

국내 일부지역 설사환자의 로타바이러스 감염실태 및 분리동정

연세대학교 의과대학 소아과학교실, 충북대학교 의과대학 소아과학교실*, 녹십자†,
축산위생 연구소‡, 충남대학교 수의과대학§, 충북대학교 수의과대학¶

김동수 · 박범수* · 정동혁† · 안재문‡ · 김철중§ · 강신영¶

Prevalence and Identification of Rotaviruses in Stool Specimens of Patients with Acute Diarrhea from Several Regions of Korea

Dong Soo Kim, Beom Soo Park*, Dong Hyuk Jung†, Jae Moon Ahn‡,
Chul Joong Kim§ and Shien Young Kang¶

Department of Pediatrics, Yonsei University College of Medicine, Seoul and
Chungbuk National University*, Green Cross Co. Ltd.†, Seoul,
Institute of Livestock and Veterinary Services‡,
College of Veterinary Medicine, Chungnam National University§, Taejeon and
Chungbuk National University¶, Cheongju, Korea

Purposes : Rotaviruses are the main cause of infantile diarrheal diseases worldwide. The purpose of this study is to obtain epidemiologic data of rotavirus infections in Korea.

Methods : Stool specimens were collected from 150 patients with acute diarrheal symptoms, who were admitted to Yonsei Medical Center and Chungbuk National University Hospital. After isolating the virus from the specimens, the viruses were identified as rotaviruses by electron microscope and fluorescent microscope after staining with rotavirus VP6-specific monoclonal antibody. RNA was extracted from the specimens by modified phenol/chloroform method. Electropherotyping was done with extracted RNA samples after silver staining of the gels. Rotavirus serotyping was done using commercial serotyping ELISA kit.

Results : Rate of infection from rotavirus stool samples was 60%. Isolated rotaviruses were all serogroup A and a majority(46.0%) of these viruses were long type. Serotypes 1 and 2 were identified with serotype 1 being the majority(52.2%). There were no differences in these types between 1991 and 1992, and also between Seoul and Cheongju area.

Conclusion : Electropherotype of rotavirus epidemic in Korea was serogroup A, and long type in the majority. Serotypes of rotavirus epidemic in Korea were type 1 and type 2. These results show that the rotavirus reassortant vaccine developed in America could also handle the rotaviral disease in Korea. (J Korean Pediatr Soc 1999;42:501-509)

Key Words : Rota virus, Electropherotype, Serotype

서 론

접수 : 1998년 8월 10일, 승인 : 1998년 9월 21일
책임저자 : 김동수, 연세대학교 의과대학 소아과학교실
Tel : 02)361-5524 Fax : 02)361-2925

영유아에서 설사를 일으키는 바이러스는 로타바이

러스, 아데노바이러스, 애스트로바이러스, 칼리시바이러스, 코로나바이러스, 파보바이러스 등이 있으나, 이 중 로타바이러스는 선진국과 후진국을 막론하고 영유아 설사의 가장 흔한 원인 바이러스로 알려져 있다. 우리나라에서도 설사 환자에 있어서 가장 흔한 원인 바이러스이며 계절적으로 춥고 건조한 늦가을에서 초겨울에 걸쳐서 전국적으로 발생하는 것으로 보고되어 있다^{1, 2)}.

원인 병원체가 확인되지 못한 과거에는 수양성 설사를 일으키므로 가성 콜레라라고 불리웠으며 이것이 습관이 되어 아직도 이 용어가 흔히 사용되고 있는 실정이다. 로타바이러스가 유아에 있어서 설사의 원인 체라는 것을 처음으로 발견한 사람은 1973년 오스트레일리아의 Bishop 등³⁾에 의하여 설사 환자의 심이 지장 생검 조직의 전자현미경 검사에 의하여 이루어졌다. 그 후 Flewett 등⁴⁾은 바이러스의 형태가 수레 바퀴 모양과 같다고 하여 이에 해당하는 라틴어인 rota로 명명하였다.

로타바이러스는 바깥에 존재하는 VP4 및 VP7 단백을 기초로하여 혈청형(serotype)으로 나누며, RNA를 전기영동하였을 때 나타나는 양상으로 electropherotyping을 한다^{5, 6)}. 최근들어 로타바이러스에 대한 백신이 이미 개발되어 시판 직전에 있고 우리나라에도 이 백신이 사용될 전망이지만 우리나라는 아직 어떤 electropherotype과 혈청형이 흔한지 조사된 바가 없는 실정이다. 이에 연구자들은 우리나라에 흔한 로타바이러스의 혈청형을 조사하여 로타바이러스에 대한 기초 역학자료 및 백신 사용 이전에 정보를 얻고자 본 연구를 시행하였다.

대상 및 방법

1. 대변

1991년에서 1992년도에 걸쳐 연세대학교 의과대학 소아과와 충북대학교 의과대학 소아과에 설사를 주소로 입원한 2세 이하의 환아 150명의 설사분변을 채취하여 영하 20°C에 보관하여 사용하였다.

