

碩士學位論文

제주지역 도축돈의 간질성 신염



濟州大學校 大學院

獸醫學科

梁亨碩

2003年 8月

제주지역 도축돈의 간질성 신염

指導教授 裴宗熙

梁亨碩

이 論文을 獸醫學 碩士學位 論文으로 提出함

2003年 7月



제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

梁亨碩의 獸醫學 碩士論文을 認准함

審査委員長 _____ (印)

委 員 _____ (印)

委 員 _____ (印)

濟州大學校 大學院

2003年 8月

초 록

제주지역 도축돈의 간질성 신염

(지도교수 : 배종희)

양형석

제주대학교 대학원 수의학과

2002년 11월부터 3개월 간에 걸쳐서 제주도내 15개 농장으로부터 도축 출하된 160두 돼지의 신장을 채취하여 간질성 신염에 대하여 육안적 및 병리조직학적 검사와 돼지 썬코바이러스 2형 (porcine circovirus type 2; PCV-2), 돼지 파보바이러스 (porcine parvovirus; PPV) 및 렙토스피라 (*Leptospira* spp.)에 대한 중합효소연쇄반응 (polymerase chain reaction; PCR)을 실시하였다. 그 결과, 간질성 신염의 육안 병변은 85.6% (137예)에서 관찰되었다. 병리조직학적으로 간질성 신염은 99.4% (159예)에서 확인되었다. 병변이 없는 경우 0점, 경미한 경우 1점, 중등도 2점, 섬유화를 동반하는 만성인 경우 3점 등으로 간질성 신염 지수를 세분한 결과, 160예의 신장에 대한 평균 지수는 2.05점이었다. 림프양 여포 (lymphoid follicles)가 형성된 것은 55.6% (89예), 맥관염은 18.8% (30예)에서 관찰되었다.

160예의 신장에 대한 PCR 결과, PCV-2는 73.8% (118예), PPV는 66.9% (107예)에서 양성으로 나타났으며 렙토스피라는 전 두수 음성이었다. PCV-2 및 PPV의 혼합 감염은 52.5% (84예)였다. PCV-2와 PPV가 혼합 감염되어있는 신장은 PPV가 단독 감염된 것에 비하여 병리조직학적 간질성 신염의 평균 지수가 유의성 ($P < 0.05$) 있게 높았다. PCV-2와 PPV가 혼합 감염된 84예 중 림프양 여포 및 맥관염의 발생률은 각각 65.5% (55

예), 26.2% (22예)로 나타나 단독 감염 또는 원인체가 검출되지 않은 예에 비하여 월등히 높았다.

이상의 결과를 종합하여, 제주지역 도축돈의 간질성 신염은 PCV-2와 PPV가 주된 원인체로 관여하고 있으며, 두 바이러스의 혼합 감염시 병리학적 병변이 더욱 심하게 나타나고 림프양 여포 또는 맥관염이 동반되는 경향을 나타내고 있었다.

중심어 : 돼지 간질성 신염, 돼지 썬코바이러스 2형, 돼지 파보바이러스, 렙토스피라, 중합효소연쇄반응.



목 차

| | |
|-------------------|----|
| I. 서 론 | 1 |
| II. 재료 및 방법 | 4 |
| III. 결 과 | 8 |
| IV. 고 찰 | 13 |
| V. 결 론 | 16 |
| VI. 참고문헌 | 21 |
| 영문초록 | 27 |



I. 서 론

신장은 체내에서 대사된 요소 등과 같은 최종산물이나 체외에서 유입된 독성물질 및 약물을 배설하며, 오줌으로 배설되는 물과 이온들의 양을 변화시킴으로써 체액의 양, 삼투압, 전해질 양과 농도 및 산성도 등을 조절하는 중요한 기능을 가진다. 또한 효소와 호르몬을 생산 또는 분비하여 염분의 균형 유지와 혈압 조절 등의 기능을 수행하여 체내 항상성 유지에 절대적인 영향을 미친다. 그러므로 신장의 형태학적 변화는 신장 자체 뿐 아니라 체액량과 이온 농도에 지속적인 이상을 유발하여 전신의 이상을 야기할 수 있다. 그러므로 신장 질환에 의한 신장의 대사기능장애는 돼지의 생산성을 저하시키는 것은 물론 감염성 질병의 한 유형으로 중요시 여겨지고 있다 (Jones 등, 1997; Drolet과 Dee, 1999).

신장에서 발생하는 질병은 사구체의 병변, 신세뇨관의 병변 및 세뇨관과 간질조직의 병변으로 크게 대별된다. 이 중 간질조직에 나타나는 병변은 간질성 신염과 신우신염으로 구분할 수 있으며, 간질성 신염은 혈행성으로 전파되는 전신질환에 속발하여 발생하는 경우가 대부분이다 (Jones 등, 1997). 간질성 신염의 육안적인 병변은 일반적으로 백점신 (white dotted kidney) 또는 백반신 (white spotted kidney)으로 알려져 있다. 이와 같은 병변을 일으키는 원인체로는 돼지 썩코바이러스 2형 (porcine circovirus type 2; PCV-2), 돼지생식기호흡기증후군 바이러스 (porcine reproductive and respiratory syndrome virus; PRRSV), 아데노바이러스 (adenovirus), 돼지 파보바이러스 (porcine parvovirus; PPV) 및 봉입체성 비염의 원인체인 돼지 거대세포바이러스 (porcine cytomegalovirus; PCMV)가 알려져 있다 (Allan 등, 1998; Chappel 등, 1992; Cooper 등, 1997; Drolet과 Dee, 1999; Drolet 등, 2002; Ellis 등, 1999; Kelly, 1967; Rossow 등, 1995; Shaddock 등, 1967). 또한 일부 국가에서는 세균성 질병으로 렙토스피라 (*Leptospira* spp.)가 도축 돼지에서 간질성 신염의 가장 주된 원인체로 밝혀져 있다 (Drolet과 Dee, 1999; Scanziani 등, 1989; Thomas 등, 1989).

렙토스피라는 소, 양, 돼지, 개, 야생동물 및 사람에서도 감염되는 인수공

통전염병으로 알려져 있고, 원인체인 *Leptospira interrogans*의 혈청형 (serovar type)은 *pomona*, *icterohemorrhagiae*, *hardjo* 및 *canicola*가 있으며 돼지에서는 *pomona*의 감염이 가장 호발 한다고 알려져 있다 (Drolet과 Dee, 1999). 렙토스피라는 안점막, 구강점막 또는 비점막과 피부를 통해 침입하여 혈류를 통해 전신으로 파급된다. 신장에서는 혈류를 거쳐 유입된 균체가 간질조직과 세뇨관강에 분포하여 다병소성 간질성 신염을 일으킨다 (Levett, 2001). 특히 임신 돼지에 감염될 경우 임신 후기의 유산, 불임 또는 허약한 돼지를 출산하거나 사산을 일으키기도 한다 (Bolin과 Cassells, 1990; Ellis 등, 1985).

