

veterinary/ focus #28.2

The worldwide journal for the companion animal veterinarian 2018 - \$10 / 10€

[한국어판]

GENETICS AND HEALTH

Maintaining genetic diversity: why it matters -

Casey A. Knox and Katherine M. Lytle - P02

Clinical applications of genetic testing -

Jamie L. Freyer and Angela Hughes - P08

The *ABCB1* gene in dogs -

Cynthia Cole - P14

Copper-associated hepatitis in dogs -

Hille Fieten - P16

How I approach... Perianal fistula disease in dogs -

Lindsay W. McKay - P21

The Tom and Jerry Syndrome -

Mark Lowrie and Laurent Garosi - P27

Hereditary erythrocyte disorders -

Urs Giger - P32

Liquid biopsy – the future for cancer diagnostics? -

Matthew Breen and Claire Wiley - P39

Breed predispositions for urolithiasis -

Doreen M. Houston and Anne-Marie Germain - P46

FIND YOUR MAGAZINE ONLINE

<http://vetfocus.royalcanin.com/>

veterinary focus #28.3

The worldwide journal for the companion animal veterinarian



COMING UP...

In our next issue of *Veterinary Focus*, we will look at different aspects of nutrition:

- **Feline feeding behavior**
Jon Bowen, UK
- **Dog breeds and their influence on food-related diseases**
Giacomo Biagi, Italy
- **The Lewisburg Pet Health and Nutrition Center (PHNC)**
Sally Perea, USA
- **The role of Vitamin D in canine disease**
Valerie Parker, USA
- **Dietary considerations for dogs with chronic enteropathies**
Adam Rudinsky, USA
- **Drinking behavior in cats**
Stefanie Handl, Austria
- **Grain-free diets – good or bad?**
Maryanne Murphy, USA
- **The benefits of feeding wet diets**
Megan Shepherd and Jessica Benson, USA



We welcome offers to write ideas for papers and suggestions for topics and authors, which should be directed to the editor. *Veterinary Focus* is fully covered by copyright. No part of this publication may be reproduced, copied or transmitted in any form or by any means (including graphic, electronic or mechanical), without the written consent of the publishers © Royal Canin SAS 2018. Proprietary names (trademarks) have not been specially identified. It cannot, however, be conducted from the omission of such information that they are non-proprietary names and as such can be used by everyone. The publishers cannot take any responsibility for information provided on dosages and methods of application. Details of this kind must be checked for correctness by the individual user in the appropriate literature. While every effort has been made by the translators to ensure the accuracy of their translations, no responsibility for the correctness of the original articles and thus no resulting claims against professional negligence can be accepted in this connection. Views expressed by authors or contributors do not necessarily reflect the views of the publishers, editors or editorial advisors.

Editorial

다양함은 인생의 재미이다.

“런던에 싫증난 사람은 인생에 싫증난 사람이다.”

라고 18세기의 저명한 영국 시인이자 비평가인 Samuel Johnson은 말했다. 그는 다양성의 진가를 알았으며, 그 령기에 도시가 시민들에게 새로운 즐길거리를 경험할 기회를 끊임없이 제공하여 시민들이 더 많이 대화하고 더 많은 도전을 하도록 동기부여해야 한다고 생각했다. 그는 모든 이가 다양성을 추구한다는 생각을 가졌고 이를 표현했으며, 결과적으로 옳았다.

우리는 모두 다양함이야말로 인생의 재미이며 우리가 모두들 똑같다면 세상이 아주 따분할 것이라는 점에 동의할 것이다. 이는 반려동물들의 경우에도 마찬가지이다. 어떤 이들은 바셋의 긴 귀를 좋아하고, 또 어떤 이들은 코기의 뽀족한 귀에 끌린다. 삼의 윤이 나는 털을 사랑하는 사람도 있고, 페르시안의 장모를 좋아하는 사람도 있으며, 이집션 마우의 독특한 무늬를 좋아하는 사람도 있다. 그리고 모든 수의사들이 알고 있듯이, 특정 형질 때문에 교배를 한다



이완 맥닐 Ewan McNEILL
편집장

해도 (그 형질이 귀모양이든, 털의 색이든, 얼굴 형태이든지 간에) 우연히 원치않던 형질이 발현될 가능성이 있다. 품종 다양성 문제를 지속적으로 신경쓰는 것은 그 자체로 쉽지 않다. Johnson 박사는 “지식에는 두 종류가 있다. 하나는 어떤 대상에 대해 직접 아는 것이고, 다른 하나는 그 대상에 대해 어디에서 정보를 얻을 수 있는지 아는 것이다.”라고 했다. *Veterinary Focus*는 수의사들에게 후자에 해당하는 지식을 제공하며, 오늘날 한자들에게서 발견되는 품종 관련 문제를 다루고자 한다.

• Veterinary Focus의 주요 내용

개의 ABCB1 유전자 돌연변이는 변이가 일어난 개체에서 진료에 흔히 사용되는 다양한 약물에 대한 특이적 민감성을 야기하는데, 하나 또는 두 개의 돌연변이 유전자를 가진 개체는 일반적 치료 용량에 대해 약물 독성의 임상적 징후를 나타낼 수 있다.

p14



항문주위 누공성 질환(Perianal fistula disease)은 면역기능 장애, 식이 알러지, 저면 셰퍼드의 품종 소인 등 다양한 원인에 기인하는 것으로 알려져 있다.

p21

p32

일부 개와 고양이에서 유전성 적혈구질환 (hereditary erythrocyte defects)이 보고되기는 하였지만, 이 질환은 일반적으로 빈혈의 면역학적 소인 또는 감염성 원인에 대한 추측성 치료가 실패하였을 때에만 고려한다.



veterinary focus #28.2



Editorial committee

- Craig Datz, DVM, Dipl. ACVN, Senior Scientific Affairs Manager, Royal Canin, USA
- Pauline Devlin, BSc, PhD, Scientific Communications and External Affairs, Royal Canin, UK
- Maria Elena Fernández, DVM, Chile
- Philippe Marniquet, DVM, Dipl. ESSEC, Veterinarian Prescribers Marketing Manager, Royal Canin, France
- Brunella Marra, DVM, Scientific Communication and Scientific Affairs Manager, Royal Canin, Italy
- Sally Perea, DVM, Dipl. ACVN, Nutritionist, Royal Canin, USA
- Claudia Rade, DVM, Scientific Affairs Manager, Royal Canin, Germany
- Henna Söderholm, DVM, Global Scientific Support Specialist, Royal Canin, France
- Anne van den Wildenberg, DVM Scientific and Regulatory Affairs Manager, Royal Canin, Netherlands

Translation control

- Elisabeth Landes, DVM (German)
- Noemi Del Castillo, PhD (Spanish)
- Matthias Ma, DVM (Chinese)
- Minoru Fukuyama, DVM (Japanese)
- Boris Shulyak, PhD (Russian)

Deputy publisher: Buena Media Plus
Bernardo Gallitelli and Didier Olivreau
90, rue de Paris 92100 Boulogne-Billancourt, France
Phone: +33 (0) 1 72 44 62 00

Editor-in-chief: Ewan McNeill, BVMS, Cert VR, MRCVS
Editorial secretary: Laurent Cathalan (lcathalan@buena-media.fr)
Artwork: Pierre Ménard
Printed in the European Union
ISSN 2430-7874
Legal deposit: June 2018
Cover: Shutterstock

Veterinary Focus is published in Brazilian Portuguese, Chinese, English, French, German, Italian, Japanese, Polish, Russian & Spanish.

Find the most recent issues on: <http://vetfocus.royalcanin.com> and www.ivis.org.

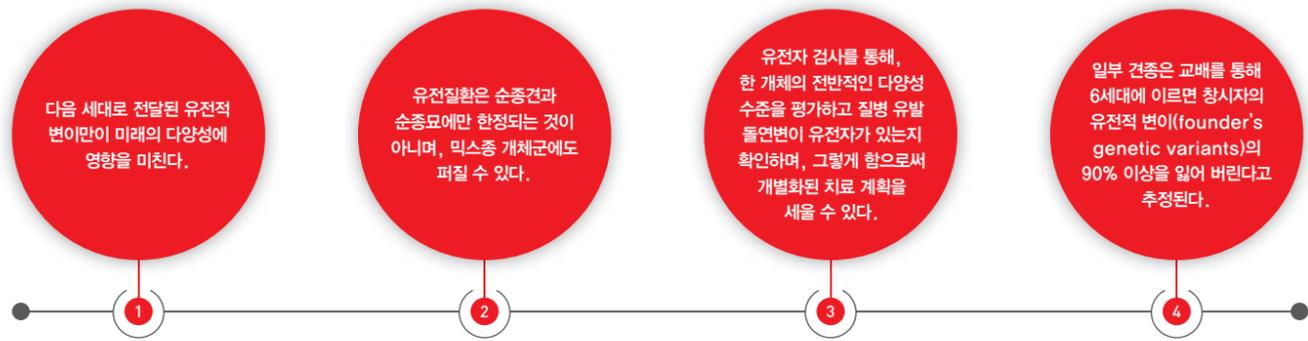
The licensing arrangements for therapeutic agents intended for use in small animal species vary greatly worldwide. In the absence of a specific license, consideration should be given to issuing an appropriate cautionary warning prior to administration of any such drug.

Veterinary Focus is fully covered by copyright. No part of this publication may be reproduced, copied or transmitted in any form or by any means (including graphic, electronic or mechanical), without the written consent of the publishers © Royal Canin SAS 2018. Proprietary names (trademarks) have not been specially identified. It cannot, however, be conducted from the omission of such information that they are non-proprietary names and as such can be used by everyone. The publishers cannot take any responsibility for information provided on dosages and methods of application. Details of this kind must be checked for correctness by the individual user in the appropriate literature. While every effort has been made by the translators to ensure the accuracy of their translations, no responsibility for the correctness of the original articles and thus no resulting claims against professional negligence can be accepted in this connection. Views expressed by authors or contributors do not necessarily reflect the views of the publishers, editors or editorial advisors.

MAINTAINING GENETIC DIVERSITY: WHY IT MATTERS

아주 인기있는 품종들을 비롯하여 많은 개와 고양이 품종들이 멸종 위기(일부는 아주 높은 멸종 위기)에 처해 있다고 주장한다면 다소 과장되게 들릴지도 모르겠다. 이 칼럼에서 Casey Knox와 Katie Lytle은 반려동물 개체군에서의 유전적 다양성 및 유전적 다양성 부족에 대한 깊은 고찰이 담긴 의견을 제시함으로써, 유전적 다양성이 왜 그토록 중요한지에 대해서 알려줄 것이다.

핵심 포인트



유전적 다양성이란?

전 세계적으로 약 400종의 반려견 품종(domestic dog breeds)에서 관찰되는 놀라운 다양성은 지난 14,000년간의 인간과의 친밀한 관계와 그동안 일어난 선택적 교배의 산물이자 증거이다. 2파운드(0.9kg)의 티킵 치와와와 200파운드(91kg)의 그레이드 데인이 보여주는 100배에 달하는 크기 차이는, 포유류 종에서 관찰할 수 있는 가장 큰 범위의 차이이며, 인간이 반려견에게 미치는 영향의 정도를 가능케한다. 지금까지 견종 계통 전체에서 1900만개의 독특한 유전자 변이체(genetic variants)가 발견되었다(1). 반면 순종 집고양이의 경우, 인간에 의한 의도적 교배의 역사가 더 짧으며 더 적은 다양성을 보인다. 대략 70종의 고양이 품종이 알려져 있고, 이들의 대다수는 고작 지난 80년간 개발된 것이다. 그러나 개와 고양이 모두에서 유전자 변종이나 대립 유전자가 상대적으로 거의 없는 것은 인간이 교배를 통해 정성들여 번식시켜온 각각각색의 신체적 특성에 대한 원인이 된다. 이는 각각의 종에서 발견되는 전반적인 유전적 다양성과 비교된다.

우리는 많은 것들에서 "다양함이 삶의 재미"라는 것을 (경험적으로) 알고 있다. 연구에 따르면 하나의 종(種) 내에서의 유전적 다양성에 있어서도 별반 다르지 않다.

우리가 한 개체군의 유전적 다양성에 대해 말할 때는 개체군 내에 전체적으로 존재하는 유전자의 다양성을 고려한다. 여기에는 생물학적 과정뿐만 아니라 외형에 영향을 미치는 대립 유전자가 포함된다(그림 1). 대조적으로, 하나의 개체 내에서의 유전적 다양성을 말할때는 내적 다양성(internal diversity) 또는 잡종강세(hybrid vigor, heterosis)라고 표현한다. 다양성은 인구 건강과 장기 생존에 직접적이고 중대한 영향을 줄 수 있다. 동물 보호론자들은 이러한 다양성의 중요성을 잘 알고 있어서, 유전적 다양성을 극대화하기 위해 협력체계를 구축하고 각각의 종과 그 아종(亞種)들의 장기적 지속 가능성 및 개체군 분포를 적절하게 조정하는 것을 목표로, 자문단을 구성하여 그들이 돌보고 있는 많은 동물에 대한 종별 생존 계획을 개발해왔다(2). 이러한 관점에서 반려동물들을 고려해 보면, 개와 고양이의 번식도 똑같은 방식으로 생각해볼 수 있다는 것을 깨닫게 되는데, 즉 그들은 제한된 수의 개체를 가진 격리된 개체군을 대표하며 일종의 감금(captivity) 상태에서 키워지고 교배된다.

유전적 다양성은 부적절한 DNA 돌연변이, 새로운 바이러스에 대한 노출 또는 환경적 문제 등, 개체군이 새로운 도전에 직면 할 때 의지할 수 있는 자원 또는 "도구 라이브러리(tool library)"이다.

