제주지역의 돼지 쉼코바이러스 2형 관련 장염에 대한 병리학적 특징

문성환^{1,†} · 양형석^{1,†} · 김재훈^{2,*}

¹제주특별자치도 동물위생시험소, ²제주대학교 수의과대학 및 수의과학연구소

Pathological characteristics on porcine enteritis associated with porcine circovirus type 2 in Jeju

Seong-Hwan Mun^{1,†}, Hyoun-Seok Yang^{1,†}, Jae-Hoon Kim^{2,*}

¹Jeju Self-Governing Provincial Veterinary Research Institute, Jeju 63344, Korea

²College of Veterinary Medicine and Veterinary Medical Research Institute, Jeju National University, Jeju 63243, Korea

Abstract: From 2006 to 2009, 50 pigs suspected of enteritis associated with porcine circovirus type 2 (PCV-2) (EAPC) were collected. Gross and histopathologic examinations and immunohistochemistry (IHC) were performed on the small intestine of 50 pigs. The pigs with EAPC were concentrated in grower pigs (68%), and diarrhea (84%) was the most common clinical sign. Grossly, the walls of the small intestine were thickened, and mesenteric lymph nodes were enlarged. The histopathologic features in the small intestine with EAPC were characterized by lymphoid depletion, histiocytic infiltration, and formation of basophilic grape-like inclusion bodies and multinucleated giant cells in gut-associated lymphatic tissue (GALT) and lamina propria. According to IHC, PCV-2 antigens were more intense and distributed widely in GALT (98%) than lamina propria (82%) of the small intestine. Co-infection with other enteric pathogens was detected in 26 pigs (52%). Twenty-four pigs (48%) were confirmed to be a PCV-2 single infection. Collectively, infected PCV-2 in the small intestine may induce an immunosuppressive status of individuals and then allow secondary co-infections in the digestive system. This study shows that PCV-2 can induce diarrhea and enteric lesions in pigs without a co-infection of other enteric pathogens.

Keywords: circovirus, enteritis, gut-associated lymphatic tissue, lymphoid depletion, swine

*Corresponding author

[†]The first two authors contributed equally to this work.

Jae-Hoon Kim
College of Veterinary Medicine and
Veterinary Medical Research Institute, Jeju
National University, 102 Jejudaehak-ro,
Jeju 63243, Korea

Tel: +82-64-754-3387
Fax: +82-64-702-9920
E-mail: kimjhoon@jejunu.ac.kr

ORCID
Seong-Hwan Mun
<https://orcid.org/0000-0003-0638-0983>
Hyoun-Seok Yang
<https://orcid.org/0000-0003-4500-8826>
Jae-Hoon Kim
<https://orcid.org/0000-0002-4410-9126>

Conflict of Interest
There is no conflict of interest.

Received: May 21, 2020
Revised: July 15, 2020
Accepted: July 16, 2020

서론

돼지 쉼코바이러스 2형(porcine circovirus type 2, PCV-2)은 *Circoviridae* 과, *Circovirus*속에 속하는 환상의 단일가닥 DNA 바이러스로서 혈구 응집능이 없으며, 산성조건(pH 3)이나 클로로포름에 비활성화 되고 고온(70°C, 15분)에서 안정한 바이러스이다[1]. PCV-2는 전 세계적으로 양돈 산업에 많은 피해를 주고 있는 이유후 전신 소모성 증후군(postweaning multisystemic wasting syndrome, PMWS)의 주요 원인체이며, 이외에도 돼지 피부염 및 신증 증후군(porcine dermatitis and nephropathy syndrome, PDNS), 돼지 호흡기 복합 감염증(porcine respiratory disease complex), 번식장애, 장염 등 다양한 병변들을 유발하는데 최근에는 이러한 질병들을 포괄적으로 돼지 쉼코바이러스 관련 질병(porcine circovirus associated diseases, PCVAD)이라고 명명하고 있다[2,3].

PCV-2는 주로 구강 또는 비강을 통한 직접 접촉이나 분변 및 오줌을 통해서 감염되는 것으로 알려져 있다[2,3]. 또한 정액과 유, 사산 태아의 장기에 서도 PCV-2 항원이 검출되어 수직 전파가 가능한 것으로 확인되었다[4-6]. PCV-2가 돼지에 감염된 후 바이러스의 1차 증식은 편도 또는 림프절과 같은 림프조직의 큰포식세포(macrophage) 및 수지상세포(dendritic cell)에서 이루어지는 것으로 추정되며[7], 증식한 바이러스는 림프와 혈액을 통해 전신 림프관으로 확산되어 림프구 고갈과 말초 혈액의 림프구 감소증을 유발한다[3]. 그러므로 돼지에 감염된 PCV-2는 전신 림프관기의 림프구 고갈에 따른 면역억제를 유발하여 다른 바이러스나 이차적인 세균의 감염을 용이하게 하여

PMWS, PCVAD 등의 여러 질병을 발생시키는 것으로 해석된다.

