

부산지역에서 발생한 신종인플루엔자 A(H1N1) 특성 연구

박연경[†] · 박은희 · 민상기 · 김남호 · 진성현
역학조사과

Clinical Features and Molecular Characterization Analysis of Influenza A/H1N1(2009) Isolated in Busan

Yon-Koung Park[†], Eun-Hee Park, Sang-Kee Min, Nam-Ho Kim and Seong-Hyun Jin
Epidemiology Division

Abstract

The 2009 flu pandemic was caused by a new strain of influenza A/H1N1 virus, A/H1N1(2009). It has spread globally resulting in the first new pandemic of the 21st century. A clinical record and throat swab of 3,860 influenza-like illness (ILI) were submitted for diagnosis of influenza A (H1N1) from 16 health center in Busan between May 2009 to January 2010. Our laboratory performed isolation of the influenza A/H1N1(2009). In the present study, we evaluated the clinical characteristics of ILI and analysed influenza A/H1N1(2009) by sequence analysis of the hemagglutinin (HA) and neuraminidase (NA) genes. The isolates studied were selected by the stratified random sample method from the total of 1,808 isolates, and that they were 96 with A/H1N1(2009). The rhinorrhoea, cough, headache and sputum were significantly higher and the diarrhea was significantly lower in A/H1N1(2009) patient. Based on the phylogenetic tree, HA gene showed that it had 70.6% to 71.2% homology with the A/Brisbane/59/07 (vaccine strain in 2009-2010 season) but 93.5% to 94.0% homology with the A/swine/Guangxi/13/2006. Antigenically the isolates were homogeneous and similar to classical swine influenza A/H1N1 viruses and A/South Carolina/1/18 but distinct from seasonal human A/H1N1. In the case of NA gene, the H275Y and Q136K mutation for resistance of oseltamivir and zanamivir were not detected.

Key Words : influenza A/H1N1(2009), clinical features, hemagglutinin(HA), neuraminidase(NA), phylogenetic tree

서 론

1918년 "Spanish flu"을 유발한 H1N1, 1957년 "Asian flu"을 유발한 H2N2, 1968년 "Hong Kong flu"를 유발한 H3N2에 이어 2009년 전 세계적으로 4번째 인플루엔자 대유행으로 기록될 사건이 H1N1에 의해 발생되었다¹⁾. 2009년 4월 멕시코를 중심으로 감염자가 발생하여 미국, 캐나다를 비롯하여 전 세계적으로 대유행을 일으켰으며 전 세계 208개 이상의 국가에서 10,000명 이상자의 사망자를 유발했다²⁾. 우리나라에서도 멕시코 자원봉사를 다녀온 수녀가 5월 2일 첫 확진환자로 판명된³⁾ 이후 전국에 걸쳐 환자와 사망자가 발생하였다.

급성열성호흡기감염증을 유발하는 Orthomyxoviridae에 속하는 인플루엔자바이러스는 전 세계적으로 발생되고 있으며 특히 기온이 낮고 건조한 겨울철에 발생이 증가, 사람 간의 효과적인 감염전파 능력이 있고 사망까지 초래할 수 있다. 인플루엔자바이러스는 뉴클레오프로테인(NP)과 매트릭스 단백질(M)의 구조 단백질의 차이에 의해 A, B, C type으로 나누어지며 현재는 A/H1N1, A/H3N2, B 세 가지 type의 인플루엔자가 절기마다 유행하고 이를 대비해 백신이 투여되고 있다⁴⁾. 특히, A형은 여러 개의 subtype을 가지고 있으며 가장 광범위하게 사람과 여러 동물에게 감염을 유발하며 genetic reassortment와 reassortment가 가장 빈번이 일어나 대유행의 원인으로 작용한다⁵⁾.

[†]Corresponding author. E.mail : akacia@korea.kr
Tel : +82-51-757-6936, Fax : +82-51-753-1424

인플루엔자바이러스는 표면에 hemagglutinin (HA)과 neuraminidase (NA)이라는 중요한 glycoprotein을 가지고 있는데 이 중 HA는 주요 항원으로 작용하고 인체 면역에 가장 큰 영향을 끼치며 이 부위의 genetic reassortment와 gene recombination로 인하여 완전히 새로운 형(아형, 항원형)의 인플루엔자가 생성되어 대유행을 유발한다⁶⁾. NA는 항체 생성 유도보다는 바이러스가 mucosal secretion을 통과할 수 있게 해주며⁷⁾ 감염된 세포에서 인플루엔자바이러스가 방출될 수 있도록 하는 작용에 관여한다. 현재 인플루엔자환자의 치료제로 알려진 oseltamivir (Tamiflu[®]), zanamivir (Relenza[®])는 NA 기능을 억제해 인플루엔자바이러스가 배출되는 것을 방해한다. 이 NA의 특정부위에 변이가 생길 경우 위 두 치료제에 내성을 지니게 되는데 2007년 노르웨이에서 내성바이러스 발생이 보고된 이후 전 세계적으로 꾸준히 보고되고 있다⁸⁾.