Casey A. Knox, DVM, Wisdom Health™, Vancouver, WA, USA

Casey Knox는 유전학에 많은 관심을 가지고 있는 반려동물 전문 수의사이다. 2007년부터 사육사, 수의사, 반려동물 보호자들을 위한 유전자 연구 및 유전자 검사를 시행하는 수의학 유전자 연구소인 Wisdom Health™ (前 Mars Veterinary) 에서 Technical Support Analyst로서 일하고 있다.



Katherine M. Lytle, DVM, MPH, MS, Wisdom Health™, Vancouver, WA, USA

Katie Lytle은 과학, 반려동물, 인간에 많은 열정을 가지고 있는 수의사이다. Florida 주립대학교를 졸업하고 개원하여 소동물 임상서빙에서 일하였다. 현재는 Wisdom Health™에서 Genetics Research Project Manager로 일하며, 유전질환 테스트 어레이(genetic disease test array)를 브리더, 수의사, 보호자들에게 전달하는 역할을 하고 있다.

보다 다양한 유전자풀(gene pool)이 갖는 가장 분명한 이점은 각 세대마다 열등하고 부적합한 돌연변이가 일어나 질병으로 발현될 가능성이 줄어든다는 점이다. 1,000 Genomes Project를 통해 알게된 것처럼, 모든 이에게 부적합 유전자 변이가 존재하며 이를 "유전적 부하(genetic load)"라고 칭한다. 연구에 따르면 평균적으로 인간은 50-100개의 질병 유발 돌연변이 및 250-300개의 기능 손실 돌연변이를 가진다(3). 개와 고양이도 평균적으로 부적합 돌연변이를 지니고 있을 것이라는 합리적 추론이 가능하며, 최근 연구가 이를 뒷받침해준다. 총 230종, 7,000여 마리의 순종견을 조사한 한 연구에서, 각 개체는 93가지의 위험성 변이체 보유 여부를 검사받았고, 그 중 17.8% (N=1,208)의 개체가 93가지 위험성 변이체(risk-associated variant) 중 적어도 하나를 보유하고 있는 것으로 나타났다. 또, 2.5% (N=170)는 검사를 시행했던 질병에 유전적으로 영향을 받는 것으로 나타났는데(4), 이는 개에게 질환 연관 변이체(disease-associated variant)가 드물게 나타난다는 종래의 개념을 벗어난 결과였다. 그러나 순종견에게만 질환 연관 변이 유전자가 나타나는 것이 아니다. 35,000여마리의 믹스견에게 13가지 질병에 대한 돌연변이 유전자를 검사한 결과, 각각의 검사에서 돌연변이 유전자들 중 두가지가 높은 빈도로 나타나, "믹스견은 단일 유전자로 인한 유전적 질환을 앓지 않는다는 가정이 [...] 거짓으로 판명되었다"(5).

반면, 고양이에 대해서는 순종묘의 유전적 건강에 대해 위 연구들과 비슷한 수준의 광범위 조사가 이루어지지 않았다.

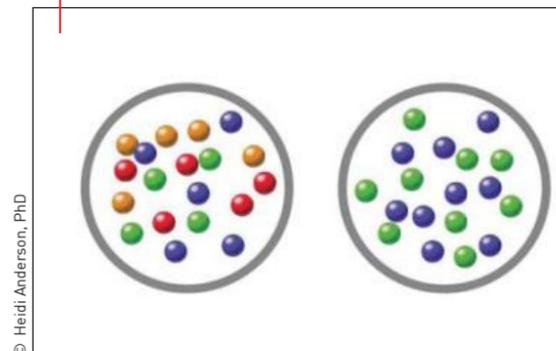
그러나 8,000 마리가 넘는 고양이에 대한 포괄적인 건강 조사 결과, 일부 질환들에 대해 품종 특이성이 있다는 증거를 찾았다(6). 더욱이, 일본과 스웨덴의 반려동물 의료보험 청구내역 평가 자료에서는 특정 품종이 특정 진단을 받을 확률이 높다는 점을 강조하고 있다(7,8). 일례로 일본에서는, Scottish Fold, American Shorthair, Persian, Maine Coon, Norwegian Forest Cat, Ragdoll, Bengal의 심혈관질환 진단률이 믹스묘에 비해 높게 나타났다(7). 잡종강세(hybrid vigor)에 대한 근교약세(inbreeding depression)의 정확한 기전은 밝혀지지 않았지만, 많은 전문가들이 질병과 기능 손실 돌연변이의 연관성과 관련이 있다고 믿고 있다. 반려 동물을 괴롭히는 질병의 유전적 토대에 대한 이해가 깊어짐에 따라, 반려동물 환자 개체군에서 유전 질환의 영향에 대한 이해에 있어 패러다임의 변화가 있을 것으로 예상된다. 즉, 반려동물에게 유전 질환은 더이상 희귀병이 아니라는 생각 말이다.

유전적 다양성 감소는 흔한 일인가?

보존생물학에서는, 하나의 종이 생식력을 가진 개체가 500마리 미만일 때 "멸종 위기에 처해 있다"고 여겨진다. 이 단계에 이르면 동종교배(inbreeding)를 피하는 것이 어렵거나 불가능하므로 해당 종은 지속적으로 살아남을 수 없을지도 모른다. 유전적으로 독특하며 생식력을 가진 개체가 하나의 종 내에서 50마리 미만일 때 "심각한 멸종 위기에 처해 있다"라고 일컬으며, "유효집단크기(effective population size, N_e)"이라고도 한다(9). 유전학 이론에 따르면, 이러한 크기의 개체군에서는 근교약세가 개체군의 건강에 즉각적으로 혹은 가까운 미래에 영향을 미칠 가능성이 높다. 개와 고양이 개체군의 전체적인 크기를 고려할 때, 많은 수의사들이 우리의 반려동물인 개와 고양이들의 많은 품종이 멸종 위기나 심각한 멸종 위기에 처해 있다는 사실을 알게 되면 놀랄 것이다.

영국 Kennel Club에서 얻은 8세대 이상의 순종견을 대상으로, 여러 일반적인 견종의 유효집단크기를 측정 한 연구에서, 연구 대상 10종 중 8종(Akita Inu, Boxer, English Bulldog,

그림 1. 한 개체군에 존재하는 대립 유전자 또는 유전자 변이체를 가상적으로 표현한 2가지 그림. 왼쪽에 있는 개체군이 더 많은 변이체를 가지고 있으므로 보다 다양하다.



© Heidi Anderson, PhD

Chow Chow, Rough Collie, Golden Retriever, German Shepherd Dog, English Springer Spaniel)의 유효집단크기가 33~76 마리로 나타났다(10).

문서상 기록된 가장 오래된 조상까지 거슬러 올라가는 "전체 혈통족보(whole pedigrees)"를 활용한 최근 미국의 연구에 따르면, 유효집단크기가 연구 대상 11개 품종 중 9종에서 100 마리 미만으로 나타났다. 이는 혈통 계산법과 유전자 검사를 통해 측정된 다양성 수준을 반영하는 결과이다. 걱정스럽게도, 미국의 Golden Retriever의 유효집단크기는 6.5마리로 추적되었다(11). 이러한 유전적 병목 현상은 종종 품종 형성의 첫 10년 내에 발생한다. 연구 대상 품종 중 7종은 6세대에 이르러 1세대의 유전자 변이체의 90% 이상을 소실한 것으로 측정되었다. 이는 일반적인 교배 관행이 엄청난 영향을 미친다는 것을 의미한다. 특히 심각한 유전적 병목 현상을 보인 Golden Retriever는 100마리 이상의 자견(子犬)을 생산한 종견(種犬) 중 10%를 차지하였으며, 그 다음으로 Labrador Retriever가 5%를 차지했다(10). 즉, 이 연구에 따르면, 보존 생물학에 적용된 매개 변수를 통한 평가시, 가장 인기가 많고 일반적인 반려동물 품종 중 많은 수가 멸종 위기에 처해 있는 것이다.

대표적인 개체군의 전반적인 유전적 다양성을 전세계적으로 평가한 연구 결과 순종묘가 무작위로 번식된 묘종보다 전반적인 유전적 다양성이 적다는 사실이 밝혀졌다. 순종묘는 무작위로 번식된 묘종과 비교했을 때 평균 이형 접합성이 10% 더 낮았고, 주로 Burmese와 Singapura와 같은 품종에서 낮은 다양성으로 인한 질환 위험이 있는 것으로 나타났다(12). 흥미롭게도 한 연구에서, 묘종의 대중성 또는 해당 묘종이 얼마나 오랫동안 생존해왔는지에 따라, 그 품종의 유전적 다양성 또는 근친 교배 수준을 완전히 예측할 수 없다는 사실이 발견되었다(13). 개의 경우와 마찬가지로, 브리더(breeder)의 결정이 특정 품종의 유전적 건강과 다양성에 가장 큰 영향을 미칠 수 있는 것으로 나타났다.

●●● 유전적 다양성은 왜 감소하였는가?

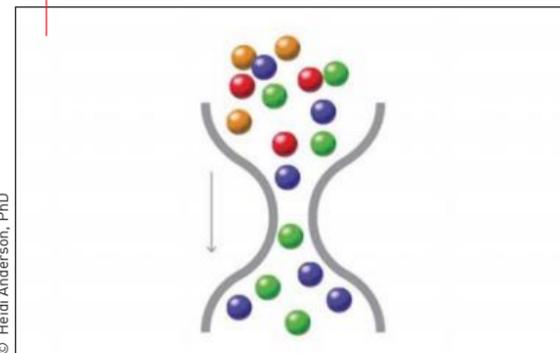
다음 세대로 넘어갈 유전자 변이체만이 미래의 다양성에 영향을 줄 수 있다. 순종견과 순종묘에게 가장 큰 영향을 미치는 것은 브리더의 행동이다. 유전적 다양성은 폐쇄된 개체군 내에서 쉽게 사라지지만, 자연적으로 획득되기에는 아주 오랜 시간이 걸린다. 그것도 그 개체군이 다양성을 재획득하기에 충분히 오래 생존한다는 가정 하에서 말이다. 원인에 관계 없이 유전적 병목 현상(그림 2)이 발생하면 유전적 다양성이 줄어들어 개체군이 전염병과 같은 새로운 난관을 극복하지 못하게 될 수 있다. 대부분의 반려동물 품종은 전세계적인 특성으로 인해 전체 견종 및 묘종이 멸종될 가능성은 희박하나, 여러 세대에 걸쳐 발생하는 건강하지 못한 교배 관행은 개별 품종에게 더 큰 멸종 위험을 야기한다.

개체군의 유전적 다양성을 감소시킬 수 있는 메커니즘은 다음과 같다.

- "인기 종견 신드롬" ("Matador breeding" 이라고도 함)
- 동종교배
- 한마리의 종견이 너무 많은 암컷과 교배됨
- 지리적, 기후적 또는 정치적 경계의 제거에 의한 번식 개체군의 통합
- 전염병
- 특정 품종이 개발된 목적이었던 생활 양식이 사라짐 (예를 들어, 썰매견, 바다오리 사냥견, 오리 유인견)
- 전쟁과 같은 유의미한 인간 사회의 사건

처음에는 견종 교배가 특정 작업을 수행하기 위해 시행되었지만 (즉, 기능적인 부분을 목적으로 한 교배), 현대의 브리더들은 일반적으로 외형을 목적으로 하여 교배를 행하며, 특히 고양이 브리더들은 오로지 외형적 특징에만 집중한다. 외형을 목적으로 하든 특정 행동을 목적으로 하든, 인간 주도의 견종과 묘종의 교배는 단지 반복적인 결과물을 얻어내기 위한 것이다. 1800년대 후반에 대규모의 폐쇄형 견종 등록소(closed-breed dog registries)가 생기기 전에, 친자감별 및 인공 수정이 보다 현대적으로 도입되면서, 동종교배로 인한 영향이 과도하게 교배된 수컷에 대한 제한과 더불어 의도적으로 혹은 우연히 이루어진 이종교배로 인해 완화되었다. 품종은 혈통에 따라

그림 2. 원인에 관계 없이 유전적 병목현상은 개체군의 다양성을 감소시킨다.



© Heidi Anderson, PhD



“유전적 다양성은 폐쇄 개체군 내에서 쉽게 감소하지만, 자연적으로 획득되기에는 오랜 시간이 걸린다... 그것도 그 개체군이 유전적 다양성을 획득할만큼 충분히 오래 살아남는다는 가정하에서 말이다.”

Christoph J. Klinger

정의되기 보다는 유전적 표현형이나 외형 및 행동에 기반하여 정의되었다. 오늘날 미국 Kennel Club과 같은 주요 견종 등록소는 폐쇄형 등록소이다. 즉, 등록소에 등록되어 있는 기존 혈통 목록에 새로운 혈통을 추가 할 수 없음을 의미하며, 등록을 하려면 기존에 등록된 견종과 혈연관계가 있어야 한다. 한편, 미국의 주요 고양이 혈통 등록소는 특정 믹스묘를 허용하는 조항을 가지고 있다. 따라서 당연하게도, 묘종 브리더들은 견종 브리더보다 이종교배를 더 많이 하는 경향이 있다.