2. RNA추출

다음과 같이 변형된 phenol/chloroform 방법에 의하여 대변으로부터 viral RNA를 추출하였다. 먼저 PBS로 10%의 대변 혼탁액을 만들어 membrane

filter로 filter한 용액에 동량의 phenol/chloroform을 섞어 단백을 제거한 후 ethanol을 첨가하여 RNA를 침전시켰다. 이 침전물을 가지고 electropherotyping을 실시하였다.

3. Electropherotyping

Laemli 방법⁷⁾을 이용하여 실시하였는데 7.5% polyacrylamide slab gel에 RNA를 loading하여 15-20mA로 16시간 동안 전기영동하였다. 전기 영동이 끝난 후 silver staining이나 또는 ethidium bromide로 염색하여 rotavirus 특유의 띠를 관찰하였다.

4. Serotyping

분변샘플의 로타바이러스 혈청형조사는 Serotec (Japan)에서 개발된 로타바이러스 serotyping kit를 사용하였다. 간단히 설명하면, 각각의 혈청형(G1, G2, G3, G4)에 특이적으로 반응하는 단클론항체로 coating된 96 well에 분변상층액을 넣고 1시간 반응시켰다. PBS-tween 20으로 세척하고 1:5,000배로 희석한 rabbit anti-human rotavirus 항혈청으로 반응시킨 다음 1:10,000으로 희석한 peroxidase conjugated goat anti-rabbit IgG로 반응시켰다. 다음에 발색제로 o-phenylenediamine을 사용하여 발색시킨 후 ELISA reader를 사용하여 발색정도를 측정하였다.

5. 세포배양과 바이러스 분리

Rhesus monkey 태아의 신장으로 부터 유래된 MA104 cell을 로타바이러스 분리를 위하여 사용하였다. 배지로는 8%의 fetal calf serum이 첨가된 Eagle's minimum essential medium(EMEM)을 사용하였으며 유지배지에는 혈청을 첨가하지 않았다. Electropherotyping에서 양성으로 나타난 분변재료를 바이러스 분리재료로 사용하였다. 분변재료를 배양세포에 접종하기 위하여 EMEM으로 10배 희석한 다음 5,000 rpm에서 30분 동안 원심분리하고 0.45 μm 필터로 여과하였다. 접종 전의 배양세포는 배양액을 제거한 다음 serum free medium(SFM)으로 혈청을 제거하기 위하여 2번 세척하였다. 접종전에 분변재료는 trypsin(type III, Sigma Co., St. Louis, MO)을 최종농도가 10 μg/ml 되도록 하여 37°C에서 30분 반응시켰다. 이렇게 trypsin으로 처리한 분변재료를 MA104 cell에 접종하고 37°C에서 1시간 동안 흡착

한 다음 접종물을 제거하고 배양세포를 SFM으로 한번 세척하였다. 다음에 $1.0 \mu\text{g}/\text{ml}$ 의 trypsin이 함유된 EMEM을 넣어 주었다. 감염된 배양세포는 37°C 에서 회전배양하였다. 감염 1주 후에 세포변성효과 (cytopathic effect; CPE)가 나타나는지 여부를 관찰하였으며 CPE가 나타나면 배양상층액을 3회 얼리고 녹이는 과정을 반복하여 -20°C 에 보관하며 다음 배양에 사용하였다. 배양세포의 접종과 수확은 초대배양과정과 동일하게 실시하였다.

6. 면역형광법

96-well plate에 MA104 cell 배양한 다음 CPE 양성을 나타내는 배양상층액을 감염시켰다. 감염된 plate는 37°C 에 정치배양하여 CPE가 나타나면 PBS로 세 번 세척하고 80% acetone으로 고정하였다. 다음에 로타바이러스 VP6에 특이적인 단클론항체를 넣고 37°C 에서 60분간 반응시켰다. 다시 PBS로 세 번 세척한 다음 FITC-conjugated anti-mouse IgG를 넣고 37°C 에 60분 동안 반응시켰다. 이것을 다시 PBS로 세 번 세척한 다음 공기중에 건조하여 glycerol buffer로 mounting하여 형광현미경으로 검정하였다.

7. 전자현미경 관찰

Rotavirus의 전자현미경 관찰은 다음과 같이 하였다. 먼저 로타바이러스에 감염된 세포를 접종후 20시간에 모아서 4°C 에서 3,000rpm으로 10분 동안 원심하였다. 이 상층액을 다시 4°C 에서 25,000rpm으로 2시간 동안 원심하였다. 이렇게 만들어진 pellet은 1-3 방울의 중류수에 부유시켜 carbon-formvar가 coating된 copper grid에 도말하였다. 그리고 2% phosphotungstic acid로 염색하여 전자현미경으로 80kV에서 관찰하였다.

결과

1. 로타바이러스 동정

로타바이러스의 전자현미경 소견은 Fig. 1에서 보는 것처럼 전형적인 이중 shell의 차바퀴모양의 소견을 보이고 있다. MA104 세포에 접종된 로타바이러스는 로타바이러스의 VP6 특이 단클론 항체인 RG-25A10으로 염색한 결과 세포질 내에 로타바이러스가

잘 염색이 되는 반면 coronavirus 특이 단클론 항체인 25H7으로 염색한 경우는 염색이 되지 않았다 (Fig. 2). Fig. 3은 14명의 환아 대변에서 추출한 RNA의 electropherotyping 소견을 보여주는 것으로 14명 모두 serogroup A임을 알 수 있었고 이들은 short pattern과 long pattern이 섞여 있었다. Short pattern과 long pattern은 Fig. 4에 다시 잘 보여주고 있다.