국내에서는 PCV-2와 살모넬라증의 혼합감염으로 진단된 24마리 중 83.3%의 장 조직에서 PCV-2 항원이 검출되었다는 보고가 있었다[8]. Kim 등[9]은 설사증상을 나타낸 40-60 일령 자돈 6마리의 소장과 대장에서 육아종성 장염과 함께 병변 내에서 PCV-2 항원을 검출한 바 있다. 또한 돼지에서 전신 림프조직의 병변이 없는 상태이고 장염 병변과 함께 장관 림프조직(gut-associated lymphatic tissue, GALT)에서 림프구 고갈을 보이는 경우에 한하여 PCV-2 관련 장염(enteritis associated with porcine circovirus type 2, EAPC)이라 명명할 것을 제안하였다. 그러나 아직까지 PCVAD에 포함되는 다른 질병에 비하여 EAPC에 대한 연구가 상대적으로 부족한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 제주도 내 돼지에서 EAPC의 발생상황을 조사하고, 면역조직화학염색(immunohistochemistry, IHC)을 통하여 장관 조직 내 PCV-2 항원 분포를 분석하여 병리조직학적인 장 병변과 PCV-2 항원 분포 양상의 상관관계를 확인하고자 하였다.

재료 및 방법

공시재료

2006년부터 2009년까지 제주대학교 수의과대학 병리학교실에 의뢰된 돼지 중 PCVAD로 진단된 221마리에 대하여 소장 및 대장에 대한 병리조직학적 검사를 실시하였다. 그 결과 PCV-2 관련 장염으로 의심되는 50마리를 실험에 공여하였다. PCVAD의 진단은 다음과 같은 기준을 만족하는 개체로 한정하였다. 1) 점진적인 체중감소, 호흡기 증상, 황달, 때로 설사 등의 임상증상이 있을 것, 2) 림프절 종대, 폐장의 퇴축 부전과 같은 특징적인 육안적 병변이 있을 것, 3) 폐장 또는 림프절 병변에서 봉입체를 포함한 PCV-2 항원 또는 유전자가 검출될 것 등의 3가지 조건을 모두 충족시키는 경우 PCVAD로 진단하였다.

병리학적 검사

검사 의뢰된 돼지는 외관 검사 후 일반적인 부검술식에 준하여 흉강과 복강을 노출시켜 각 장기별 병변을 관찰하였다. 특히 EAPC 병변을 관찰하기 위해 소장을 비롯한 소화기에 중점을 두어 육안적 소견을 관찰하였고, 채취한 시료는 10% 중성완충포르말린에 고정하였다. 고정이 완료된 조직은 병변 부위를 세절한 뒤 일반적인 조직처리 방법에 따라 파라핀 포매하여 3-4 μm 로 절편을 제작한 다음 hematoxylin and eosin (H&E) 염색을 실시하였다. 염색이 끝난 절편은 봉입 후, 광학현미경으로 검정하였다.

소장에서 EAPC 병변의 심한 정도를 평가하기 위하여 Galindo-Cardiel 등[10]의 연구를 참고하여 3등급(grade, G)으로 구분하였다. 소장 부위 중 림프기관이 존재하고 있는 회장에서 PCV-2 특이 봉입체와 다핵거대세포가 국소적으로 존재하는 경우 G1, 다발병소성으로 존재하는 경우 G2, 미만

성으로 존재하는 경우 G3로 구분하였고, GALT 림프세포 내 림프구 고갈 및 조직구 침윤은 광학현미경 200배 시야에서 25% 이하로 관찰되는 경우 G1, 25-50%는 G2, 50% 이상 G3로 구분하였다.

IHC 검사

각 개체의 회장에서 PCV-2 항원의 분포를 확인하고자 EnVision™ peroxidase-conjugated polymer reagent (Dako, Denmark)를 이용하여 IHC를 수행하였다. 소장의 파라핀 조직을 3-4 μm 두께로 박절하여 silane 코팅 슬라이드에 부착하고 탈파라핀 및 함수과정을 거쳤다. 조직 슬라이드를 3% H_2O_2 가 첨가된 phosphate buffered saline (PBS, pH 7.2)에 10분간 반응한 후 항원성의 부활을 위해 0.05% protease X IV (Sigma, USA)로 37°C에서 20분간 반응하였다. 1차 항체로는 rabbit anti-PCV-2 antibody (Iowa State University, USA)를 1:1,000으로 희석한 다음 절편에 적하하여 37°C에서 1시간 반응하였다. 2차 항체로 EnVision™/HRP, Rabbit/Mouse (EVN) reagent (Dako, Denmark)를 슬라이드에 적하하여 37°C에서 40분간 반응하였다. 각 단계별로 반응 후에는 PBS로 10분씩 2회에 걸쳐 수세하였다. 모든 반응이 끝난 절편은 3, 3'-diamino-benzidine tetrahydrochloride (Dako)로 발색시킨 후, 3차 증류수에서 반응을 종결하였다. 대조염색은 Mayer's hematoxylin (Sigma)으로 염색하였으며, 탈수와 투과과정을 거쳐 봉입하였다.

