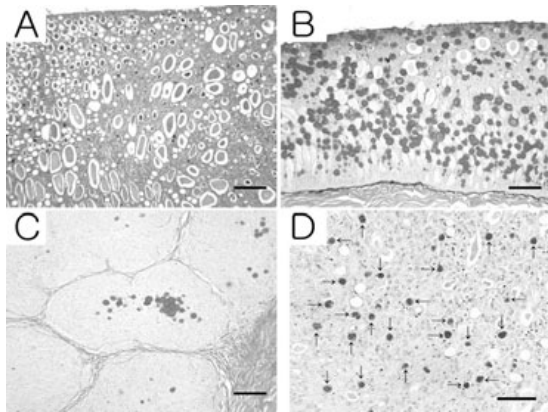


Fig. 4. Proliferation of club cells (A), mucous cells (B & C) and eosinophilic cells (arrows, D) in epithelioma in skin. A: Azan, B & C: PAS, D: HE. Bars: A, B and C, 100 μm ; D, 50 μm .

특징이다(Paperna *et al.*, 2001). 본 연구에서 관찰된 종양환부에서는 lymphocystis처럼 결합조직 내의 거대세포의 출현 등은 보이지 않았고, 오직 상피세포의 증생으로 이루어진 커다란 세포덩어리만 관찰되었을 뿐이다. Herpesvirus의 감염에 의한 연어의 OMVD감염 후 생긴어는 주둥이 부분의 상피세포들이 증생하여 커다란 종양을 형성하는 것이 특징이다(Wolf, 1988). OMVD의 종양은 조직학적으로 얇은 결합조직으로 둘러싸인 증식성 상피세포 덩어리가 형성되는 것이 특징으로 본 연구의 메기 환부와 조직학적으로 유사하였다. 바이러스이외의 원인에 의한 어류의 피부 종양으로는 brown bullhead의 흑색종(melanoma), 흑색 유두종(melanotic papilloma) 및 상피종이 있다(Blazer *et al.*, 2007). 흑색종과 흑색 유두종의 경우 증생된 상피세포내에 많은 흑색세포의 비정상적인 증식과 침윤이 일어난다는 점과 증생된 상피세포 덩어리를 둘러싸고 있는 결합조직 내부에 흑색세포들이 침윤된다는 점이 특징(Blazer *et al.*, 2007)이지만 본 연구에서는 이와 같은 변화는 발견되지 않았다. Lucké and Schlumberger(1941)는 메기, *Ameiurus rebulosus*에서 상피종을 보고하였는데, 조직학적으로는 본 연구에의 병변과 매우 흡사한 변화를 보였

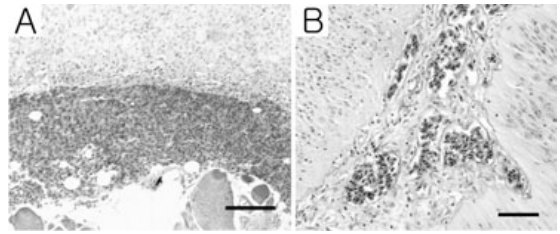


Fig. 5. Hemorrhage in connective tissue beneath the epithelioma (A) and congestion of veins in the stroma of epithelioma (B). HE. Bar: A, 100 μm ; B, 30 μm .

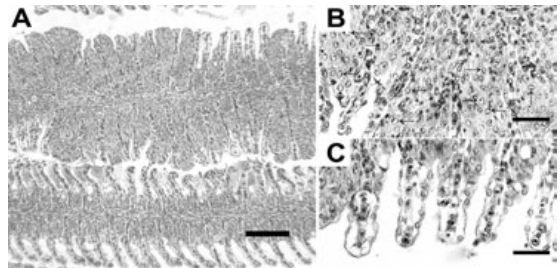


Fig. 6. Gills of the catfish showing hyperplasia of epithelial cells, fusion of lamellae or desquamation of epithelium (A & C). Some epithelial cells showing pyknosis or karyorrhexis with margined chromatin (B, arrows). HE. Bars: A, 100 μm ; B & C, 30 μm .