2. 로타바이러스 분포

로타바이러스는 모두가 serogroup A였고 serogroup B나 serogroup C는 한 건도 발견할 수 없었다. 1991년도에는 71개의 대변 중 45개의 대변에서 로타바이러스가 검출되어 63.4%의 검출률을 보였고 이중 42.3%인 30개가 long pattern, 12개(16.9%)가 short pattern, mixed type이 1개로 대부분이 long pattern을 보였다. 1992년도에도 1991년도와 분포는 별로 차이가 없었다. 79개 대변 중 45개(57.0%)에서 로타바이러스가 검출되었고 이중 49.3%인 39개가 long pattern이었고 4(5.1%)개가 short pattern으로 역시 long pattern이 주종을 이루고 있었다. 두해를 종합하면 150개의 대변 중 60%인 110개에서 로타바이러스가 검출되어 영유아 설사의 많은 원인이 로타바이러스임을 알 수 있었고 이들은 모두 serogroup A였으며 주로 long pattern임을 알 수 있었다 (Table 1). 이처럼 로타바이러스 형이 연도에는 관계

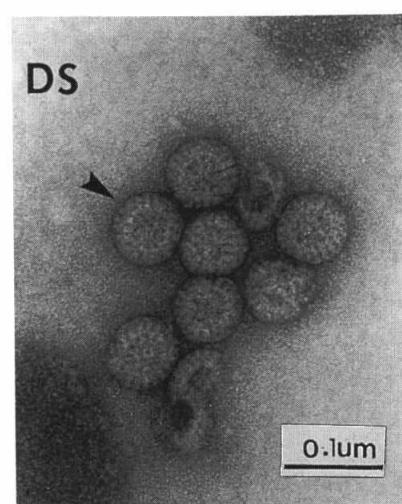


Fig. 1. Typical rotavirus particles obtained by electron microscope revealed a double structure.

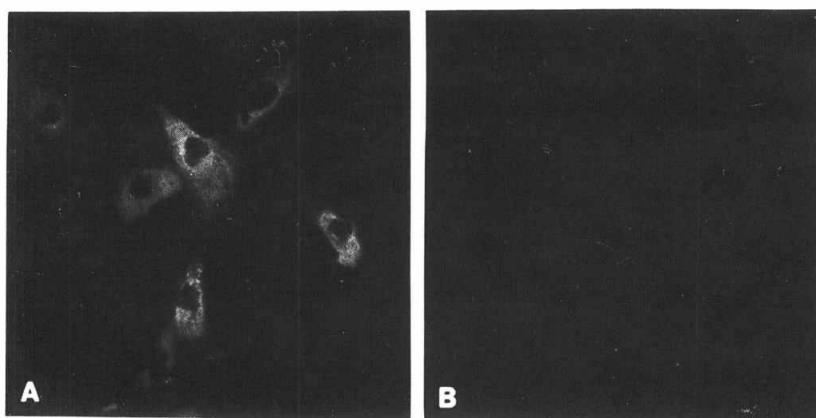


Fig. 2. Immunofluorescence of MA104 cells 2 days after inoculation with the tissue-culture-isolated human rotavirus(A:treated with rotavirus VP6-specific monoclonal antibody RG25A10m B:treated with coronavirus specific monoclonal antibody 25H7).

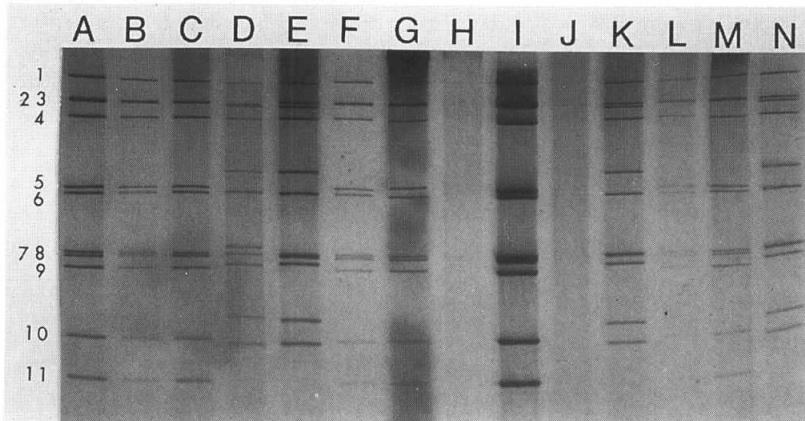


Fig. 3. RNA migration patterns of human rotavirus isolated from 14 different fecal samples.

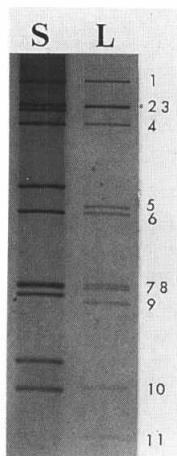


Fig. 4. Typical RNA migration pattern of tissue culture-isolated human rotavirus from fecal samples(S: short pattern, L: long pattern).