돼지 썩코바이러스는 *Circoviridae*에 속하는 단일가닥의 환상 DNA 바이러스로서 (Lukert 등, 1995) 돼지 신장세포주 (PK-15, ATCC-CCL 33)에 오염되어 있는 것이 최초로 보고되었다 (Tischer 등, 1982). 그러나 1990년대 후반 위축 및 호흡기 증상을 나타내는 이유자돈에서 기존의 썩코바이러스와 유전적, 항원적 특성이 다른 PCV-2를 분리하였으며, 이와 같은 증상을 이유후 전신 소모성 증후군 (postweaning multisystemic wasting syndrome; PMWS)이라 명명하였다 (Allan 등, 1999; Hamel 등, 1998; Meehan 등, 1997; Nayar 등, 1997). 국내에서도 PCV-2의 감염에 의한 PMWS가 보고되었으며 (Choi와 Chae, 1999), 제주도에서는 강 등 (2001)에 의해 확인된 바 있다. 또한 PMWS 이외 PCV-2 감염은 증식성 괴사성 폐렴 (proliferative and necrotizing pneumonia), 모돈의 유산 및 폐사 증후군 (sow abortion and mortality syndrome), 돼지 피부염 및 신증 증후군 (porcine dermatitis and nephropathy syndrome; PDNS) 등 다양한 질병과 연관성이 있음이 밝혀지고 있다 (Allan과 Ellis, 2000).

PPV는 *Parvoviridae*에 속하는 단일가닥의 선상 DNA 바이러스이며, 감염된 돼지는 입, 코 및 항문을 통해 바이러스를 배출하고 이와 접촉하거나 바이러스에 오염된 사람이나 기구 등을 통하여 다른 돼지에 전파된다 (Mengeling, 1999). 모돈에서는 유산, 사산, 미이라화 및 불임증과 같은 번식기 질환의 중요한 원인체로 알려져 있다 (Cartwright와 Huck, 1967; Mengeling 등, 1991). 그러나 최근에는 육성돈에서 PCV-2와 혼합 감염되어 PMWS를 유발하여 양돈업에 막대한 경제적 손실을 주고 있는 실정이다

다 (Allan 등, 1999; Ellis 등, 2000; Kennedy 등, 2000). 국내에서는 김 등 (1973)이 돼지에서 PPV 혈중 항체를 최초로 확인하였으며, 주 (1978)는 유산태아에서 PPV를 분리하였다. 또한, 류 등 (1997)은 제주도 돼지에서 혈구응집억제반응 (Hemagglutination inhibition test; HIT)을 통하여 PPV 항체를 확인한 바 있다.

최근 제주도내 도축장에서 출하돈을 대상으로 모니터링을 실시한 결과 신장에서 1~3mm의 유백색 병소가 관찰되는 백점신과 3mm이상의 유백색 병소가 관찰되는 백반신이 자주 관찰되고 있으나 이에 대한 연구가 미흡한 실정이었다. 따라서 본 연구는 제주도내 도축돈을 대상으로 신장의 육안적 변화, 병리조직학적 간질성 신염의 정도와 유형 및 이를 유발하는 원인체 간의 상관관계를 구명하고자 실시하였다.



II. 재료 및 방법

1. 공시동물

2002년 11월부터 3개월 동안 제주도내 15개 농장으로부터 도축장에 출하된 160두 돼지에서 신장을 한쪽씩 채취하여 실험에 공여하였다.

2. 병리학적 검사

1) 육안적 검사

신장에 대한 육안 검사는 Drolet 등 (2002)의 방법을 이용하여 백색 또는 유백색의 반점이 직경 1~3mm인 것은 백점신, 직경 3mm 이상이 관찰되는 것은 백반신으로 분류하였다. 기타 유백색조의 썩기 모양의 경색 치유 부위 또는 섬유화가 동반된 반흔 (scar)과 수양성 내용물을 함유한 낭포가 매몰되어 있는 낭포신 (renal cyst)의 유무도 관찰하였다.

2) 병리조직학적 검사

육안 검사 후 백점신, 백반신 및 기타 병변이 있는 부위를 채취하여 10% 중성 완충 포르말린용액에 고정하고 일반적인 조직 처리 과정을 거쳐 파라핀에 포매한 후 3~5 μ m로 조직 절편을 제작하고 H&E (hematoxylin and eosin) 염색을 실시하여 광학현미경으로 관찰하였다.

Scanziani 등(1989)의 방법에 준하여 병리조직학적 신장 병변의 정도를 0~3점으로 간질성 신염 지수를 분류하였다. 병변이 없는 경우는 0점, 세뇨관

상피의 공포성 변성 및 간질에 림프구와 형질세포로 구성된 염증 병변이 사구체보다 작은 미약한 간질성 신염이 산재하는 경우는 1점, 림프구, 형질 세포, 큰포식세포가 침윤된 병변이 사구체보다 크고 침윤된 염증세포로 인해 세뇨관이 위축, 변형 또는 내강이 축소되어 있는 중등도의 간질성 신염이 있는 경우에는 2점으로 구분하였다. 또한 섬유아세포가 현저하게 증식된 섬유화로 사구체와 세뇨관의 위축이 있거나 재생중인 세뇨관이 관찰되는 만성 간질성 신염은 3점으로 구분하였다. 또한 침윤된 림프구 및 큰포식세포에 의한 림프양 여포의 형성과 혈관벽 또는 주위에 단핵세포가 침윤된 맥관염의 유무를 관찰하여 간질성 신염 지수와 비교하였다.

3. 중합효소연쇄반응 (PCR)을 이용한 원인체 동정

1) 검사시료의 DNA 추출

간질성 신염의 원인체를 검사하기 위하여 PCV-2, PPV 및 렙토스피라에 대한 중합효소연쇄반응 (polymerase chain reaction; PCR)을 실시하였다. 신장 시료로부터 DNA 추출은 DNA Zol[®] (Gibco BRL, USA)을 이용하였다. -70℃에 냉동 보관된 신장에서 병변이 있는 부위를 1g 채취하여 멸균된 3차 증류수 9ml에 넣고 균질화 시킨 후, 상층액 200 μ l에 DNA Zol[®] 1ml을 첨가하여 10,000rpm으로 4℃에서 10분간 원심하였다. 상층액 1ml과 100% cold ethanol 500 μ l를 ependorff tube에 첨가하고 실온에서 3분간 정치시킨 후 4,000rpm으로 4℃에서 3분간 원심하였다. 상층액을 제거하고 2회에 걸쳐 75% ethanol로 수세한 후 5분간 건조한 다음 멸균 증류수 200 μ l에 현탁하였다. 56℃의 항온수조에 5분간 반응시킨 다음 4℃에 정치시킨 후 -20℃에서 보관하면서 실험에 이용하였다.

제주도축산진흥원에서 사용중인 PCV-2 template DNA와 국립수의과학검역원으로 부터 PPV 배양액 및 렙토스피라 균주를 분양받아 PCR용 양성 대조 시료로 사용하였다. 렙토스피라 균주는 *Leptospira interrogans*

serovar *pomona*, *icterohemorrhagiae*, *hardjo* 및 *canicola*를 이용하였다.

2) Oligonucleotide primer의 염기서열

PCV-2 및 PPV를 검출하기 위한 PCR primer는 Larochelle 등 (1999) 및 Soares 등 (1999)이 보고한 DNA sequences (Gibco BRL, USA)를 이용하였으며, 렙토스피라는 Kee 등 (1994)이 보고한 DNA sequences (Bionex, Korea)에 준하여 제작하였다 (Table 1).