다. 즉 상피세포의 증생으로 이루어진 덩어리들이 결합조직에 의해 둘러싸여 있고, 증생된 세포의 불규칙한 배열과 내부에 많은 기질이 혼재한다는 점, 상피세포는 핵소실과 핵막과염상을 보였다는 점이 일치하고 있다. 본 연구에서는 혈관 내에 색전의 원인이 되는 이물질이 관찰되지 않았다는 점이 *A. rebulosus*의 상피종 환부와는 차이가 났다. 본 연구에서 메기에 발생한 상피종은 어류에 종양을 유발하는 것으로 보고된 바이러스성 인자와는 무관하지만, 발병요인의 추정은 불가능하였다.

바이러스의 감염여부는 종양환부로부터 전자현미경을 통해 비리온 입자의 유무를 확인할 수 있고 또한 주화세포를 이용한 바이러스 배양을 통해서도 확인할 수도 있다. 하지만 주화세포에서 자라지 않는 바이러스 입자들이 전자현미경 하에서 발견되어지거나 반대로 바이러스는 분

리되었으나 전자현미경하에서는 관찰되어지지 않는 경우도 있다(Anders and Yoshimizu, 1994). 이처럼 실험적인 측면에서도 많은 차이가 일어나 종양의 원인을 찾아내기는 여간 어려운 일이 아니다. 본 연구에서는 전자현미경적 분석이나 세포배양을 통한 바이러스의 존재여부는 수행하지 않았기 때문에 바이러스가 종양발병의 원인이 될 것이라는 결론을 지을 수는 없었다. 하지만 PCR 분석법을 통한 진단에서는 어류에 종양을 유발하는 바이러스가 검출이 되지 않았기 때문에 현재까지 어류의 종양원으로 알려진 바이러스가 이 질병의 원인이 될 가능성은 크지 않을 것이라 추정된다. 그러나 본 연구에서 사용된 메기의 경우 고밀도로 사육이 되고 있었고, 수온이 점점 내려감에 따라 사료의 섭취량이 줄어들었다는 점, 종양의 전파가 수온이 점점 내려갈수록 심해졌다는 점을 미루어보면 환경의 악변화로 인한 면역력의 저하가 종양발생의 원인이 되지 않을까라고 추정을 해보게 된다. 하지만 저자는 사육수나 호지내의 유기물, 사료 등으로부터의 발암물질 분석은 실행하지 않았기 때문에 이에 대한 추가적 분석이 필요하다고 본다.

본 연구는 국내 메기 양식장에서 발생된 상피종에 대한 최초의 보고로서 이후 이 질병에 대한 연구에 기초자료가 되리라 생각된다.

요 약

지중 양식 중인 메기, *Silurus asotus*에 *Ameiurus nrbulosus* 상피종과 유사한 질병이 발생하였다. 상피종은 피부, 지느러미 및 수염에 독립된 형태로 대형의 종괴를 형성하고 있었으며, 조직학적으로는 증생된 상피를 관입된 결합조직에 의해 피포되어 구획되어져 있으며, 증생된 상피 세포는 불규칙한 배열을 하고 있었다. 또한 종양의 내부에는 점액세포와 곤봉세포가 다수 내재되어 있었다. 본 상피종의 발생 원인은 단정할 수는 없지만 상피종을 유발하는 것으로 알려진 바이러스는 검출되지 않았기 때문에 기존에 어

류의 종양원으로 보고된 바이러스이외의 종류이던가 아니면 다른 요인이 작용할 것으로 생각되지만 본 연구에서는 원인을 추정할 수 없었다.

감사의 글

본 연구는 군산대학교 수산과학연구소의 연구비 지원에 의한 대어민 질병 상담업무의 일환으로 수행되었습니다.

