

한탄바이러스에 대한 단클론항체의 생산

하일수, 최 용, 구자옥, 박지용, 박혜원, 박영서, 장혜일,
김익상*, 차창용*, 김성권†, 이정상†
서울대학교 의과대학 소아과학교실, *미생물학교실, †내과학교실

목적 : 한국형출혈열의 진단은 주로 환자의 혈청에서 항체를 확인하는 방법이 사용되고 있으나 교차반응과 같은 문제점이 있을수 있다. 저자들은 환자로부터 분리된 바이러스를 직접 확인하여 임상진단에 응용하거나 이 질환에 대한 다른 연구에 이용하기 위해 한탄바이러스에 대한 단클론항체를 생산하고자하였다.

방법 : BALB/c 생쥐에게 정제된 한탄바이러스를 복강내로 주사하여 면역하고 항체역가를 확인한 뒤 회생시켜 비장을 적출하였다. 얻어진 비장세포를 P3-X63-Ag8.V653 형질세포종세포와 융합시킨 뒤, HAT 배지에서 융합세포를 선별배양 하였다. 간접면역형광검사로 항체생산세포를 선별한 뒤 무한대 회색법으로 클로닝하여 단클론을 얻고 단클론항체를 생산하였다. 생산된 단클론항체들의 isotype은 ELISA법을 이용한 subsotyping kit 를 이용하여 확인하였고, 항체역가는 계열회색된 항체의 간접면역형광검사로 측정하였다. 단클론항체들의 결합단백의 분자량은 정제된 바이러스의 immunoblot assay 와 radioimmunoprecipitation 으로 확인하였다. 생산된 단클론항체들과 서울바이러스 (SR-11, TCH, R-22), Prospect Hill 바이러스, Puumala 바이러스와의 반응도는 간접면역형광검사를 통하여 확인하였다. 생산된 단클론항체들을 사용하여 환자로부터 분리 배양된 바이러스에 대한 간접면역형광검사를 시행하였다.

성적 : 모두 55종의 단클론항체가 생산되었다. 그 isotype 은 IgG₁ 41종, IgG_{2a} 10종, IgA 3종, IgM 1종 이었고, 항체역가는 1:4 에서 1:1,024의 범위에 있었다. 모든 단클론항체는 분자량 48 kD 의 nucleocapsid 단백질과 결합하였다. 간접면역형광검사상 55종중 38종의 단클론항체는 서울바이러스와도 반응하였고, 이 중 15종은 Prospect Hill 바이러스와도 반응하였다. 그러나 단클론항체 중 어느것도 Puumala 바이러스와는 반응하지 않았다. 생산된 단클론항체를 이용하여 환자로부터 분리 배양된 바이러스를 확인할수 있었고, 혈청형의 감별에 도움을 줄수 있었다.

결론 : 한탄바이러스에 대한 55종의 단클론항체를 생산하였고, 이들을 이용하여 바이러스를 확인할수 있었으며, 그 혈청형을 감별하는데 도움을 줄수 있었다.

A10

한국형출혈열 환자에서의 Flow Cytometry 를 이용한 Lymphocyte Subsets에 관한 연구

전북의대 내과학교실

이창환, 김 원, 황금만, 박성광, 강성귀

한국형출혈열의 원인 바이러스인 한탄바이러스 감염에 대한 세포성 면역계에 관하여 아직 많은 연구가 되어 있지 않은 실정이다.

연구자들은 한국형출혈열 환자에서 한탄바이러스 감염에 대한 면역반응을 알아보고자 임상상 그리고 혈청학적으로 확진된 8명의 한국형출혈열 환자를 대상으로, 말초혈액에서 급성기와 10개월후의 B-림파구 및 T-림파구 아형의 변화를 측정하고 이를 비교분석하여 몇가지 소견을 얻었기에 그 결과를 보고하는 바이다.

림파구 아형은 말초혈액의 림파구를 분리하여 림파구 표면항원인 CD3, CD β , CD4, CD8 등에 대한 단클론항체로 염색하여 Flow - cytometry 법으로 측정하여 각 아형에 대한 백분율로 구분하였다. 그 결과는

- 1) 환자군에서 말초혈액의 CD4는 급성기에 $32.6 \pm 12.1\%$, 10개월 후에는 $44.3 \pm 9.8\%$ 로, 급성기에 의미있게 감소하였으며 ($p < 0.05$), 10개월 후에는 정상화 되었다.
- 2) 환자군에서 말초혈액의 CD8 은 급성기에 $41.0 \pm 15.6\%$, 10개월 후에는 $28.0 \pm 8.4\%$ 로, 급성기에 의미있게 증가하였으며 ($p < 0.05$), 10개월 후에는 정상화 되었다.
- 3) 환자군에서 말초혈액의 Act. T. 세포는 급성기에 $30.9 \pm 16.8\%$, 10개월 후에는 $14.8 \pm 7.5\%$ 로, 급성기에 의미있게 증가하였으며 ($p < 0.05$), 10개월 후에는 정상화 되었다.

이상의 결과로 한국형출혈열의 급성기에 CD4가 감소하고 CD8이 증가하며 Act. T. 세포가 증가되어 있음을 알수 있었다.