오늘날 브리더들은 오래 전 처음 세워진 지침과 유사한 지침을 따른다. 그러나 이러한 의사 결정이 이루어지는 환경은 브리더들이 참여하는 광범위한 브리더 네트워크의 영향을 받는다. 인터넷에 의해 교배 관행의 확실성이 강화되어, 더 많은 의사 소통을 가능케하고 개개인이 지리적 요인으로 고립되지 않게끔 하여 이러한 교배 관행의 확실성이 더 많은 비율의 교배 개체군에게 영향을 미치게 되며, 잠재적으로 대립 유전자의 상실을 초래할 수 있다(14). 브리더는 "최고로부터 최고를 뽑아내도록" 권장되기 때문에 특정한 혈통들이 지나치게 중요시되는 것이 당연하다. "인기있는" 종견과 모견을 교배하거나 특정 혈통에 극도로 의존하는 경우, 다른 잠재적 교배대상은 제외된다. 혈통견들이 가지고 있는 유전자는 일반적이지는 않지만 유익할 수는 있다. 그러나 인기있는 종견 신드롬(popular sire: matador breeding)이 극단적인 경우, 그 유전자들은 개체군 유전자풀에서 완전히 사라질 수 있다. 특히 반려견 품종 교배의 많은 경우에서처럼, 한마리의 종견이 너무 많은 암컷과 교배된다면, 이 또한 개체군의 크기를 감소시킬 것이다. 이러한 모든 교배 관행은 특정 행동이나 외형을 획일적으로 지닌 자견들의 개체수를 늘리기 위해 이용되지만, 동시에 유전적 다양성을 감소시킨다. 이것은 결과적으로 다음 세대에 미치는 유전적 다양성 감소의 부정적인 영향을 증가시킨다. 일반적으로 브리더들은 주기적으로 혈통 분석을 이용하고 인공 수정을 일상적으로 사용한다. 후자의 경우에만 수의사의 조언이나 도움이 필요하다. 교배의 결과가 우리의 반려동물 환자 개체군에 직접적으로 영향을 줄 수 있음에도, 교배 관련 결정의 대부분은 수의사의 개입 없이 이루어진다.

●●● 유전적 다양성 감소는 어떻게 발현되는가?

다양성 감소의 징후는 식물과 동물 중 모두에서 비슷하게 나타난다. 100개 이상의 문화권에서 100만명이 넘는 사람들을 대상으로 조사한 최근의 연구 결과, 세계 인구의 10%가 6촌 이내 친족관계의 후손임을 알게 되었다. 근친혼 등 낮은 유전적 다양성을 가진 개인들을 그렇지 않은 이들과 비교하였을 때, 불임의 증거가 발견되었다. 중등도의 근친혼 관계(moderate inbreeding)인 사람들은 근친혼 관계가 아닌 이들보다 불임일 가능성이 1.6배 더 높았으며 근친상간(부모자식간, 친남매간)의 경우는 4배 더 높게 나타났다. 또한 신장(height) 감소와 학업능력 감퇴도 근친혼 관계와 관련이 있음이 연구를 통해 밝혀졌다(15). 개를 대상으로 한 연구에서도 근친교배의 수준에 비례하는 유사한 부정적 영향을 발견했다(Box 1). 유전적 다양성이 감소하면, 복잡하든 단순하든 멘델 유전병의

Box 1. 견종에서 나타나는 다양성 감소의 징후

수명 감소
자견의 신체 크기 감소
신체 크기 감소
생식 능력 감퇴
이유(離乳, 젖떼기) 전후 영아건 사망률 증가
유전질환 발병 위험 증가
자기면역질환 및 감염에 대한 유전적 감수성 증가

유전병 위험이 증가하고(16,17), 자기면역질환의 위험 증가와도 관련이 있다(18). 이종교배 및 무작위 교배된 품종들이 단순히 순종이 아니라고 해서 유전질환으로부터 안전한 것은 아니라는 점을 주목할 만하다. 믹스종들조차 많은 경우 순종들로부터 유전자를 물려받았기 때문에 마찬가지로 영향을 받는다(5). 자견 크기 감소와 영아건 사망률 증가와 같은 불임의 증상은 유전적 다양성 감소와 관련이 있다(19~21). Bernese Mountain dog을 대상으로한 연구에서 동종교배 계수(coefficient of inbreeding, COI)가 1% 증가할 때마다 수명이 21일 감소한다는 것을 발견했다(22). 유전적 다양성이 행동과 수행능력에 미치는 영향에 대한 연구는 거의 없지만 예비 자료에 따르면 사냥 능력이 감소하는 것으로 나타났다(23).

묘종의 낮은 유전적 다양성의 영향을 평가하는 연구는 많지 않지만, 그 효과는 개와 인간에서 발견되는 것과 유사한 패턴을 따르는 것으로 예상된다.

●●● 유전적 다양성은 어떻게 측정되는가?

개별 개체의 유전적 다양성을 평가할 때 가장 일반적인 접근 방법은 동종교배 계수(COI)를 계산하는 것이다(24). COI는 공통 조상으로 인해 한 개체의 특정 유전자좌(gene locus)에서 2개의 무작위 대립 유전자가 동일할 통계적 가능성을 결정한다. 이는 2개의 변이체가 종견과 모견의 혈통에 존재했던 동일한 조상에서 유래했음을 의미한다. 족보에서 개체간에 더 많은 가족 관계가 존재할수록 COI 비율이 높아지는 결과를 낳는다. 예를 들어, 친남매간 또는 부모 자식간의 교배는 COI가 0.25 또는 25%인 자견을 생산하며 이복형제간 교배(half-sibling mating)는 0.125, 사촌간 교배는 0.0625로 산출된다. 그러나 분석에 앞서 몇 가지를 가정한다. 즉, 1) 분석에서 사용된 가장 먼 세대는 완전히 관련 없는 개체로 구성되며 2) 한 부모의 모든 자손은 동일하고 3) 족보에서 누락된 개체는 포함시키지 않는다. 따라서, COI 계산은 혈통의 완전성과 정확성에 크게 의존적인 근사치이다. 그러나 COI가 증가할수록, 동형접합성(homozygosity) 비율과 유전질환 발병 위험이 증가한다.

초기 연구는 교배 도구로 활용하기에 COI 보다 유전적 다양성을 직접 유전학적으로 측정하는 것이 더 민감하고 유용하다고 제안한다(25). 표준 소프트웨어를 사용하는 COI 산출은 속도가 매우 느리고 약 10세대를 넘어가는 계산은 불가능하기 때문에,



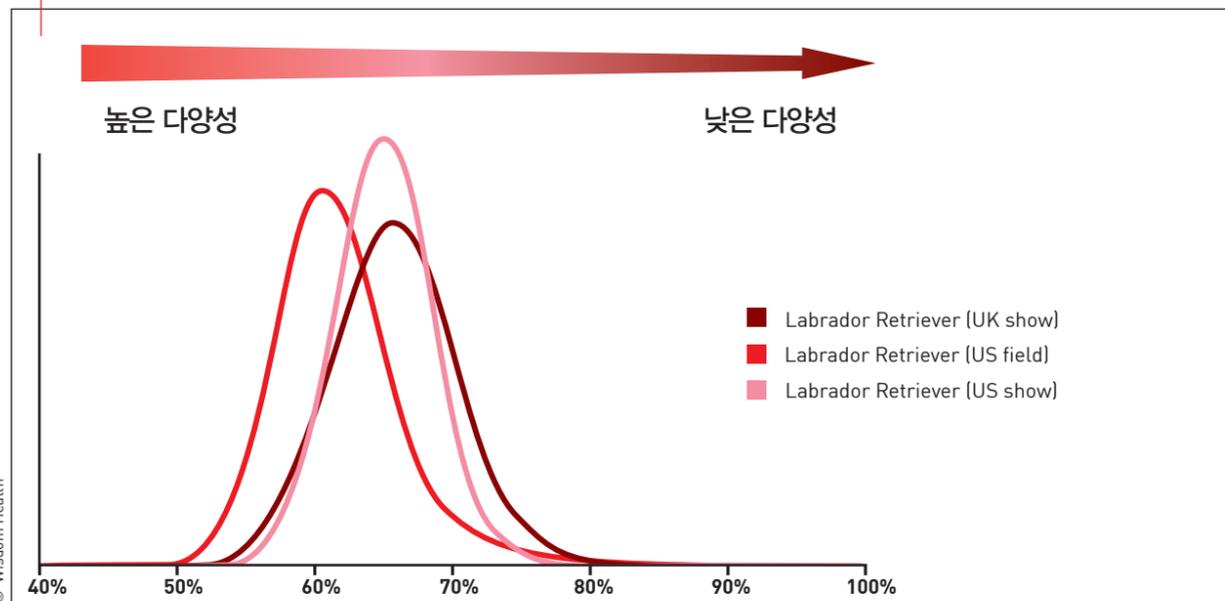
“유전적 병목 현상에 뒤이은 유전적 다양성 감소는 신종 전염병과 같은 새로운 난관을 개체군이 극복하지 못하게 한다.”

Katherine M. Lytle

그리고 많은 품종들이 1세대 개체부터 내려오는 족보가 없는 경우가 많기 때문에 COI가 5-8 세대 이상 더 많이 계산되는 경우가 거의 없다. 게다가, COI 산출에 있어 혈통의 부정확성이 미치는 영향을 설명할 수 있는 방법이 없다.

한 연구에 따르면, 견종 연구에서 1~9%의 오류율(26)이 오류율이 COI에 상당한 영향을 미칠 수 있다고 추정되었다. 그러므로 유전자 검사를 통한 유전적 다양성의 직접적 측정이 개별 개체의 유전적 다양성에 대한 보다 실질적인 평가이다. 이는 직접적 측정이 COI 산출에 적용된 가정에 구속되지 않으며 개인의 유전적 상태를 온전히 반영하기 때문이다(그림 3). 전장유전체 분석(whole genome sequencing, WGS) 또는 단일염기 다형성(single nucleotide polymorphism, SNP)

그림 3. Labrador Retriever의 미국 Field 혈통에서 관찰되는 다양성 곡선은 미국 Show 혈통과 영국 Show 혈통에 비해 왼쪽에 나타난다. 이는 Field 혈통이 평균적으로 Show 혈통보다 더 높은 유전적 다양성을 지닌다는 것을 의미한다.



칩 기반 다양성 측정법을 사용하는 경우, 1세대부터 전체 혈통을 계산한 결과조차도 직접 측정에 비해 COI를 상당히 축소 측정한 것으로 나타났다. 연구 대상이었던 대부분의 품종은 평균적으로 이북남매에서 친남매의 범위(COI = 0.125-0.25)로 산출되었다(11).

수의사가 알아야 하는 것은 무엇인가?

의학 분야에서처럼 수의학 분야에서도 개별 맞춤 치료의 시대가 도래하였다. 인간을 대상으로한 표준 의료에서는, 개인적 의료 기록뿐만 아니라 가족력에 대한 적절한 질문을 하는 것이 표준 진료과정에 포함되어있다. 하지만 수의사의 경우 이와 같은 환자에 대한 정보를 얻는 것이 드문데, 이는 보통 동물 환자가 가족력과 단절되어 단일 개체로만 진료를 받게 되고, 때때로 환자에 대한 기본적인 의료 기록(예방접종 기록 등)조차 없는 경우가 많기 때문이다. 건강에 영향을 미칠 정도로 낮은 유전적 다양성을 보이는 경우는 인간에게는 비교적 드문 편이며, 대부분의 국가에서 그러한 경우들(근친혼 등)을 규제하는 법안이 마련되어 있는 반면, 순종견, 순종묘뿐만 아니라 믹스종에서조차 유전적 다양성 감소 및 높은 근친교배율은 흔하게 나타나며(12), 개와 고양이의 유전병도 흔하다(4),(6). 더욱이, 이러한 개와 고양이 중 많은 수가 믹스종이더라도 알 수 없는 혈통으로, 대부분 부정확한 품종명을 가진 채, 품종별 유전질환에 대한 잘못된 예측을 하게 하고, 정작 고려해야 할 유전질환은 간과하게 만든다(27). 견종 및 묘종 브리더들과의 상담에서, 개별 개체 뿐만 아니라 더 큰 교배 개체군에 대한 건강 및 유전적 다양성에 있어 적합한 유전적 “사전 검사”와 관련된 교육이 논의되어야 한다. 향후 불확실한 품종들의 유전적 적합성을 확보하는데 있어, 브리더들에게 집단 유전학(population genetics)의



그림 4. Singapura는 작은 유전적 기반을 가진 묘종 중 하나이다.

측면을 고려하도록, 그리고 그러한 측면에 맞게 자신의 사육장(kennel or cattery)을 어떻게 운영할 것인지에 대한 방안을 모색해 보도록 필수적으로 권장하여야만 한다(그림 4).

인간에서, 약물유전검사 패널(pharmacogenetic panel)은 일반적으로 항우울제와 같은 특정 치료 이전에 시행된다. 이제는 동물 환자들을 위해서도 마취, 화학요법, 피부과 치료 전에 유사한 검사가 가능하다는 것을 수의사들이 알고 있어야 하며, 특히 이전에는 MDR1라 칭하던 ABCB1 검사가 있다(28)(14 쪽 참조). 개와 고양이를 위한 혈통 및 유전적 다양성 검사뿐만 아니라 특정 질환에 대한 상업적 유전자 검사도 점점 더 많이 이용 가능해지고 있다(29-31).

결론

향후 수의사는 순종묘 및 순종견뿐만 아니라 믹스종에서조차 유전질환이 매우 흔한 상황에서 진료를 보게 될 것이다. 일상적으로 진료를 보면서 견주나 묘주에게 객관적인 상담을 제공하고 환자들을 치료하는데 있어, 품종 정보, 유전적 건강 검사 정보, 유전적 다양성 데이터가 매우 중요하게 될 것이다. 게놈 검사법은 유전적 다양성 및 질환관련 유전자 변이 분석에 있어 중요한 도구로 입증되었으며, 이제 동물환자들에 관한 관련 정보를 밝히기 위해 활용되어야 한다. 이를 통해 우리는 반려동물에게 더 나은 건강 관리를 제공하고 후속 세대의 건강 상태와 다양성을 보존하고 개선시킬 수 있다.

