돼지를 이용한 Norovirus 감염모델 개발

Development of Norovirus Infection Model with Pigs

박우정[1], 박병주[1], 안희섭[1], 이정수[2], 주인선[2], 이희정[2], 최인수[1*]

Woo-Jung Park[1], Byung-Joo Park[1], Hee-Seop Ahn[1], Jeong-Su Lee[2], In-Sun Joo[2], Hee-Jung Lee[2], In-Soo Choi[1*]

[1]건국대학교 수의과대학 수의학과, 서울시 광진구 화양동 능동로 120, [2]식품의약품안전처, 충청북도 청주시 흥덕구 오송읍 오송생명2로 187

[1]Department of Infectious Diseases, College of Veterinary Medicine, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea

[2]Ministry of Food and Drug Safety, 187 Osongsaengmyeong2-ro, Osong-eup, Heungdeok-gu, Cheongju-si, Chungcheong-buk-do 363-700, Korea

1. 사람에 감염하는 Norovirus의 일반적 특징

Norovirus는 전 세계적으로 어린아이 및 성인에서 발생하는 식중독의 원인체로서 가장 중요한 위치를 차지하고 있다. 주로 음식과 물을 통해 감염되는 Norovirus는 감염 후 약 1일의 잠복기를 거쳐 1-2일에 복통, 설사 및 발열 등을 동반한 임상증상을 유발한다. Norovirus는 Caliciviridae과에 속하며 크기는 약 28-35 nm로 막이 없는 작은 구형의 바이러스다. Norovirus는 약 7.5 kb에 달하는 단일가닥의 positive-sense RNA 유전체를 단백질외피가 감싸고 있는 형태로 구성되어 있다 (1). 바이러스의 유전체는 3개의 open reading frame (ORF)으로 구성되어 있다 (그림 1).

ORF1은 바이러스 유전체 복제에 필요한 RNA-dependent RNA polymerase를 포함한 6-7개의 비구조 단백질을 생성하는 유전자로 구성되어 있다. ORF2와 ORF3은 바이러스의 구조체를 형성하는데 필요한 구조단백질을 생성하는 유전자로 구성되어 있다. ORF2는 VP1(major capsid) 단백질을 생성하고 ORF3는 아직 기능이 명확히 밝혀지지 않은 VP2(minor capsid) 단백질을 생성하는 유전자로 구성되어 있다 (2). Norovirus는 핵

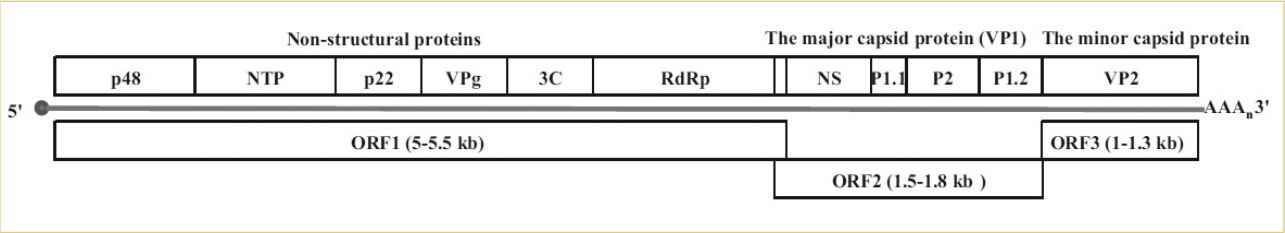

그림 1. Norovirus 유전체 구성. ORF1은 비구조 단백질을 발현하며 ORF2와 3은 VP1(major capsid)와 VP2(minor capsid) 단백질을 발현하는 유전자로 구성되어 있음 (Hoa Tran et al., 2013).