Table 1. Oligonucleotide primer pairs for the detection of porcine circovirus type 2, porcine parvovirus and *Leptospira* spp.

| Pathogen | Primer | Nucleotides sequence (5'- 3') | Size of amplified products (bp) |
|------------------------|--------|-------------------------------|---------------------------------|
| PCV-2 | CF8 | TAGGTTAGGGCTGTGGCCTT | 263 |
| | CR8 | CCGCACCTTCGGATATACTG | |
| PPV | P1 | ATACAATTCTATTTTCATGGGCCAGC | 127 |
| | P6 | TATGTTCTGGTCTTTTCCTCGCATC | |
| | P2 | TTGGTAATGTTGGTTGCTACAATGC | |
| | P5 | ACCTGAACATATGGCTTTGAATTGG | |
| <i>Leptospira</i> spp. | LP1 | ATACAACCTTAGGAAGAGCAT | 274 |
| | LP2 | GCTTCTTTGATATAGATCAA | |

3) PCR

(1) 반응조건

원인체별 반응조건은 추출한 DNA 2 μ l와 각각의 primer 1 μ l (20pmol) 및 멸균증류수 16 μ l를 Premix tube [Bioneer, Korea, Taq DNA polymerase 1U, dNTP 0.25mM, 10mM Tris-HCl (pH 9.0), KCl 40mM, MgCl₂ 1.5mM]에 첨가하여 PCR 반응액의 최종 용량이 20 μ l가 되도록 하였다. PCV-2는 95 $^{\circ}$ C, 65 $^{\circ}$ C 및 72 $^{\circ}$ C에 각각 60초씩 30회 반복한 다음, 최종 72 $^{\circ}$ C에서 10분간 반응시켰다 (Larochelle 등, 1999). PPV는 95 $^{\circ}$ C에 45초, 55 $^{\circ}$ C에 60초 및 72 $^{\circ}$ C에 90초씩 35회 반복한 다음, 최종 72 $^{\circ}$ C에서 10분간 반응시켰다. PCR 반응이 완료된 후 P2, P5 primer를 이용하여 동일한 조건으로 nested PCR을 실시하였다 (Soares 등, 1999). 랩토스피라는 95 $^{\circ}$ C에 60초, 55 $^{\circ}$ C에 30초 및 72 $^{\circ}$ C에 45초씩 35회 반복한 다음, 최종 72 $^{\circ}$ C에서 5분간 반응시켰다 (Kee 등, 1994). PCR 증폭을 위하여 GeneAmp PCR system 2400 (Perkin-Elmer 9600, USA)을 이용하였다.

(2) PCR 증폭산물의 확인

PCR 반응이 완료된 후, 각각의 반응액 10 μ l를 1.5% agarose gel상에서 전기영동을 실시한 다음, ethidium bromide (0.5 μ g/ml in DW)로 염색하였다. 증폭산물을 확인하기 위해 100bp Ladder (Bioneer, Korea)를 molecular size marker로 사용하였고 전기영동 후 PCV-2는 263bp, PPV는 127bp, 랩토스피라는 274bp인 각각의 특이적인 band를 UV transilluminator(Seoulin Scientific, USA)로 확인하였다.

4. 통계처리

병리조직학적으로 림프양 여포의 형성 여부와 각 원인체의 감염에 따른 간질성 신염 평균 지수간의 유의성은 pc-SAS package를 이용하여 ANOVA로 통계분석을 실시하였다.

III. 결 과

1. 병리학적 검사

1) 육안적 검사

도축장에서 채취한 돼지 신장 160예에 대한 육안 검사 결과 간질성 신염 병변은 85.6% (137예)에서 확인되었으며, 그 중 백점신은 74.4% (119예), 백반신은 11.2% (18예)로 구분되었다 (Table 2). 기타 신장의 병변으로 낭포신과 반흔이 각각 6.9% (11예) 및 12.5% (20예)에서 관찰되었다. 백점신은 직경 1~3mm정도 (Fig. 1), 백반신은 직경 3mm이상으로 백색 또는 유백색의 한계가 뚜렷한 원형 또는 타원형의 반점으로 피막하 표면, 피질 및 수질에 산재하여 있었다. 반흔은 피질 표면보다 함몰된 불규칙한 모양의 유백색 병소로 관찰되었고 낭포신은 1~6cm까지 다양한 크기로 내부에는 맑은 담황색 수액을 함유하고 있는 낭포가 형성되어 있었다.

Table 2. Gross renal lesions of 160 pigs slaughtered in Jeju.

| | MIN | | | NGL |
|-----|------|------|-------|------|
| | WDK | WSK | Total | |
| No. | 119 | 18 | 137 | 23 |
| % | 74.4 | 11.2 | 85.6 | 14.4 |

MIN : multifocal interstitial nephritis.

WDK : white dotted kidney.

WSK : white spotted kidney.

NGL : no gross lesion.

2) 병리조직학적 검사

돼지 신장 160예 중에 병리조직학적으로 간질성 신염을 보이는 것은 99.4% (159예), 림프양 여포가 형성된 것은 55.6% (89예) 및 맥관염은 18.8% (30예)에서 관찰되었다 (Table 3).

Table 3. Histopathological renal lesions of 160 pigs slaughtered in Jeju.

| | MIN | LF | Vasculitis |
|-----|------|------|------------|
| No. | 159 | 89 | 30 |
| % | 99.4 | 55.6 | 18.8 |

MIN : multifocal interstitial nephritis.

LF : formation of lymphoid follicle.

160예에 대한 전체적인 간질성 신염의 평균 지수는 2.05점이었다. 간질성 신염 지수는 0점은 0.6% (1예), 1점은 26.3% (42예), 2점은 40.6% (65예) 및 3점은 32.5% (52예)로 나타났다 (Table 4).

Table 4. Histopathological scores of multifocal interstitial nephritis from 160 pigs slaughtered in Jeju.

| | Score | | | | Mean |
|-----|-------|------|------|------|------|
| | 0 | 1 | 2 | 3 | |
| No. | 1 | 42 | 65 | 52 | 2.05 |
| % | 0.6 | 26.3 | 40.6 | 32.5 | |

간질성 신염 지수가 1점인 예에서는 근위극세뇨관 및 원위극세뇨관의 상피세포의 세포질내에 공포성 변성, 피질 및 수질의 간질조직에 림프구와 형질세포가 침윤된 병소가 산재하여 있었으며 대체로 병소의 크기는 사구