면역 염색이 끝난 회장 조직 내 PCV-2 항원의 발현 정도는 Galindo-Cardiel 등[10]의 연구를 참고하여 3등급(expression grade, EG)으로 나누어 평가하였다. 또한 회장의 점막고유판 및 점막하조직에 분포하는 GALT 부위로 구분하여 항원 발현을 관찰하였다. 광학현미경 200배 시야에서 바이러스 항원이 25% 이하로 발현되는 경우 EG1, 25-50% 미만은 EG2, 50% 이상은 EG3로 구분하여 평가하였다.

병원체 검사

돼지 시료에 대한 다른 소화기 병원체 검사를 병행하여 수행하였다. 살모넬라균을 순수 분리하기 위하여 Rambach agar plate (Merck, Germany)를 사용하였으며, 돼지 결장나선균(*Brachyspira pilosicoli*) 및 돼지 적리균(*Brachyspira hyodysenteriae*)에 대해서는 중합효소연쇄반응을 이용하여 병원체를 검출 하였다[11]. 또한 소장내 대한 병리조직학적 검사를 통하여 점막 상피세포 내 콕시듐(Coccidium) 및 크립토스포리듐(*Cryptosporidium* spp.) 등의 원충 감염 여부를 확인하였다.

통계처리

돼지 회장의 GALT 내 병리조직 소견 중 림프구 고갈, 조직구 침윤 및 세포질 내 봉입체 출현 병변의 각 등급(G)에 해당하는 개체들 군별로 조직에서 PCV-2 항원 발현 정도에 유의성 있는 차이가 있는지를 확인하기 위하여 SPSS software (version 25.0, SPSS Inc., USA)을 사용하여 ANOVA test로

통계분석을 실시하였으며, $p < 0.05$ 일 때 유의한 차이가 있는 것으로 간주하였다. 각각의 병리조직학적 병변 등급 군에 해당하는 돼지를 대상으로 개체별 항원 발현 등급인 EG1, EG2, EG3를 각각 1, 2, 3으로 수치화하여 합한 다음 전체 개체수로 나누어 평균 항원 발현 등급(EG)과 표준편차를 산출하였다.

결 과

EAPC 발생 상황

PCVAD로 진단된 총 221마리에 대한 병리조직학적 정밀 검사 결과 50마리(22.6%)의 돼지가 EAPC로 최종 확진되었다(Table 1). 연도별로 PCVAD는 2006년 67마리, 2007년 65마리, 2008년 및 2009년은 각각 39마리, 50마리에서 진단되었다. 그리고 EAPC는 2006년 17마리(25.4%), 2007년 21마리(32.3%), 2008 및 2009년에 각각 8마리(20.5%), 4마리(8.0%)에서 확인되었다.

제주도에서 EAPC의 발생상황을 돼지의 연령을 기준으로 30일령 미만, 30-49일령, 50-69일령, 70일령 이상으로 구분하여 살펴보았다. 그 결과 EAPC는 포유자돈인 30일령 미만에서는 발생이 없었으며, 30-49일령은 16마리(32.0%), 50-69일령에서는 18마리(36.0%), 70일령 이상은 16마리(32.0%)에서 발생하였다.

월별로 세분하여 EAPC의 발생 상황을 분석한 결과 1월 및 2월 각각 2마리(4.0%), 3월 8마리(16.0%), 4월 10마리

(20.0%), 5월 1마리(2.0%), 6월 4마리(8.0%), 7월 2마리(4.0%), 8월 11마리(22.0%), 9월 3마리(6.0%), 10월 4마리(8.0%), 12월에 3마리(6.0%)에서 발생하였다.

임상 증상 및 육안검사 결과

공시동물 50마리에서 관찰된 임상증상은 소화기 증상인 설사가 42마리(84.0%)에서 확인되어 가장 높은 발생을 보이고 있었으며, 호흡곤란과 쇠약이 각각 34마리(68.0%) 및 27마리(54.0%)에서 확인되었다. 부검소견으로 소장은 장 점막이 비후되어 점막면이 주름진 모습을 나타내고, 장간막 림프절이 종창되는 병변이 주로 관찰되었다.

병리조직학적 검사 결과

EAPC로 진단된 돼지의 소장의 점막 고유판에서는 림프구 및 조직구 침윤과 여러 개의 핵과 풍부한 호산성의 세포질을 가지는 다핵거대세포가 관찰되었다(Fig. 1A). GALT에서는 림프구의 고갈로 림프여포가 위축되고 조직구로 대체되는 병변이 자주 관찰되었다(Fig. 1C). 또한 호염성으로 농염된 포도송이 모양의 PCV-2 특이 봉입체와 다핵거대세포 출현도 관찰되었다(Fig. 1B). 기타 콕시듐 또는 크립토스포리듐 감염, 점막 궤양, 음와염 등의 병변도 확인되었다.