* Correspondence to: In-Soo Choi
Department of Infectious Diseases, College of Veterinary Medicine, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea
Tel: +82-2-2049-6055 Fax: +82-2-3436-5880 E-mail: ischoi@konkuk.ac.kr

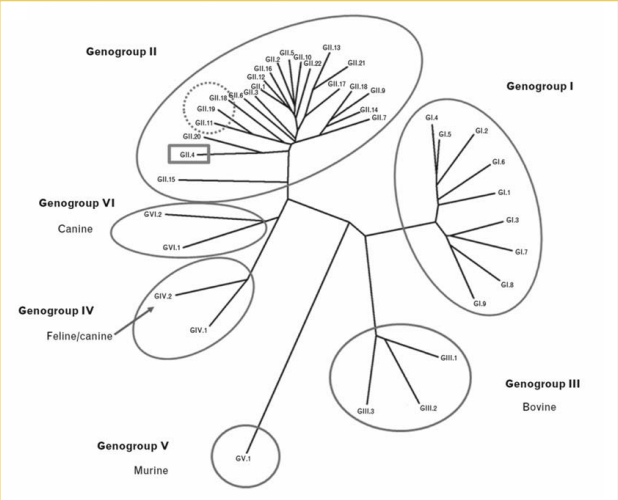

그림 2. Norovirus genogroup에 따른 분류. 사람에 감염하는 것은 GI, GII 및 GIV이며, 돼지에 감염하는 것은 GII, 소에 감염하는 것은 GIII, 개 및 고양이과 동물에 감염하는 것은 GIV, 마우스에 감염하는 것은 GV, 개에 감염하는 것은 GVI로 밝혀져 있음 (Ramani et al., 2014)

산 및 아미노산 서열분석을 통해서 총 6개의 genogroup (GI-GVI)으로 구분되며 사람에 감염하는 것은 GI, GII, GIII로 알려져 있다 (그림 2). 그중 사람에서 발생하는 감염의 약 95% 이상은 GII에 의한 것으로 알려져 있다 (3). Norovirus는 유전적 변이가 매우 빈번히 발생하는 특성이 있기 때문에 각각의 genogroup 내에서 genotype으로 세분화하여 구분한다.

2. 동물에 감염하는 Norovirus

Norovirus는 사람 외에 다양한 동물에도 감염하는 것으로 알려져 있다 (4). 돼지의 대장 내용물을 검사한 결과 돼지의 장 내에 Norovirus가 존재한다는 것이 밝혀졌다. 돼지에서 분리된 Norovirus의 유전자 서열 분석을 통해 돼지 Norovirus가 사람에 감염하는 바이러스와 동일한 그룹인 GII에 속한다는 사실이 일본에서 최초로 확인되었다 (5). 이와 같은 과학적 발견을 토대로 기타 동물에서도 Norovirus가 감염될 수 있다는 사실을 여러 과학자 그룹에서 증명하였다. 현재까지 밝혀진 바에 따르면 소에 감염하는 Norovirus는 GIII에 속하며 (6), 개에 감염하는 Norovirus는 GIV와 GVI에 속하는 것으로 알려져 있다 (7, 8). 최근에 심각한 출혈성 장염으로 폐사된 새끼 사자에서 분리된 Norovirus는 GIV에 속하는 것으로 판명되었다 (9). 돼지, 소 및 개에서 분리되는 Norovirus들은 설사 및 장염을 유발하는 원인체임이 증명되기도 했지만, 반면에 임상증상을 유발하지 않고 정상적 분변에서도 검출되는 경우가 있기 때문에 병원성에 관한 연구는 더 진행되어야 한다고 알려져 있다. 그러나 선천성 면역력이 저하된 마우스에 감염한 Norovirus는 뇌염, 폐렴 및 간염 등을 동반하는 전신적 감염을 유발하는 것으로 밝혀짐으로써 사람 및 기타 동물에 감염하여 국소적 위장관염을 유발하는 Norovirus와는 병원성 발현기전이 상이한 것으로 알려져 있다 (10).