이번 연구에서는 부산지역에서 발생한 인플루엔자바이러스 A/H1N1(2009)의 환자의 임상적 특성 및 HA와 NA의 염기서열 분석을 통해 세계적으로 발생한 분리주와 비교 및 주요 항원의 변화를 관찰하고 내성유전자존재여부를 확인하였다.

재료 및 방법

대상

2009년 5월부터 2010년 1월까지 부산지역 16개 보건소에 내원한 3,860명의 인플루엔자의사환자를 대상으로 이 연구를 진행하였다.

인플루엔자 A/H1N1(2009) 확인

3,860명의 인플루엔자의사환자 검체 인후도찰물 200 μ L을 MPLC total nucleic acid isolation kit (Roche, USA)를 이용하여 MagNA Pure LC2.0 (Roche, Switzerland)로 RNA를 추출하였다. 추출된 RNA는 real-time PCR을 통해 인플루엔자를 확인하였다.

real time PCR은 환자 검체에서 추출한 A/H1N1(2009) RNA 5 μ L를 POWER Chek influenza virus detection kit (Kogenebiotech, Korea)에 넣어 최종 부피가 15 μ L가 되도록 한 후 50°C 30분, 94°C 10분, 각 1회 95°C 15초, 55°C 30초 45회를 ABI 7500 Fast (Applied Biosystems, USA)로 실시하였다.

임상증상과 통계

임상자료 인플루엔자의사환자 3,860명 중 임상정보지가 확보된 3,816명은 임상정보를 분석, 이 중 해열제가 투약되지 않은 3,350명에 대해서 체온 분포를 분석하였다. real-time PCR 검사를 통해 A/H1N1(2009)바이러스가 검출된 경우를 A/H1N1(2009)환자로 보았다.

통계적 분석은 SPSS version 14.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) 프로그램을 이용하여 분석하여 p값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의성을 두었다. 두 군 간의 평균값 비교는 independent sample t-test를 이용했고 군 간 환자 수 차이를 검정하는 것은 교차분석을 통해 실시하였다⁹⁾.

유전자 및 아미노산 분석

세포주 및 배양

질병관리본부 국립보건연구원 인플루엔자바이러스과에서 분양받은 Mardin-Darby canine kidney (MDCK) 세포주를 사용했고 세포배양용 배지는 penicillin (0.05 units/mL)/streptomycin (0.05 μ g/mL)과 10% FBS가 첨가된 Minimum essential medium (MEM) (Invitrogen, USA), 바이러스 분리용 배지는 MEM에 Vitamin Solution (INVITROGEN, USA), Glucose Solution (SIGMA, UK), Trypsin (SIGMA, UK), Penicillin/Streptomycin (SIGMA, UK)을 첨가하여 사용하였다. 세포배양은 5% CO₂, 37°C로 조정된 CO₂ 배양기에서 배양되었다¹⁰⁾.

검체처리 및 바이러스 배양

염기서열 분석을 위해 인플루엔자 A/H1N1(2009)으로 확인된 검체 중 무작위로 추출하여 96건에 대해 바이러스 배양을 실시하였다. 검체 1 ml 에 penicillin (5 units/mL)/streptomycin (5 μ g/mL) 및 nystatin (1,000 units/mL)을 첨가하여 4°C에서 1시간 방치한 후, 3,000 rpm (한일 원심분리기, HM-160)으로 20분간 저온 원심 분리하여 상층액을 접종액으로 사용하였다. 바이러스 배양을 위해 24-well에 준비된 MDCK를 24시간 배양했다. 이렇게 준비된 well에 바이러스 분리용 배지 0.5 mL를 넣은 후 전처리 된 가검물 0.2 mL씩 접종하고 5% CO₂, 34°C로 조정된 CO₂ 배양기에서 7일간 배양하였다¹⁰⁾.

염기서열분석을 위한 HA와 NA RT-PCR

배양액 200 μ L를 MPLC total nucleic acid isolation kit (Roche, USA)를 이용하여 RNA를 추출하였다. 추출된 RNA는 PowerAmp RT Premix (SolGent, Korea)로 cDNA를 만든 후 염기서열 분석을 위한 PCR을 수행하였다.

cDNA 3 μ L를 DiaStar™ EF-Taq DNA Polymerase with 10mM dNTP Mix kit (SolGent, Korea)에 넣어 부피가 25 μ L가 되도록 한 후 HA 증폭을 위해 95°C 5분, 95°C 20초, 64°C 40초, 72°C 1분을 40회, 72°C 3분 1회를 실시하여 HA gene을 증폭하였고 95°C 5분, 95°C 20초, 58°C 40초, 72°C 1분을 40회, 72°C 3분 1회의 조건으로 NA를 증폭하였다. 이 결과는 1% agarose gel에 PCR 산물 2 μ L씩 loading하여 100V에 30분간 전기영동 했다.

