노로바이러스와 식중독

Norovirus and Foodborne disease

이 나 리
Nari Lee

한국식품연구원 식품안전성연구본부 식품위해평가팀
Food Hazard Assessment Research Team, Food Safety Research Division, Korea Food Research Institute

서 론

최근 문제가 되고 있는 바이러스성 식중독은 장염바이러스 중 주로 노로바이러스에 의해 일어나며 이외에도 아스트로바이러스나 로타바이러스에 의한 사례가 보고되고 있다. 노로바이러스는 1999년에야 국내에 보고된 새로운 바이러스이며 2003-2004년에 집단설사를 유행시키면서 주목받기 시작했다. 질병관리본부가 2000-2006년 전국에서 확인한 바이러스성 장염 원인 병원체 가운데 노로바이러스는 18.9%로 로타바이러스 69.6%에 이어 두 번째였다. 그러나 로타바이러스가 주로 산후조리원등에서 배탈과 설사를 일으키는데 비해 노로바이러스는 성인에게 집단식중독을 유발해 훨씬 중요한 병원체로 떠올라 지난해 6월 질병관리본부는 이 바이러스를 새로 지정 전염병 병원체로 정해 감시를 강화했다. 과거 식품매개질환 중 원인불명으로 알려졌던 사례들 중 많은 경우 바이러스성 병원체가 원인으로 작용했을 것으로 알려지는 등 식중독 사례에서 바이러스성 병원체가 차지하는 비중이 증가하고 있다. 노로바이러스에 의한 식중독은 세균성 식중독과는 달리 선진국에서 오히려 더 많이 보고되고 있으며 미국 질병관리본부 조사에 의하면 식품매개성 및 수인성으로 인한 집단 발병 중 약 70% 이상이 노로바이러스에 의해 발병되는 것으로 밝혀졌다.[7),38)]

노로바이러스 감염은 1-2일 정도의 급성장염으로 후유증을 남기지 않고 회복되나 노약자와 어린이에게는 치명적일 수도 있다. 2006년 일본에서 11월 이후 2달 동안 노로바이러스를 원인으로 하는 식중독 사고 발생건수가 총 213건으로 환자 9650명중 41명이 사망했다고 후생노동성이 조사 보고하였다. 국내에도 예외는 아니어서 2006년 6월 발생한 학교급식사고에서부터 2007년 초 발생한 군부대 집단식중독까지 노로바이러스가 원인으로 밝혀졌다. 1996년 1월부터 1997년 6월에 미국 질병통제예방센터에 보고된 90건의 비 세균성 위장염 집단발생 중 86건 (96%)에서 노로바이러스가 검출됨에 따라 노로바이러스가 유행성 위장염의 주요 원인체임이 전 세계적으로 인식되기 시작하였다.

이와 같이 인체 노로바이러스는 1990년대 중반 이후에 국민

*Corresponding author : Nari Lee
Korea Food Research Institute, Baekhyun-Dong, Bundang-Ku, Songnam, Kyunggi-do, 463-746, Korea
Tel: +82-31-780-9182
Fax: +82-31-709-9876
E-mail: nari@kfri.re.kr

보건학적 중요성이 크게 부곽 되어 관련 연구를 수행하고 있으나 현재까지 배양방법이 없고 식품 중에서도 증식되지 않는 특성으로 인하여 식중독 발생 주요 원인식품인 어패류 및 물을 중심으로 검출법 연구가 진행되고 있으며, 국내·외에서 노로바이러스에 대한 분자생물학적 연구는 많이 진행되지 못하고 있다. 본 총설에서는 노로바이러스의 분자생물학적인 특성, 인체 감염요인 및 면역반응, 검출방법 등에 대해 살펴보고 앞으로의 연구방향등을 제시하고자 한다.

본 론

1. 노로바이러스의 분자 역학적 특성

사람에게 집단식중독을 일으키는 노로바이러스는 1968년 미국 오하이오주 Norwalk 초등학교에서 발생한 집단식중독 환자에서 처음으로 발견되어 노워크바이러스로 불리었다. 그 후 유사한 식중독 환자에서 노워크바이러스와 비슷한 바이러스가 계속 발견됐으며 발견된 지역의 이름을 따서 하와이바이러스, 몽고메리바이러스, 타운톤바이러스, 토론토바이러스 등으로 부르게 됐다. 1990년 걸프전 당시 사우디아라비아에 주둔한 미군 환자에서 노로바이러스가 검출돼, 그 당시의 작전명을 따라 사막방패바이러스(Desert Shield virus)라고 부른 적도 있었다. 또한 이 바이러스들은 원형의 작은 바이러스이고 서로 동일한 유전자 구조를 갖고 있기 때문에 원형소체바이러스(small round structured virus)라고도 하였으며, 유사 노워크바이러스 (Norwalk-like virus)라고도 불리다가 최근에 노로바이러스로 공식 명명이 승인되었다.

노로바이러스는 형태학적 크기가 직경 약 27 nm로 envelop를 가지고 있지 않으며 caliciviridae에 속하는 약 7.6 kb의 polyadenylated positive single strand RNA 바이러스로써 3개의 ORF이 존재한다. ORF1은 바이러스의 3C-like protease에 의하여 RNA-dependent RNA polymerase (RdRp)를 포함하여 6개의 단백질로 분리되는 비구조 단백질(nonstructural protein)을 생산하며,[5] ORF2와 ORF3는 60kDa의 capsid 단백질 VP1과 VP1의 발현과 안정성에 필요한 20 kDa의 VP2 단백질을 만들어낸다 (Fig. 1). VP1 단백질은 P (protruding, P1과 P2)와 S (shell)의 두개의 구조로 구성되었는데 S 도메인은 바이러스 외부형태 유지에 관여하고, P 도메인은 세포 수용체 결합부위를 가지고 세포간의 상호작용과 면역인지의 역할을 수행 한다.[6),8),27),31),34)]

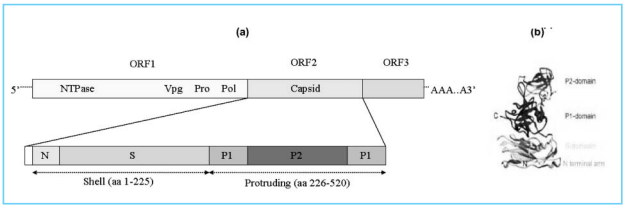

Fig. 1. 노로바이러스 게놈과 capsid 유전자 (a) 및 발현단백질(b)의 구조[30)]