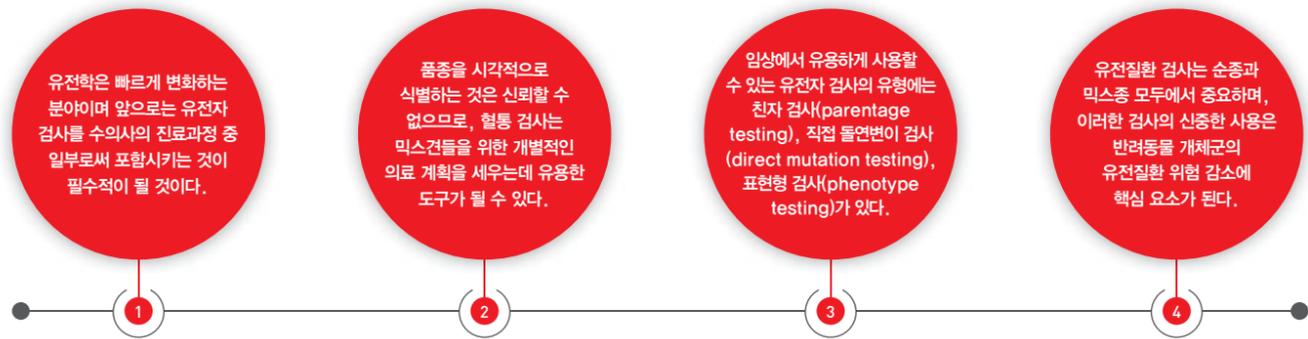
참고 문헌

1. Beijing Institute of Genomics Web site. DoGSD: The Dog Genome Database. Available at: <http://dogsd.big.ac.cn/>
2. Species Survival Plan Programs. The Association of Zoos and Aquariums website. Available at: www.aza.org/species-survival-plan-programs
3. The 1000 Genomes Project Consortium. A global reference for human genetic variation. *Nature* 2015;526:68-74.
4. Donner J, Kaukonen M, Anderson H, et al. Genetic panel screening of nearly 100 mutations reveals new insights into the breed distribution of risk variants for canine hereditary disorders. *PLoS One* 2016;11(8):e0161005.
5. Zierath S, Hughes AM, Fretwell N, et al. Frequency of five disease-causing genetic mutations in a large mixed-breed dog population (2011-2012). *PLoS One* 2017;12(11):e0188543.
6. Vapalahti K, Virtala AM, Joensuu TA, et al. Health and behavioral survey of over 8000 Finnish cats. *Front Vet Sci* 2016;3:70.
7. Inoue M, Hasegawa A, Sugiura K. Morbidity pattern by age, sex and breed in insured cats in Japan (2008-2013). *J Feline Med Surg* 2016;18(12):1013-1022.
8. Egenvall A, Bonnett BN, Häggström J, et al. Morbidity of insured Swedish cats during 1999-2006 by age, breed, sex, and diagnosis. *J Feline Med Surg* 2010;12(12):948-959.
9. Franklin, IR. Evolutionary change in small populations. In: Soulé, ME, Wilcox BA (eds.) *Conservation Biology: an Evolutionary-Ecological Perspective*. Sunderland: Sinauer Associates, 1980;135-150.
10. Calboli FCF, Sampson J, Fretwell N, et al. Population structure and inbreeding from pedigree analysis of purebred dogs. *Genetics* 2008;179(1):593-601.
11. Dregler DL, Rimbault M, Davis BW, et al. Whole-genome sequence, SNP chips and pedigree structure: building demographic profiles in domestic dog breeds to optimize genetic-trait mapping. *Dis Mod & Mech* 2016;9(12):1445-1460.
12. Lipinski MJ, Froenicke L, Baysac KC, et al. The ascent of cat breeds: genetic evaluations of breeds and worldwide random-bred populations. *Genomics* 2008;91(1):12-21.
13. Kurushima JD, Lipinski MJ, Gandolfi B, et al. Variation of cats under domestication: genetic assignment of domestic cats to breeds and worldwide random bred populations. *Anim Genet* 2013;44(3):311-324.
14. Wade CM. Inbreeding and genetic diversity in dogs: results from DNA analysis. *Vet J* 2011;189(2):183-188 [abstract].
15. Clark DW, Joshi PK, Esko T, et al. Sex-specific inbreeding depression in humans. In *Proceedings. American Society of Human Genetics*, 2017;Pg-Nr279 [abstract].
16. Janutta V, Hamann H, Distl O. Genetic and phenotypic trends in canine hip dysplasia in the German population of German Shepherd dogs. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 2008;121(3-4):102-109 [abstract].
17. Engelhardt A, Stock KF, Hamann H, et al. A retrospective study on the prevalence of primary cataracts in two pedigrees from the German population of English Cocker Spaniels. *Vet Ophthalmol* 2008;11(4):215-221.
18. Safra N, Pedersen NC, Wolf Z, et al. Expanded dog leukocyte antigen (DLA) single nucleotide polymorphism (SNP) genotyping reveals spurious class II associations. *Vet J* 2011;189:220-226.
19. Gresky C, Hamann H, Distl O. Influence of inbreeding on litter size and the proportion of stillborn puppies in dachshunds. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 2005;118(3-4):134-139 [abstract].
20. van der Beek S, Nielen AL, Schukken YH, et al. Evaluation of genetic, common-litter, and within-litter effects on preweaning mortality in a birth cohort of puppies. *Am J Vet Res* 1999;60(9):1106-1110 [abstract].
21. Leroy G, Phocas F, Hedan B, et al. Inbreeding impact on litter size and survival in selected canine breeds. *Vet J* 2015;203:74-78.
22. Long P, Klei B. Inbreeding and longevity in Bernese Mountain Dogs website. Available at: www.slideserve.com/harvey/inbreeding-and-longevity-in-bernese-mountain-dogs
23. Voges S, Distl O. Inbreeding trends and pedigree analysis of Bavarian Mountain hounds, Hanoverian hounds and Tyrolean hounds. *J Anim Breed Genet* 2009;126(5):357-365.
24. Wright S. Coefficients of inbreeding and relationship. *Am Nat* 1922;56(645):330-338.
25. Leroy, G. Genetic diversity, inbreeding and breeding practices in dogs: Results from pedigree analyses. *Vet J* 2011;189(2):177-182.
26. Leroy G, Danchin-Burge C, Palhiere I, et al. An ABC estimate of pedigree error rate: application in dog, sheep and cattle breeds. *Anim Genet* 2012;43(3):309-314.
27. Voith VL, Trejejo R, Dowling-Guyer S, et al. Comparison of visual and DNA breed identification of dogs and inter-observer reliability. *Am J Soc Res* 2013;3(2):17-29.
28. Mealey, K. *MDR1* gene mutations and drug therapy. *Clinician's Brief* 2016;5:14-20.
29. Wisdom Health™ www.wisdompanel.com.
30. Genoscooper Laboratories Oy. www.MyDogDNA.com
31. University of California-Davis Veterinary Genetics Laboratory. www.vgl.ucdavis.edu

CLINICAL APPLICATIONS OF GENETIC TESTING

지난 몇 년간 유전학 분야는 놀라운 속도로 발전해 왔으며 그 결과 유전자 검사에 대한 선택지 또한 급격하게 증가했다. Dr. Freyer와 Dr. Hughes가 현상황에 대해 작성한 개괄에서 알 수 있듯이, 수의사가 진료에 유전자 검사를 활용하는 것은 명백한 이점을 가진 것으로 밝혀졌다.

핵심 포인트



서론

유전학 분야는 유전학 하면 많은 이들이 떠올렸던 다윈의 갈라파고스 핀치(Galapagos finches)와 멘델의 주름진 완두콩의 수준을 뛰어넘은지 훨씬 오래되었다. 실제로 고작 지난 몇 년 동안만 해도 유전학 분야에서는 기하급수적인 발전이 있었다. 인간, 개, 고양이, 말, 돼지, 소, 쥐를 포함한 대부분의 주요 동물 종은 게놈 서열이 분석되었다. 새로운 유전학 연구 도구들이 이용 가능해지면서, 과학자들은 유전적 특성과 질병이 어떻게 발생하고 유전되는지에 대해 엄청난 양의 지식을 습득할 수 있었다.

이러한 지식은 우리 수의사들이 환자 치료에 접근하는 방식을 바꾸고 있다. 예를 들어, 일부 Collies에서 이버멕틴(ivermectin)의 심각한 부작용이 확인 된 것은 불과 수십 년 전이었다(1)(14쪽 참조). 분자적 원인은 혈액뇌장벽(blood-brain barrier, BBB)에서 약물 전달 펌프(drug-transport pump)의 기능을 막아 약물을 뇌로 이행되지 않게 하는 다중 약물 내성 유전자의 결실(缺失)때문으로 밝혀졌으며(2), 현재 이 돌연변이는 Collies 이외의 많은 순종견 및 믹스견에 존재할뿐만 아니라 이버멕틴 이외의 많은 약물과도 관련이 있음이 드러났다(3). 이러한 지식은 우리를 더 나은 수의사로 만들었고 더 나은

환자 치료로 이어졌다.

한층 발전한 최신 유전학 분야의 지식을 이해하고 활용함으로써, 수의사들은 환자에게 포괄적 의료를 제공할 수 있고, 그러한 포괄적 의료의 가치에 대해 반려동물의 보호자가 가진 인식을 제고(提高)할 수 있다.

우리는 환자의 생애단계(life stage)뿐만 아니라 환자의 품종도 고려한 맞춤 접근 방식으로 환자를 위한 개별 치료 계획을 제공할 수 있다. 품종별 유전적 위험을 확인하고 품종 배경에 따라 환자의 치료를 맞춤 설정함으로써 보호자와 수의사와의 관계를 개선할 수 있고, 보다 신속한 진단과 조기 치료를 가능하게 한다.

대부분의 수의사는 의료 결정을 내릴 때나 보호자와 이야기 할 때 이미 품종 차이를 고려하고있을 것이다. 그러나 각 품종마다 전체 집단에 유전자가 이어져 내려온 다는 점에 대해 일관된 메시지를 만들어 전달하는 것이 중요하다. 치료의 초기 단계에서 환자의 보호자와 유전적 문제를 상의하여 사전에 준비가 가능하도록 하고 최고의 건강 유지 계획을 세워야 한다. 충분한 설명을 들은 보호자는 정기적인 진료를 위해 동물병원을 자주 방문하고, 예방적 조치를 권유한 대로 잘 수행하면 반려동물이 아플때 조기에 인지할 가능성이 더 크다.

Jamie L. Freyer, DVM, Wisdom Health™, Vancouver, WA, USA

Oregon의 Portland 출신인 Dr. Freyer는 Oregon 주립대학교에서 수의학을 전공하고 2009년에 수의사가 되었다. Portland 지역에서 5년간 소동물 임상을 한 후, Wisdom Health™ (前 Mars Veterinary)에서 Technical Support Analyst로 이직하였다. Dr. Freyer의 관심사는 특수동물(exotic animal)을 위한 수의학, 동물 행동, 유전학이다. 또한 반려견과 함께 일하는 것을 좋아하며, 민첩성, 외관, 양치기 종목을 포함하는 캐니스포츠(canine sports)에 참가해 경쟁하는 것을 좋아한다.



Angela Hughes, DVM, PhD, Wisdom Health™, Vancouver, WA, USA

Dr. Hughes는 수의사가 되어 수유유전학 레지던트 과정 및 유전학 박사 과정을 마친 후, California 주립대학교 Davis 캠퍼스에서 임상 조교수직을 맡았다. 현재는 Wisdom Health™에서 Veterinary Geneticist로서 잠재적 교배견을 유전적으로 정렬하는 새로운 분석 도구인 Optimal Selection™을 개발 중이다. 또한, 여러 개, 고양이와 관련된 유전학 연구 및 유전질환, 유전특성, 혈통을 검사하는 Wisdom Panel® test의 지속적인 개발에도 참여하고 있으며, 다수의 논문과 저서를 발표하였다.

분명히, 이러한 품종별 맞춤 의료는 순종견, 순종묘 환자에게 쉽게 적용될 수 있음은 물론, 믹스견, 믹스묘 환자에게까지 확대 될 수 있다. 믹스견의 가까운 조상 혈통 내에서 순종 조상의 유전자를 평가하는 DNA 검사가 10년 전부터 이용이 가능해졌고 이 기술은 끊임없이 개선되고 있다. 이 정보를 바탕으로, 수의사는 보호자가 자신의 반려견을 더 잘 이해하고 개별화된 웰빙 계획을 개발하도록 도울 수 있다. 이제는 각 환자의 품종 병력을 이해하고 적절하게 치료하는 것이 의학적으로 필수 사항이 된 시대가 도래하였다.

표현형과 유전형

많은 보호자들과 수의사들이 털의 길이와 색상 또는 기타 특성과 같은 시각적 단서를 기반으로 개의 품종을 추정하는 것에 나름대로 자신감을 가지고 있을지도 모르지만, 표현형(외형 기반)의 특징과 품종 간의 연관성은 보기보다 직관적이지 않다. 일부 형질은 단순한 우성/열성 유전을 보이는 반면, 다른 형질들은 다인자적(polygenic)이거나 다중 유전자 조합으로 발현되기 때문에 부모견의 품종을 정확히 예측하기가 어렵다. 게다가, 우성 형질들은 그 유전 방식이 상대적으로 "쉽게" 후손에게 전달될 수 있기 때문에 한 혈통 내에서도 많은 세대를 거쳐 다시 나타날 수 있다.