3. 돼지를 이용한 Norovirus의 감염모델 개발

초창기 연구를 통해 분리된 돼지 Norovirus는 대부분 임상증상이 없는 건강한 돼지의 대장 내용물에서 분리되었다 (5, 11). 그러나 최근 들어 기존에 돼지에 감염되던 GII.11, GII.18, GII.19 등과는 다른 새로운 genotype의 Norovirus들이 설사 분변으로부터 분리되고 있다. 이들 Norovirus 중에는 유전자가 재조합된 새로운 변이주 들도 포함되어 있다 (12, 13). 유전자가 재조합된 Norovirus들의 출현은 감염할 수 있는 숙주의 폭이 넓어진다는 사실과 더불어 새로운 인수공통전염병의 원인체가 될 수 있는 확률이 높아지기 때문에 공중보건학 측면에서 매우 중요한 의미를 내포하고 있다. 우리나라에서는 본 연구진을 포함하여 다른 연구팀에 의해 돼지의 분변으로부터 GII.11, GII.18 및 GII.21의 Norovirus가 분리된 바 있다 (14, 15). 돼지의 혈청에 존재하는 항체를 검사한 결과 미국에서 사육되는 돼지 중 약 63%의 돼지는 Norwalk like virus (GI)를 인식하는 항체를 보유하고 있었으며 약 52%의 돼지는 Hawai virus (GII)를 인식하는 항체를 보유하고 있는 것이 증명되었다 (16). 이와 같은 결과들은 상당수의 돼지가 사람에 감염할 수 있는 GI 및 GII Norovirus에 감염되어 있다는 사실을

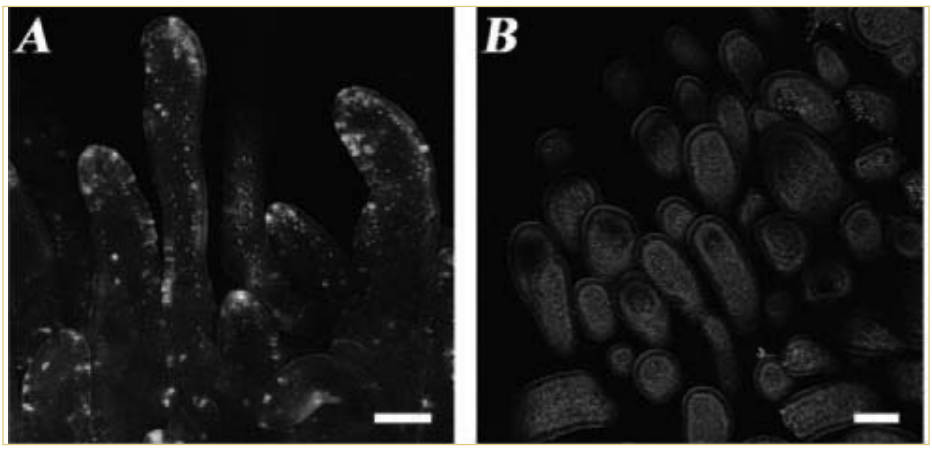

그림 3. Human Norovirus GII.4 에 감염된 무균자돈의 소장 조직 사진.
(A) Norovirus 감염 후 3일째 공장 조직에서 관찰된 Norovirus의 capsid 단백질.
(B) Norovirus에 감염되지 않은 음성 대조군 돼지의 공장 조직. Capsid 단백질이 관찰되지 않음
(Cheetham et al., 2006).

객관적으로 증명하는 것이다. 더욱 중요한 사실은 그동안 사람에만 감염하는 것으로 알려져 있던 GII.4 genotype의 Norovirus가 돼지에서도 감염된다는 것이 증명됨으로써 돼지를 통한 사람으로의 감염이 가능할 것이라는 추측에 무게를 더 하고 있다 (17, 18).