병리조직학적으로 회장 병변의 심한 정도를 등급별로 평가하였다(Table 2). 림프구 고갈 병변은 검사한 50마리 모두에서 관찰되었고 등급별로는 가장 미약한 G1 등급 12마리, 중등도 G2 및 심한 정도 G3는 공히 19마리로 관찰(Fig. 2)

Table 1. Annual prevalence of PCVAD in Jeju and a case collection of EAPC

Year	2006	2007	2008	2009	Total
No. of EAPC/PCVAD	17/67	21/65	8/39	4/50	50/221
%	25.4	32.3	20.5	8.0	22.6

PCVAD, porcine circovirus associated diseases; EAPC, enteritis associated with porcine circovirus type 2.

Table 2. Histopathologic grade for the severity of ileal lesions in pigs with enteritis associated with porcine circovirus type 2

Microscopic lesions	Grade			
	G1	G2	G3	Total (%)
Lymphoid depletion	12	19	19	50 (100.0)
Histiocytic infiltration	16	22	11	49 (98.0)
Intracytoplasmic inclusion body	11	11	18	40 (90.0)
Giant cell	6	4	1	11 (22.0)

G, grade.

Table 3. Expression grade of PCV-2 antigens in the ileum of pigs with enteritis associated with porcine circovirus type 2

Location of ileum	Grade			
	EG1	EG2	EG3	Total (%)
Gut-associated lymphatic tissue	9	6	34	49 (98.0%)
Lamina propria	5	9	27	41 (82.0%)

EG, expression grade.

Fig. 1. Histopathologic findings of the small intestine. (A) Note multinucleated giant cells (arrows) in lamina propria (H & E; scale bar = 50 μ m). (B) Note multinucleated giant cells (arrows) in GALT (H & E; scale bar = 50 μ m). (C) Note infiltration of histiocytes in GALT (H & E; scale bar = 100 μ m). Higher magnification of histiocytes (arrows, insert) (H & E; scale bar = 20 μ m). H & E, hematoxylin and eosin; GALT, gut-associated lymphatic tissue.

Fig. 2. Note the severity of lymphoid depletion (arrows) in GALT of the ileum in pigs. (A) Grade 1 (H & E; scale bar = 50 μ m). (B) Grade 2 (H & E; scale bar = 50 μ m). (C) Grade 3 (H & E; scale bar = 50 μ m). (D) Grade 3 (H & E; scale bar = 20 μ m). GALT, gut-associated lymphatic tissue; H&E, hematoxylin and eosin.

되었으며, 조직구 침윤은 G1 16마리, G2 22마리, G3 11마리 등 총 49마리에서 나타났다. 또한 세포질 내 봉입체는 G1 및 G2에서 공히 11마리, G3는 18마리에서 관찰(Fig. 3)되어 총 40마리에서 발현되었으며, 다핵거대세포 출현은 G1 6마리, G2 4마리, G3 1마리로 총 11마리에서 확인되었다.

IHC 검사 결과

1) 조직 내 PCV-2 항원 분포 및 발현 정도 조사

IHC를 이용하여 회장 내 PCV-2 항원의 분포 및 발현 정도를 조사한 결과 GALT에서는 총 49마리가 항원 양성인 반면 고유판에서는 41마리에서만 항원이 발현되었다(Table 3). 고유판 및 GALT에서는 주로 침윤된 조직구(큰포식세포) 및 다핵거대세포에서 항원이 발현되었으며, GALT의 림프구에

Fig. 3. Note the number of basophilic PCV-2 specific inclusion bodies (arrows) in the GALT of pigs. (A) Grade 1 (H & E; scale bar = 20 μ m). (B) Grade 2 (H & E; scale bar = 20 μ m). (C) Grade 3 (H & E; scale bar = 20 μ m). (D) High magnification of grade 3 (H & E; scale bar = 20 μ m). PCV, porcine circovirus; GALT, gut-associated lymphatic tissue; H & E, hematoxylin and eosin.

Fig. 4. Expression of PCV-2 antigens (arrows) in the GALT of the ileum in pigs. (A) Grade 1 (IHC; scale bar = 100 μ m). (B) Grade 2 (IHC; scale bar = 100 μ m). (C) Grade 3 (IHC; scale bar = 100 μ m). (D) Grade 3 (IHC; scale bar = 20 μ m). PCV, porcine circovirus; GALT, gut-associated lymphatic tissue; IHC, immunohistochemistry.

Fig. 5. Expression of PCV-2 antigens (arrows) in lamina propria of the ileum in pigs. (A) Grade 1 (IHC; scale bar = 100 μ m). (B) Grade 2 (IHC; scale bar = 100 μ m). (C) Grade 3 (IHC; scale bar = 100 μ m). (D) Grade 3 (IHC; scale bar = 20 μ m). PCV, porcine circovirus; IHC, immunohistochemistry.