노로바이러스는 유전학적 또는 면역학적으로 매우 다양한 바이러스로 알려져 있다. 일반적으로 노로 바이러스에 대한 항체는 인체에서 흔히 발견되지만 노로바이러스에 대한 면역학적 저항성은 나타나지 않는 것으로 알려져 있는데[4)] 그 이유는 노로바이러스에 대한 인체의 면역학적 저항성은 바이러스의 유전자타입 (genotype)에 따라 다르고, 그 종류가 매우 다양하기 때문이다. 노로바이러스는 RNA-dependent RNA polymerase (RdRp, ORF1)와 capsid protein VP1(ORF2)의 서열에 따라 크게 5개의 genogroup (GⅠ-GⅤ)으로 분류되며, 사람에게서는 주로 GⅠ, GⅡ, GⅣ가 소와 쥐에게서 GⅢ, GⅤ가 각각 검출됨이 보고되고 있다.[5)] 이중 2가지의 GⅠ 및 GⅡ는 감염 및 분자생물학적, 역학적 및 계통학적으로도 매우 상이하며, 현재까지 노로바이러스(GⅠ 및 GⅡ)의 capsid 유전자의 염기서열에 따라 모두 31가지의 유전자타입으로 분류되고 있다.[20)]

최근에 분자생물학적인 분석으로 이들에 대한 기초적인 정보는 알게 되었으나 세포내에서 증식되지 않고 효과적인 연구를 위한 대리세포(surrogate)도 없기 때문에 이에 대한 여러 정보는 상당히 제한되어 있다. 현재까지 노로바이러스 관련 연구는 주로 분자역학 (molecular epidemiology)적인 조사나 노로바이러스의 인체투여 실험 (human challenge study) 등의 방법들을 이용하여 수행되어 왔다.[15),29)] 그러나 2003년 쥐 노로바이러스 (murine norovirus)가 발견되어 중요한 연구모

델로 되고 있다.[21]

노로바이러스의 분자계통학적 분석 (phylogenetic analysis)은 주로 바이러스의 RdRp (RNA polymerase) 또는 capsid 유전자의 염기서열분석을 이용하여 수행되어 왔다. RdRp는 노로바이러스 genogroup에 상관없이 유전자 염기서열이 잘 보존되어 있고, capsid 유전자의 염기서열은 바이러스 항원과 밀접한 관계를 가지고 있어 분자계통학적 분류방식의 대상으로 많이 사용되고 있다. 노로바이러스 capsid 단백질은 크게 S, P1, P2의 3개의 단백질 domain으로 구성되어 있으며 S domain은 conserved region이고 P1과 P2의 단백질 서열의 변화에 따라 항원다양성 (antigenic diversity)이 발생하는 것으로 알려져 있다.[13]

2. 노로바이러스의 감염 증상 및 전이

노로바이러스에 오염된 음식을 먹거나 물을 마시면 구토, 수양성 설사, 오심, 메스꺼움, 발열 증상을 유발하며, 일반적으로 24-48시간 후 증상이 나타나는데, 전염력이 매우 강하고 사람에서 사람으로 쉽게 퍼지며, 분변과 구토물도 전염력을 가지고 있다. 노로바이러스 감염 회복 후 최소 3일까지는 전염성을 가지고 있고, 일부는 회복 후 2주간 전염력을 갖는 경우도 있다. 특히 어린이에게서는 주로 구토 증상이 나타나는 것이 특징이다. 노로바이러스는 10 particle 이하의 소량만으로도 감염이 성립되며, 10ppm 이하의 염소 및 냉동상태, 60℃ 가열 등에서 생존할 수 있어 식품조리자의 관리가 중요하며, 또한 노로바이러스가 오염된 물에서는 이 바이러스가 쉽게 제거되기 어렵다는 문제점도 있다.[36]

노로바이러스와 같은 식중독을 일으키는 바이러스들은 다양한 경로를 통해 사람에게 전이되는 것으로 알려져 있다. 노로바이러스의 가장 우세한 전이형태는 오염된 식품의 섭취에 있으며 주로 오염된 물이나 굴, 조개 등의 어패류, 야채, 과일 등의 식품을 섭취해서 발생하고 전이되는 과정으로는 노로바이러스에 감염된 식품이나 음용수를 섭취했을 때, 노로바이러스에 오염된 물건을 만진 손으로 입을 만졌을 때, 질병이 있는 사람을 간호할 때, 직 · 간접적으로 구토물에 노출되었을 때, 공기 중에 오염되어 있는 경우, 환자와 식품, 기구 등을 함께 사용하였을 경우 등 다양하며 특히 유아원이나 양로원에서 일하는 사람은 노로바이러스에 걸린 어린이나 주민에 대해 특별한 주의가 필요하다.[40]

또한 작업자에 의한 오염도 매우 중요하게 다루어져야 할 부분으로, 노로바이러스 발생의 원인을 찾기 위하여 환자와 무증상의 작업자의 가검물을 RT-PCR과 IEM으로 분석한 결과, 무증상 작업자의 중요함을 입증할 수 있었고 미국의 CDC의 보고에 의하면 1998-2000년까지 식품에 따른 식중독 발생 현황에서 노로 바이러스에 의한 식중독은 총 76건이며 이 식품들을 생산했던 작업자에게서 노로바이러스가 검출되었던 경우는 45건으로 약 48%가 검출되었으나, 세균의 경우는 20건으로 약 20% 만이 검출되어 작업자에 의한 식품에 오염 가능성을 제시하고 있다. 바이러스에 의한 식중독 증상이 있는 경우, 증상이 사라졌지만 바이러스를 보유하고 있을 경우, 증상은 없으나 바이러스를 보유하고 있는 경우 등 다양한 원인이 있으나 사람과 사람에 접촉에 의해 전이가 잘 발생하는 원인에 대해서는 아직 연구가 진행 중인 상태이다.[2),9),23),32)]

3. 노로바이러스의 역학적 특성

역학적인 관점에서 노로바이러스는 중요하게 취급되고 있는데 전 세계적으로 가장 많은 급성 위장관염을 일으키는 병원성 미생물로 알려져 있으며 비 세균성 장염의 약 90% 이상의 발병 원인으로 알려져 있다.[10] 이 바이러스의 증상은 비교적 경미하고 회복이 완전하게 되지만 면역이 되지 않고 유전적으로 매우 다양한 특성이 있다. 따라서 어떤 사람은 감염에 예민하고 일생 동안 여러 번 감염되기도 한다. 서구 선진국의 발병 사례를 살펴보면, 미국의 경우 1997년부터 2000년 사이 총 1,146건의 식중독 사고 발생 중에 233건의 노로바이러스에 의한 식중독 사고가 발생하였으며 집단발생 원인을 분석한 결과 39%가 식품, 25%가 nursing home과 병원 13%가 학교, 기타원인이 12%라고 보고한 바 있다. 유럽의 경우 1995년부터 2000년까지 유럽지역에서 발생된 비 세균성 집단발생 중 85%이상이 노로바이러스로 확인된 바 있으며, 2002년 유럽에서 nt4820 위치에 변이를 가진 GⅡ.4 변이주가 발생하여 빠른 전파력과 심각한 임상증상의 노로바이러스 식중독 대유행이 있어 덴마크에서는 698건, 영국