없는 것으로 보여져서, 지역적인 차이가 있는지를 알아보기 위하여 서울 지역과 청주지역을 비교해 보았으나(Table 2) 마찬가지로 설사환자에서 로타바이러스 검출율이 50-60% 정도를 이루고 있었으며 long pattern 이 주종을 이루고 있었다.

로타바이러스의 serotype을 관찰하여본 결과 serotype 1이 가장 많았고 그 다음으로 serotype 2가 많았으며 serotype 3과 4는 관찰되지 않았다. 이러한 양상은 1991년도나 1992년도나 마찬가지여서 연도별 차이가 없었으며(Table 3), 지역별 차이도 없었다 (Table 4).

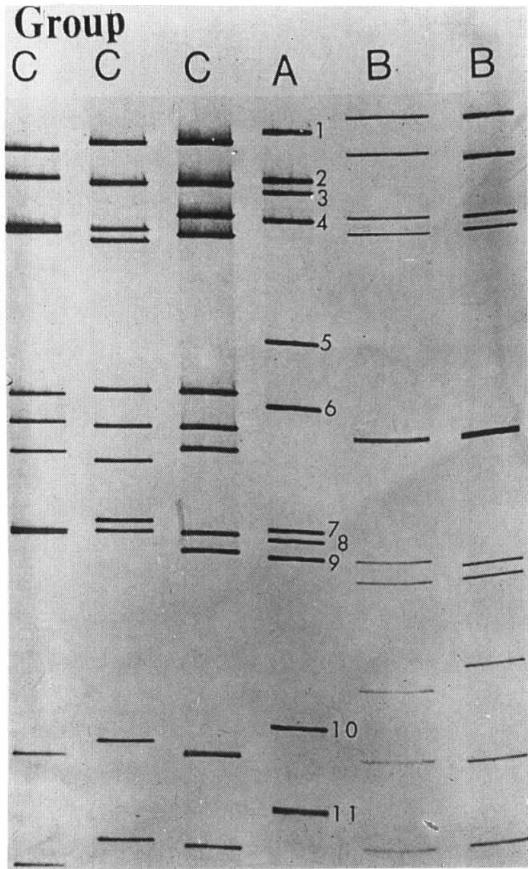


Fig. 5. Typical RNA migration patterns of three different groups of rotaviruses(A : group, B : group, C : group C).

Table 1. Detection of Human Rotaviruses from Fecal Samples Collected from 1991 to 1992 by Electropherotyping Analysis

Year	Positive				Negative Total	
	Long	Short	Mixed	Unknown		
1991	30 (42.3)	12 (16.9)	1 (1.4)	2 (2.8)	26 (36.3)	71 (100.0)
1992	39 (46.0)	4 (10.7)	1 (1.3)	1 (2.0)	34 (40.0)	79 (100.0)
Total	69 (46.0)	16 (10.7)	2 (1.3)	3 (2.0)	60 (40.0)	150 (100.0)

고찰

로타바이러스는 전세계적으로 영유아 급성 설사증의 가장 흔한 원인을 차지하고 있으며, 위생상태가 좋지 않은 후진국이나 개발도상국 뿐만 아니라 위생

Table 2. Detection of Human Rotaviruses from Fecal Samples Collected from 1991 to 1992 by Electropherotyping Analysis

Area	Positive				Negative	Total
	Long	Short	Mixed	Unknown		
Seoul	54 (49.5)	11 (10.1)	1 (1.0)	3 (2.7)	40 (36.7)	109 (100.0)
Cheong-ju	15 (36.6)	5 (12.2)	1 (2.4)	1 (0.0)	20 (48.8)	41 (100.0)
Total	69 (46.0)	16 (10.7)	2 (1.3)	3 (2.0)	60 (40.0)	150 (100.0)

Table 3. Serotyping of Human Fecal Samples Collected from 1991 to 1992

Year	S-1	S-2	S-3	S-4	Untypable	Total
1991	22 (48.9)	11 (24.4)	0	0	12 (26.7)	45 (100.0)
1992	25 (55.6)	5 (11.1)	0	0	15 (33.3)	45 (100.0)
Total	47 (52.2)	16 (17.8)	0	0	27 (30.3)	90 (100.0)

Table 4. Serotyping of Human Fecal Samples Collected from Seoul and Cheongju Area during 1991 and 1992

Year	S-1	S-2	S-3	S-4	Untypable	Total
Seoul	38 (55.1)	11 (15.9)	0	0	20 (29.9)	69 (100.0)
Cheong-ju	9 (42.9)	5 (23.8)	0	0	7 (33.3)	21 (100.0)
Total	47 (52.2)	16 (17.8)	0	0	27 (30.3)	90 (100.0)

상태가 좋은 선진국에서도 심한 설사를 일으키는 중요한 원인이 되고 있다^{8,9)}. 우리나라에서도 년중 발생되지만 대부분은 춥고 건조한 늦가을에서 초겨울에 걸쳐 전국적으로 가장 많이 발생하는 것으로 보고되어 있다¹⁾.