Table 4. Correlation between the histopathologic grade of lesions and the expression grade of PCV-2 antigens in the gut-associated lymphatic tissue of the ileum

Histopathologic grade of ileal lesions	Average EG of PCV-2 antigens (mean $\pm$ SD)
Lymphoid depletion [†]	G1 (n = 12) 1.83 $\pm$ 0.94
	G2 (n = 19) 2.42 $\pm$ 0.96
	G3 (n = 19) 2.89 $\pm$ 0.32**
	G0 (n = 10) 1.70 $\pm$ 0.95
Intracytoplasmic inclusion body [‡]	G1 (n = 11) 2.09 $\pm$ 1.04
	G2 (n = 11) 3.00 $\pm$ 0.00**
	G3 (n = 18) 2.78 $\pm$ 0.55*
	G0 (n = 1) 1.00 $\pm$ 0.00
Histiocytic infiltration	G1 (n = 16) 2.19 $\pm$ 0.91
	G2 (n = 22) 2.55 $\pm$ 0.92
	G3 (n = 11) 2.82 $\pm$ 0.41

G, grade; EG, expression grade.

[†]Significant difference compared with the EG of G1 group (** $p < 0.01$); [‡]Significant difference compared with the EG of G0 group (** $p < 0.01$, * $p < 0.05$).

서도 일부 검출되었다. 부위별로 항원 발현 정도를 세분한 결과 GALT에서는 국소적인 발현 EG1 9마리, 다병소성 분포 EG2 6마리, 미만성 분포 EG3 34마리에서 관찰되었고 (Fig. 4), 고유판에서는 EG1 5마리, EG2 9마리, EG3 27마리에서 PCV-2 항원이 관찰되었다(Fig. 5).

2) 병리조직학적 병변과 PCV-2 항원 발현 정도와의 상관관계

EAPC로 진단된 개체에서 회장의 GALT내 병리조직학적 병변의 등급(G) 군별로 PCV-2 평균 항원 발현 등급을 비교하였다(Table 4). 림프구 고갈 병변의 경우 G1, G2, G3로 등급이 올라갈수록(병변이 심해질수록) 회장 조직 내 평균 항원 발현 등급은 증가하는 경향을 보이고 있었으며, 특히 G3 군이 G1군에 비하여 유의성 있게 증가하였다($p < 0.01$). 붕괴체의 경우 회장 내 발현이 많아질수록 평균 항원 발현 등급이 증가하였고, 특히 G2 ($p < 0.01$) 및 G3 ($p < 0.05$) 군의 경우 음성대조에 해당하는 G0군에 비하여 유의성 있게 증가하였다. 조직구 침윤이 많아질수록 평균 항원 발현 등급이 증가하고 있었으나, 통계적 유의성은 없었다.

기타 병원체 혼합감염 양상

PCV-2와 소화기 질병 유발 다른 병원체가 혼합감염된 개체는 26두(52%)였으며, 살모넬라균체가 18마리에서 검출되어 가장 높은 혼합감염 빈도를 나타내었다(Table 5). 기타 병원체로는 크립토스포리움 5마리, 돼지 결장나선균 2마리, 돼지 적리균 및 콕시듐 감염이 각각 1마리에서 검출되었다. 이 중 콕시듐 감염 개체는 살모넬라균체 및 PCV-2와 혼합 감염되어 있었다. 나머지 24두(48%)는 PCV-2단독 감염으로 확인되었다.

Table 5. Co-infected enteric pathogens in 50 pigs with enteritis associated with porcine circovirus type 2

Pathogen	No. of positive	Total (N = 50)
<i>Salmonella</i> species	17	
<i>Salmonella</i> species + <i>Coccidium</i>	1	
<i>Cryptosporidium</i> spp.	5	26
<i>Brachyspira pilosicoli</i>	2	
<i>Brachyspira hyodysenteriae</i>	1	

고 찰

본 연구를 통하여 제주도 돼지에서 EAPC의 연도별 발생 상황을 분석한 결과 2006년 17마리, 2007년 21마리, 2008년 및 2009년에 각각 8마리, 4마리로 확인되어 2007년 정점을 나타낸 후 점차 감소하는 양상을 보이고 있었다. 이는 2008년부터 전국적으로 PCV-2 백신이 공급되면서 양돈장에서 백신 접종이 이루어지고, 그에 따른 질병 방어효과가 나타나면서 PCV-2 관련 질병의 하나인 EAPC의 발생도 감소하고 있는 것으로 추정된다.