염기서열 분석

원하는 사이즈에서 증폭된 DNA를 Gel extraction kit (SolGent, Korea)를 이용하여 정제하였다. 이를 주형으로 하여 Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Perkin Elmer, USA)와 ABI 3730XL Genetic Analyzer (Applied Biosystems, USA)를 이용해 염기서열을 분석을 하였다. 염기서열분석을 위한 primer는 우선 HA, NA amplification에 사용된 primer를 사용 했고 분석이 되지 않은 경우만 inner primer를 추가하여 분석하였다. 확인된 염기서열은 ClustalX 방법으로 Lasergene program (DNASar, Madison, WI)을 이용하여 align하고 아미노산을 분석하였고, MEGA 4를 사용하여 neighbour-joining tree를 그렸다.

결과 및 고찰

인플루엔자바이러스 A/H1N1(2009) 확인

2009년 5월부터 2010년 1월까지 부산시 16개 보건소에서 의뢰된 인플루엔자 의사환자 3,860건의 인후도찰물에서 1,808건의 A/H1N1(2009)를 분리했다. 5월에는 42건 의뢰되었으나 A/H1N1(2009)는 검출되지 않았고, 6월 68건 의사환자 중 7건 검출하기 시작하여 7월에는 집단발병이 발생되기 시작하여 약 7배 증가한 475건의 의사환자를 검사하여 179(37.7%)건에서 A/H1N1(2009)를 검출하였다. 8월은 719건 검사하여 150건 검출, 9월은 944건 검사하여 372건 검출하였다. 10월에 가장 많은 의사환자 인후도찰물 1,450건이 의뢰되어 전체 A/H1N1(2009) 검출 건수의 56.3%에 달하는 1,018건을 검출하였다(Fig. 1).

11월부터 의사환자 의뢰건수가 10배 이상 감소하였는데 이것은 「신종인플루엔자 A(H1N1) 예방 및 환자관리」 지침 변경으로 인하여 우리원에 의뢰되는 의사환자 검체가 줄었기 때문이다¹¹⁾.

질병관리본부 인플루엔자 표본감시사업 결과¹²⁾ 매년 인플루엔자 의사환자는 11월 말-1월, 3-4월에 한 차례씩 인플루엔자 유행기준을 초과하여 발생하는 경향을 보였다. 그러나 2009년은 인플루엔자 의사환자가 예년보다 높은 수준의 발생률을 계속 보이다 기온이 높은 8월 말부터 유행기준을 초과(1,000명당 2.67명)하였고 의사환자분율이 일주일에 100%이상 증가함을 보였다. 이는 7월부터 꾸준한 증가를 보인 우리원의 결과와도 일치 하였으며 이전 대유행의 경우 계절에 상

관없이 발생하는 것과는 같은 결과였다^{13,14)}.

임상증상

대상 환자에서 임상정보지가 확보된 3,816명 중 A/H1N1(2009)인 환자(group A)는 1,801명, 비-A/H1N1(2009) 환자 즉 급성호흡기감염증환자(group B)는 2,015명 있었다. Group A와 B 모두에서 콧물, 인후통, 기침, 두통, 근육통, 관절통 등이 나타난 환자가 있었으며 group A에서는 기침, 인후통을 보인 경우가 각각 1,515(84.1%), 1,094(60.7%), group B는 각각 1,066(52.9%), 1,166(57.9%)으로 두 group 모두 많았다.

이들 증상 중에서 group A에서 콧물, 기침, 두통, 가래의 증상이 유의하게 높았고, 설사는 유의하게 낮았다. 이 5개의 증상 외에는 유의한 차이는 없었다($p=0.00$)(Table 1). 미국, 일본, 멕시코, 중국 등 여러 나라에서 보고된 바에 따르면 환자의 70%이상에서 기침이 발생되어 가장 빈번한 증상으로 나타났다. 콧물도 우리의 결과와 유사했으나 상대적으로 우리보다 두통의 경우 중국과 싱가포르에서 20% 이하의 낮은 발생을 보였다. 설사와 구토의 경우 부산의 경우 5%이하였으나 미국과 일본에서는 25%, 14%의 발생을 보여 많은 차이를 나타내었다. 미국, 중국, 일본의 경우 단지 인플루엔자 환자의 증상 동반 비율을 조사한 것이었고 싱가포르의 Adrian에 의해 발표된 논문에서는 인플루엔자환자와 일반감기환자의 증상비교 유의도 분석이 실시되었는데 기침과 설사에서는 우리와 같은 결과를 나타내었고, 두통과 콧물의 결과는 유의성이 없으므로 나타났다. 그러나 다른 여러나라에서 진행된 연구에서의 조사환자 수는 46명에서 642명(싱가포르의 경우 100명)으로 본 연구에서 조사한 인플루엔자의사환자 수가 3,860명으로 가장 많았다^{15,16,17,18)}.