Norovirus의 감염 및 병원성에 관한 연구는 매우 미미하게 진행되고 있다. 미미한 연구의 대표적인 이유는 Norovirus가 감염하고 증식할 수 있는 세포주가 존재하지 않으며 영장류를 제외하곤 감염 및 병원성이 유발되는 실험동물이 없기 때문이다. 그러나 사람에 감염하는 GII Norovirus를 무균돼지 (gnotobiotic pigs)에 감염시킨 결과 장관에서의 바이러스 증식, 설사증상 유발 및 분변을 통한 바이러스의 배출 등이 확인되었다 (19). 실험적으로 총 65두의 무균돼지에 Norovirus를 감염시킨 결과 총 48두의 돼지에서 약한 설사가 유발되는 결과를 확보할 수 있었다(74%). 또한 무균돼지의 십이지장과 공장 부근에서 바이러스의 감염이 확인되었고 장세포의 파괴가 관찰됨으로써 이것이 설사의 주요한 원인이라는 사실 등이 증명되었다 (그림 3).

최근에는 GII.4 2006b 변이주인 Norovirus를 생후 4-5일의 신생자돈과 생후 33-34일의 이유자돈을 대상으로 감염시킨 후 감염력을 평가한 연구도 진행되었다 (20). 이러한 연구를 통해서 확인된 결과는 Norovirus의 감염이 대부분 소장에서 이루어지고 있으며 감염된 장세포의 괴사 및 apoptosis 등에 의해 설사증상이 유발되는 것으로 알려져 있다. 사람을 대신할 수 있는 Norovirus의 감염모델로서 영장류가 가장 적합하지만 영장류를 이용한 실험은 막대한 실험비용 및 동물복지 측면에서 허용이 되지 않는 것이 현실이다. 따라서 현재까지의 연구를 통해 무균돼지만이 사람에 감염하는 Norovirus의 감염과정, 감염력 및 임상증상의 유발 등을 연구하기 위한 최적의 동물모델로 평가받고 있다.

4. 결론

사람에 감염하는 GI 및 GII Norovirus에 대한 항체가 돼지의 혈청에 존재한다는 사실과 사람에서 가장 많이 감염되는 GII.4 Norovirus가 돼지의 분변에서 검출되었다는 것은 돼지가 Norovirus에 감염되는 숙주임을 증명하는 것이다. 또한 돼지에서 배출되는 GI 혹은 GII 뿐만 아니라 유전자 재조합을 통해 출현하는 변이주들은 Norovirus가 돼지를 통해 사람에게 전파될 가능성이 매우 높다는 것을 의미한다. 또한 Norovirus의 감염을 연구할 수 있는 실험동물이 마땅치 않은 상황에서 무균돼지가 GII.4 Norovirus에 감염되고 설사증상이 유발된다는 것이 증명되었다. 따라서 무균돼지 만이 Norovirus 연구에 가장 적합한 실험동물 모델로 평가받고 있으며 무균돼지를 이용한 연구가 보다 활발히 진행되어야 할 것이다.

감사의 글

본 연구는 식품의약안전처의 2014년 용역연구사업의 연구비 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다 (14162 식중독973).

참고 문헌

1. Glass RI, Parashar UD, Estes MK. 2009. Norovirus gastroenteritis. N Engl J Med. 361:1776-1785.

2. Hoa Tran TN, Trainor E, Nakagomi T, Cunliffe NA, Nakagomi O. 2013. Molecular epidemiology of noroviruses associated with acute sporadic gastroenteritis in children: global distribution of genogroups, genotypes and GII.4 variants. J Clin Virol. 56:185-193.

3. White PA. 2014. Evolution of Norovirus. Clin Microbiol Infect. In press. doi: 10.1111/1469-0691.12746.

4. Ramani S, Atmar RL, Estes MK. 2014. Epidemiology of human noroviruses and updates on vaccine development. Curr Opin Gastroenterol. 30:25-33.