참 고 문 헌

- Andres, K.: A herpesvirus associated with an epizootic epidermal papillomatosis in European smelt (*Osmerus eperlanus*). In: Ahne, W. & Kurstak, E. (eds.) Viruses of lower vertebrate. Springer, Berlin, pp. 301-306, 1989.
- Anders, K. and Yoshimizu, M.: Role of viruses in the induction of skin tumours and tumour-like proliferations of fish. Dis. Aquat. Org., 19: 215-232, 1994.
- Aso Y., Wani J., Klenner D.A.S. and Yoshimizu M.: Detection and identification of *Onchocorhynchus masou* virus (OMV) disease by polymerase chain reaction (PCR). Bull. Fish. Sci. Hokkaido Univ., 52: 111-116, 2001.
- Bekesi, L., Horvath, T., Kovacs-Gayer, E. and Csaba, G.: Demonstration of herpesvirus-like particles in skin lesions of European eel (*Anguilla anguilla*). J. Appl. Ichthyol., 2: 190-192, 1986.
- Blazer, A. S., Fournie, J. W., Wolf, J. C. and Wolfe, M. J.: Manual for the microscopic diagnosis of proliferative liver and skin lesion in the brown bullhead (*Ameiurus nebulosus*). Pennsylvania Sea Grant. pp 1-34, 2007.
- Bloch, B., Møllergaard, S. and Nielsen, E.: Adenovirus-like particles associated with epithelial hyperplasias in dab, *Limanda limanda*

- (L.). J. Fish. Dis., 9: 281-285, 1986.
- Carlisle, J. C.: An epidermal papilloma of the Atlantic salmon II: Ultrastructure and etiology. J. Wildlife Dis., 13: 235-239, 1977.
- David, H. C.: Essential histology. 2nd Ed. pp 142, 2001.
- Kim, Y. G. and Lee, K. K.: Studies on disease of catfish (*Silurus asotus*) in Korea. J. Fish. Pathol., 6: 1-10, 1993.
- Lucké, B. and Schlumberger, H.: Transplantable epitheliomas of the lip and mouth of catfish. I. Pathology. Transplantation to anterior chamber of the eye and into the cornea. J. Exp. Med., 74: 397-416, 1941.
- Oh, M. J., Kitamura, S. I. and Jung, S. J.: Differentiation of lymphocystis disease virus genotype by multiplex PCR. J. Microbiol., 44: 248-253, 2006.
- Paperna, I., Vilenkin, M. and Matos, A. P. A.: Iridovirus infections in farm-reared tropical ornamental fish. Dis. Aquat. Org., 48: 17-25, 2001.
- Pinkney, A. E. and Harshbarger, J. C.: Tumor prevalence in brown bullhead (*Ameiurus nebulosus*) from the south river, Anne Arundel County, Maryland. U.S. Fish. Wildfish. Service. pp 1-27, 2005.
- Romero, C. H., Woodruff, R. A., Bonde, R. K. and Bonilla, A.: Molecular identification of a papilloma virus from cutaneous lesions of captive and free-ranging Florida Manatees. J. Wild. Dis., 41: 437-441, 2005.
- Sano, T., Morita, N., Shima, N. and Akimoto, M.: A preliminary report on pathogenicity and oncogenicity of cyprinid herpesvirus. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol., 10: 11-13, 1990.
- Schubert, G.: The infective agent in carp pox. Bull. Off. Int. Epiz., 65: 1011-1022, 1966.
- Sonstegard, R. A.: Environmental carcinogenesis studies in fishes of the Great Lakes of North America. Ann. N.Y. Acad. Sci., 298: 261-269, 1977.
- Wolf, K.: Fish viruses and fish viral diseases. Cornell Univ. Press, Ithaca, pp 476, 1988.
- Yamamoto, T., MacDonald, R. E., Gillespie, D. C. and Kelly, R. K.: Viruses associated with lymphocystis disease and the dermal sarcoma of walleye (*Stizostedion vitreum*). J. Fish. Res. Bd. Can., 33: 2408-2419, 1976.
- Yoshimizu, M., Nomura, T., Awakaru, T., Ezura, Y. and Kimura, T.: Prevalence of pathogenic fish viruses in anadromous masu salmon (*Oncorhynchus masou*) in the northern east of Japan, 1976-1987. Physiol. Ecol. Jap. Spec., 1: 559-576, 1989.

Manuscript Received : January 7, 2009

Revised : July 10, 2009

Accepted : July 28, 2009