외형에 관한 일반적인 오해가 많다. 예를 들어, 단모견종과 장모견종 간의 차이는 중간 길이의 털을 가질 것이라고들 생각하지만, 사실상 대부분의 경우 단모가 우성유전이기 때문에, 일반적으로 자견은 단모인 경우가 많다. 또다른 일례로, 검정(merle) 또는 황갈색 무늬(tan point)와 같은 특정 색상의 무늬가 특정 품종만의 것이라는 믿음이 있다. 실제로는 약 20종에 이르는 견종이 유전적으로 검정 무늬를 가질 수 있고, 황갈색 무늬를 띠 수 있는 견종은 훨씬 더 많다. 믹스견은 외모를 보았을 때 다른 종으로 착각하게 만드는 혈통을 가졌을 수 있으며, 특이하다 여겨질 수 있는 품종 조합이 실제로는 매우 평범할 수 있다.



© Wisdom Health™ 2017

그림 1. 좌측의 개는 "Labrador/Shepherd"의 믹스견으로 입양되었다. 우측의 개는 Shepherd나 Akita 품종이 섞인 것으로 보인다. 그러나 사실은, 두 마리의 개 모두 American Staffordshire Terrier와 Chow Chow의 믹스견이다. 두 마리 모두 단모, 흑모, 검은 얼굴색 등 몇 가지 주된 특성을 보이고 있다.

그림 1~3을 보면 외모만으로 개의 혈통을 추측하는 것이 얼마나 어려운지, 유사 혈통을 가진 개들의 외모가 얼마나 다를 수 있는지를 확인할 수 있다. 본질적으로 품종을 시각적으로만 식별하는 것은 많은 이들이 알고 있는 것보다 훨씬 복잡하며 많이 부정확하다는 연구 결과가 있으며(4), 중요한 의학적 결정을 내릴 때에는 추측을 통해 품종을 식별해서는 안된다. 순종 및 믹스종 환자 모두에서 유전 데이터와 품종별 건강관리를 완전히 활용하려면, 수의사는 유전학에 대한 기본 지식을 갖추고 어떤 종류의 유전자 검사와 표현형 검사를 활용할 수 있는지 숙지하고 있어야 한다.



그림 2. 외형은 매우 다르게 생겼지만, 이들은 둘 다 Cocker Spaniel과 Chihuahua의 믹스종이다.



그림 3. 이들은 둘 다 American Staffordshire Terrier와 Yorkshire Terrier의 믹스종으로 일반적으로 Terrier 견종에서 나타나는 수염과 눈썹을 일컫는 "furnishings"이라는 특징을 보인다. 이는 우성형질로 한 혈통 내에서 많은 세대에 걸쳐 다시 나타나므로, 시각적 품종 식별을 어렵게 한다. 또한, 우측의 개는 사지가 짧아지는 유전질환인 연골형성장애(chondrodysplasia)도 가지고 있는데, 이는 Yorkshire Terrier에서 흔하게 나타난다.

유전학 개괄

생명의기본적인청사진, 즉유전물질은DNA(deoxyribonucleic acid)이다. DNA는 뉴클레오타이드 염기(nucleotide bases)인 아데닌(adenine), 타이민(thymine), 구아닌(guanine), 사이토신(cytosine)으로 된 중합체의 이중 가닥이다. 이 가닥들은 세포 분열에 대비하여 복제되거나 리보 핵산(RNA)으로 전사되어 기능성 단백질로 변환될 수 있다. DNA는 신체 대부분의 세포핵에 포함되어 있으며 염색체에 배열되어 있다. 개에서 이 염색체는 38개의 상염색체와 한 쌍의 성염색체(X와 Y)로 구성되어 있고, 고양이는 18개의 상염색체와 한 쌍의 성염색체로 구성된 유사한 유전 정보를 가지고 있다. 각 자손은 상염색체 한 세트와 각 부모로부터 하나의 성염색체(X 또는



“한층 발전한 최신 유전학 분야의 지식을 이해하고 활용함으로써, 수의사들은 환자에게 포괄적 의료를 제공할 수 있고, 그러한 포괄적 의료 가치에 대한 반려동물 보호자의 인식을 높일 수 있다.”

Jamie L. Freyer

Y)를 물려받는다. 이 각각의 염색체 내에서 염기 서열이 결합하여 세포가 서로 다른 단백질을 생성하도록 지시하는 유전자를 만든다.

개들은 지구상에서 가장 다양한 종 중 하나이다. 어떻게 본질적으로 동일한 DNA 지시사항을 가진 하나의 종에서, 아주 작은 Chihuahua부터 거대한 Great Dane까지 이토록 다양할 수 있는가? 그 답은 대립 유전자에 있다. 대립 유전자는 DNA 수준의 작은 서열 변경이며 후세에 전달된다. 일부 대립 유전자는 단백질 형성시 차이를 만들며 변형되어, 잠재적으로 개체간 구조적 차이 또는 건강(질병)에 관련된 차이를 유발한다. 동일 견종 내에서는 많은 동일 대립 유전자가 공유되는 경향이 있으므로, 유사한 외형과 유사한 행동을 보이게 된다.

수세기 동안 선택적 교배를 통해 수 백종의 별개 견종을 만들었던 개와는 반대로, 대부분의 모종은 종종 털의 색이나 털의 형태(장모, 단모)와 같은 단일 유전자 형질에 기반을 두고 지난 세기동안 만들어졌다. 예를 들어, Exotic은 단모 Persian종이고 Selkirk Rex는 곱슬모 Persian종이다. 따라서, 모종 및 모종의 대립 유전자는 견종보다 훨씬 더 동질성이 높기 때문에 품종 특이성 유전질환의 수와 형태학적 차이가 더 적다. 모종에 적용할 수 있는 유전검사의 종류는 아무래도 견종에 비해 뒤쳐져 있지만, 60개 이상의 질병과 형질 돌연변이에 대한 검사가 현재 이용 가능하다.

유전자 검사의 이점

아마도 유전자 검사의 가장 확실한 이점은, 유전질환이 있을 수 있는 자손을 생산하지 않을 동물을 선별하여 교배시 선택함으로써 유전질환을 사전에 예방할 수 있다는 점일 것이다. 유전질환 보인자인 동물이 정상인 짝과 교배가 되는 한, 보인자임이 밝혀지지 않아 계속해서 다른 짝들과 교배될 수 있다는 것을 기억해야 하며, 보인자 자손의 경우도 교배 전에 유전자 검사를 하는 것이 권장된다.

교배 전 선별 검사를 위해 유전자 검사를 활용하는 것 외에도, 유전자 검사를 통해 얻어낸 정보를 전체 개체군을 위해 사용할 수도 있다. 순종뿐만 아니라 믹스종 환자들에게 나타날 수 있는 유전질환의 조기 발견을 위해 폭넓은 유전자 검사가 진료의 표준이 되어가면서, 의학과 마찬가지로 수의학도 각 개체의 질환 발병 위험에 대한 평가를 기반으로한 환자별 맞춤 치료를 향해 나아가고 있다.

유전자 검사

수의사가 이용할 수 있는 몇 가지 유형의 유전 검사 중 하나는 친자확인 검사인데, 이 검사는 DNA를 사용하여 유전자 마커(genetic marker)를 확인하거나 돌연변이가 만든 몇몇 대립유전자가 있는 DNA상 위치를 조사하여 자견이 부모견과 유전적으로 일치하는지 여부를 확인한다. 법의학 사건이나 반려동물이 실종 또는 도난 당한 상황에서 이 같은 유전자 마커를 사용하여 신원을 확인할 수 있다.

어떤 질병이나 형질을 유발하는 특정 돌연변이가 알려지면, 동물의 DNA에서 그 위치를 찾아내어 해당 개체가 하나 또는 두 개의 특정 돌연변이를 가지고 있는지 여부를 확인할 수 있는데, 이를 직접 돌연변이 검사(direct mutation test)라고 한다. 다른 유전자 검사는 유전자 연관(genetic linkage) 개념에 기반하여, 해당 위치의 유전자형을 예측하기 위해 관심 영역의 측면에 배치된 유전자 마커를 사용한다.

기술의 진보로 계속해서 더욱 많은 수의 마커를 검사하는 것이 가능해지고 있다. 이로 인해, 개, 고양이 모두 유전병 검사가 가능해졌고 견종 혈통 검사 또한 가능해졌으며, 이러한 검사를 비롯해 더욱 고도의 복잡한 유전자 검사가 연구 목적 및 상업적 목적을 위해 가능해졌다.

표현형 검사

유전적 특성과 질병에 대한 지식이 급속하게 발전하고 있는 가운데, 유전적 원인이 알려지지 않은 다인성(multifactorial) 유전질환이 여전히 여럿 존재한다. 이 때문에, 해당 개체에서 유전질환이 발병할지, 잠재적으로 유전질환 발병 가능성이 있는 자손을 생산할지 여부를 알아내기 위해 DNA를 직접적으로 조사하는 것은 불가능하다. 대신, 환자가 가지고 있을 가능성이 있는 대립 유전자가 나타내는 임상적 특징을 검사해야 한다.

사례 연구

각 견종은 주로 발병하는 유전질환이 따로 있다. 예를 들어 Type1 폰 빌레브란트병(von Willebrand)은 Doberman Pinscher에서 자주 발견되며, Dalmatians은 과요산요증(hyperuricosuria)으로 인해 요로결석증(urolithiasis)에 걸리기 쉽다는 것은 수의사들에게 일반적인 지식이다. 유전 연구를 통해, 이전에 특정 질병의 유전적 발생이 확인되지 않은 품종에서 임상적으로 해당 질병과 관련있는 돌연변이의 존재를 확인하려는 노력이 계속되고 있다. 한 연구는 비교적 희귀종인 Lagotto Romagnolo에서 발견된 과요산요증 관련 돌연변이를 포함해, 기존에 알려지지 않은 종에서 많은 돌연변이가 존재함을 입증했다(5). 믹스견의 유전질환 검사는 그 해석에 있어 믹스견만의 어려움이 존재하는데, 담당 수의사 및 보호자에게 적절한 상담을 제공하기 위해 확인된 유전질환 위험 돌연변이가 믹스견에서 임상적으로 어떻게 발현되는지 이해하는 것이 중요하다. 일례로, Labrador Retriever와 Rat Terrier 각각

그림 4. 혈통의 25%가 Labrador Retriever인 이 개는 운동 유발성 허탈(exercise-induced collapse, EIC)을 유발하는 2개의 유전자를 가지고 있다는 사실이 밝혀지기 전에 허탈 증상을 겪었다. 보호자가 반려견의 유전질환을 알게 되었으므로, 향후 같은 허탈 증상이 발생하는 상황을 사전에 예방할 수 있으며, 만일 발생한다 해도(원인과 결과를 알고 있기에) 보호자의 스트레스가 감소한다.



© Nikki Trost



“품종을 시각적으로 식별하는 것은 많은 이들이 알고 있는 것보다 훨씬 더 복잡하며, 대체로 부정확하다. 이런 이유로 품종 식별시 시각적 식별에만 의존하면 안된다.”

Angela Hughes

25%, Siberian Husky, Golden Retriever, Australian Shepherd 각각 12.5%의 혈통 구성을 지닌 1.5세의 암컷 믹스견 Bear(그림 4)가 근처 공원에서 뛰놀고 있었다.

Bear가 공원에서 뛰노는 동안 동안, 두 차례 허탈이 발생해 도움 없이 설 수 없었고, 이에 보호자는 Bear를 응급실로 데려가 검사를 받게 했다. 의학적 원인을 밝혀내지는 못했지만 Bear는 허탈 발생시에 문제없이 회복했다. 그러나 보호자는 걱정을 금할 길이 없었고 금전적 비용도 상당히 들었다. 유전자 패널

검사(genetic panel testing) 결과, Bear는 일부 Retriever 품종에서(6) 운동 유발성 허탈(Exercise Induced Collapse, EIC)의 발병 원인인 dynamin 1(DNM1) 유전자의 돌연변이가 두 개로 확인되어, 허탈 발생의 원인을 찾을 수 있었다. 이 정보를 바탕으로, Bear의 보호자는 향후 허탈 발생을 피하기 위해 적절한 상담을 받았으며, 허탈 발생 시 대처하는 방법에 대한 조언도 들었다.

다약제 감수성 돌연변이(multi-drug sensitivity mutation), 즉 이전에는 MDR1이라 칭했던 ABCB1 돌연변이를 하나 또는 두 개 보유하고 있는 믹스견에 대해서도 많은 설명이 있다. 이러한 설명은 일반적으로 아세프로마진(acepromazine)과 부토르파놀(butorphanol)을 마취 프로토콜의 일부로 사용하는 마취 과정에서 회복이 현저히 지연되는 것에 대한 설명이다. 두 약물의 생체내 대사 및 제거는 ABCB1 돌연변이의 영향을 받는 것으로 알려져 있다. ABCB1 돌연변이가 없는 개체가 동일한 마취 프로토콜을 받은 경우, 일반적으로 다음 날까지 정상적인 활동 수준으로 돌아가는데 비해, ABCB1 돌연변이를 가진 개체의 경우, 정상적인 수준의 활동과 정신력으로 돌아가기까지 최대 4일이 걸린다고 보고된다. 이 때문에 ABCB1 돌연변이를 가진 견종에 대해서는, 이 약물들의 대안을 선택하거나 용량을 줄여 사용하도록 권장되고 있다.