체보다 작은 경향을 나타내었다 (Fig. 2). 신염 지수가 2점인 예는 림프구, 형질세포 및 큰포식세포가 광범위하게 침윤되어 사구체보다 큰 병소를 형성하고 있었으며 이들 침윤된 염증세포로 인해 주변의 세뇨관이 밀려서 변형되거나 위축되어 내강이 현저하게 축소된 모습으로 관찰되었다. 또한 일부 사구체의 Bowman's space, 세뇨관 및 집합관의 내강에는 호산성에 농염되는 균질 무구조한 단백양 물질 (protein cast)이 들어 있는 경우도 관찰되었다 (Fig. 3). 3점 예에서는 피수질에 걸쳐 다양한 정도의 섬유화가 진행되어 있었으며 증식된 섬유아세포의 인근에 위치한 사구체와 세뇨관은 심하게 위축되어 있었다. 부위에 따라서는 세뇨관 상피세포의 핵이 진하고 세포질이 호산성을 나타내는 재생 과정의 모습도 관찰할 수 있었다 (Fig. 4). 림프양 여포는 대부분 림프구 또는 큰포식세포로 구성되어 원형 또는 타원형의 결절을 형성하고 있으며 얇은 결합조직에 의해 둘러싸여 있었다 (Fig. 5). 여포의 내부에는 다수의 유사분열상이 산재하고 일부 과잉 증식된 림프구를 처리하기 위해 세망내피계 세포가 활성화되었고 림프구의 괴사도 관찰되었다 (Fig. 6). 림프양 여포는 1개에서 많은 경우 8개까지 모여 큰 결절을 형성하고 있으며, 주위의 신장 실질을 압박하고 있었다. 맥관염은 30예에서 관찰할 수 있었으며, 주된 병변은 피수질 경계부에 있는 궁상동맥 (arcuate arteries)의 중피와 외피 사이 또는 주위에 단핵세포, 큰포식세포 및 호중구 침윤되어 있었다 (Fig. 7). 일부 심한 경우에는 혈관벽이 괴사되어 출혈과 심한 염증이 동반되어 있으며, 그 주위로 섬유화도 진행되어 있었다 (Fig. 8).

2. PCR 검사

160두의 돼지 신장에서 추출한 DNA를 이용하여 PCV-2, PPV, 램토스피라에 대한 PCR을 실시한 결과 73.8% (118예)에서 PCV-2 특이 band (263bp)를, 66.9% (107예)에서 PPV 특이 band (127bp)를 확인할 수 있었다. 또한 52.5% (84예)에서는 PCV-2와 PPV의 band가 모두 확인되었다.

(Fig. 9). 렙토스피라에 대한 PCR의 결과 모두 음성으로 나타났으며, 양성 대조군인 *Leptospira interrogans* serovar *pomona*, *icterohemorrhagiae*, *hardjo* 및 *canicola* 배양액에서 추출한 DNA에 대해서는 모두 양성 band (274bp)가 확인되었다 (Table 5).

Table 5. The results of PCR for PCV-2, PPV and *Leptospira* spp. from kidneys of 160 pigs slaughtered in Jeju.

| | PCV-2 | PPV | PCV-2 & PPV | <i>Leptospira</i> spp. | Not detected |
|-----|-------|------|-------------|------------------------|--------------|
| No. | 118 | 107 | 84 | 0 | 19 |
| % | 73.8 | 66.9 | 52.5 | 0 | 11.9 |

3. 병리학적인 병변과 원인체와의 상관성

PCV-2가 단독 감염된 신장에서 간질성 신염의 평균지수는 1.97점이었고 PPV가 단독 감염된 예에서는 1.78점, PCV-2와 PPV가 혼합 감염된 예에서는 2.17점으로 나타났으나 두 가지 원인체가 모두 검출되지 않은 예에서도 평균지수가 2점으로 확인되었다. PCV-2와 PPV 혼합 감염된 신장과 PPV 단독 감염된 신장에 대하여 병리조직학적인 간질성 신염의 평균 지수를 비교한 결과 유의성 ($P < 0.05$) 있는 차이를 나타내었다 (Table 6).

Table 6. The correlation between infectious agents and histopathological scores of multifocal interstitial nephritis for kidneys of 160 pigs slaughtered in Jeju.

| Score | only PCV-2 | only PPV | PCV-2 & PPV | Not detected | Total |
|-------------|---------------|-------------|----------------|-----------------|-------|
| 0 | 0* | 0 | 1 | 0 | 1 |
| 1 | 12 | 11 | 14 | 5 | 42 |
| 2 | 11 | 6 | 39 | 9 | 65 |
| 3 | 11 | 6 | 30 | 5 | 52 |
| Mean | 1.97 | 1.78 | 2.17 | 2 | 2.05 |

* No. of positive pigs.

Significantly different between only PPV infected group and PCV-2/PPV co-infected group (P<0.05).

림프양 여포가 형성된 것과 맥관염의 발생률은 PCV-2가 단독 감염된 34예에서는 각각 52.9% (18예), 8.8% (3예), PPV가 단독 감염된 23예에서는 26.1% (6예), 8.7% (2예) 및 두 바이러스가 혼합 감염된 84예에서는 65.5% (55예), 26.2% (22예)를 보였으며 원인체가 검출되지 않은 19예에서는 52.6% (10예), 15.8% (3예)로 나타났다 (Table 7).

Table 7. The occurrence of infectious agents in cases of multifocal interstitial nephritis with lymphoid follicles and vasculitis for kidneys of 160 pigs slaughtered in Jeju.

| | Infectious agent (Number) | | | Not detected (19) |
|---------------|---------------------------|------------------|---------------------|-------------------------|
| | only PCV-2 (34) | only PPV (23) | PCV-2 & PPV (84) | |
| LF (%) | 18 (52.9) | 6 (26.1) | 55 (65.5) | 10 (52.6) |
| RV (%) | 3 (8.8) | 2 (8.7) | 22 (26.2) | 3 (15.8) |

LF : formation of lymphoid follicle.

RV : renal vasculitis.

IV. 고 찰

국내에서는 돼지의 신장 병변에 대하여 임 등 (1985)이 최초로 보고하였다. 포유자돈에서 모돈에 걸쳐 236두의 부검 예 중 23.7% (59예)에서 신장의 각종 염증성 병변이 관찰되었으며, 비화농성 간질성 신염, 화농성 간질성 신염, 사구체신염 및 신증 등이 확인되었고, 신장 병변은 돼지의 연령이 증가할수록 발생 빈도가 높아진다고 하였다. 또한 신장의 병변 중 비화농성 간질성 신염이 60.7% (34예)로 가장 많았고, 병변은 경과에 따라 급성형 또는 만성형으로 구분된다고 하였다. 한편, 백과 임 (1989)은 전라북도에서 외관상 건강한 도축돈 3,850두를 대상으로 검사하여 육안적으로 9.2% (355예)에서 여러 가지 신장 병변을 확인하였고 병리조직학적으로 급성 및 만성 간질성 신염이 37.5% (133예)로 가장 두드러지게 나타났다고 보고하였다. 본 연구에서 최근 제주도내에서 도축된 총 160두의 비육돼지에서 신장의 병변을 관찰하였던 바 간질성 신염은 육안적으로 85.6% (137예), 병리조직학적으로 99.4% (159예)에서 확인되어 과거에 비하여 현저하게 높은 발생 양상을 나타내고 있음을 알 수 있었다. 육안적으로 간질성 신염은 대부분 백점신에 해당하였으며, 직경 1~3 mm 정도의 유백색 반점이 산재하여 있었다.