에서는 614건, 핀란드에서는 745건, 독일에서는 161건, 헝가리에서는 116건, 스페인에서는 83건, 스웨덴에서는 83건, 네덜란드에서는 155건으로 보고되어 문제가 되었는데, 전년 대비 식중독 사고 발생이 거의 모든 국가에서 70%에서 많게는 200% 이상 증가하였다. 영국 Wales와 England에서 일어나는 거의 모든 위장염의 50%는 노로바이러스에 의한 것이라고 알려져 있고 핀란드, 네덜란드, 독일에서도 비슷하게 일어난다고 보고되어 있다. 국가별로 발생 장소에 따라 식중독 사고 발생 정도가 약간은 상이하긴 하지만, 대부분 학교와 병원에서 주로 많이 발생되는 것으로 보고했다 (Fig. 2).[23]

미국과 영국에서의 분자역학적인 장염발생의 분석을 보면 최근에 가장 빈번하게 나타나고 있는 것이 GⅡ인 것으로 분석되었으나, 우리나라에서는 GⅠ도 상당한 비율로 출현하고 있는 실정이다. 일본의 경우 1995-2001년까지 어린이를 대상으로 분변에서 노로바이러스를 검출한 결과, 1995-1996년에는 35건, 1996-1997년에는 31건, 1997-1998년에는 71건, 1998-1999년에는 60건의 노로바이러스가 검출되었으며, 모두 GⅡ로 확인되었다. 그리고 1999-2000년에는 GⅡ 89건, GⅠ 7건이 검출되었고, 2000-2001년에는 GⅡ 67건, GⅠ 4건이 검출되었다. 2001년부터 2004년까지 식품의약품안전청에서 국내에서 발생한 노로바이러스 식중독 사고를 조사한 결과는 Table 1에서 보는 바와 같다. 대부분 단체 급식소에서 발생하였으며, 원인 식품이 무엇인지는 확인하지 못했다. 국내에서 식인성 식중독의 역학조사를 평가해 보면 노로바이러스가 환자의 60%, 입원환자의 33%, 사망환자의 7%를 차지하고 있으며, 학교, 식당, 병원 등 다양한 장소에서 일어나고 있다. 노로바이러스에 의한 질병은 건강상의 심각한 위해는 없으나 때로 어린이와 노인과 같이 면역력이 약한 사람은 탈수증상과 함께 사망에 이르기까지 한다 (Fig. 3). 일반적으로 노로바이러스에 노출된 사람의 80%정도가 질병을 앓는 것으로 보고되고 있다. 2000년 이후 바이러스성 설사에 대한 전국적인 실험실 감시체계 운영 결과 집단 설사 및 산발적인 설사 환자에서 다양한 형의 노로바이러스가 검출되었으며 2004년 하반기에서 2005년 중 국내에서도 2002년 유럽에서 발생한 GⅡ.4 형 변이주가 검출된 바 있으나 유럽과 같이 대유행을 일으키지는 않았다. 2005년 하반기에는 GⅡ.3에 속하는 노로바이러스 검출이 증가하고 있다. 노로바이러스로 인한 식중독 발생은 2001년부터 2003년까지 전체 식중독의 21%를 차지할 정도로 급증하였으며, 2004년에는 8건에 462명(4%)의 환자가 발생되었고 10월에도 제주도에 수학여행 갔던 고등학생 중 지하수 음용과 연관된 집단 설사사례가 발생하여 역학조사 및 바이러스 검사 결과 지하수가 원인인 것으로 밝혀진 바 있다.

최근 서울대 생명과학부 김상종 교수 연구팀의 보고에 따르면 수도권 식수원인 팔당과 잠실에서 2005년 10월과 2006년 1월에 각각 1회와 2회 노로바이러스가 발견되었으며, 2005년 7월부터 2006년 6월까지 12차례 한강의 지천 4군데를 조사한 결

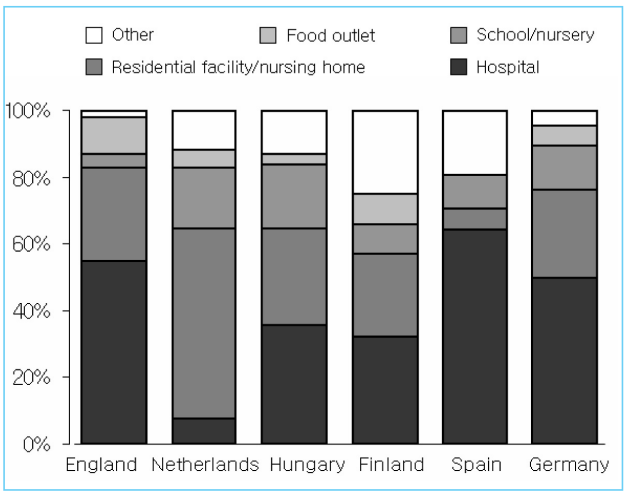

Fig. 2. 유럽 6개 지역에서 2002년 노로바이러스 감염 발생현황[26]

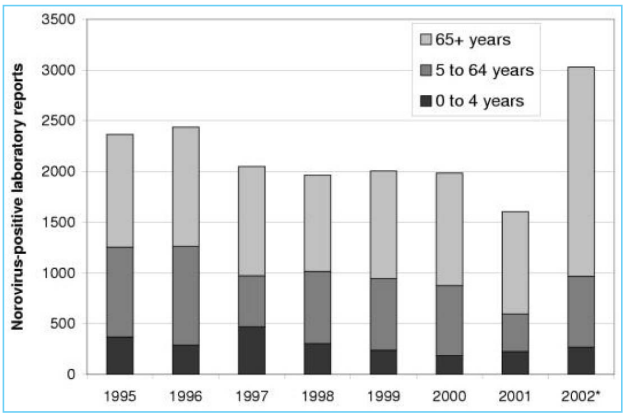

Fig. 3. 노로바이러스의 연령별 분리현황

Table 1. 연도별 노로바이러스 식중독 발생 현황 (식품의약품안전청, 2004)