믹스견의 외형만으로 ABCB1 검사의 필요성을 판단해서는 안된다. 많은 수의사가 ABCB1 검사를 통해 도움을 받을 수 있는 환자를 구별할 때 “white feet, don't treat” 방법을 사용한다. 하지만, 사실 이 방법은 잘못된 방법이다. 흰 반점이



© Marcella VanMeter

그림 5. 이 개의 외형과 혈통 구성(Beagle, Chihuahua, Pomeranian)때문에 반드시 ABCB1 검사를 해야하는 것은 아니다. 그러나 이 개는 돌연변이 하나와 정상 유전자 하나를 가진 이형접합체를 가지고 있기 때문에 향후 의학적 선택을 위해 보호자가 관련 정보를 알고 있어야 한다.

있는 많은 견종(신체의 어느 곳이라도 흰 반점이 존재할 경우, 일반적으로 발에 흰 반점이 있을 경우)이 목축·목양견종 혈통(herding ancestry)이 아닌 경우가 많고, 반대로 실제 목축·목양견종 혈통 견종은 흰 반점이 있는 발을 가지지 않는 경우가 많다. 또한, 믹스견 사이에서도 너무나 많은 교배가 이루어졌기 때문에, 그것은 단지 해당 돌연변이를 가진 목축·목양견종 혈통의 견종에만 한정되는 문제가 아니다(그림 5).

설명대로 치료 및 예후 정보를 보호자에게 제공할 수 있다. 가능하다면, 수의사는 보호자가 유전자 검사 결과에 대해 건설적인 방식으로 브리더에게 알리도록 격려해야 한다. 윤리적인 브리더들은 동물의 건강에 대해 많이 신경쓰며 품종을 개선하기 위해서라도 건강한 동물을 생산하려고 한다. 또한, 유전자나 환경에 관계없이 많은 선천성 질환이 산발적으로 발생할 수 있으므로, 브리더는 교배를 통해 생산하는 동물에 대한 정보가 좋은 나쁜든 제공되지 않으면 자신의 교배 프로그램을 개선할 수 없다.

미래

수의학의 미래를 예측하는 것은 본질적으로 어렵지만, 상당한 잠재성을 보이는 많은 흥미로운 연구 프로그램이 진행 중이다. 고관절 이형성증(hip dysplasia), 아토피(atopy), 다양한 종류의 암을 포함한 더 많은 복잡한 질병에 대한 유전적 영향을 파악하기 위한 많은 연구들이 진행되고 있다. 또한, 품종 구조와 유전적 다양성에 대해 더 잘 이해하기 위한 연구가 시도되고 있고, 건강한 자견·자묘 생산을 위해 브리더가 더 나은 결정을 내릴 수 있도록 돕는 도구도 개발되었다.

그러나 바쁜 수의사가 특정 품종, 특히 덜 일반적인 품종에 대한 정확한 질병 유병률 정보를 찾는 것은 어려운 일이다. 그러한 정보를 찾기위해 국가 품종 클럽 웹사이트, 온라인에서 이용할 수 있는 특정 자료, 최근 출판된 교과서(정보가 최신인지 확인하기 위해) 등을 이용할 수 있다. 표 1에 특히 유용한 웹사이트 목록을 정리해놓았다.

표 1. 유전질환 정보를 얻을 수 있는 유용한 사이트 목록

사이트명	특징	URL
Canine Health Information Center	OFA로부터 지원받아 수집된 견종 건강 정보 데이터베이스, 품종 특이성 검사 프로토콜(Breed-specific testing protocols) 제공	www.caninehealthinfo.org
Canine Inherited Disorders Database	임상 측면에 초점을 둔 검색 가능한 유전질환 데이터베이스	cidd.discoveryspace.ca
Companion Animal Eye Registry	안과(Ophthalmic) 유전형 및 표현형 데이터베이스	www.ofa.org/diseases/eye-certification
Genesis Program	품종 및 신체 크기 정보를 기반으로 한 개체별 건강 권장 사항 제공	www.genesis4pets.com
Inherited Diseases in Dogs	검색 가능한 유전질환 정보 및 자료 출처 데이터베이스	www.vet.cam.ac.uk/idid
International Partnership for Dogs	블로그 및 온라인 발표 자료, 강의 등 다양한 품종 및 건강 관련 자료 출처 제공	www.dogwellnet.com
Langford Vets	요중에 적용되는 유전질환 목록 제공	www.langfordvets.co.uk/diagnostic-laboratories/diagnostic-laboratories/general-info-breeders/genetic-diseases-and-cat
My Breed Data	품종 및 질환별로 검색 가능한 질환 유병률 정보 제공	www.mybreeddata.com
Online Mendelian Inheritance in Animals	검색 가능한 유전질환 정보 및 자료 출처 데이터베이스	omia.org/home/
Orthopedic Foundation for Animals (OFA)	DNA 보관소, 연구 목적의 유전형·표현형 정보 저장소	www.offa.org
PennHip	고관절 이형성증(hip dysplasia) 표현형 검사 정보 제공	www.pennhip.org
WSAVA Hereditary Disease Committee	유전질환에 대한 뉴스와 자료 출처 제공	www.wsava.org/Education-1/Hereditary-Disease-Committee-Resources
	개와 고양이에게 적용 가능한 유전 검사 및 실험실 검사 데이터베이스	research.vet.upenn.edu/penngen/AvailableTests/TestsAvailableatLabsWorldwide/tabid/7620/Default.aspx

수의임상에서의 유전상담

환자가 유전질환에 대해 잠재적 위험이 있다고 진단될 경우, DNA 검사가 가능하면 검사를 통해 진단을 확인하고, 위의 예에서

결론

종합해 보면, 유전학은 수의학 분야에서도 급부상하고 있는 흥미로운 학문이다. 수의임상에 유전학을 적용하고 특정 품종 관련 문제에 집중하는 것을 통해, 수의사는 임상 실력 및 진단 기술을 향상시킬 수 있고, 보호자는 질병의 원인과 과정에 대해 이해할 수 있으며(어쩌면 이를 통해 조기 치료 및 질환 발병을 늦출 수도 있고), 브리더들은 건강한 새끼 동물들을 생산할 수 있게 되는데, 이 모든 것들은 고객 만족도를 높인다. 유전질환에 대한 인식을 높이고 유전자검사의 이용성을 증대함으로써 수의사들은 반려동물의 유전질환으로 인한 고통을 경감(언젠가는 제거)할 수 있을 것이다.

참고 문헌

1. Paul AJ, Tranquilli WJ, Seward RL, et al. Clinical observations in collies given ivermectin orally. *Am J Vet Res* 1987;48(4):684-685.
2. Mealey KL, Bentjen SA, Gay JM, et al. Ivermectin sensitivity in collies is associated with a deletion mutation of the MDR1 gene. *Pharmacogenetics* 2001;11(8):727-733.
3. Neff MW, Robertson KR, Wong AK, et al. Breed distribution and history of canine MDR1-Delta, a pharmacogenetic mutation that marks the emergence of breeds from the collie lineage. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101(32):11725-11730.
4. Voith VL, Ingram E, Mitsouras K, et al. Comparison of adoption agency breed identification and DNA breed identification of dogs. *J Appl Anim Welf Sci* 2009;12(3):253-262.
5. Donner J, Kaukonen M, Anderson A, et al. Genetic panel screening of nearly 100 mutations reveals new insights into the breed distribution of risk variants for canine hereditary disorders. *PLoS One* 2016; 11(8):e0161005.
6. Patterson EE, Minor KM, Tchernatynskaia AV, et al. A canine DNM1 mutation is highly associated with the syndrome of exercise-induced collapse. *Nat Genet* 40:1235-1239.

Further reading

- Bell JS, Cavanagh KE, Tilley LP, et al. *Veterinary Medical Guide to Dog and Cat Breeds*. Jackson, WY. Teton NewMedia 2012
- Ackerman L. *The Genetic Connection: A guide to health problems in purebred dogs* 2nd ed. Lakewood, Co. AAHA Press 2011
- Gough A, Thomas A. *Breed Predispositions to Disease in Dogs and Cats* 2nd ed. Oxford, Blackwell 2010.
- Nicholas FW. *Introduction to Veterinary Genetics* 3rd ed. Oxford, OUP 2009.

THE ABCB1 GENE IN DOGS

모든 임상수의사들이 Collies의 이버멕틴(ivermectin) 감수성에 대해 잘 알고 있다. 그러나, Cindy Cole 에 따르면, 이버멕틴 감수성 유발 돌연변이 유전자(ABCB1)가 생각보다 훨씬 더 널리 퍼져 있으며, 이버멕틴 이외에도 기타 다양한 약물에 부작용을 나타낼 수 있다는 사실은 일반적으로 인식하지 못한다.

핵심 포인트



이전에 MDR1(Multi-Drug Resistance)이라 일컫던, ABCB1 돌연변이 유전자는 P-당단백질(P-glycoprotein, P-gp), 즉 세포막을 통한 소분자(기질) ATPase 수송체(transporter)와 관련이 있다. 2001년에 ABCB1 돌연변이 유전자가 Collies의 이버멕틴 약물 감수성의 원인으로써 확인되었을 때는 P-gp의 중요성이 과소평가되어 있었다(1,2). 초기에는, ABCB1 돌연변이의 임상적 중요성이 마크로사이클릭 락톤 계열(macrocyclic lactones) 약물, 즉 이버멕틴(ivermectin), 밀베마이신 옥시미(milbemycin oxime), 셀라멕틴(selamectin), 기타 기생충약으로 쓰이는 몇 가지 약물들에 국한되어 있다고 여겨졌다. 그러나, 이제는 아주 많은 P-gp 기질 약물이 수의임상에서 흔히 쓰이고 있으며 ABCB1 돌연변이와 관련이 있다는 것이 알려져 있다(표 1). ABCB1 돌연변이는 P-gp 기질 약물의 처리 방식을 바꾸는 불완전한 단백질 생성을 야기하여, ABCB1 돌연변이를 가진 개에서 정량의 약물이 투여되어도 약물 독성의 임상적 징후가 나타나게 한다. 많은 연구를 통해, ABCB1 돌연변이가 로페라미드(loperamide)(그림 1)(3), 아세프로마진(acepromazine) 및 화학요법 제제인 빈크리스틴(vincristine), 빈블라스틴(vinblastine), 독소루비신(doxorubicin)(5)의 약물 독성을 유발하는 인자임이 밝혀졌다.

어떤 품종이 영향을 받는가?

돌연변이는 1800년대 영국의 목축·목양 견종으로부터 시작된 것으로 추측된다(6). 오늘날 목축·목양 견종의 대부분이 일반적으로 영향을 받지만, 돌연변이를 가진 품종 분포를 파악하는 것은 간단하지 않다. Collies는 돌연변이의 빈도가 가장 높으며 일부 개체군의 75%가 최소한 한 개의 돌연변이 유전자를 보유하고 있다(6). 기타 일반적으로 영향을 받는 품종은 Australian Shepherds, McNabs 과 같은 다수의 목축·목양 견종을 포함한다. 유전자 분석에 따르면, 단일 돌연변이가 목축·목양 견종 혈통의 공통 조상에서 발생했을 가능성이 가장 높다.

예상 외로, 시각하운드 그룹(sighthound group)에 속하는 두 가지 품종인, 장모종 Whippets, Silken Windhounds 또한 ABCB1 돌연변이를 보유할 수 있는데, 이는 상당히 최근에 나타나고 있는 현상이다(6). 수십년 전에 해당 품종이 개발될 당시에 돌연변이 유전자가 유입되었다고 추측되며 그 영향력은 자명하다. 브리더들이 새로운 품종을 개발할 때 ABCB1 돌연변이와 같은 원치 않는 것들이 부지불식간에 유입될 수 있다. 흔히 볼 수 있는 몇몇 품종에서의 돌연변이 발생 빈도를 표 2에 정리하였다.

어떤 위험이 있는가?

많은 수의사들이 목축·목양 견종에서 나타나는 돌연변이에 대해서는 잘 알고 있지만, 믹스견에서도 돌연변이 위험성이 있다는 것은 잘 알지 못한다. 돌연변이가 우성 유전이기 때문에 단 한 개의 돌연변이 유전자를 보유한 개도 특정 약물에 대한 부작용을 나타낼 수 있다. 따라서, 이상적으로는 모든 견종이 ABCB1 돌연변이 보유 여부에 대해 검사를 받는 것이 바람직하다.

ABCB1 돌연변이를 보유한 개에서 P-gp 기질 약물 중 일부(전부는 아님) 약물은 투여할 때 투여량을 감량하여야 한다. 약물의 감량 정도는 약물과 보유 돌연변이 유전자의 갯수(1개 혹은 2개)에 따라 달라진다. 예를 들어, 디곡신(digoxin), 사이클로스포린(cyclosporine), 독시사이클린

표 2. ABCB1 돌연변이에 영향 받는 품종 (빈도 %)*.

Collie	70%
Australian Shepherd, Mini	50%
Australian Shepherd	50%
Long-haired Whippet	50%
McNab Collies	30%
Silken Windhound	30%
Chinook	25%
English Shepherd	15%
Shetland Sheepdog	15%
German Shepherd	10%
Old English Sheepdog	5%
Border Collie	< 5%

(doxycycline), 모르핀(morphine) 및 기타 마약성 진통제들이 P-gp 기질 약물에 속하지만, 이 약물들에 대한 감수성 증가는 관찰될 바 없다. 따라서 현재까지는 이 약물들에 대해서는 투여량 조절이 필요하지 않은 것으로 알려져 있다(7).