Thomas 등 (1989)은 캐나다 온타리오주의 도축장에서 돼지의 신장을 대상으로 간질성 신염의 원인체를 조사하여 주로 랩토스피라에 의해 유발된다고 보고하였으며, 그 외의 나라에서도 이와 유사한 결과가 보고된 바 있다 (Chappel 등, 1992; Scanziani 등, 1989). 그러나 최근 캐나다 퀘벡주의 도축돈을 대상으로 육안적으로 백점신이 관찰된 50두의 신장과 정상인 50두의 신장에 대하여 간질성 신염의 원인체를 조사한 결과, 랩토스피라, PRRSV는 전 두수 음성으로 나타났으며 PCV-2와 PPV는 2개 군의 신장에서 공히 검출되었으나, 간질성 신염이 있는 군에서 월등히 많이 검출되었다고 보고하였다 (Drolet 등, 2002). 이는 야외 돼지에서 간질성 신염을 유발하는 질병의 주요 원인체가 변화하고 있고 지역 간의 차이가 있음을 시사하고 있다. 본 연구에서 도축돈 160두의 신장에 대하여 PCR 검사를

실시하였던 바 PCV-2는 73.8% (118예), PPV는 66.9% (107예)에서 검출되었으며, 렙토스피라에 대해서는 전 두수 음성으로 나타나 Drolet 등 (2002)의 보고와 대체로 유사한 결과를 얻었다. 돼지 농장의 사육 환경이 전업화, 다두 사육화 및 밀집화되어 가면서 과거와는 다르게 신장염의 발병 요인이 변화되어 가고 있고 지역 간의 차이가 있음을 간접적으로 추정할 수 있었다.

본 연구에서 간질성 신염의 특징적인 병리조직학적 병변은 신장 피질 및 수질의 간질 조직에 림프구, 형질세포 및 큰포식세포의 침윤 및 이에 따른 사구체와 세뇨관의 위축 및 변성이었다. 신장에 염증 병변의 정도와 범위에 따라 신염 지수를 0에서 3까지 세분하였고 각 병원체의 검출율과 상관관계를 검토하였다. 비교적 경미한 병변을 가지는 지수 1 (14예)에 비하여 중등도 이상의 병변을 가지는 지수 2 (39예)와 3 (30예)에서 PCV-2 및 PPV의 혼합 감염률이 2배 이상 증가하는 것으로 나타났다. 그러나 PPV 단독 감염의 경우는 지수가 1 (11예), 2 (6예) 및 3 (6예)으로 심해질수록 감소하는 경향을 나타내었으며, PCV-2의 경우는 지수별 병변이 11~12예로 나타나 비슷한 감염률을 보였다. 따라서 본 연구에서 확인된 간질성 신염은 일차적으로 PCV-2가 병변을 유발하고 PPV의 감염으로 병변이 확대되고 있음을 시사하고 있었다.

임 등 (1985)은 돼지의 비화농성 간질성 신염 예에서 림프구, 단핵세포 및 거대세포로 구성된 결절을 관찰하였고, 이 결절은 살모넬라 감염증에서 나타나는 소상결절 인 것으로 추정하였다. 그러나 Clark (1997)는 PCV-2 감염으로 발생한 PMWS 예에서 병리조직학적으로 림프구양 세포, 큰포식세포 및 거대세포가 출현하는 림프구조조직구성 육아종성 신염을 확인하였다. 또한 최근 Drolet 등 (2002)은 PCV-2와 PPV가 검출된 도축장 돼지의 신장에서 병리조직학적으로 간질성 신염을 확인하였고 병변 부위에서 림프구양 세포와 큰포식세포로 구성된 림프양 여포가 특이적으로 관찰됨을 보고한 바 있다. Alexandersen (2002)은 멧크의 알류산병 (Aleutian mink disease)에서 파보바이러스가 지속적인 항원 자극을 일으키기 때문에 실질 장기 내에 단핵세포의 광범위한 침윤이 수반되며, 돼지에서도 동일한 파보바이러스과에 속하는 PPV에 의해 유발된 간질성 신염에서 림프양 여포의 형성과정도 이와 유사할

것으로 추정하였다. 그러나 돼지에서 신장의 간질 조직에 림프양 여포가 형성되는 현상에 대한 확실한 기전은 밝혀져 있지 않은 실정이다. 본 연구에서는 조직학적 소견상 림프양 여포가 형성된 간질성 신염이 56% (89예)로 나타났고 PCV-2와 PPV가 혼합 감염된 예 (61.8%)가 단독 감염되는 예에 비하여 월등히 높은 것으로 확인되어 Drolet 등(2002)의 보고와 유사한 경향을 보였다.

본 연구의 간질성 신염 예 중에서 맥관염이 동반된 예는 약 30예에 달하였다. 맥관염은 주로 피수질 경계부에 있는 궁상동맥의 중피와 외피 사이 또는 주위에 단핵세포, 큰포식세포 및 호중구 침윤이 특징이었으며, 비교적 심한 경우에는 동맥에 출혈, 괴사 및 섬유화를 동반하는 괴사성 동맥염도 8예에서 관찰되었다. 이와 같은 맥관염의 원인을 조사한 결과 PCV-2 또는 PPV 단독 감염의 경우는 2~3예에 불과하였으나, 두 원인체가 혼합 감염된 경우는 22예에 달하는 것으로 나타났다. 돼지 피부염 및 신증 증후군 (PDNS)은 PRRSV 또는 PCV-2의 감염으로 발생하며 피부와 신장의 혈관 또는 사구체에서 제 3형 과민반응으로 인한 괴사성 동맥염이 특징으로 알려져 있다 (Ramos-Vera 등, 1997; Thomson 등, 2002). 그러나 PDNS는 대부분 이유기 또는 육성기 돼지에 영향을 주며 폐사율은 20% 미만인 것으로 보고되고 있다. 따라서 본 연구에서 관찰된 신장의 맥관염은 PDNS의 신장 병변과 매우 유사하며, 제주도내에서 PDNS가 발생할 가능성이 높음을 시사한다고 하겠다.

본 연구에서는 도축장에 출하된 돼지의 신장에 대한 육안 검사와 병리조직학적 검사를 수행하여 간질성 신염의 발생 양상과 병리학적 특성을 관찰하였다. 또한 PCR 기법을 이용하여 원인체를 검출하였으며, 간질성 신염과 원인체와의 상관관계를 구명하였다. 이상의 결과를 종합하여 보면, 제주지역 돼지에서 PCV-2와 PPV가 간질성 신염의 주요 병원체로 작용하고 있으며, 두 가지 원인체가 혼합 감염될수록 신염의 병변이 증폭되고 특징적인 림프양 여포 또는 맥관염이 다발하는 경향을 나타내고 있었다.

V. 결 론

제주도내 15개 농장 도축돈 160두의 신장에 대하여 육안적 및 병리조직학적 검사, PCV-2, PPV 및 렙토스피라에 대한 PCR을 실시하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 제주지역에서 도축된 돼지 160예의 신장에서 간질성 신염의 육안 병변은 85.6% (137예)에서 관찰되었다. 병리조직학적 병변으로 간질성 신염 99.4% (159예), 림프양 여포 55.6% (89예) 및 맥관염 18.8% (30예)가 관찰되었다. 간질성 신염의 평균 지수는 2.05점이었다.
2. 160예의 신장에 대한 PCR 결과, PCV-2는 73.8% (118예), PPV는 66.9% (107예), PCV-2와 PPV 혼합 감염은 52.5% (84예)가 양성을 보였으며 렙토스피라는 전 두수 음성이었다.
3. PCV-2와 PPV가 혼합 감염된 예의 간질성 신염의 평균 지수는 2.17점, PPV의 단독 감염은 1.78점으로 나타나 두 군간에 유의성 ($P < 0.05$)있는 차이를 보였다.
4. PCV-2와 PPV가 혼합 감염된 84예 중 림프양 여포 및 맥관염의 발생률은 각각 65.5% (55예), 26.2% (22예)로 나타나 단독 감염 또는 원인체가 검출되지 않은 예에 비하여 높은 발생률을 보였다.