연도별 / 지역별	2001년		2002년		2003년		2004. 11월	
	건수	인원	건수	인원	건수	인원	건수	인원
계	3	935	1	137	14	1,442	11	696
서울	-	-	-	-	10	1,129	1	54
부산	-	-	-	-	-	-	1	18
대구	2	671	-	-	-	-	1	15
인천	-	-	-	-	-	-	-	-
광주	-	-	1	137	1	19	2	56
대전	-	-	-		-	-	-	-
울산	-	-	-	-	-	-	-	-
경기	-	-	-	-	1	61	1	51
강원	-	-	-	-	-	-	-	-
충북	-	-	-	-	1	205	1	94
충남	1	264	-	-	-	-	-	-
전북	-	-	-	-	-	-	-	-
전남	-	-	-	-	-	-	1	63
경북	-	-	-	-	-	-	-	-
경남	-	-	-	-	-	-		-
제주	-	-	-	-	1	28	3	345

과 8회, 7회, 6회 등 노로바이러스가 광범하게 검출되었다. 특히, 팔당과 잠실에서 나온 바이러스의 유전자 염기서열이 지천에서 검출된 것과 같은 유형이어서 한강 상수원의 바이러스 오염은 지천을 통해 일어난 것으로 추정하였다. 일반적으로 환자의 분변으로 배출된 노로바이러스는 지하수를 오염시키고 오염된 지하수를 식수로 사용하거나 식품을 세척하는 경우 대규모 집단식중독이 일어난다. 그런데, 가장 중요한 상수원이 노로바이러스로 오염돼 있다는 것은 심각한 문제로 식품의약품안전청은 지난 8월 집단급식사고 대책 안을 발표하면서 먹는물 관리법에 노로바이러스 검사항목을 신설해 달라고 제도 개선을 건의하였다.

국내의 전국을 연계한 감시체계의 적극 활용으로 2003-2004년에 급증했던 노로바이러스 감염사례는 2005년에는 다소 감소하는 추세를 보였다. 선진국에서도 현재까지 노로바이러스와 관련된 다양한 역학 조사와 특성 분석 등과 더불어 국가 간에 공동 연구를 통해서 체계적이고 심도 있게 진행되고 있으며, 자국민들의 건강 증진을 위해 노력하고 있다.

4. 노로바이러스와 HBGAs 등의 인체 감염과 면역 반응

노로바이러스는 감염성이 매우 높은 바이러스로 알려져 있으며 감염된 인체의 약 1g의 대변에 10^7-10^9 정도의 높은 농도로 바이러스가 존재한다. 최근의 연구결과에 따르면 노로바이러스의 인체 감염은 바이러스의 유전적 및 항원적 특성과 human blood group antigen (HBGAs)등의 인체요인 특성에 의하여 결정되는 것으로 알려졌다. 사람에게 있는 HBGAs는 적혈구의 표면과 소화관 등의 점막상피에 존재하는 복합 탄수화물 (complex carbohydrate)로 구성되어 있으며 여러 개의 유전자에 의해 조절되고 있다. 노로바이러스의 VP1 단백질의 P 도메인 항원이 HBGAs의 수용체와 단백질-탄수화물의 상호 작용함으로써 HBGAs에 존재하는 당수용체들이 여러 병원체들을 인식하는 것으로 보고되고 있다.[30] 2002년에는 G I.1 genotype 노로바이러스인 Norwalk 바이러스의 감염에는 인체의 ABO 혈액형이 중요한 결정요인으로 작용하는 것으로 밝혀졌다.[15] 개개인의 ABO 혈액형과 바이러스 위 독소에 대한 감수성 사이의 연관성을 나타낸 최초의 보고로 O형이

노로바이러스 감염에 대한 감수성이 크고 B형의 경우 노로바이러스 감염과 그 증상에 대한 저항성이 큰 것을 확인하였다. 이 결과는 세균성 감염에서 이미 보고된 결과와도 일치 하는데 O형의 경우 *Vibrio cholerae* 에 훨씬 감수성이 크며,[1] B형은 *E. coli* O157:H7에 의한 감염률이 현저히 적음을 보고하였다.[33] 앞서 언급한데로 ABO 혈액형은 적혈구 뿐 아니라 점막 표피세포의 당지질과 당단백질에 있는 탄수화물 항원의 존재 여부로 결정되는데, ABO 혈액형이 바이러스 감염에 중요한 관계를 가지는 이유는 혈액형과 관련된 HBGAs 등의 인체유전자가 바이러스 감염의 receptor로써 작용하는 것으로 생각된다. 위의 연구결과와 함께 G I.1 Norwalk virus를 이용한 human challenge 연구 결과에 따르면 인체의 secretor factor (FUT2)가 비활성 FUT2 대립유전자를 가지는 사람의 경우 (FUT2-/-), 바이러스가 투여된 모든 용량에 대하여 저항성을 나타낸 반면에 FUT+/- 또는 FUT+/+를 가지는 경우 노로바이러스 항체를 생산하거나 바이러스가 발견됨으로 감염에 매우 중요한 역할을 하는 것으로 확인되었다. 그러나, HBGAs 결정 다른 유전인자 (FUT1, FUT3) 들이 인체감염에 미치는 영향이나 HBGAs와 노로바이러스 유전자타입과의 인체감염과의 연관관계는 아직 명확히 규명되지 않고 있다.

노로바이러스는 연령 및 성별에 관계없이 인체에 감염성이 매우 높은 바이러스로 알려져 있으며, 몇 개의 바이러스만으로도 장염 등의 인체질병을 일으키는 infectious dose가 매우 낮은 바이러스이다. 이러한 바이러스에 대한 면역이 되지 않아 재발이 가능하고 장기간 면역반응은 존재하지 않으며 유전적 특성에 따라 심한 증상으로 발전되는 사람도 있다. 그 원인은 감기바이러스 (rhinovirus)와 같은 바이러스의 항원의 다양성에 기인한 것으로 생각된다. 노로바이러스는 사람 혹은 동물 등의 숙주 면역계에 적응하기 위해 매우 독특한 방법으로 발전되어 왔는데, 오염된 식품 등의 섭취로 노로바이러스에 감염이 되어 숙주의 체내로 들어오게 되면 장에서만 replication을 하여 2-3일 동안 장염을 유발하여 많은 양의 수양성 설사를 통해 제거된 후 새로운 숙주에 감염을 위한 신생바이러스 (Progeny virus, 완전한 모양을 갖추기 이전의 바이러스 전구체)로 있게 된다. 이렇게 단순한 생명주기 때문에 노로바이러스는 강력한 숙주 면역반응을 유도할 수 없으며, 다른 기관에 감염되는 등의 추가적인 기능을 위한 침투 기능이 필요가 없다. 또한 여러 가지의 항원 부위를 가지고 있으며, single strand RNA virus이기 때문에 잦은 돌연변이가 가능하여 숙주의 면역반응에 대응하여 살아갈 수 있게 된다.