미국의 경우 2000년대 초반 EAPC 발생이 증가 추세였고 대체로 생후 8-16주까지의 육성 비육돈에서 다발하였다[3]. 그러나 본 실험에서 EAPC로 확진된 돼지는 50일령 미만은 32.0%, 50-100일령에 이르는 육성돈은 68.0%로 나타나 주로 육성돈에 밀집하여 있었다. 그러므로 미국과 달리 제주도 돼지에서는 EAPC가 비교적 어린 연령부터 문제시되고 있음이 확인되었다. 또한 EAPC의 발생을 월별로 세분하여 분석한 결과 3월 (16.0%), 4월 (20.0%) 및 8월 (22.0%)에 다발하고 있었다. 이러한 현상은 환절기에 해당하는 3-4월의 불규칙한 온도 변화 및 혹서기인 8월의 폭염 날씨가 양돈장의 어린 돼지들에게 스트레스 요인으로 작용하여 PCV-2의 감염을 증폭시키는 것으로 판단된다.

본 연구에서 EAPC로 진단된 돼지의 소장은 육안적으로 장벽의 비후로 인하여 점막면이 주름진 모습을 나타내고, 장간막 림프절은 현저하게 발적 종창되어 있었다. 이러한 소견은 EAPC의 육안 병변이 *Lawsonia* (*L.*) *intracellularis* 감염에 의한 아급성 또는 만성 회장염(ileitis)과 유사하게 장벽 비후와 장간막 림프절의 종창을 특징으로 하고 있다는 외국의 보고와 대체로 일치하였다[3,12]. 브라질에서는 회장벽의 비후와 장간막 림프절의 종창이 특징이고 조직학적으로 장선종증(intestinal adenomatosis) 병변을 보이는 야생돼지를 검사한 결과 장 병변부에서 *L. intracellularis*와 PCV-2 항원이 동시에 검출되었다[12]. 따라서 EAPC와 *L. intracellularis* 감염에 의한 회장염의 감별진단이 매우 중요함을 보고하였다. 또한 임상적으로 소장벽 비후와 장염을 보이는 64마리의 돼지 소장을 *L. intracellularis* 항원 양성 34마리 및 음성 30마리로 구분하여 PCV-2 항원을 검사한 결과 34마리 중 18%, 30마리 중 77%에서 PCV-2양성이 확인되었다. 그러므로 PCV-2 단독 감염으로도 장벽 비후를 동반한 장염을 유

발할 수 있으며, 병리조직학적으로는 점막 과사와 함께 조직구와 다핵거대세포의 출현을 특징으로 하는 육아종성 장염이 관찰되었다[13]. 특히 점막면의 과사는 EAPC에서만 관찰되는 병변으로 두 질병의 감별 진단에 활용할 수 있음을 제시하였다.

또한 Zlotowski 등[14]은 PMWS로 진단된 돼지 중에서 소화기 질병을 가지고 있는 79마리의 소장 및 대장에 대한 병리조직학적 병변을 분석하였다. 그 결과 대장에서는 점막 고유층에 림프조직구의 침윤(51.9%)과 점막 부종(49.4%)이 주로 관찰되는데 비하여, 소장에서는 페이어판(peyer's patch)에 림프 조직구 침윤 64마리(81%), 림프구 고갈 26마리(32.9%), 세포질내 봉입체 및 다핵거대세포 출현은 각각 19마리(24.1%)와 12마리(15.2%), 고유층에 림프조직구 침윤은 45두(56.9%)에서 확인되었다. 본 연구에서도 정도의 차이는 있으나 EAPC로 확진된 50두 돼지의 회장 전체에서 림프구 고갈이 관찰되었으며, 조직구의 침윤은 98%에서 확인되었다. 특징적인 포도송이 모양의 세포질내 봉입체와 다핵거대세포의 출현은 각각 80% 및 22%에서 관찰되었으나, 과사를 동반한 점막 궤양은 1마리에서만 확인되었다. 전반적으로 제주도 돼지에서 관찰된 EAPC 병변은 림프구 고갈과 조직구 및 다핵거대세포의 침윤을 특징으로 가지는 육아종성 장염을 나타내고 있었다. 특히 외국의 보고에 비하여 림프구의 고갈, PCV-2 특이 봉입체의 출현이 매우 높은 빈도로 확인되었다. 이러한 점은 제주도 내 순환하고 있는 PCV-2가 다른 나라의 바이러스와 어느 정도 병원성에 차이가 있음을 암시하고 있는 것으로 추정된다.