이상의 결과를 종합해 볼 때, 제주지역 도축돈에서 발생한 간질성 신염은 PCV-2와 PPV가 주된 원인체이고 두 바이러스의 혼합 감염시 병리조직학적 병변이 더욱 심하게 나타났으며 림프양 여포 형성 및 맥관염이 동반되는 특징적인 경향을 나타내었다.

Legends for Figures

Figure 1. Gross lesion of white dotted kidney. White dots of 1 to 3mm in diameter are randomly distributed throughout the cortex.

Figure 2. Score 1 of interstitial nephritis. Mild interstitial nephritis with mononuclear cell infiltration and tubular degeneration. H&E stain. ×500.

Figure 3. Score 2 of interstitial nephritis. Large foci of interstitial nephritis bigger than a glomerulus, with lymphocytes and macrophages. H&E stain. ×500.

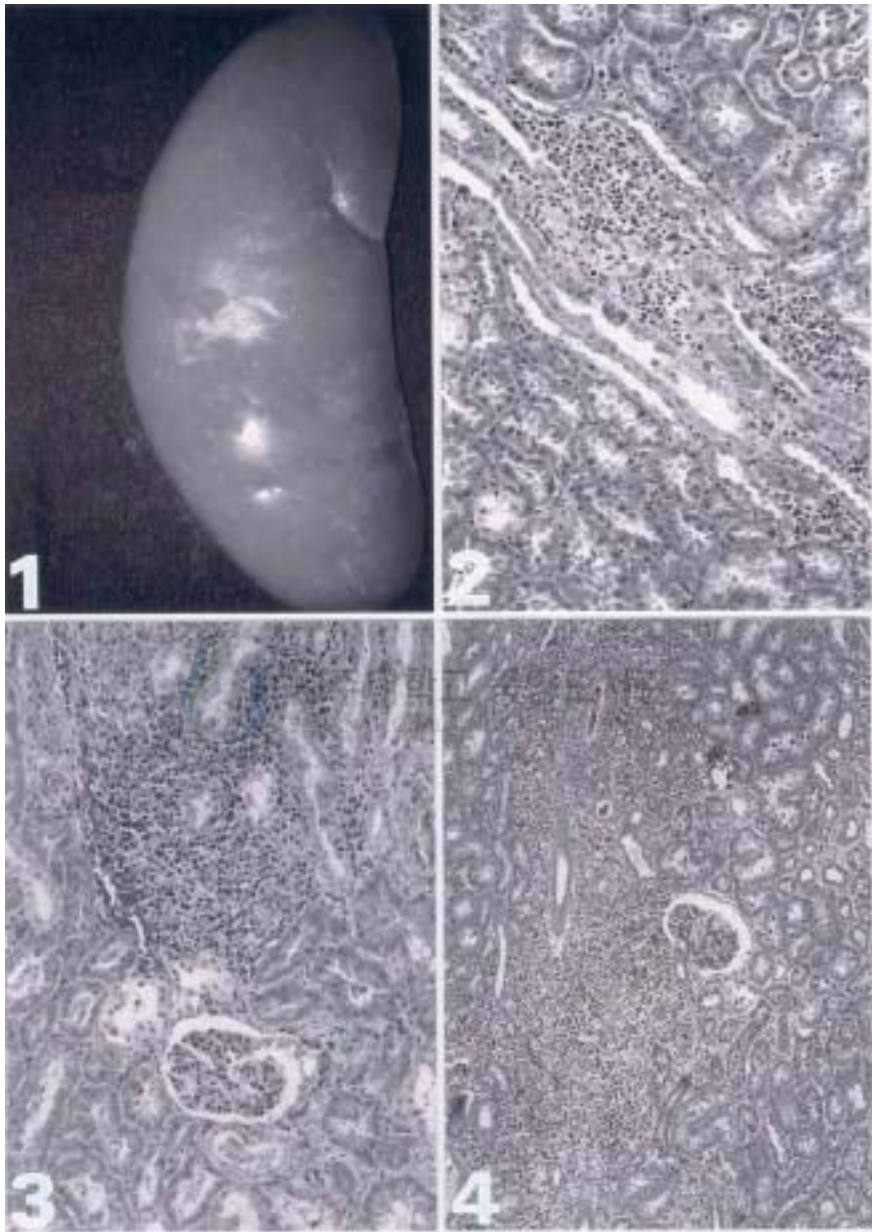
Figure 4. Score 3 of interstitial nephritis. Chronic interstitial nephritis with lymphohistiocytic infiltration and moderate fibrosis. H&E stain. ×250.

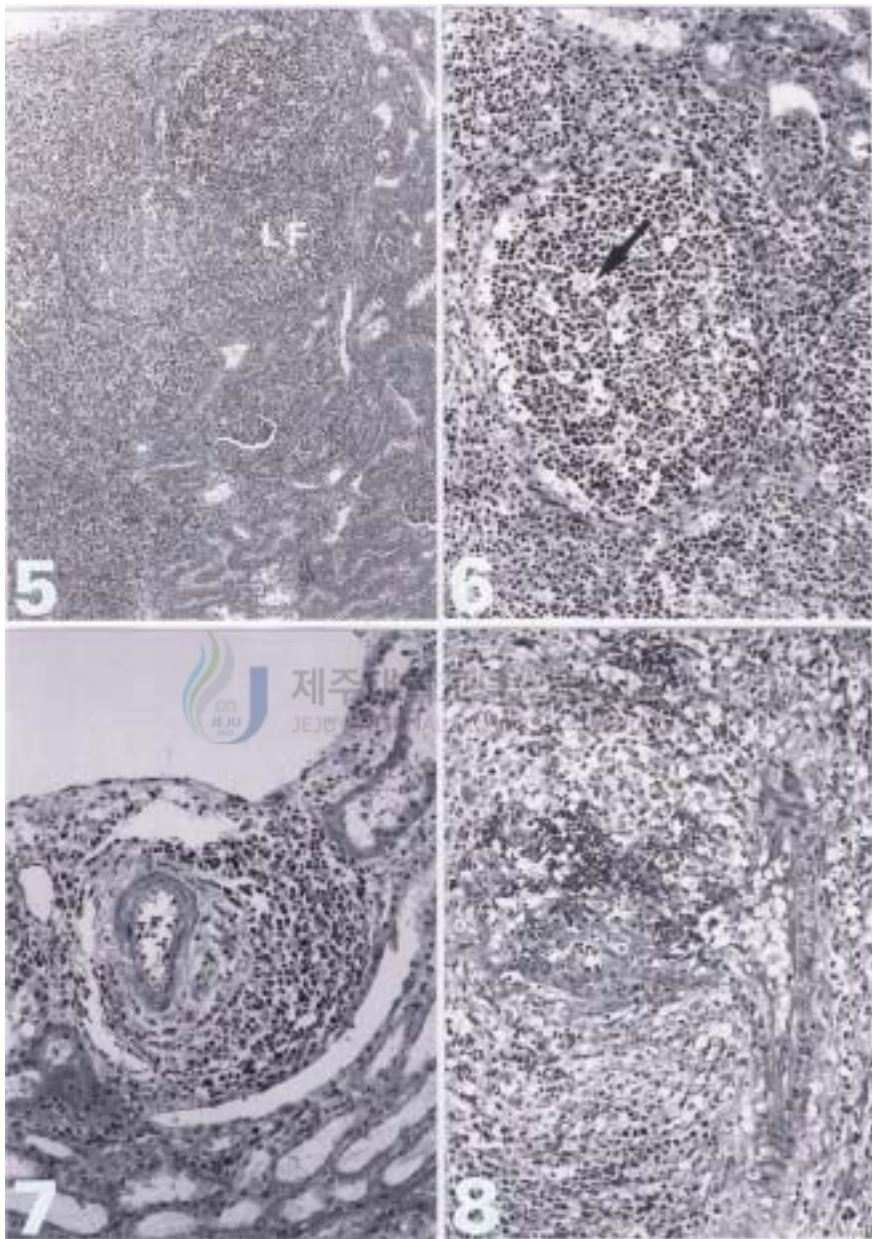
Figure 5. Interstitial nephritis with lymphoid follicle (LF). There are closely packed lymphoid aggregates with a distinct follicular pattern. H&E stain. ×250.