노로바이러스에 관한 면역반응은 다른 병원성 미생물과 마찬가지로 innate immune response 와 adapted immune response 로 나누어지며, 이중 위에서 언급한 HBGAs와 바이러스 capsid 단백질 등의 특성이 innate immune response에 중요한 역할을 하는 것으로 생각된다. 왜냐하면 노로바이러스 역학조사의 결과에 따르면 특정 HBGAs를 가진 사람은 다른 사람들과는 달리 동일한 노로바이러스의 반복적인 노출에도 불구하고 인체감염이 처음부터 전혀 되지 않은 것으로 밝혀졌다.[16] 이와 같이 특정 인구집단 (genetic polymorphism)의 특정 노로바이러스 (genotype)에 대한 감염이 처음부터 발생하지 않는 이유는 인체 adapted 면역 반응 보다는 특정 인구집단이 바이러스와 반응하는 receptor를 가지고 있지 않아 감염이 되지 않는 것으로 생각된다. 실제로 G I.1 노로바이러스 capsid 단백질의 P2 domain이 HBGAs와 결합하는 것으로 알려졌다.[35] 이와 같은 연구결과에 따르면 HBGAs가 노로바이러스의 cell receptor로써 작용하여 노로바이러스의

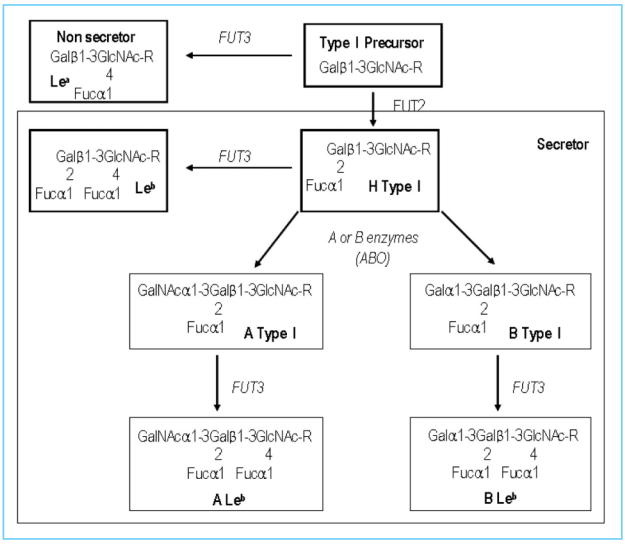

Fig. 4. HBGAs 관련 유전인자의 연관관계[30]

capsid의 P2 domain과 반응하는 것으로 생각되는데 HBGAs가 특정 인구집단 특이성이 있고 7개의 다른 수용체 결합 방식으로 식별된다. HMGAs에 대한 7개의 strain-specific binding 방식은 사람의 HBGAs의 3가지 주요 항원요소(A/B, H, 과 Lewis) 와의 상호관계에 따라 A/B-binding 그룹과 Lewis-binding 그룹의 2개로 구분 된다. A/B binding 그룹은 A와B 또는 B와 H 항원을 인지하는 반면에 Lewis-binding 그룹은 Lewis만 또는 Lewis와 H 항원을 인지한다 (Fig. 4). 즉, 동일하거나 근접한 결합 방식을 가지는 그룹이 집단화 되는 경향이 있어 두개의 결합 그룹은 genogroup Ⅰ과 Ⅱ에서 발견되고 있다. 이는 노로바이러스가 광범위한 숙주 시스템을 가지고 높은 polymorphism 가지는 사람의 HBGA 시스템과의 리간드 결합 다양성을 나타내므로 노로바이러스 발생 과정에 중요한 역할을 수행함을 나타낸다.[14] 바이러스와의 결합 정도 또한 바이러스 capsid의 genotype과 인체의 FUT2, FUT3 등의 HBGAs 관여 유전자의 polymorphism과 밀접하게 연관되어 있는 것으로 생각된다. 이와 함께 노로바이러스 감염관련 면역반응은 주로 IL-2와 IFN-γ등이 관여하는 장내 Th1 cytokine 에 의한 면역반응이 관여하는 것으로 최근 연구에 의하여 보고되었다.[24] 그러나 노로바이러스 감염 관련 자세한 면역과정은 앞으로 더 많이 규명되어야 할 것이다.

5. 노로바이러스의 환경 및 임상에서의 진단 및 분석방법

노로바이러스는 환경매체에서 다양한 물리화학적 요인들에 대하여 저항성이 매우 큰 바이러스이다. 높은 감염성과 환경에서의 강한 저항성 등으로 인하여 노로바이러스의 신속하고 민감한 측정과 진단 및 바이러스 typing 방법은 바이러스에 의한 질병의 예방에 매우 중요하다. 그러나 노로바이러스는 현재까지 적당한 세포배양법이 없고 식품 중에서도 증식되지 않는 특성으로 인하여 식중독 발생 주요 원인 식품인 어패류 및 물을 중심으로 검사법 연구가 진행되고 있다. 식품에서 효과적으로 바이러스를 분리, 농축하고 검사하는 데에는 많은 장애가 있다. 그러므로 식품으로부터 바이러스를 검출하기 위하여 아래와 같은 제한사항을 고려해야 한다. (1) 병원체는 식품에서 활성이 없다. (2) 바이러스는 아주 낮은 숫자로 존재한다. (3) 다주 많은 분석시료가 요구된다. (4) 식품 속에는 저해물질이 존재한다.

노로바이러스의 진단방법으로는 바이러스 입자를 확인하는 전자현미경을 이용한 방법, 특이 항체 등을 이용한 EIA 등의 면역학적 방법, RT-PCR 등을 이용한 분자생물학적 방법 등이 존재한다.

Electron microscopy(EM): 이 방법은 바이러스의 형태학적 특성으로 노로 바이러스를 확인하기 위한 방법으로 분변 등에서 노로바이러스를 검경하기 위해서는 10^6 particles/mL 정도의 농도가 되어야 한다. 그러나 많은 숙련도를 요구하며 아주 초기 감염 단계에서의 검출에 효과가 있다.[4]

Immune electron Microscopy(IEM): immune serum이 분변에서 바이러스 입자와의 면역 반응을 유도하여 바이러스 검출 효율을 높이기 위해 사용 된다.[4] 그러나 질병의 초기단계(처음 24-48시간)에서 모아진 샘플에서만 유용하다는 단점이 있다. 이 외에 노로바이러스를 보다 쉽고 빠르게 검출하기 위해 IEM 방법을 변형한 Solid-phase IEM(SPIEM) 방법으로 grid 위에 바이러스 특이적이거나 broad spectrum immunoglobulin(γ globulin)을 코팅하여 바이러스 입자를 직접 확인하는 방법으로 serotyping을 하는 데 사용되기도 한다.