ABCB1 돌연변이 보유 견종에서 투여량 조절이 필요한 약물이 표 3에 정리되어 있다(7). ABCB1 돌연변이 단백질이 운반하는 약물에 대한 일반화된 투여량 조절 정도를 권장하기는 어렵기 때문에 돌연변이 보유 견종에게는 해당 약물을 투여하지 않거나 필요한 경우 임상 약리학자의 자문을 구하는 것이 가장 안전하다. 화학요법제와 같이 좁은 약물적정농도(therapeutic windows) 범위를 가진 약물은 투여 전 반드시 임상 약리학자의 자문을 구해야 하며 극도의 주의를 기울여야 한다. 그러나 개의 심장사상충 예방을 위해 정부 규제기관(즉, FDA, EMEA)이 승인한 모든 약물은 ABCB1 돌연변이 보유 여부와 관계없이 안전하고 효과적이다. 모낭충증(demodectic mange)과 같은 질병을 치료하기 위해 흔히 사용되는 고용량의 마크로사이클릭 락톤(macrocyclic lactones) 계열 약물 요법은 ABCB1 돌연변이 보유 견종에게 해로울 수 있으며, 자견이나 노령견의 경우 사망에 이르게 할 수 있다.

결론

ABCB1 돌연변이는 Collies나 목축·목양 견종 뿐만 아니라 다양한 견종에게 존재한다. 믹스견은 수의사들이 돌연변이를 가지고 있을 것이라 추측하지 못할 경우 ABCB1 돌연변이 검사를 하지 않아 특별히 더욱 위험한 상황에 놓일 수 있다. 이버멕틴(ivermectin)과 기타 마크로사이클릭 락톤 계열(macrocyclic lactones) 약물의 독성 반응이 ABCB1 돌연변이와 긴밀한 연관이 있으나, 다수의 흔하게 쓰이는 약물들 또한 P-gp 기질 약물이다. 수의사는 모든 견종에 대하여 ABCB1 돌연변이 보유 여부를 검사하도록 보호자에게 권장해야 하며, 이를 통해 환자를 위한 안전하고도 가장 효과적인 치료가 가능하다.



Cynthia Cole,
DVM, PhD, Dipl. ACVCP,
Wisdom Health™, Portland, OR,
USA

Dr. Cole은 Florida 주립대학교를 졸업하고 수의사로서 경력을 관련 학계에서 시작하였으며, 그 후 여러 동물 제약사에서 경력을 쌓았다. 2014년에 Wisdom Health™(前 Mars Veterinary)의 R&D 디렉터로 이직한 후 현재는 총괄 매니저로 근무하고 있다.

그림 1. Roxy는 정량의 로페라미드(loperamide) 투여 후 신경학적 징후를 보였다. 이에 시행된 유전형질분석 결과, Roxy는 두 개의 ABCB1 돌연변이 유전자를 보유하고 있음이 확인되었다.



© Courtesy of Dr. Katrina Mealey

표 3. ABCB1 돌연변이 보유견에게 적용 시 투여량 조절이 필요한 수의임상에서 흔하게 쓰이는 P-gp 기질 약물(7).

Acepromazine
Butorphanol
Apomorphine
Loperamide
Ivermectin*
Milbemycin*
Moxidectin*
Selamectin*
Chemotherapeutic agents (Vinblastine, Vincristine, Doxorubicin, Paclitaxel)

*ABCB1 보유 여부와 관계 없이 모든 개에게 안전한 심장사상충 예방 FDA-승인 약물

표 1. 현재까지 P-gp 기질 약물로 알려져 있는 약물 목록

화학요법 제제	심장약	기타
Doxorubicin Mitoxantrone Paclitaxel Vinblastine Vincristine	Digoxin Diltiazem Losartan Quinidine Verapamil	Amitriptyline Phenytoin
항생제	스테로이드 제제	마약성 진통제
Doxycycline Erythromycin Itraconazole Rifampin Tetracycline	Aldosterone Cortisol Dexamethasone Estradiol Hydrocortisone Methylprednisolone	Butorphanol Morphine Loperamide
면역억제제	구토방지제	마크로사이클릭 락톤 계열
Cyclosporine A Tacrolimus	Domperidone	Ivermectin Milbemycin oxime Selamectin Moxidectin
H2-항히스타민제	H1-항히스타민제	
Cimetidine Ranitidine	Fexofenadine Terfenadine	



참고 문헌

1. Mealey KL, Bentjen SA, Gay JM, et al. Ivermectin sensitivity in collies is associated with a deletion mutation of the MDR1 gene. *Pharmacogenetics* 2001;11:727-733.
2. Roulet A, Puel O, Gesta S, et al. MDR1-deficient genotype in Collie dogs hypersensitive to the P-glycoprotein substrate ivermectin. *Eur J Pharmacol* 2003;460:85-91.
3. Sartor LL, Bentjen SA, Trepanier L, et al. Loperamide toxicity in a collie with the MDR1 mutation associated with ivermectin sensitivity. *J Vet Intern Med* 2004;18:117-118.
4. Deshpande D, Hill KE, Mealey KL, et al. The effect of the canine ABCB1-1Δ mutation on sedation after intravenous administration of acepromazine. *J Vet Intern Med* 2016;30:636-641.
5. Mealey KL, Northrup NC, Bentjen SA. Increased toxicity of P-glycoprotein-substrate chemotherapeutic agents in a dog with the MDR1 deletion mutation associated with ivermectin sensitivity. *J Am Vet Med Assoc* 2003;223:1453-1455.
6. Neff MW, Robertson KR, Wong AK, et al. Breed distribution and history of canine MDR1-1Delta, a pharmacogenetic mutation that marks the emergence of breeds from the collie lineage. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101:11725-11730.
7. Washington State University, Veterinary Clinical Pharmacology Lab website. Problem Drugs. Available at: (https://vcpl.vetmed.wsu.edu/problem-drugs)

COPPER-ASSOCIATED HEPATITIS IN DOGS

Bedlington Terriers에게 발생하는 구리의 과도한 축적으로 인한 구리 축적성 간염은 수년간 연구되어 왔고 이제는 관련된 결함 유전자(faulty gene)가 대부분 제거되었다. 그러나 Hille Fieten의 연구에 따르면, 여전히 다른 품종들에게는 발병 위험이 도사리고 있다고 한다.

핵심 포인트



서론

구리는 다양한 생물학적 과정에서 중요한 역할을 하는 필수 미량 원소이다. 그러나 유리 구리 이온(free copper ions)은 단백질, 지질 및 DNA에 손상을주는 활성 산소를 생성할 수 있기 때문에 과량의 구리는 독성이 크다. 구리의 독성 작용을 방지하기 위해 생체 내 구리 항상성(copper homeostasis)은 다수의 구리 결합 단백질에 의해 엄격하게 조절된다(1).

음식물이나 식수에 함유된 구리는 위장관(gastrointestinal, GI)을 통해 흡수된다. 장세포(enterocytes)의 기저외측부(basolateral side)에 있는 구리 수송체(transporter) ATP7A는 기저측막(basolateral membrane)을 통과하여 간문맥(portal circulation)으로 향하는 구리의 이동을 책임진다(그림 1). 간문맥을 통해 구리는 물질의 신진대사, 저장 및 배설에 핵심적인 역할을 하는 간에 도달한다. 간세포(hepatocytes) 내에서 구리는 구리샤프론(copper chaperone)에 의해 특정 세포 소기관에 전달된 후 다양한 기능을 발휘하기 위해 단백질로 통합된다. 간세포는 또한 구리를 저장하는 기능을 가지고 있으며 다른 장기로의 구리의 재분배를 조절한다. 과잉 구리는 간세포 모세관의 꼭대기쪽 세포막(canalicular apical membrane)을 통해 운반되고 담즙으로 배설된다. ATP7A와 구조적으로

관련이 있는 구리 수송체 ATP7B는 이 배설 과정에서 중요한 역할을한다(그림 1). COMMD1 단백질은 과잉 구리의 담즙 배설 과정에서 ATP7B가 적절한 기능을 하는데 중요하다고 알려져 있다.

병인

개에서 나타나는 구리 축적성 간염은, 신경학적 표현형이 발현되지 않는 것을 제외하고는 인간의 윌슨병과 유사하다. 유전성 구리 축적성 간염의 대표적인 사례는 Bedlington Terrier에서 볼 수 있다(그림 2). 이 품종에서 COMMD1 유전자의 두 번째 엑손(axon)부위가 결실되면, 간에서 COMMD1 단백질이 완전히 제거되어 담즙으로의 구리 배설이 감소한다(그림 1) (4). 이 품종에서는 극단적인 수준의 간세포내 구리 수치가 측정되었는데, 최대 10,000 mg/kg 건조 중량(dry weight liver)이었으며, 축적된 간세포 내 구리는 필연적으로 간경화로 이어진다.

다행히도 DNA 검사의 발달과 함께 이 질병은 Bedlington Terrier 개체군에서 대부분 근절되었다. 그러나 다수의 다른 품종에서, 구리 축적성 간염의 발병 진도가 증가하고 있으며, 혈통 연구를 통해 Labrador Retriever, Dobermann, West



Hille Fieten,
DVM, PhD, Dipl. ECVIM-CA, MSc (genetic epidemiology), Faculty of Veterinary Medicine, University of Utrecht, The Netherlands

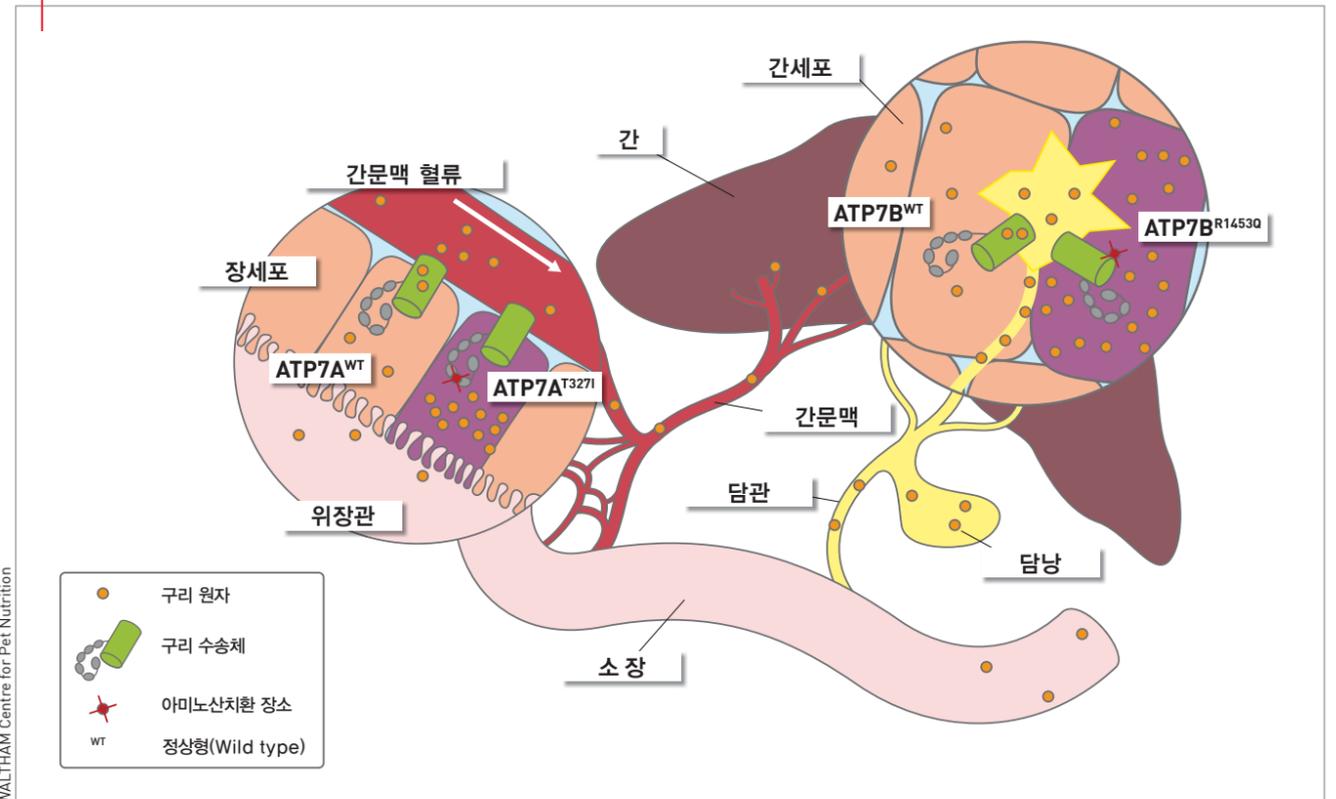
Dr. Fieten은 2006년에 네덜란드의 Utrecht 대학교를 졸업한 후, 2011년에 Erasmus 대학교에서 유전역학(genetic epidemiology) 분야의 석사학위를 받았다. 이후, Labrador Retrievers에서 발생하는 구리 축적성 간염에 초점을 맞춘 연구로 박사학위를 받았으며, 현재는 Utrecht 대학교에서 간장학(hepatology)을 전문으로 하는 내과 전문의로 일하고 있으며, Society of Comparative Hepatology의 회장이다. 또한, 최근에는 개와 고양이의 유전질환 발병을 감소를 목적으로 하는 Expertise Center Genetics for Companion Animals의 디렉터로 지명되었다.