PCV-2에 자연 감염된 돼지의 회장 및 결장을 대상으로 IHC를 이용하여 조직 내 항원 분포를 조사한 결과 PCV-2 항원은 장의 고유층, 점막하직, 근층 및 장막층에 걸쳐 광범위하게 분포하고 있었다[13]. 세포 단위로는 침윤된 단핵세포, 다핵거대세포, 음와 상피세포 및 과사된 점막 상피세포 등에서 PCV-2 항원이 존재하고, 특히 GALT 내에 침윤된 조직구와 다핵거대세포의 세포질에서 강한 양성반응을 보이고 있었다. Zlotowski 등[14]은 PMWS로 진단된 79마리 돼지의 소장 및 대장에 대하여 IHC를 이용하여 장 조직 내 PCV-2 항원을 조사한 바 GALT 67.1%, 회장 고유판의 조직구 41.8%, 결장 고유판의 조직구 36.7%, 회장 음와상피세포 13.9%, 회장 점막 상피세포 7.6%의 순으로 항원 발현이 있음을 보고하였다. 또한 살모넬라와 혼합감염되어 과사성 결장염 병변을 가지고 있는 돼지의 결장 음와 상피 세포의 유괴사(apoptosis)가 PCV-2 감염으로 인하여 증가함을 관찰하였다. 이를 토대로 PCV-2가 감염되어 세포의 유괴사를 증가시킴으로 인하여 장 상피세포의 회전율(turnover)에 장애를 준다고 주장하였다[15]. 본 연구에서 돼지 회장에 대하여 IHC를 적용하여 항원의 분포를 살펴본 것을 때 외국의 보고에 비하여 PCV-2 항원 발현율이 매우 높게 나타났으며, 점막 고유판(82.0%)보다는 점막하직의 GALT (98.0%)에서 항원 발현 빈도와 정도가 더욱 높았다. 그러나 세포 수준에서는 회장 조직에 침윤된 조직구와 다핵거대세포의 세포질에

서 주로 항원이 관찰되어 다른 보고들과 대체로 일치하였다.

PCV-2가 감염된 회장의 GALT 내 병리조직학적 병변의 심한 정도와 항원 발현의 상관성을 비교 분석하였다. 림프구 고갈과 봉입체 발현을 군별로 분석한 결과 병변의 등급이 올라갈수록 평균 항원 발현 등급이 유의성 있게 증가하였으나, 조직구 침윤 병변과의 유의성은 인정되지 않았다. 그러나 대체로 각각의 군별로 병변이 많아질수록 항원 발현은 증가하는 경향을 보이고 있었다. 따라서 PCV-2가 돼지의 장에 감염되어 개체의 면역을 저하시키는 기전은 GALT 또는 고유판에 조직구를 포함한 탐식세포의 침윤을 통하여라기 보다는 GALT의 림프구 고갈과 좀 더 밀접한 관련성이 있을 것으로 추정된다.

이유 자돈의 전신 질환인 PMWS의 경우 PCV-2 단독감염 보다는 다른 이차적인 병원체와의 혼합감염이 더욱 문제시되고 있다[14,16]. 또한 소화기 질병인 EAPC에서도 살모넬라균, *L. intracellularis*, 돼지 결장 나선균, 돼지 적리균 및 유행성설사병 바이러스 등 다른 병원체와 혼합감염되는 예가 빈번하게 나타나고 있다[14,16]. 특히 살모넬라균이나 *L. intracellularis* 균과 혼합감염될 경우 PCV-2 단독감염에 비하여 임상증상과 병변이 더욱 심하게 된다. 그러나 최근에는 실험 감염을 통하여 PCV-2 단독 감염만으로도 장염을 유발할 수 있음이 증명되었다[14,16]. 본 연구에서 소화기 질병에 대한 혼합감염 여부를 분석한 결과 공시동물의 52.0%에서 살모넬라균, 크립토스포리듐, 맹장균 나선균 또는 돼지 적리균이 혼합감염되어 있었으며, 특히 외국의 사례와 유사하게 살모넬라 균체와의 혼합감염이 36%로 비교적 높은 비율로 확인되었다. 그러나 PCV-2 단독 감염이 48.0%를 점유하고 있을 뿐만 아니라, 검사한 돼지 중 설사 증상을 나타낸 개체들은 84%에 달하고 있었다. 따라서 PCV-2가 장관에 감염되어 면역장기인 GALT의 림프구 소실을 유도하여 면역을 억제시킨 후 다른 병원체의 감염을 용이하게 할 뿐만 아니라 PCV-2단독으로도 임상 증상을 동반한 장염을 유발하고 있는 것으로 판단된다.

최근에는 사람과 침팬지의 분변에서 썬코바이러스와 유사한 DNA 계통을 발견하였고, 이 바이러스를 *Circoviridae*과 *Cyclovirus*속으로 분류할 것으로 제안하였다[17]. 또한 출혈성 위장염, 맥관염 및 육아종성 림프선염 병변을 가지는 개의 간에서 새로운 개 썬코바이러스(dog circovirus; DogCV)가 검출되었으며, 이 개의 병변이 PCV-2에 의해 유발되는 PDNS의 조직학적 병변과 매우 유사함이 보고되었다[18].