로타바이러스는 1973년 Bishop 등³⁾에 의해서 심한 설사를 일으키는 영유아에서 발견되었는데 처음에는 십이지장 조직의 표본에서 전자현미경에 의하여 처음으로 관찰되었고, 대변에서 발견된 것은 그 후 Bishop 등¹⁰⁾과 Flewett 등¹¹⁾에 의하여 보고되었다. Flewett 등⁴⁾은 바이러스 형태가 수레바퀴 모양과 비

슷하다고 하여서 영어의 수레바퀴(wheel)에 해당하는 라틴어로 rota라고 명명하였다. 그 후 2세 이하의 영유아에서 설사로 인한 입원 환아의 35~50%가 로타바이러스에 의한 것임이 밝혀졌다¹²⁾. 이러한 로타바이러스의 발견이 사람에서는 1973년에 이루어졌지만³⁾, 동물에서 많은 설사의 원인이 로타바이러스에 의한다는 사실은 이보다 10년전인 1963년도에 보고되었다¹³⁾.

로타바이러스는 전자현미경 소견상 Fig. 1에서 보이는 것처럼 직경이 약 70nm이고 이중층의 20면체인 단백캡시드로 되어있다^{14~18)}. 그러나 최근들어 cryo-electron microscope방법에 의하여 관찰한 결과 이중층이 아니고 삼중층으로 구성되어 있음이 알려졌다^{19, 20)}. 제일 바깥쪽 층은 VP4와 VP7으로 불리우는 단백에 의하여 이루어져 있고 VP4 단백은 dimer의 형태로 바깥쪽으로 11~12nm 정도 길이의 안테나처럼 돌출되어 있다. 그리하여 이 안테나와 같은 구조의 길이까지 합한다면 로타바이러스는 약 100nm 정도의 크기를 가지고 있다. 가운데 층은 VP6로 구성되어 있고 맨 안쪽 층은 VP2로 구성되며 VP2는 로타바이러스의 11개 RNA genome을 담고 있다.

이 유전자는 여섯 개의 구조단백(VP1, VP2, VP3, VP4, VP6, VP7)과 다섯 개의 비구조단백(NSP1, NSP2, NSP3, NSP4, NSP5)을 coding하고 있다²¹⁾. VP1과 VP3는 inner core 단백으로 각각 RNA polymerase와 guanyltransferase이며 VP2는 inner capsid 단백으로 RNA 결합과 leucine zipper의 기능을 가지고 있다. VP4는 outer capsid 단백으로 혈구응집, 중화항체형성, 수용체결합 및 fusogenic protein의 기능을 가지고 있다. VP6는 intermediate capsid 단백으로 group 및 subgroup 항원성을 띠고 있으며, VP7은 outer capsid 단백으로 중화항체형성의 기능을 가진다. NSP1은 비구조단백으로 zinc fingers를 함유하고 있고, NSP2와 NSP3는 RNA와 결합한다. NSP4는 비구조당단백으로 transmembrane단백이며 NSP5는 인산화 되어있다²²⁾.

Rotavirus 유전자의 RNA분절을 polyacrylamide gel에 전기영동하면 그림 5에서 보여주는 것처럼 11개의 띠를 보이는데 이 띠의 특징적인 RNA 양태를 가지고 로타바이러스의 group을 나누게 된다^{5, 6)}. 일 반적으로 11개의 RNA분절은 4군으로 나뉘게 되는데 serogroup A는 번호를 매겨보면 1, 2, 3, 4번째 4개

의 분절들이 먼저 한 군으로 모이고 다음 5, 6번째 두 개의 분절이 두 번째 군으로 모이며 그다음 7, 8, 9번째 세 개의 분절들이 세 번째군으로 모이고 마지막으로 10, 11번째가 네 번째 군으로 모여 나타난다. Serogroup B는 첫 번째군이 1, 2, 3, 4번째분절이 모이고 두 번째군은 5, 6번째 분절이, 세 번째군은 7, 8번째 분절이 마지막 네 번째군은 9, 10, 11번째 분절이 모여 나타난다. Serogroup C는 첫 번째 군이 역시 1, 2, 3, 4번째 분절이 모이고, 두 번째군은 5, 6, 7번째 분절이, 세 번째 군은 8, 9번째 분절이, 마지막 네 번째군은 10, 11번째 분절이 모여 나타난다^{23, 24)}.

이러한 모양을 electropherotype이라고 하고 이것을 이용하여 로타바이러스 역학 연구에 이용하고 있다. 일반적으로 알려져 있는 사람에서 흔히 감염을 유발하는 것은 serogroup A가 주종인 것으로 알려져 있고 serogroup B나 C는 동물에서 문제가 되는 것으로 알려져 있다. 그러나 보고에 의하면 serogroup B와 C가 사람에게 감염을 유발했다는 보고가 중국 및 일본에서 있었다^{25, 26)}. 이번 연구에서도 이 방법을 사용하여 우리나라에서 유행하는 로타바이러스 serogroup를 알아보았으며 기존의 알려진 바대로 전례에서 serogroup A임이 밝혀졌다.