Figure 6. Higher magnification of Figure 5. Lymphoid follicle are consisted with lymphocytes, macrophages and multifocal lymphoid necrosis (arrow). H&E stain. ×500.

Figure 7. Chronic arteritis showing mural fibrosis and infiltration of mononuclear cells in the adjacent area of arcuate artery. H&E stain. ×500.

Figure 8. Necrotizing arteritis showing mural hemorrhage, necrosis and infiltration of polymorphonuclear cells and mononuclear cells. H&E stain. ×500.





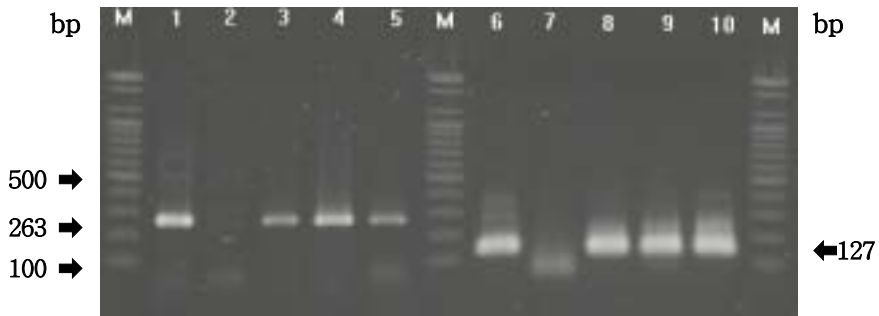


Figure 9. PCR products of PCV-2 and PPV from kidney homogenates. Lane M: 100bp DNA Ladder (Bioneer, Korea); lane 1: 263bp PCV-2 positive control; lane 2: PCV-2 negative control; lane 3~5: 263bp field sample; lane 6: 127bp PPV positive control; lane 7: PPV negative control; lane 8~10: 127bp field sample. PCR products were electrophoresed on a 1.5% agarose gel and stained with ethidium bromide.

VI. 참고문헌

Alexandersen S. 2002. Parvovirus in pigs with multifocal interstitial nephritis. *Vet Rec.*, 150 (6): 192.

Allan G.M. and J.A. Ellis. 2000. Porcine circoviruses: a review. *J Vet Diagn Invest.*, 12 (1): 3~14.

Allan G.M., B. Meehan, D. Todd, S. Kennedy, F. McNeilly, J. Ellis, E.G. Clark, J. Harding, E. Espuna, A. Botner and C. Charreyre. 1998. Novel porcine circoviruses from pigs with wasting disease syndromes. *Vet Rec.*, 142 (17): 467~468.

Allan G.M., S. Kennedy, F. McNeilly, J.C. Foster, J.A. Ellis, S.J. Krakowka, B.M. Meehan and B.M. Adair. 1999. Experimental reproductive of severe wasting disease by co-infection of pigs with porcine circovirus and porcine parvovirus. *J Comp Path.*, 121: 1~11.

Bolin C.A. and J.A. Cassells. 1990. Isolation of *Leptospira interrogans* serovar *bratislava* from stillborn and weak pigs in Iowa. *JAVMA.*, 196: 1601~1604.

Cartwright S.F. and R.A. Huck. 1967. Viruses isolated in association with herd infertility, abortions and stillbirths in pigs. *Vet Rec.*, 81: 196~197.

Chappel R.J., R.W. Prime, B.D. Millar, L.J. Mead, R.T. Jones and B. Adler 1992. Comparison of diagnostic procedures for porcine leptospirosis. *Vet Microbiol.*, 30: 151~163.

Choi C. and C. Chae. 1999. In-situ hybridization for the detection of porcine circovirus in pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome. *J Comp pathol.*, 121: 265~270.

Clark E.G. 1997. Post-weaning multisystemic wasting syndrome. *Proc Am Assoc Swine Pract.*, 28: 499~501.

Cooper V.L., R.A. Heese and A.R. Doster. 1997. Renal lesions associated with experimental porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) infection. *J Vet Diagn Invest.*, 9: 198~201.

Drolet R. and S.A. Dee. 1999. Diseases of urinary system, pp.959~976. In "Disease of swine" (ed. Straw B.E., S. D'Allaire, W.L. Mengeling and D.J. Taylor). 8th ed., Iowa state university press, Ames, Iowa.

Drolet R., S. D'allaire, R. Larochele, R. Magar, M. Ribotta and R. Higgins. 2002. Infectious agents identified in pigs with multifocal interstitial nephritis at slaughter. *Vet Rec.*, 150: 139~143.

Ellis J.A, A. Bratanich, E.G. Clark, G. Allan, B. Meehan, D.M. Haines, J. Harding, K.H. West, S. Krakowka, C. Konoby, L. Hassard, K. Martin and F. McNeilly. 2000. Coinfection by porcine circoviruses and porcine parvovirus in pigs with naturally acquired postweaning multisystemic wasting syndrome. *J Vet Diagn Invest.*, 12: 21~27.

Ellis W.A. 1999. Leptospirosis, pp.483~493. In "Disease of swine" (ed. Straw B.E., S. D'Allaire, W.L. Mengeling and D.J. Taylor). 8th ed., Iowa state university press, Ames, Iowa.

Ellis W.A., P.J. McParland, D.G. Bryson and M.S. McNulty. 1985. Leptospire in pig urogenital tracts and fetuses. *Vet Rec.*, 117: 66~67.

Hamel A.L., L.L. Lin and G.P. Nayar. 1998. Nucleotide sequence of porcine circovirus associated with postweaning multisystemic wasting syndrome in pigs. *J Virol.*, 72 (6): 5262~5267.

Jones T.C. and R.D. Hunt and N.W. King. 1997. The urinary system, pp.1111~1147. In "Veterinary Pathology". 6th ed., Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia.

Kee S.H., I.S. Kim, M.S. Choi and W.H. Chang. 1994. Detection of leptospiral DNA by PCR. *J Clin Microbiol.*, 32 (4): 1035~1039.