체온의 경우 group A와 B는 유의한 차이를 보였는데 group A(평균값)에서 유의하게 높았다($p=0.00$). 또한 발열이 있다고 볼 수 있는 37.5°C이상인 환자가 group A는 전체 82.3%, group B는 63.1%를 차지해 group A에서 발열 증상을 보이는 환자와 38.1°C이상의 고열 환자 (48.9%)가 많았다(Table 2). 이는 싱가포르에서 발표한 A/H1N1(2009)환자의 평균체온 38.2°C, 일반 급성호흡기환자의 평균체온 37.3°C, 발열환자의 비율은 각각 76%, 40%, 중국의 경우 A/H1N1(2009)환자의 발열 비율이 67.4%인 것과 비교해 우리 결과와 유사하거나 발열 비율이 높음을 알 수 있었다^{15,16)}.

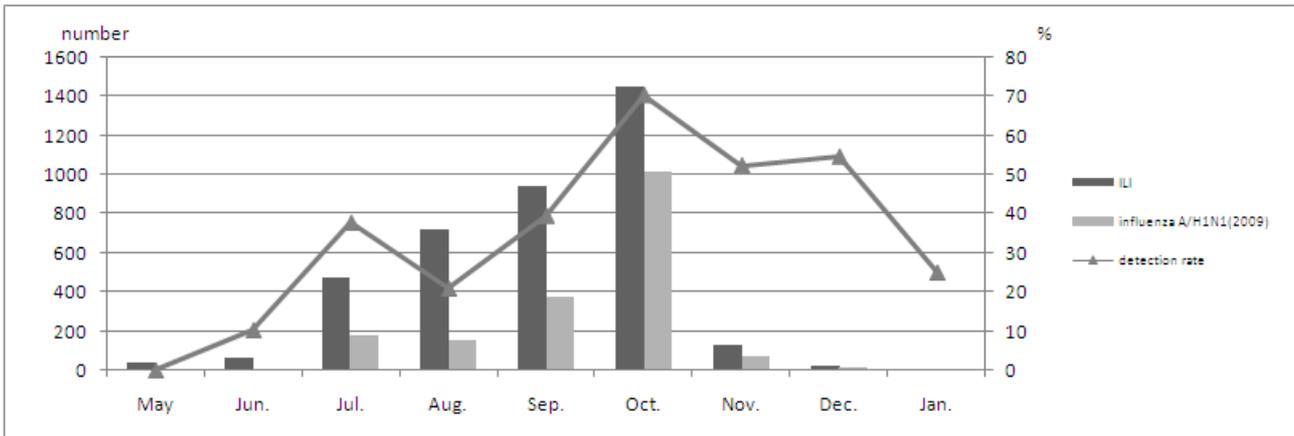


Fig. 1. Influenza A/H1N1(2009) and influenza like illness (ILI) of each month from May 2009 to January 2010.

Table 1. Clinical features of 3,860 patients of influenza A/H1N1(2009) and no-Influenza in ILI

| Symptoms | A: A/H1N1 (2009) (n=1,801) | B: No-Influenza on PCR(n=2,015) | P value |
|-------------|-------------------------------|------------------------------------|---------|
| Rhinorrhoea | 946 (52.5%) | 835 (41.4%) | 0.000 |
| Sore Throat | 1,094 (60.7%) | 1,166 (57.9%) | NS |
| Cough | 1,515 (84.1%) | 1,066 (52.9%) | 0.000 |
| Headache | 969 (53.8%) | 864 (42.8%) | 0.000 |
| Myalgia | 300 (16.7%) | 353 (17.5%) | NS |
| Arthralgia | 46 (2.6%) | 74 (3.7%) | NS |
| Nausea | 179 (9.9%) | 183 (9.1%) | NS |
| Diarrhea | 58 (3.2%) | 167 (8.3%) | 0.000 |
| Sputum | 402 (22.3%) | 319 (15.8%) | 0.000 |
| Vomiting | 77 (4.3%) | 109 (5.4%) | NS |
| Dyspnea | 51 (2.8%) | 51 (2.5%) | NS |
| Vertigo | 16 (0.9%) | 21 (1.0%) | NS |
| Chill | 16 (0.9%) | 28 (1.4%) | NS |

NS : not significant

Table 2. Body temperatures of the 3,350 patients of influenza A/H1N1(2009) and no Influenza in ILI

| | A: A/H1N1/2009 (n=1,710) | B: No Influenza on PCR(n=1,641) | P value |
|---------------------|-----------------------------|------------------------------------|---------|
| Body temperature | | | 0.00 |
| Mean | 38.08 | 37.72 | |
| Range | (35.8 - 40.6) | (35.3 - 42) | |
| Body temperature, % | | | 0.00 |
| T ≤ 37.4°C | 17.7 | 36.8 | |
| T = 37.5-37.7°C | 11.9 | 11.5 | |
| T = 37.8-38.0°C | 21.5 | 19.4 | |
| T ≥ 38.1°C | 48.9 | 32.2 | |

HA 염기서열 및 아미노산 분석

Phylogenetic tree

부산에서 유행한 인플루엔자 바이러스의 HA유전자 중 변이가 심한 HA1 domain과 NA 유전자 분석을 실시하였다.