Enzyme immunoassay(EIA): 면역 반응을 이용한 노로바이러스 검출방법으로 10^4-10^6 viral particles/ml 의 상대적으로 적은 바이러스 농도에서 검출이 가능한 방법이며 발현된 바이러스 항원은 급성기와 회복기 사이 감염환자에서 IgM 항체가 4배 이상 증가 검출로 확인 한다. IgM에 biotin이나 peroxidase를 labeling하여 사용하여 ^{125}I를 labeling했을 때보다 안정성이 훨씬 높아졌다. Antigen-detection EIA의 경우 예민도가 매우 높아서 검출했을 경우 homology가 95% 이상인 것으로 알려져 있고 antibody-detection EIA는 보다 넓은 genogroup을 검출할 수 있다고 알려져 있다.

Nucleic acid detection: 최근에는 노로바이러스 검출하기 위해 유전자를 검출하는 hybridization법, Reverse transcription(RT)-PCR, Real Time RT-PCR법 등이 이용되고 있으며, transcript를 검출하는 NASBA(Nucleic acid sequence-based amplification)에 의한 방법도 보고되고 있다.[19),28),37),39)] 핵산 분석방법의 장점은 급성기 이후에도 100 particles/ml 보다 작은 농도의 환자의 분변에서 뿐 아니

라 4℃에서 여러 달, −70℃에서 여러 해동안 보관된 샘플에서도 노로바이러스 검출이 가능하다. 이 중 미국 CDC는 1993년 RT-PCR을 이용하여 노로바이러스를 검출하기 시작하였으며, 최근에는 Real Time PCR을 이용한 검사법을 확립하여 적용하고 있다.[38] 우리나라 식품의약품안전청에서도 신속하고 간편 검출을 위해 one step RT-PCR을 보다 광범위하게 사용되고 있는데 검출부위도 유전자 분석을 통해 유전자형을 결정할 수 있는 ORF 1에 존재하는 RNA-dependent RNA polymerase (RdRp)와 ORF 2에 존재하는 capsid 부위로 선택하여 유전자형의 감별이 용이하다. 또한 RT-PCR 이후, 전기영동을 수행하여 확인된 PCR product는 위양성의 결과가 가능하므로 hybridization assay와 DNA sequencing 후 homology를 확인하는 실험의 수행이 필요하다. Real Time PCR은 primer 뿐 아니라 probe인 quencher dye와 reporter dye가 필요하다. PCR에 비하여 DNA 증폭시간이 짧고 전기영동에 의한 확인 절차가 없으므로 신속히 결과 확인이 간단하다는 장점이 있다. NASBA는 3종의 효소인 AMV reverse transcriptase, T7 RNA polymerase와 RNAse H의 작용에 의해 RNA를 증폭시키는 등온법으로 Northern blot 분석으로 이루어지며 캐나다에서는 NASBA를 이용한 검출법을 확립하여 사용하고 있다.

Viral RNA 추출 방법: 바이러스의 농축 및 추출은 시료의 양을 줄이는 과정일 뿐 만 아니라 식품시료에 존재하는 inhibitor를 제거하는 과정이다. Antibody capture, Chelation of multivalent cation impurities, Exclusion chromatography, Guanidinium-phenol-chloroform alcohol precipitation, GTC(Guanidinium thiocyanate)-silica, Heat release, PEG-CTAB (Cetyltrimethylammonium bromide) 등의 방법이 알려져 있으며,[3),11),17)] 식품으로부터 바이러스를 추출, 농축은 이들 방법을 조합하여 사용하게 되며 각각의 방법에 따라 검출 율은 상이하게 나타난다. 현재까지 국내에서 확보된 식품 중 식중독 바이러스 추출 방법은 주로 조개류 등의 패류를 중심으로 진행되어 왔고 다른 식품에도 서로 적용 가능한 것으로 알려져 있다.

일반적인 바이러스 검출 감도는 EM법은 10^6, EIA법은 10^5, 세포배양법은 10^{0-1}, hybridization법은 10^4, RT-PCR법은 10^{0-3}으로 보고 있어 EIA의 경우는 민감도가 떨어지고 RT-PCR 등을 이용한 분자생물학적 방법이 감수성이 좋은 것을 알 수 있다 (Table 2). Gunson 등[12)]은 노로바이러스를 검출하기 위하여 Real-Time PCR과 EIA를 비교 검토하였으며, 그 결과 Real-time PCR이 EIA보다 26:10의 비로 검출 율이 높았다고 보고하였다. 그러나 분자생물학적 방법은 수질 등에 낮은 농도로 바이러스가 존재하면 바이러스의 감염성을 알 수 가 없는 단점이 존재하고 바이러스 농축과정에서 생기는 중금속 및 각종 유기물질에 의하여 반응이 저해되기도 한다. 최근에는 항체 등을 이용한 immunomagnetic separation 방법을 이용한 바이러스의 농축방법 등이 식품 등에서의 바이러스 검출에 응용되기도 하였다. 신속하고 민감도가 높아 저 농도로 존재하는 바이러스 검출법의 개발이 공중보건학적으로 시급한 과제이다.

Table 2. 바이러스 검출법의 특성[22)]

검출법	분석원리	감염성 실험	검출한계 (particles/g)
EM	입자모양 검경	No	10^{5-6}
ELISA, latex tests	바이러스 단백질 검출	No	10^5
Probe hybridization	유전자 검출	No	10^4
RT-PCR	유전자 검출	No	10^{1-3}
Cell culture isolation	살아있는 세포특성을 이용한 검출	Yes	10^{0-1}

결 론

국내에서 식중독으로 인한 경제적 손실이 한 해 1조 3000억 원이 넘는다고 한다. 2006년 6월 노로바이러스에 의한 학교 급식 식중독 사고로 생긴 환자는 2800여명으로 식품의약품안전청에서 집계하는 연간 식중독 환자의 절반에 가까운 수치이다. 노로바이러스는 위생과 의료시스템의 미비로 전염되는 후진국형 질병이 아니라 선진국에서도 아주 빈번이 발생하여 확산되는 전염병인자로 2000년 이후 미국, 일본, 유럽 등 위생 선진국에서도 식중독을 제일 많이 유발하는 것으로 보고되어 식품 위생 및 사람의 건강에 매우 중요한 요소로 작용하고 있다. 분자생물학적 진단기술 등의 발전으로 인하여 과거에 원인체가 규

명되지 않은 많은 역학조사의 상당한 부분이 노로바이러스에 의하여 발생하는 것으로 나타나고 있다. 그러나 노로바이러스는 환자 가검물에서는 확인이 가능하지만 식품에서 직접 검출한 예가 전 세계적으로 알려져 있지 않다. 즉 식중독의 원인으로 추정되는 식품에서 노로바이러스를 직접 검출하는 기술이나 이를 제어할 수 있는 기술이 아직 발달하지 않았다. 이는 환경에서의 강한 저항성과 *in vitro* 배양법 등이 개발되어 있지 않아 노로 바이러스의 공중보건학적 중요성에 비하여 미생물의 인체위해성 평가 및 감염요인, 면역반응 등에서 많은 연구가 이루어지지 않고 있기 때문이다.