바깥 shell에 존재하는 VP4, VP7단백은 앞서 설명한 것처럼 바이러스 중화에 관여하는 항원의 역할을 하는데 이들에 의하여 바이러스의 혈청형을 나누게 된다^{27, 28)}. 처음에는 VP7만 가지고 혈청형을 분류하였는데 그 이유는 로타바이러스를 접종하였을 때 주로 이 항원에 대한 항체가 생기기 때문이었다²⁹⁾. 그러나 경우에 따라서 VP4도 주된 중화단백으로 작용하기 때문에 이중으로 혈청형을 분류할 필요성을 느끼게 되었다³⁰⁾. 그러므로 두가지의 numeric system이 시도되었는데 하나는 comparative nucleic hybridization과 sequence analysis에 의하여 genotyping²²⁾을 하고 baculovirus-expressed VP4단백에 대한 항체를 이용하여 중화검사를 하는 혈청형분류를 하게 되었다³¹⁾.

VP4와 VP7에 기초한 로타바이러스 분류는 P type과 G type으로 명명되었다²²⁾. 현재까지 14가지 G type²²⁾과 20가지 P type이 알려져 있다³²⁾. 인형로타바이러스는 11개의 G type이 알려져 있지만³³⁾ G1, G2, G3, G4 등 4가지가 주종을 이루고 있고 이

에 해당하는 것으로 일반적으로 serotype 1, 2, 3, 4로 부르고 있다²¹⁾. 물론 이러한 serotype과 질환의 중등도와의 상관 관계는 없는 것으로 알려져 있다. 이번 연구에 의하면 우리나라에서는 주로가 serotype 1과 serotype 2가 문제가 되는 혈청형이었는데 이중에서도 serotype 1이 더 많은 경우에서 검출되었다. 이번 실험에서 혈청형을 동정할 수 없는 경우가 27례로 30.3%를 차지하였는데 이는 검사재료의 보관이나 수송과정에서 바이러스 외층막의 손상이 있었던 것으로 추측된다. 또한 Ward 등³⁰⁾은 조직배양에 적응된 로타바이러스가 혈청분석에 사용된 단클론항체와 반응하지 않는 이유로 감염성있는 바이러스 입자의 수가 적을 경우와 바이러스 분리주의 epitope가 변이되었을 경우 단클론항체와 반응하지 않아 혈청형을 분석할 수 없다고 하였다. 이와같이 본 실험에서 혈청형이 분석되지 않은 이유는 분석에 사용된 재료의 바이러스 양이 적었거나 바이러스 변이주 때문일 것으로 추정되며 또는 분석에 사용된 serotype 1-4이 외의 혈청형일 가능성도 배제할 수 없다.

VP6단백은 다시 subgroup I과 II로 나뉘는데³⁴⁾ 거의 대부분의 G2, G8 serotype은 subgroup I에 속하고 subgroup II에는 G1, G3, G4, G9 serotype이 속한다²⁹⁾. 사람에서 subgroup I은 특징적으로 "short(S)" electropherotype을 보이고 subgroup II는 "long(L)" electropherotype을 보이는데 이것은 10, 11번째 분절의 이동 때문에 생기는 현상이다³⁵⁾. 본 연구에서 우리나라는 주로 L type을 보이고 있었다.

로타바이러스가 사람에게 감염이 되었을 때 생기는 면역 반응은 체액성면역과 세포성 면역으로 나눌 수 있다. 체액성 면역은 혈중에 먼저 IgM항체가 생기고 이어서 IgG항체와 IgA항체가 증가하게 된다³⁶⁾. 물론 로타바이러스는 장으로 침투하기 때문에 국소적인 항체가 유도되는데 특히 IgA항체가 유도되고 아울러 IgG와 IgM항체가 발현된다³⁶⁾. 세포성 면역으로는 특히 로타바이러스특이 CD8+ T세포 반응이 유도되는 것으로 알려져 있다³⁷⁾.

로타바이러스의 항원 중에서 가장 중요한 면역원 단백으로는 VP6를 들수가 있는데 이러한 이유로 기존에 개발된 ELISA는 주로 이 항원에 대한 항체를 측정하는 것이다. 그러나 실제적으로 숙주의 방어를 위해 필요한 중화항체는 앞서 기술한 대로 가장 외벽

에 위치한 중화항원인 VP4나 VP7에 대한 항체이다. 실제로 실험동물에 이 항체를 수동면역 시키고 바이러스에 노출 시켰을 때 감염으로부터 보호되는 것을 알 수 있었다³⁸⁾. 이러한 VP4와 VP7 단백은 type-specific, cross-reactive serotype response를 유발하는 것으로 알려져 있다. 하지만 VP7 단백은 주로 type-specific response를 유발하고, VP4 특히 VP5부위는 cross-reactive response를 유발한다³¹⁾.

로타바이러스 특이 CD8+ T림프구는 VP4 보다는 VP7항원을 잘 인식하며 serotype specific하지는 않다³⁷⁾. 물론 이 림프구를 adoptive transfer할 때 바이러스 감염에 의한 질병 유발이 예방될 수 있음이 보고되었다³⁹⁾.

이처럼 VP4항원과 VP7항원은 백신 개발에 중요한 항원으로 알려져 있으며 최근들어 소나 원숭이의 로타바이러스에 인형 VP4나 VP7으로 대체된 reassortant 백신이 개발되기에 이르렀고 효과도 우수한 것으로 알려져 곧 시판이 될 예정으로 있다. 여기에 사용된 소나 원숭이의 로타바이러스는 사람에서 가장 흔히 발견되는 G1, G2, G3, G4 type을 사용하고 있다^{21, 40)}.