인체 면역반응에 항원으로 가장 큰 작용을 하는 HA 유전자의 경우 2010-2011절기 백신주인 A/California/07/2009와는 98.9%-99.6%의 유사성을 보였으나 이 바이러스가 유행한 절기의 백신 주인 A/Brisbane/59/07는 70.6%-71.2%의 유사성, A/Solomon Islands/3/2006 69.9%-70.5%, A/New caledonia/20/99 71.4%-71.9%, A/Beijing/262/95 68.3%-69.0%을 보였으며 또한 1918년 전 세계적으로 대유행을 유발시켜 5,000만 명의 사망자를 발생시킨 spain influenza 분리주인 A/South Carolina/1/18와는 79.1%-79.9%의 유사성을 나타내었다¹⁹⁾.

Swine influenza 중 1988-2007년 인체에서 발견된 classical swine influenza 바이러스인 A/Wisconsin/87/2005은 93.1% - 93.6%, A/Ohio/01/2007은 92.9% - 93.5%, A/Ohio/3559/1988은 90.5% - 90.9%, A/Philippines/344/2004은 87.8% - 88.1%, A/Thailand/271/2005은 84.1%-84.6%의 유사성을, 돼지에서 분리된 classical swine influenza A/swine/Guangxi/13/2006은 93.5% - 94.0%, A/swine/Korea/Asan04/2006은 91.6%-93.6%의 유사성을 나타내어 지금까지 매년 사람들 사이에 유행한 계절 인플루엔자보다는 돼지유래 인플루엔자와 유전적으로 더 가까움을 알 수 있었다²⁰⁾(Fig. 2).

2009-2010절기에 분리되었던 인플루엔자 바이러스를 살펴본 결과 유행시기에 채택되었던 백신주와는 유사성이 아주 낮음을 알 수 있었다. 이미 A/H1N1에 대한 2008-2009과 2009-2010년 백신주 A/Brisbane/59/07은 2007-2008절기 백신주 A/Solomon Islands/3/06이 분리주와 96.5%-97.3% 유사성을 보여 교체가 되었던 백신주였고 2009-2010절기 유행주는 백신주와 염기서열에서 71.2%-71.5%의 낮은 유사율을 보였다. 이 백신을 접종한 사람에서 A/H1N1(2009)에 대한 면역도가 없어²¹⁾ 새로운 항원형의 인플루엔자 바이러스로 인하여 전 세계적으로 대유행이 유발되었음을 알 수 있었다. 이런 관계로 WHO에서도 2010-2011절기 백신주를 인플루엔자바이러스 A/H1N1(2009)로 교체하였다⁴⁾.

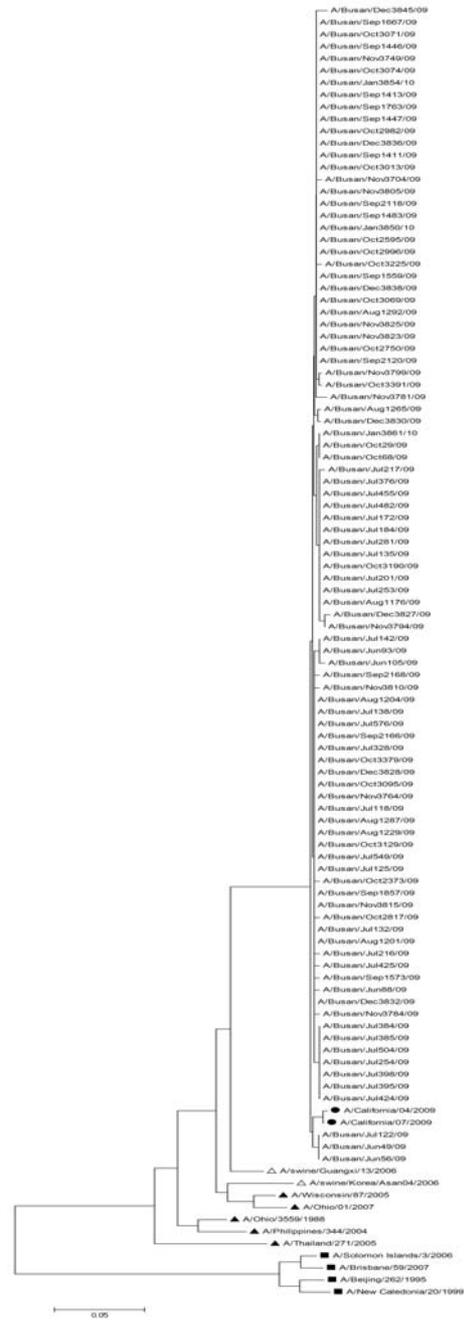


Fig. 2. Phylogenetic tree of the HA gene of H1N1 isolates with H1N1.