최근 오하이오주 신시내티 대학의 Jiang[18] 등은 매우 광범위하게 퍼져있는 사람의 노로바이러스 질환을 조절하고 예방하기 위한 해결책으로 효과적인 백신을 만들기 위한 방법을 시도하였다. 그 방법은 B형 간염바이러스에 대한 백신 개발에서 성공적으로 사용되었던 효모를 이용한 접근방법으로 노로바이러스의 캡시드 단백질을 효모에서 발현시켜 virus-like particles(VLPs)를 만들어 효모세포 추출물 상태로 취하여 경구 투여하였을 때 1 mg 까지 부작용 없이 면역 반응이 발생함을 확인함으로 이를 바탕으로 질병의 진단 및 예방을 위한 연구 및 백신 개발이 수행될 것으로 기대된다. 또한 국내에서도 노로바이러스 식중독 발생의 급속한 증가 추세에 따라 최근 전 세계적으로 노로바이러스 검사법 연구에 만전을 기하고 있고, 국내에서도 2004년 식약청을 중심으로 식중독 원인 식품에 대한 역학조사 및 식품 중 노로바이러스 검사법 연구를 수행하고 있다. 그러나 현재까지 개발된 과학기술 수준으로는 구체적인 국내 역학 조사가 쉽지 않으며, 더구나 계속해서 서구화로 진행되고 있는 식단과 전통적으로 다양한 식품군을 갖고 있는 우리나라에서 노로바이러스 감염으로 인한 식중독 사고의 오염원을 찾는다는 것은 어려운 일이다. 하지만 지금부터라도 식품에서 노로바이러스의 검출을 위한 다양한 방법을 연구해야 할 것이고, 노로 바이러스의 분자생물학적 특성 규명과 인체감염의 유전적 요인 및 면역반응을 규명하는 것은 매우 중요하다. 아울러 식중독 예방을 위한 대국민 계몽 · 홍보, 주요 오염식품에 대한 모니터링 수행 및 노로바이러스 저감화 혹은 제거하기 위한 기술 개발 연구에 적극적으로 나서야 할 것이다.

참고 문헌

1. Albert, M. J. Epidemiology and molecular biology of *Vibrio cholerae* O139 Bengal. Indian J. Med Res. **104:** 14-7(1996)
2. Altekruse, S. F., Cohen, M. L., and Swerdlow, D. L. Emerging food borne diseases. Emerg. Infect. Dis. **3:** 285-93(1997)
3. Arnie I. S., Doris H. D., Christine L. M., and Jaykus, L.A. Improved detection of human enteric viruses in foods by RT-PCR. J. Virol. Methods **100:** 57-69 (2002)
4. Atmar, R. L., and Estes, M. K.. Diagnosis of noncultivatable gastroenteritis viruses, the human caliciviruses. Clin.. Microbiol. Rev. **14:** 15-37(2001)
5. Belliot, G., Sosnovtsev, S. V., Mitra, T., Hammer, C., Garfield, M., and Green, K. Y. In vitro proteolytic processing of the MD145 norovirus ORF1 nonstructural polyprotein yields stable precursors and products similar to those detected in Calicivirus-infected cells. J. Virol. **77:** 10957-74(2003)
6. Bertolotti-Ciarlet, A., Crawford, S. E., Hutson, A. M., Estes, M. K. The 3'end of Norwalk virus mRNA contains determinants that regulate the expression and stability of the capsid protein VP1: a novel function for the VP2 protein. J. Virol. **77:** 11603-15(2003)
7. Blackburn, B. G., Craun, G. F., Yoder, J. S., Hill, V., Calderson, R. L., Chen, N., Lee, S. H., Levy, D. A., and Beach, M. J. Surveillance for waterborne-disease outbreaks associated with drinking water-United States, 2001-2002. MMWR Surveil. Summ. **53:** 22-45(2004)
8. Chakravarty, S., Hutson, A. M., Estes, M. K., and Prasad, B. V. V. Evolutionary trace residues in Noroviruses: inportance in receptor binding, antigenicity, virion assembly, and strain diversity. J. Virol. **79:** 554-68(2005)
9. Fankhauser, R. L., Noel, J. S., Monroe, S. S., Ando, T., and Glass R. I. Molecular epidemiology of "Norwalk-like viruses" in outbreaks of gastroenteritis in the United States. J. Infect. Dis. **178:** 1571-8(1998)
10. Fankhauser, R. L., Monroe, S. S., Noel, J. S., Humphrey, C. D., Bresee, J. S., Parashar, U. D., Ando, T., and Glass R. I. Epidemiologic and molecular trends of "Norwalk-like viruses" associated with outbreaks of gastroenteritis in the United States. J. Infect. Dis. **186:** 1-7(2002)
11. Gilbert T. L., Thierry P., Han J., and Joey D. M. Reverse transcription-PCR analysis of bottled and natural mineral waters for the presence of Noroviruses. Appl. Envior. Microbiol. **69:** 6541-9(2003)
12. Gunson, R. N., Miller, J., and Carman, W. F. Comparison of real time PCR and EIA for the detection of outbreaks of acute gastroenteritis caused by norovirus. Commun Dis. Public Health **6:** 297-9(2003)
13. Hardy, M. E. Norovirus protein structure and function. FEMS Microbiol. lett. **253:** 1-8(2005)
14. Huang, P., Farkas, T., Zhong, W., Tan, M., Thornton, S., Morrow, A. L., and Jiang, X. Norovirus and Histo-blood group antigens: Demonstration of a wide spectrum of strin specificities and