결론적으로 이번 연구에 의하면 우리나라에서 유행하는 로타바이러스가 주로 G1 type과 G2 type인 점으로 미루어 이 백신을 우리나라에서 사용하였을 때 로타바이러스의 예방효과는 확실할 것으로 생각된다. 물론 본 연구가 6년 전에 이루어 진 것이기 때문에 지금도 그대로 그 결과를 적용할 수 없으리라는 생각이지만, 이번 결과에서 처럼 1991년도와 1992년도가 특별한 차이가 없는 것으로 보아 이러한 분포에 대하여는 6년전과 비교하여 현재 시점에서 크게 달라졌으리라고 생각되지는 않는다. 그러나 이러한 연구는 매년 계속해서 이루어 져야하고 이러한 연구를 바탕으로 백신접종에 대한 기준을 정할 필요가 있을 것으로 생각된다.

요약

목적: 로타바이러스는 전 세계적으로 영유아에서 유행하는 설사질환의 가장 흔한 원인 바이러스이다. 본 연구에서는 우리나라에서 유행하는 로타바이러스의 electropherotype과 serotype을 알아 역학적인 자료를 얻고자하였다.

방 법 : 1991년과 1992년 겨울철에 설사를 주소로 연세대학교 의과대학 소아과 및 충북의대 소아과에 입원한 2세 이하의 환아의 대변을 얻어 바이러스 배양을 하고 전자현미경 및 형광현미경으로 바이러스를 동정하였다. 또 대변에서 바이러스의 RNA를 추출하여 전기영동한 후에 은염색을 통하여 electropherotype을 결정하였고 ELISA kit를 이용하여 serotype을 결정하였다.

결 과 : 로타바이러스는 설사환자의 60%에서 확인이 되었으며 모든 경우에서 serogroup A였다. 이중 long type이 거의 반수를 차지하였다. Serotype은 주로가 type 1과 type 2였으며 type 1이 주종을 이루는 것으로 나타났다. 이러한 분포는 1991년이나 1992년이나 차이가 없었고 또 서울이나 청주나 지역적인 차이도 없었다.

결 론 : 우리나라에서 유행하는 로타바이러스는 electropherotyping 결과 모두가 serogroup A이며 주로가 "L" type이고, serotyping 결과 type 1과 type 2가 주종을 이루면서 이중에서도 type 1이 가장 흔하였다. 이러한 역학적인 결과는 현재 미국에서 개발된 로타바이러스 백신이 우리나라에서도 충분한 효과가 있을 것으로 예상되며, 로타바이러스의 serotype에 대한 역학조사는 앞으로도 계속되어져야 할 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

- 1) 장혜경, 김창렬, 오성희, 이하백, 이근수. 소아 Rotavirus 설사증에 대한 고찰. 소아과 1988;31:961-7.
- 2) 문경래. 로타바이러스. 소아과 1993;36:1339-42.
- 3) Bishop PF, Davidson GP, Holmes IH, Ruck BJ. Virus particle in epithelial cells of duodenal mucosa from children with acute nonbacterial gastroenteritis. Lancet 1973;2:1281-3.
- 4) Flewett TH, Bryden AS, Davies H. Virus particles in gastroenteritis. Lancet 1973;2:14.
- 5) Clark JD, Hill SM, Phillips AD. Investigation of hospital acquired rotavirus gastroenteritis using RNA electrophoresis. J Med Virol 1988;26:289-99.
- 6) Dolan KT, Twist EM, Horton-Slight P, Forrer C, Bell LM Jr, Plotkin SA, et al. Epidemiology of rotavirus electropherotypes determined by a simplified diagnostic technique with RNA analysis. J Clin Microbiol 1985;21:753-8.
- 7) Laemli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacterio-
- phage T4. Nature 1975;256:495-7.
- 8) De Zoysa I, Feachem RG. Interventions for the control of diarrhoeal diseases among young children: rotavirus and cholera immunization. Bull WHO 1985;63:569-83.
- 9) Haffejee IE. The epidemiology of rotavirus infections: a global perspective. J Pediatr Gastroenterol Nutr 1995;20:275-86.
- 10) Bishop RF, Davidson GP, Holmes IH, Ruck BJ. Detection of a new virus by electron microscopy of faecal extracts from children with acute gastroenteritis. Lancet 1974;1:149-51.
- 11) Flewett TH, Bryden AS, Davies H, Woode GN, Bridger JC, Derrick JM. Relation between viruses from acute gastroenteritis of children and newborn calves. Lancet 1974;2:61-3.
- 12) Kapiak AZ. Viral gastroenteritis. JAMA 1993; 269:627-30.
- 13) Adams WR, Kraft LM. Epizootic diarrhea of infant mice: identification of the etiologic agent. Science 1963;141:359-60.
- 14) Esparza J, Gil F. A study on the ultrastructure of human rotavirus. Virology 1978;91:141-50.
- 15) Holmes IH, Ruck BJ, Bishop RF, Davidson GP. Infantile enteroviruses: morphogenesis and morphology. J Virol 1975;16:937-43.
- 16) Kogasaka R, Akihara M, Horino K, Chiba S, Nakao T. A morphological study of human rotavirus. Arch Virol 1979;61:41-8.
- 17) Martin ML, Palmer EL, Middleton PJ. Ultrastructure of infantile gastroenteritis virus. Virology 1975;68:146-53.
- 18) Staandard LM, Schoub BD. Observations on the morphology of two rotaviruses. J Gen Virol 1977; 37:435-39.
- 19) Prasad BVV, Chiu W. Structure of rotavirus. Curr Top Microbiol Immunol 1994;185:9-29.
- 20) Shaw AL, Rothnagel R, Chen D, Ramig RF, Chiu W, Prasad BV. Three-dimensional visualization of the rotavirus hemagglutinin structure. Cell 1993;74:693-701.
- 21) Bernstein DI, Ward RL. Rotaviruses in Feigin RD, Cherry JD, textbook of pediatric infectious diseases 4th ed. Philadelphia : WB Saunders, 1998: 1901-22.
- 22) Estes MK, Cohen J. Rotavirus gene structure and function. Microbiol Rev 1989;53:410-49.
- 23) Bridger JC. Novel rotaviruses in animals and man. Ciba Found Symp 1987;128:5-23.
- 24) Pedley S, Bridger JC, Brown JF, McCrae MA. Molecular characterization of rotaviruses with distinct group antigens. J Gen Virol 1983;64: 2093-101.