- influenza A/H1N1(2009) vaccine strains and first isolate
- ▲ classical swine influenza strains(in human)
- seasonal influenza vaccine strains
- △ classical swine influenza strains(in swine)

분리된 인플루엔자 바이러스의 HA 아미노산 분석

부산에서 분리된 A/H1N1(2009) 인플루엔자바이러스의 N-linked glycosylation site가 14 (NNS), 27 (NVT), 91 (NGT), 280 (NTT), 291 (NTS) 총 5부위에서 나타나 2009-2010 백신주 (A/California/07/2009)와 인체에서 발견된 classical swine influenza, A/Wisconsin/87/2005, A/Ohio/01/2007, A/Ohio/3559/1988, A/Philippines/344/2004, A/Thailand/271/2005과도 돼지에서 분리된 classical swine influenza A/swine/Guangxi/13/2006, A/swine/Korea/Asan04/2006와 동일하였다. A/South Carolina/1/18는 14 (NNS), 27 (NVT), 91 (NGT), 291 (NTS)에서 총 4개의 N-linked glycosylation site를 가진다. 14 (NNS), 27 (NVT), 58 (NCS), 91 (NGT), 129 (NHT), 163 (NLS), 280 (NTT), 291 (NTS)에서 1999년 이후 계절 인플루엔자 A/H1N1백신주인 A/Brisbane/59/2007, A/Solomon Islands/3/2006, A/New Caledonia/20/99, A/Beijing/262/95가 7개의 glycosylation site를 가지는 것에 비교하여 적은 수를 가지고 있었다.

A/H1N1의 HA에는 항체와 결합하는 strain-specific antigenic sites (Sa and Sb)와 common antigenic sites (Ca and Cb)^{21, 22)}가 존재하는데 부산 분리주는 A/H1N1(2009) 첫 분리주인 A/California/04/2009와 A/California/07/2009와 비교 시 Ca1 site (206-209) 중 S207T에서 1개 아미노산 치환이 관찰되었다. 단, 부산에서 첫 분리되었던 A/Busan/Jun49/2009와 A/Busan/Jun56/2009, A/Busan/Jul122/2009인 3주만이 부분에서의 치환이 발견되지 않았다. A/Busan/Jun93/2009, A/Busan/Jun105/2009, A/Busan/Jul142/2009는 R209K에서도 치환이 발견되었다.

Receptor binding site의 5부위 중 139번 아미노산에서 A/H1N1(2009)는 A/California/04/2009와 A/California/07/2009뿐만 아니라 A/Wisconsin/87/2005, A/Ohio/01/2007, A/Ohio/3559/1988, A/Philippines/344/2004, A/Thailand/271/2005, A/swine/Guangxi/13/2006, A/swine/Korea/Asan04/2006, A/South Carolina/1/18와 같은 Ala이었고, A/Brisbane/59/2007, A/Solomon Islands/3/2006, A/New Caledonia/20/99, A/Beijing/262/95는 Ser으로 차이를 보였다. 이 부위를 제외한 4곳은 모두 동일하였다²³⁾.

인플루엔자바이러스 A/H1N1(2009)는 receptor binding site, N-linked glycosylation site, antigenic sites에서 계절인플루엔자 A/H1N1과는 많은 차이를 보였으며, classical swine influenza와 더 유사하였다^{22,24)}.

분리된 인플루엔자 바이러스의 NA 염기서열 및 아미노산 분석

7개의 glycosylation site는 50 (NQS), 58 (NNT), 63 (NOT), 68 (NIS), 89 (NSS), 146 (NGT), 235 (NGS)를 가

지고 있으며, A/California/07/2009와는 99.0%~99.6%의 유사성을 가졌으며 분리주 간에 99.0%~100%의 높은 유사성을 나타냈다. NA 억제제에 대한 내성관련 위치에서의 아미노산을 백신주와 국외 내성 분리주와 비교한 결과 oseltamivir에 대한 내성^{25,26)}과 연관이 있는 H275Y에서의 변이와 zanamivir 내성²⁷⁾에 관여하는 O136K의 변이도 관찰되지 않아 내성이 없음을 알 수 있었다.

이렇게 새로운 A/H1N1(2009)은 N-linked glycosylation site, antigen site에서 기존에 유행하던 계절인플루엔자 A/H1N1과는 달라 유전적으로 다른 항원임을 확인할 수 있었다.