Kelly D.F. 1967. Pathology of extranasal lesions in experimental inclusion-body rhinitis of pigs. *Res Vet Sci.*, 8: 472~478.

Kennedy S., D. Moffett, F. McNeilly, B. Meehan, J. Ellis, S. Krakowka and G.M. Allan. 2000. Reproduction of lesions of postweaning multisystemic wasting syndrome by infection of conventional pigs with porcine circovirus type 2 alone or in combination with porcine parvovirus. *J Comp Path.*, 122: 9~24.

Larochelle R., M. Antaya, M. Morin and R. Magar. 1999. Typing of porcine circovirus in clinical specimens by multiplex PCR. *J Virol Methods.*, 80: 69~75.

Levett P.N. 2001. Leptospirosis. *Clinical Microbiology Reviews.*, 14: 296~326.

Lukert P.D., G.F. de Boer, J.L. Dale, P. Keese, M.S. McNulty, J.W. Randles and I. Tischer. 1995. The Circoviridae. In *Virus Taxonomy: Sixth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Vienna and New York: Springer-Verlag: 166~168.

Lyoo Y.S., C. Park and J. Kim. 1999. Identification of porcine circoviruses with genetic variation from lymph nodes collected in pigs with PMWS. *Korean J Vet Res.*, 39 (2): 353~358.

Meehan B.M., J.L. Creelan, M.S. McNulty and D. Todd. 1997. Sequence of porcine circovirus DNA: affinities with plant circoviruses. *J Gen Virol.*, 78 (1): 221~227.

Mengeling W.L. 1999. Porcine parvovirus, pp.187~200. In "Disease of swine" (ed. Straw B.E., S. D'Allaire, W.L. Mengeling and D.J. Taylor). 8th ed., Iowa state university press, Ames, Iowa.

Mengeling W.L., K.M. Lager, J.K. Zimmerman, N. Samarikermi and G.W. Beran. 1991. A current assessment of the relative role of porcine parvovirus as a cause of fetal porcine death. *J Vet Diagn Invest.*, 3: 33~35.

Nayar G.P., A. Hamel and L. Lin. 1997. Detection and characterization of porcine circovirus associated with postweaning multisystemic wasting syndrome in pigs. *Can Vet J.*, 38 (6): 385~386.

Ramos-Vera J.A, O. Duran, J.A. Render and D. Craft. 1997. Porcine dermatitis and nephropathy syndrome in USA. *Vet Rec.*, 141: 479~480.

Rosow K.D., J.E. Collins, S.M. Goyal and E.A. Nelson. J. Christopher-Hennings and D.A. Benfield. 1995. Pathogenesis of porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection in gnotobiotic pigs. *Vet Pathol.*, 32: 361~373.

Scanziani E., G. Sironi and G. Mandelli. 1989. Immunoperoxidase studies on Leptospiral nephritis of swine. *Vet Pathol.*, 26: 442~444.

Shaddock J.A., A. Koestner and L.J. Kasza. 1967. The lesions of porcine adenoviral infection in germfree and pathogen-free pigs. *Pathol Vet.*, 4: 537~552.

Soares R.M., E.L. Durigon and J.G. Bersano. 1999. Detection of porcine parvovirus DNA by the polymerase chain reaction assay using primers to the highly conserved nonstructural protein gene, NS-1. *J Virol Methods.*, 78: 191~198.

Thomas F.B., A.M. Scott, F.P. John and H.M. Alan. 1989. The prevalence of leptospirosis and its association with multifocal interstitial nephritis in swine at slaughter. *Can J Vet Res.*, 53: 290~294.

Thomson J.R., R.J. Higgins, W.J. Smith and S.H. Done. 2002. Porcine dermatitis and nephropathy syndrome. Clinical and pathological features of cases in the united kingdom (1993-1998). *J Vet Med. A.*, 49: 430~437

Tischer I., H. Geldblom, W. Vettermann and M.A. Kock. 1982. A very small porcine virus which circular single-stranded DNA. *Nature.*, 295: 64~66.

강종철, 정경주, 안미정, 이두식, 강완철, 김진희, 신태균. 2001. 제주지역 양돈장 자돈에서 발생한 이유후 전신성 소모성 증후군의 증례. 대한수의학회지, 41 (3): 367~371.

김용희, 안수환, 김두희. 1973. 돼지에 있어서 porcine parvovirus에 대한 혈구 응집억제항체 분포조사. 농시보고, 17: 51~56.

류영수, 박최규, 김로미, 이창희, 최상호, 김성일, 배종희. 1997. 제주지역에 대한 돼지 주요 전염병의 혈청학적 역학조사. 대한수의학회지, 37 (4): 765~772.

백영기, 임병무. 1989. 자연 발생한 돼지의 신장 질병에 관한 병리학적 연구. 대한수의학회지, 29 (4): 559~565.

임창형, 이준섭, 정운익. 1985. 돼지 신염에 관한 병리학적 조사연구. 농사시험연구논문집, 27 (1): 46~51.

주한수. 1978. 돼지 유사산의 실태 및 원인별 조사. 가축위생연구소 시험연구보고서, 171-185.

Multifocal Interstitial Nephritis of Pigs Slaughtered in Jeju

Hyung-Seok Yang

(Supervised by professor Jong-Hee Bae)

Department of Veterinary Medicine
Graduate School, Cheju National University
Jeju, Korea



Abstract

In order to investigate the prevalence and pattern of multifocal interstitial nephritis, one kidney was taken from each of 160 pigs at slaughter in Jeju for 3 months from November 2002. A total of 160 kidneys were examined for gross, histopathological lesions and polymerase chain reaction (PCR) for porcine circovirus type 2 (PCV-2), porcine parvovirus (PPV) and *Leptospira* spp. Grossly, 137 kidneys (85.6%) had lesions characterized by the presence of the scattered white dots and spots. Histopathologically, multifocal interstitial nephritis that was classified into 4 grades such as, no lesions (Score 0), mild lesions (Score 1), moderate lesions (Score 2) and severe chronic lesions (Score 3)

with fibrosis, were observed in 159 cases (99.4%). In 160 kidneys, the histopathologic mean score of multifocal interstitial nephritis were 2.05. The occurrence of lymphoid follicle and vasculitis were 55.6% (89 cases) and 18.8% (30 cases), respectively.

According to PCR methods, PCV-2 were detected in 73.8% (118 cases), PPV were detected in 66.9% (107 cases), however *Leptospira* spp. were negative in all kidneys. Both PCV-2 and PPV were detected in 52.5% (84 cases). The histopathologic mean score for multifocal interstitial nephritis were significantly different ($P < 0.05$) between the cases of PCV-2 single infection and the cases of mixed infection with PCV-2 and PPV. The occurrence of multifocal interstitial nephritis with lymphoid follicle and vasculitis in 84 cases co-infected with PCV-2 and PPV were 65.5% (55 cases) and 26.2% (22 cases), respectively.

These results revealed that PCV-2 and PPV were major infectious agents for spontaneous interstitial nephritis in slaughtered pigs, Jeju. And the histopathologic lesions of multifocal interstitial nephritis were more severe in the case co-infected with PCV-2 and PPV.

Key words : porcine interstitial nephritis, porcine circovirus-2, porcine parvovirus, *Leptospira* spp., polymerase chain reaction