- 25) Hung T, Chen GM, Wang CG, Yao HL, Fang ZY, Chao TX et al. Waterborne outbreak of rotavirus diarrhoea in adults in China caused by a novel rotavirus. *Lancet* 1984;1:1139-42.
- 26) Matsumoto K, Hatano M, Kobayashi K, Hasegawa A, Yamazaki S, Nakada S, et al. An outbreak of gastroenteritis associated with acute rotaviral infection in school children. *J Infect Dis* 1989;160:611-5.
- 27) Hoshino Y, Sereno MM, Midtun K, Flores J, Kapikian AZ, Chanock RM. Independent segregation of two antigenic specificities involved in neutralization of rotavirus infectivity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985;82:8701-4.
- 28) Offit PA, Blavat G. Identification of the two rotavirus genes determining neutralization specificities. *J Virol* 1986;57:46-9.
- 29) Hoshino Y, Wyatt RG, Greenberg HB, Flores J, Kapikian AZ. Serotype similarity and diversity of rotaviruses of mammalian and avian origin as studied by plaque-reduction neutralization. *J Infect Dis* 1984;149:694-702.
- 30) Ward RL, McNeal MM, Sander DS, Greenberg HB, Bernstein DI. Immunodominance of the VP4 neutralization protein of rotavirus in protective neutral infections of young children. *J Virol* 1993;67:464-8.
- 31) Gorziglia M, Larralde G, Kapikian AZ, Chanock RM. Antigenic relationships among human rotaviruses as determined by outer capsid protein VP4. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:7155-9.
- 32) Gentsch JR, Wood PA, Ramachandran M, Das BK, Leite JP, Alfieri A, et al. Review of G and P typing results from a global collection of strains: Implications for vaccine development. *J Infect Disw* 1996;174:1 Suppl:30-6.
- 33) Gerna G, Steele AD, Hoshino Y, Sereno M, Garcia D, sarasin A, et al. A comparison of the VP7 gene sequences of human and bovine rotaviruses. *J Gen Virol* 1994;75:1781-4.
- 34) Greenberg HB, McAuliffe V, Valdesuso J, Wyatt R, Flores J, Kalica A, et al. Serological analysis of the subgroup protein of rotaviruses, using monoclonal antibodies. *Infect Immun* 1983;39:91-9.
- 35) Kalica AR, Greenberg HB, Espejo RT, Flores J, Wyatt RG, Kapikian AZ, et al. Distinctive ribonucleic acid patterns of human rotavirus subgroup 1 and 2. *Infect Immun* 1981;33:958-61.
- 36) Davidson GP, Hogg R, Kirabakaran C. Serum and intestinal immune response to rotavirus enteritis in children. *Infect Immun* 1983;40:447-52.
- 37) Offit PA, Dudzik K. Rotavirus-specific cytotoxic T lymphocytes cross-react with target cells infected with different rotavirus serotypes. *J Virol* 1988;62:127-31.
- 38) Matsui SM, Offit PA, Vo PT, Mackow ER, Benfield DA, Shaw RD, et al. Passive protection against rotavirus-induced diarrhea by monoclonal antibodies to the heterotypic neutralization domain of VP7 and the VP8 fragment of VP4. *J Clin Microbiol* 1989;27:780-2.
- 39) Offit PA, Dudzik K. Rotavirus-specific cytotoxic T lymphocytes appear at the intestinal mucosal surface after rotavirus infection. *J Virol* 1989;63: 3507-12.
- 40) Bernstein DI, Glass R, Rodgers G, Davidson BL, Sack DA. Evaluation of rhesus rotavirus monovalent and tetravalent reassortant vaccines in U.S. children. *JAMA* 1995;273:1191-6.