인플루엔자바이러스는 지속적인 변이가 발생하며 이로 인해 새로운 아형이 발생할 수 있는데 아형까지의 변이가 아니더라도 유행하지 않던 또는 백신주의 항원형과 맞지 않는 새로운 항원형 바이러스가 생겨날 경우 전 세계적으로 급속한 감염을 유발할 수 있음을 A/H1N1(2009)의 대유행을 통해 알 수 있었다. 인플루엔자바이러스는 대규모 발생시 사망자 발생의 위험뿐만 아니라 고열과 호흡기 증상 유발로 감염자의 장기결근 등을 유발하여 사회 경제적으로 엄청난 비용을 요구한다¹⁴⁾. 그러므로 인플루엔자 바이러스에 대한 지속적인 조사와 연구는 백신 선택을 돕고 항원성 변화 추세를 알아 새롭게 발생될 수 있는 인플루엔자 대유행 예방 및 치료제 개발의 자료로 사용될 것으로 사료된다.

요 약

2009년 5월부터 2010년 1월까지 총 인플루엔자 의사 환자 3,860건의 인후도찰물에서 1,809의 인플루엔자환자를 확진하고 바이러스 유전자를 검출했다.

5월에는 42건 의뢰 되었으나 검출되지 않았고 6월부터 검출되기 시작하여 7월에는 475건 의사환자를 검사하여 179 (37.7%)건 A/H1N1(2009)를 검출하였다. 가장 많은 의사환자는 10월로 1,450건이 의뢰되어 전체 A/H1N1(2009) 검출 건수의 56.3%에 달하는 1,018건이 검출되었다.

인플루엔자 A/H1N1(2009)환자에서 콧물, 기침, 두통, 가래 증상이 유의하게 높았고, 설사는 유의하게 낮았다. 이 5개의 증상 외에는 유의한 차이는 없었다.

체온의 경우 인플루엔자 A/H1N1(2009)환자에서 유의하게 높았다. 또한 발열이 있다고 볼 수 있는 37.5℃이상인 환자가 전체 82.3%를 차지하였고 이 중 38.1℃이상의 고열 환자 (48.9%)가 가장 많았다.

HA 유전자의 경우 2010-2011절기 백신주인 A/California/07/2009과는 98.9%~99.6%의 유사성을 보였으나 이 바이러스가 유행한 절기의 백신주인 A/Brisbane/59/07과는 70.6%~71.2%, classical swine influenza (사람분리주 및

돼지분리주)와는 90%이상의 유사성을 나타내었다.

N-linked glycosylation site는 14 (NNS), 27 (NVT), 91 (NGT), 280 (NTT), 291 (NTS) 총 5부위에서 나타나 A/South Carolina/1/18 (4개), 계절 인플루엔자바이러스 A/H1N1 (7개)에 비교하여 적은 수를 가지고 있었다.

Strain-specific (Sa and Sb)와 common antigenic sites (Ca and Cb)에서 부산 분리주는 A/California/04/2009와 A/California/07/2009와 비교시 Ca1 site (206-209) 중 S207T에서 1개 아미노산 치환이 관찰되었다.

Oseltamivir에 대한 내성과 연관이 있는 H275Y 에서의 변이와 zanamivir내성에 관여하는 O136K의 변이는 관찰되지 않아 내성이 없음을 알 수 있었다.