5. Sugieda M1, Nagaoka H, Kakishima Y, Ohshita T, Nakamura S, Nakajima S. 1998. Detection of Norwalk-like virus genes in the caecum contents of pigs. Arch Virol. 143:1215-1221.

6. Liu BL, Lambden PR, Gunther H, Otto P, Elschner M, Clarke IN. 1999. Molecular characterization of a bovine enteric calicivirus: relationship to the Norwalk-like viruses. J Virol. 73:819-825.

7. Martella V, Lorusso E, Decaro N, Elia G, Radogna A, D'Abramo M, Desario C, Cavalli A, Corrente M, Camero M, Germinario CA, Banyai K, Di Martino B, Marsilio F, Carmichael LE, Buonavoglia C. 2008. Detection and molecular characterization of a canine norovirus. Emerg Infect Dis. 14:1306-1308.

8. Mesquita JR, Barclay L, Nascimento MS, Vinje J. 2010. Novel norovirus in dogs with diarrhea. Emerg Infect Dis. 16:980-982.

9. Martella V, Campolo M, Lorusso E, Cavicchio P, Camero M, Bellacicco AL, Decaro N, Elia G, Greco G, Corrente M, Desario C, Arista S, Banyai K, Koopmans M, Buonavoglia C. 2007. Norovirus in captive lion cub (Panthera leo). Emerg Infect Dis. 13:1071-1073.

10. Karst SM, Wobus CE, Lay M, Davidson J, Virgin HW IV. 2003 STAT1-dependent innate immunity to a Norwalk-like virus. Science. 299:1575-1578.

11. Sugieda M, Nakajima S. 2002. Viruses detected in the caecum contents of healthy pigs representing a new genetic cluster in genogroup II of the genus “Norwalk-like viruses”. Virus Res. 87:165-172.

12. Shen Q, Zhang W, Yang S, Cui L, Hua X. 2012. Complete genome sequence of a new-genotype porcine norovirus isolated from piglets with diarrhea. J Virol. 86:7015-7016.

13. Shen Q, Zhang W, Yang S, Yang Z, Chen Y, Cui L, Zhu J, Hua X. 2012. Recombinant porcine norovirus identified from piglet with diarrhea. BMC Vet Res. 8:155.

14. Keum HO, Moon HJ, Park SJ, Kim HK, Rho SM, Park BK. 2009. Porcine noroviruses and sapoviruses on Korean swine farms. Arch Virol. 154:1765-1774.

15. Song YJ, Yu JN, Nam HM, Bak HR, Lee JB, Park SY, Song CS, Seo KH, Choi IS. 2011. Identification of genetic diversity of porcine Norovirus and Sapovirus in Korea.Virus Genes. 42:394-401.

16. Farkas T, Nakajima S, Sugieda M, Deng X, Zhong W, Jiang X. 2005. Seroprevalence of noroviruses in swine. J Clin Microbiol. 43:657-661.

17. Mattison K, Shukla A, Cook A, Pollari F, Friendship R, Kelton D, Bidawid S, Farber JM. 2007. Human noroviruses in swine and cattle. Emerg Infect Dis. 13:1184-1188.

18. Chao DY, Wei JY, Chang WF, Wang J, Wang LC. 2012. Detection of multiple genotypes of calicivirus infection in asymptomatic swine in Taiwan. Zoonoses Public Health. 59:434-444.

19. Cheetham S, Souza M, Meulia T, Grimes S, Han MG, Saif LJ. 2006. Pathogenesis of a genogroup II human norovirus in gnotobiotic pigs. J Virol. 80:10372-10381.

20. Bui T, Kocher J, Li Y, Wen K, Li G, Liu F, Yang X, LeRoith T, Tan M, Xia M, Zhong W, Jiang X, Yuan L. 2013. Median infectious dose of human norovirus GII.4 in gnotobiotic pigs is decreased by simvastatin treatment and increased by age. J Gen Virol. 94:2005-2016.