classification of two major binding groups among multiple binding patterns. J. Virol. **79:** 6714-22(2005)
15. Hutson, A. M., Atmar, R. L., Graham, D. Y., and Estes, M. K. Norwalk virus infection and disease is associated with ABO histo-blood group type. J. Infect. Dis. **185:** 1335-7(2002)
16. Hutson, A. M., Atmar, R. L., and Estes, M. K. Norovirus disease: changing epidemiology and host susceptibility factors. Trends Microbiol. **12:** 279-87(2004)
17. Ingeborg L. A. B., Jeroen J. H. C. Tilburg., Nathalie A. J., Vennema, H., Klaas J., Enne de B and Marion K. Detection of noroviruses in shellfish in the Netherlands. Int. J. Food Microbiol. **108:** 391-6(2006)
18. Jiang, X., Xia, M., and Farkas, T. Norovirus capsid protein expressed in yeast forms virus-like particles and stimulates systemic and mucosal immunity in mice following an oral administration of raw yeast extracts. J. Med. Virol. **79:** 74-83(2007)
19. Kageyama, T., Kojima, S., Shinohara, M., Uchida, K., Fukushi, S., Hoshino, F., Takeda, N., and Katayama, K. Broadly reactive and highly sensitive assay for norwalk-like viruses based on real-time quantitative reverse transcription-PCR. J. Clin. Microbiol. **41:** 1548-57(2003)
20. Kageyama, T., Shinohara, M., Uchida, K., Fukushi, S. Hoshino, F. B., Kojima, S., Takai, R., Oka, T., Takeda, N., and Katayama, K.. Coexistence of multiple genotypes, including newly identified genotypes, in outbreaks of gastroenteritis due to Norovirus in Japan. J. Clin. Microbiol. **42:** 2988-95(2004)
21. Karst, S. M., Wobus, C. E., Lay, M., Davison, J., and Virgin, H. W. STAT dependent innate immunity to Norwalk-like viruses. Science **299:** 1575-7(2003)
22. Koopmans, M., and Duizer E. Foodborne viruses: and emerging problem. Int. J. Food Microbiol. **90:** 23-41(2004)
23. Leclerc, H., Schwartzbrod, L., and Dei-Cas, E. Microbial agents associated with waterborne diseases. Critical Rev. Microbiol. **28:** 371-409(2002)
24. Lindesmith, L., Loe, C., Lependu, J., Frelinger, J. A., Treanor, J., and Baric R. S. Cellular and humoral immunity following snow mountain virus challenge. J. Virol. **79:** 2900-9(2005)
25. Lopman, B. A., Reacher, M. H., van Duijnhoven, Y., Hanon, F. X., Brown, D., and Koopman, M. Viral gastroenteritidis outbreaks in Europe, 1995-2000. Emerg. Infect. Dis. **9:** 90-6(2003)
26. Lopman, B., Vennema, H., Kohli, E., Pothier, P., Sanchez, A., Negredo, A., Buesa, J., Schreier, E., Reacjer, M., Brown, D., Gray, J., Iturriza, M., Gallimore, C., Bottiger, B., Hedlund, K., Torven, M., Bonsdorff, C., Maunula, L., Poljsak-Prijatelj, M., Zimsek, J., Reuter, G., Szucs, G., Melegh, B., Svennson, L., Duijnhovern, Y., and Koopman, M. Increase in viral gastroenteritis outbreaks in Europe and epidemic spread of new norovirus variant. The Lancet **363:** 682-688(2004)
27. Nilsson, M., Hedlund, K. O., Thorhagen, M., Larson, G., Johansen, K., Ekspong, A., and Svensson, L. Evolution of human Calicivirus RNA in vivo: accumulation of mutations in the protruding P2 domain of the capsid leads to structural changes and possibly a new phonotype. J. Virol. **77:** 13117-24(2003)
28. Nishida, T., Kimura, H., Saitoh, S., Shinohara, M., Kato, M., Fukuda, S., Munemura, T., Mikami, T., Kawamoto, A., Akiyama, M., Kato, Y., Nishi, K., Kozawa, K., and Nishio, O. Detection, quantitation and phylogenetic analysis of noroviruses in Japanese oyster. Appl. Environ. Microbiol. **69:** 5782-6(2003)
29. Parino T. A., Schreiber, D. S., Trier, J. Ss., Kapikian, A. Z., and Blacklow, N. R. Clinical immunity in acute gastroenteritis caused by Norwalk agent. New Engl. J. Med. **297:** 87-9(1977)
30. Pendu, J., Ruvoen-Clouet, N., Kindberg, E., and Svensson, L. Mendelian resistance to human norovirus infections. Seminars in Immunology **18:** 375-386(2006)
31. Prasad, B. V. V., hardy, N. E., Dokland, T., Bella, J., Rossmann, M. G., and Estes, M. K. X-ray crystalographic structure of the Norwalk virus capsid. Science **286:** 287-90(1999)
32. Schaub, S. A., and Oshiro, R. K. Public health concerns about caliciviruses as waterborne contaminants. J. Infect. Dis. **181:** S374-80(2000)
33. Shimazu, T., Shimaoka, M., Sugimoto, H., Taenaka, N., and Hasegawa, T. Does blood type B protect anainst haemolytic uraemic syndrome? An analysis of the 1996 Sakai outbreak of Escherichia coli O157:H7 (VYEC O157) infection. The Osaka HUS Critical Care Study Group. J. Infect. **41:** 45-9(2000)
34. Tan M., Hegde, R. S., and Jiang, X. The P domain of norovirus capsid protein forms dimer and binds to histo-bliid group antigen receptors. J. Virol. **78:** 6233-42(2004)
35. Tan, M., and Jiang, X. The p domain of norovirus capsid protein forms a subviral particle that binds to histo-blood group antigen receptors. J. Virol. **79:** 14017-30(2005)
36. Thornton, A. C., Jennings-Conklin, K. S., and McCormick, M. I. Noroviruses: Agents in outbreaks of acute gastroenteritis. Disaster Manage Response **2:** 4-9(2004)
37. Vinje, J., Nennema, H., Maunula, L., Bonsdorff, C. H., Hoehne, M., Schreier, E., Richards, A., Green, J., Brown, D., Beard, S. S., Monroe, S. S., Bruin, E., Svensson, L., and Koopmans, M. P. G. International collaborative study to compare reverse transciptase PCR assays for the detection and genetyping of noroviruses. J. Clin. Microbiol. **41:** 1423-33(2003)
38. Widdowson, M. A., Sulka, A., Bulens, S. N., Beard, R. S., Chaves, S. S., Hammond, R., Salehi, E. D. P., Totaro, J., Woron, R., Mead, P. S., Bresee, J. S., Monroe, S. S., and Galss, R. I. Norovirus and foodborne disease, United States, 1991-2000. Emerg. Infec. Dis. **11:** 95-102(2005)
39. Wolfaardt, M., Moe, C. L., and Grabow, W. O. K. Detection of small round structured viruses in clinical and environmental samples by polymerase chain reacion. Water Science and technology **31:** 375-382(1995)
40. Woo, G. J., Hwang I. G., Kwak, H. S., Kim, M. G., Park, J. S., Lee, G. Y., and Koh, Y. H. Apply of detection method and evaluation for foodborne virus. Ann. Rep. KFDA **8:** 569-75(2004)