참 고 문 헌

- World Health Organization. World now at the start of 2009 influenza pandemic. Geneva: World Health Organization ; 2009 [cited 2009 Aug 24]. Available from : http://www.who.int/mediacentre/news/statements/2009/h1n1_pandemic_phase6_20090611/en/index.html.
- World Health Organization. Pandemic (H1N1) 2009: update 78 [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2009 [cited 2009 Dec 18]. Available from :http://www.who.int/csr/don/2009_12_11a/en/index.html.
- Korea Centers for Disease Control and Prevention. Cases of novel influenza A (H1N1) infections in the South Korea. *Public Health Weekly Report*, 2, pp.293~295(2009).
- World Health Organization. Recommendations for Influenza Vaccine Composition Available from:<http://www.who.int/csr/disease/influenza/ecomendations2011south/en/index.html>
- Chana, C.H., Lin, K.L., Chana, Y., Wang, Y. L., Chi, Y. T., Tu H. L., Shieh, H. K. and Liu, Wu-Tse. Amplification of the entire genome of influenza A virus H1N1 and H3N2 subtypes by reverse-transcription polymerase chain reaction. *Journal of Virological Methods*, 136, pp.38~43(2006).
- Chi, X. S., Bolar, T. V., Zhao, P., Tam, J. S., Rappaport, R. and Cheng, S. M. Molecular Evolution of Human Influenza A/H3N2 Virus in Asia and Europe from 2001 to 2003. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(12), pp.6130~6132(2005).
- Colman, P. M., Influenza virus neuraminidase : Structure, antibodies, and inhibitors. *Protein Science*, 3, pp.1687~1696(1994).
- Hauge, S. H., Dudman S., Borgen K., Lackenby A., Hungnes O., Oseltamivirresistant influenza viruses A (H1N1), Norway, 2007~08. *Emerg Infect Dis*, 15(2), pp.155~162(2009).
- Choi, B. G., Lee, D.W., Kim Y. H., Hyun, M. C., and Lee, H. J., Clinical Aspects of Pneumonia with Tachypnea in Pediatric Patients with Influenza H1N1. *소아알레르기 호흡기*, 20, pp.114~121(2010).
- National Institute of Health al감염병실험실 진단, 제 3개정, pp.865~868(2005)
- KNIH, 신종인플루엔자 A(H1N1) 예방 및 환자관리지침 (개정6판), pp.7~8(2009).
- Korea Centers for Disease Control and Prevention. Influenza Sentinel Surveillance Report. *Public Health Weekly Report*, 9(2010)
- Cheon BC. Epidemiology of pandemic novel H1N1 influenza. *Korean J Fam Med*, 30, pp.25~33(2009).
- 조경엽, 송원근, 신종인플루엔자 대유행의 경제적 영향. 한국경제연구원, pp.1~53(2009).
- Cao, B., Li, X. W., Mao, Y., Wang, J., Lu, H. Z., Chen, Y. S., Liang, Z. A., Liang, L., Zhang, S. J., Zhang, B., Gu, G., Lu, L. H., Wang, D. Y., and Wang, C., Clinical Features of the Initial Cases of 2009 Pandemic Influenza A (H1N1) Virus Infection in China. *n engl j med*, 24, pp.361~326(2009).
- Ong, A. K., Chen, M. I., Lin, L., Tan, A. S., Nwe, N. W., Barkha, T., Tay, S. Y., Leo, Y. S., Improving the Clinical Diagnosis of Influenza—a Comparative Analysis of New Influenza A (H1N1) Cases. *PLoS ONE*, 4, e8453(2009).
- World Health Organization. Human infection with new influenza A (H1N1) virus : clinical observations from a school-associated outbreak in Kobe, Japan. *Weekly epidemiology record*, 24, 237~248(2009).
- Novel Swine-Origin Influenza A (H1N1) Virus Investigation Team, Emergence of a Novel Swine-Origin Influenza A (H1N1)Virus in Humans. *N engl j med*, 360, pp. 2605~2615(2009).
- Brooks, G. F., Butel, J. S. and Ornston, L. N., *Medical Microbiology. Appleton&Lange*, pp.449~459(1995).
- Rebecca J. G et al, Antigenic and Genetic Characteristics Swine-Origin 2009 A(H1N1) Influenza Viruses Circulating in Humans. *Science*,

- 325, pp.197~201(2009).
21. Manicassamy, B., Medina, R. A., Hai, R., Tsibane, T., Stertz, S., Estanislao N. V., Palese P., Basler, C. F., Adolfo, G. S., Protection of Mice against Lethal Challenge with 2009 H1N1 Influenza A Virus by 918-Like and Classical Swine H1N1 Based Vaccines. *PLoS Pathogens*, 6, e1000745(2010).
 22. Chutinimitkul, S., Chieochansin, T., Payungporn, S., Samransamruajkit, R., Hiranras, T., Theamboonlers, A. and Poovorawan Y., Molecular characterization and phylogenetic analysis of H1N1 and H3N2 human influenza A viruses among infants and children in Thailand. *Virus Research*, 132, pp.122~131(2008).
 23. Caton, A. J., Brownlee, G. G., Yewdell, J. W., Gerhard, W. The antigenic structure of the influenza virus A/PR/8/34 hemagglutinin (H1 subtype). *Cell*, 31, pp.417~427(1982).
 24. Wilson, I. A., Cox, N. J., Structural basis of immune recognition of influenza virus hemagglutinin. *Annu. Rev. Immunol.*, 8, pp.737~771(1990).
 25. Janies, D. A., Voronkin, I. O., Stude, J., Hardman, J., Alexandrov, B. B., Treseder, T. W., Valson, C., Selection for resistance to oseltamivir in seasonal and pandemic H1N1 influenza and widespread co-circulation of the lineages. Janies et al. *International Journal of Health Geographics*, 9, pp.1~6(2010).
 26. Sheu T, Deyde V, Okomo-Adhiambo M, Garten R, Xu X, et al : Surveillance for neuraminidase inhibitor resistance among human influenza A and B viruses circulating worldwide from 2004 to 2008. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 52, pp.3284~3292(2008).
 27. Hurt, A., Holien, J., Parker, M., Kelso, A., Barr, I., Zanamivir-resistant influenza viruses with a novel neuraminidase mutation. *Journal of Virology*, 83, pp.10366~10373(2009).