본 연구는 제주도에서 PCV-2가 전신 질환인 PMWS 이외에 소화기 질병인 EAPC를 유발하고 있음을 병리학적으로 확인한 국내 첫 보고이다. 제주도에서 이유자돈 및 육성돈에서 설사를 동반한 장염 발생 시 PCV-2 감염도 감별 진단 대상으로 포함시켜야만 하고, 설사병에 대한 신속 정확한 진단을 통하여 농가의 경제적 피해를 최소화 할 수 있는 질병 진단 및 방역 체계 마련이 요구되는 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 농림축산검역본부 학술연구용역과제(Z-1543083-2017-18-01) 연구비를 지원받아 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

References

1. Segalés J, Allan GM, Domingo M. Porcine circovirus diseases. In: Straw BE, Zimmerman JJ, D'Allaire S, Taylor DJ (eds.). Diseases of Swine. 9th ed. pp. 299-307, Blackwell Publishing, Ames, 2006.
2. Gillespie J, Opriessnig T, Meng XJ, Pelzer K, Buechner-Maxwell V. Porcine circovirus type 2 and porcine circovirus-associated disease. J Vet Intern Med 2009;23:1151-1163.
3. Opriessnig T, Meng XJ, Halbur PG. Porcine circovirus type 2 associated disease: update on current terminology, clinical manifestations, pathogenesis, diagnosis, and intervention strategies. J Vet Diagn Invest 2007;19:591-615.
4. Larochelle R, Bielanski A, Müller P, Magar R. PCR detection and evidence of shedding of porcine circovirus type 2 in boar semen. J Clin Microbiol 2000;38:4629-4632.
5. O'Connor B, Gauvreau H, West K, Bogdan J, Ayroud M, Clark EG, Konoby C, Allan G, Ellis JA. Multiple porcine circovirus 2-associated abortions and reproductive failure in a multisite swine production unit. Can Vet J 2001;42:551-553.
6. West KH, Bystrom JM, Wojnarowicz C, Shantz N, Jacobson M, Allan GM, Haines DM, Clark EG, Krakowka S, McNeilly F, Konoby C, Martin K, Ellis JA. Myocarditis and abortion associated with intrauterine infection of sows with porcine circovirus 2. J Vet Diagn Invest 1999;11:530-532.
7. Segalés J, Rosell C, Domingo M. Pathological findings associated with naturally acquired porcine circovirus type 2 associated disease. Vet Microbiol 2004;98:137-149.
8. Yang HS, Kim JH. The correlation of porcine circovirus type 2 and porcine reproductive and respiratory syndrome virus in Salmonella Typhimurium enteritis. Korean J Vet Serv 2018; 41:133-139.
9. Kim J, Ha Y, Jung K, Choi C, Chae C. Enteritis associated with porcine circovirus 2 in pigs. Can J Vet Res 2004;68:218-221.
10. Galindo-Cardiel I, Grau-Roma L, Pérez-Maíllo M, Segalés J. Characterization of necrotizing lymphadenitis associated with porcine circovirus type 2 infection. J Comp Pathol 2011;144: 63-69.
11. Park SJ, Jung JY, Kang SC, Ko MS, Lee SS, Son WG, Kim JH. Prevalence of enteric bacterial pathogens in grower pigs in Jeju-do. J Vet Clin 2011;28:81-86.
12. Zlotowski P, Corrêa AM, Borba MR, Cruz CE, Driemeier D. Enteritis associated with *Lawsonia intracellularis* and porcine circovirus type 2 infection in wild boars in Southern Brazil. Cienc Rural 2008;38:2540-2544.
13. Jensen TK, Vigre H, Svensmark B, Bille-Hansen V. Distinction between porcine circovirus type 2 enteritis and porcine proliferative enteropathy caused by *Lawsonia intracellularis*. J Comp Pathol 2006;135:176-182.
14. Zlotowski P, Corrêa AM, Barcellos DE, Cruz CE, Asanome W, Barry AF, Alfieri AA, Driemeier D. Intestinal lesions in pigs affected with postweaning multisystemic wasting syndrome. Pesqui Vet Bras 2008;28:313-318.
15. Zlotowski P, Corrêa AM, de Barcellos DE, de Itapema Cardoso MR, Vasconcelos AC, de Castro LA, Driemeier D. Necrotic enterocolitis in pigs naturally infected by porcine circovirus type 2. Cienc Rural 2009;39:1801-1807.
16. Opriessnig T, Madson DM, Roof M, Layton SM, Ramamoorthy S, Meng XJ, Halbur PG. Experimental reproduction of porcine circovirus type 2 (PCV2)-associated enteritis in pigs infected with PCV2 alone or concurrently with *Lawsonia intracellularis* or *Salmonella typhimurium*. J Comp Pathol 2011;145:261-270.
17. Li L, Kapoor A, Slikas B, Bamidele OS, Wang C, Shaukat S, Masroor MA, Wilson ML, Ndjanga JB, Peeters M, Gross-Camp ND, Muller MN, Hahn BH, Wolfe ND, Triki H, Bartkus J, Zaidi SZ, Delwart E. Multiple diverse circoviruses infect farm animals and are commonly found in human and chimpanzee feces. J Virol 2010;84:1674-1682.
18. Li L, McGraw S, Zhu K, Leutenegger CM, Marks SL, Kubiski S, Gaffney P, Dela Cruz FN Jr, Wang C, Delwart E, Pesavento PA. Circovirus in tissues of dogs with vasculitis and hemorrhage. Emerg Infect Dis 2013;19:534-541.