Highland White Terrier, Skye Terrier, Dalmatian에서 이 질병의 유전적 배경이 확인되었다. Labrador Retriever를 대상으로한 연구에서 구리 수송체 ATP7A와 ATP7B의 돌연변이가 검출되었는데, ATP7A 돌연변이의 경우 감소된 간세포 내 구리 수준, ATP7B돌연변이의 경우 증가된 간세포 내 구리 수준이 확인되었고(5), 암컷에 대한 성별 소인(female predisposition)이 또한 발견되었다. 또한 식이를 통한 구리

섭취량과 간세포내 구리 수준 사이에 유의한 관계가 있었기 때문에 구리 축적성 간염 발병의 위험 인자로 확인되었다.

기타 다른 견종에서도 유사한 복합 병인이 구리 축적성 간염을 일으키는 것으로 의심되지만(즉, 유전자 돌연변이가 질병의 소인이 되기는 하나), 결과적으로 구리 섭취가 중요한 역할을 하는 환경적 영향에 의해 발병하는 것으로 알려져있다.

그림 1. 이 도는 구리 흡수 및 배설이 ATP7A 및 ATP7B 수송체에 의해 어떻게 조절되는지를 보여준다. 장세포(enterocytes)의 기저측막(basolateral membrane)에 위치한 ATP7A는 장세포에서 간문맥으로의 구리 흡수를 촉진한다. 그 이후, 구리는 간세포에 의해 흡수되고 과잉 구리는 담즙을 통해 배설되며 이는 ATP7B에 의해 촉진된다. Bedlington Terriers에서는 COMMD1 유전자가 결실되면 간에서 COMMD1 단백질이 완전히 제거되고 담즙으로의 구리 배설이 감소하게 된다. Labrador Retriever에서는 ATP7A와 ATP7B 단백질의 돌연변이가 구리 항상성(copper homeostasis)에 영향을 줄 수 있다(5). 간에서의 구리 축적은 ATPBR1453Q 아미노산 치환(amino acid substitution)으로 인한 ATP7B 단백질의 기능 저하로 인해 발생한다. 이때, ATP7A 기능이 ATP7AT327I 아미노산의 치환에 의해 동시에 방해되면 구리가 장세포에 축적되어 대변을 통한 구리의 배설이 증가하여 간에서의 구리 축적 정도가 약화된다. ATP7A 돌연변이가 단독으로 존재하면, 이론적으로 구리 결핍의 원인이 될 수 있다.



© Sandrine Fontègne/courtesy of the WALTHAM Centre for Pet Nutrition



© Shutterstock

그림 2. 유전성 구리 축적성 간염의 대표적인 예는 Bedlington Terrier에서 찾을 수 있으나, DNA 검사의 발달과 함께 대부분 근절되었다.

●●● 임상적 징후

명백한 간손상이 없는 간세포 내 구리 축적 초기 단계의 개에서는 보통 임상증상이 나타나지 않는다. 구리가 계속 축적되어 간세포 손상을 일으키면 트랜스아미나아제(transaminases), 특히 ALT가 증가하지만(검사실 검사를 통해 가장 먼저 알 수 있는 이상 수치 중 하나), 이것 역시 여전히 미묘한 수준일 수 있다. 이 과정은 대개 만성적인데, 구리 축적, 간세포 손상, 구리 과잉으로 손상된 간세포에 대한 대식세포(macrophages)의 포식작용(phagocytosis), 염증 및 섬유증 형성이 연속적으로 일어나, 이 과정이 몇 차례 주기적으로 반복된다. 간염이 심해지거나 간경화가 나타나면, 그제서야 임상증상이 나타난다. 첫 임상증상 발현 시의 다양하며 2세부터 11세 사이에 나타날 수 있는데, 중년(6~7세)에 해당하는 경우가 대부분이다.

초기에는 활동 감소, 식욕 감소 및 구토 등 임상적 징후가



“Bedlington Terrier 이외의 기타 견종에서는 간조직의 조직학적 검사만이 구리 축적성 간염을 진단할 수 있는 유일한 방법이다.”

Hille Fieten

미약하거나 비특이적일 수 있다. 이 후 말기 간질환에서의 임상 증상으로는 체중 감소, 황달, 복수, 간성뇌증을 보인다. 간 효소, 빌리루빈 및 담즙산의 증가, 알부민 수치 및 응고 인자(특히 피브리노겐)의 감소를 동반할 수 있으며, 문맥성 고혈압(portal hypertension)과 대상혈로 형성(collateral formation), 혈중 암모니아 수치 증가도 있을 수 있다.

임상적 징후 및 검사실 검사의 이상 수치만으로는 구리 축적성 간염과 만성 간염의 다른 원인들을 구별할 수 없다. Bedlington Terrier에서 간세포로부터 혈류로 구리가 대량으로 방출된 결과로써 용혈성 위기(hemolytic crisis)가 보고되었지만 다른 종에서는 보고되지 않았다.

Labrad Retrievers를 비롯한 일부 견종에서 근위 세뇨관에 구리가 축적된 결과로써 판코니증후군(Fanconi syndrome)이 보고되었으며, 이는 킬레이션 요법으로 치료 가능하다(7).

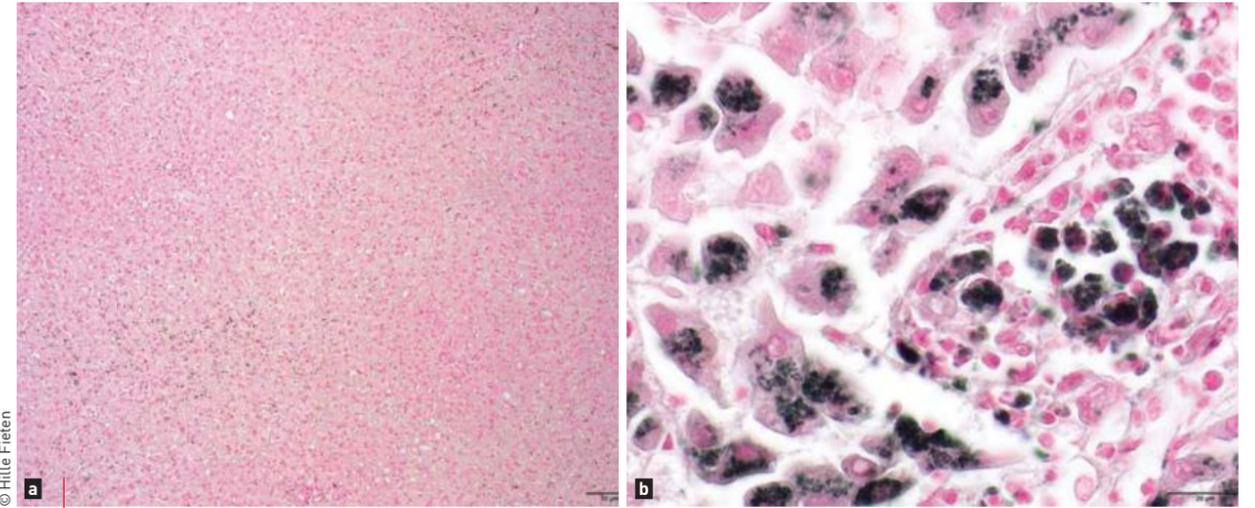
●●● 진단

간조직의 조직학적 검사만이 Bedlington Terrier 이외의 품종에서 구리 축적성 간염을 진단할 수 있는 유일한 방법이다. 이 품종에서, 이 질병은 단성유전(monogenetic)이며 2개의 COMMD1 유전자 돌연변이가 존재하면, 그리고 식이나 식수에 질병 유발요소가 존재할 경우, 불가피하게 구리 축적성 간염을 일으킨다.

Labrador Retriever에서 극단적인 범주의 유전자형이 있는 경우, ATP7A 및 ATP7B 유전자형에 기반한 발병 위험 예측을 고려해 볼 수 있다. 그러나 실제 개에서의 구리 수치는 평생 동안 식이를 통한 구리 섭취량에 따라 달라지며, 이는 측정하기가 어렵고, 유전형에만 근거한 개별 개체의 발병 위험 예측에 대한 신뢰성에 의문을 남기게 된다.

간 조직 생검은 레티쿨린(reticulin)을 검출하는 Gordon and Sweet 방법을 사용하여, hematoxylin과 eosin염색으로 검사하고, 구리 검출을 위해서는 rubeanic acid 또는 rhodanine을 사용한다. 간소엽(liver lobule) 중심부에서의 구리의 국소화(localization)는 일차 구리중독증(primary copper toxicosis)에서 특징적으로 나타난다. 염증성 단핵 또는 혼합 침윤물은 구리 과잉 간세포를 동반한다. 질병이 더욱 진행되면, 중심성 간세포 구리 축적(centrizonal hepatocytic copper accumulation)과 연관되어 구리 과잉 간세포와 대식세포(Kupffer 세포)의 사멸과 과사가 나타날 수 있다(그림 3). 질병이 진행될 수록, 세포 사멸, 과사, 재생 및 전형적인 중심연결 섬유증(centro-central bridging fibrosis)이 나타나, 결국 말기의 미세결절 또는 거대결절 간경변증(micro- or macro-nodular liver cirrhosis)으로 이어진다.

간에서 구리의 양을 정상화하기 위해 0(구리 없음)에서 5[일반적으로 구리 함유 대식세포와 관련된 다수의 구리 함유 과립(copper-positive granules)이 있는 간세포가 범소엽적으로 확산된 상태로 존재(diffuse panlobular presence)]까지 등급을 매기는 조직학 등급 체계가 적용된다.



© Hille Fieten

그림 3. 구리 독성증(copper toxicosis)이 있는 개에서 간의 조직학적 이미지(Rubeanic acid 염색). 이 개는 구리 농축도 점수가 3점 이상인 것으로 추정된다. 중심소엽(centro-lobular) 부위에 축적된 구리의 구역 분포가 명확히 보인다(a). 확대 이미지를 통해 간세포 뿐만 아니라 Kupffer 세포(대식세포)에서의 구리 축적을 확인할 수 있다. 이는 이전의 간세포 손상에 잇따른 세포 잔해 및 구리에 대한 포식작용이 있었음을 나타낸다(b).

2점 이상의 점수는 비정상적으로 간주된다. 조직학 검사를 통해 구리의 존재를 확인하면 추가적인 간 검체에서 구리를 측정할 수 있다. 간 조직의 구리 농축도는 생검 검체에 방사선조사(irradiation of biopsies)를 하여 유도된 구리의 방사능 측정, 또는 분광광도법(spectrophotometric methods)에 의해 정량적으로 평가할 수 있다. 간 생검 검체는 먼저 동결 건조해야 하고 그 후에 간의 건조 중량(dry weight liver, dwl) 검체로 처리되어야 한다. 150~140mg/kg dwl 사이의 구리 농도는 정상 범주이다. Bedlington Terriers에서는 10,000 mg/kg dwl을 초과한 간세포 내 구리 농도가 보고된 바 있지만, 기타 견종에서는 4,000mg/kg dwl까지만 보고되었다.

●●● 치료법

구리 축적성 간염에 대한 치료 방법은 구리가 감소한 상태로 균형 맞추는 것이다(a negative copper balance). 이는 구리 섭취를 제한하거나 아연 보충을 추가하여 구리 섭취를 방지하고 구리 킬레이트제(copper-chelators)로 구리 배설을 촉진함으로써 달성할 수 있다.

식이요법

구리 섭취의 제한은 구리 함량이 낮은 식이요법과 구리 함유 미네랄 보충제 섭취를 피함으로써 달성될 수 있다. 반려견을 위한 균형 잡힌, 하지만 구리 함량이 낮은 식이가 “간에 도움이 되는 식이”의 형태로 시중에 판매되고 있다. 이러한 식이의 또 다른 이점은 간성뇌증 징후가 있는 개에게 먹이기에 적당하다는 점이다. 또한, 일반적으로 기호성이 뛰어나 식욕이 감소된 경우에도 유익하다.

식이 조절을 통해 질병의 초기 단계에서 구리 축적이 더 진행되는 것을 방지할 수 있지만(8), 식이요법에 대한 반응은 개체마다 다르며 평생 지속적으로 구리 농도를 모니터링해야 한다.

극도로 높은 간세포 내 구리 농축도를 가진 Bedlington Terriers에게는 식이요법의 단독 치료만으로는 효과가 없다.

성공적인 킬레이션 요법 후에, 저(低)구리·고(高)아연 식이요법은 간세포 내 구리의 재축적을 지연시키기 때문에 장기간 관리에 도움이 된다(9). 일부 개에서는 D-페니실라민(D-penicillamine) 치료와 그 이후의 식이 조절만으로 질병 진행을 예방할 수 있다.

킬레이션(Chelation) 요법

D-페니실라민은 SH기(sulfhydryl group)가 구리와 결합하여 소변을 통한 구리 배설을 촉진한다(10). 이는 철분과 아연을 비롯한 모든 생물학적 활성 미량 금속(active trace metals)과 비교적 안정적인 킬레이트를 형성하며, 또한 이들 금속의 소변을 통한 배설을 촉진한다. 권장 용량은 1일 2회 10~15mg/kg이며 흡수를 증가시키기 위해 식사와 1~2시간 정도 간격을 두고 투여해야 한다(표 1). D-페니실라민은 위장 및 상부위장관(stomach and upper intestine)에서 흡수된다. 개에서 종종

표 1. 구리 축적성 간염의 치료약물

약물	투여량	부작용	참고
D-penicillamine	10-15 mg/kg q12H, separate from meals	식욕부진, 구토	Labrador Retriever가 이용할 수 있는 치료 기간 동안 가장 일반적으로 사용되는 예측 모델(11)
Zinc salts; - zinc acetate - zinc gluconate - zinc sulphate	5-10 mg/kg elemental zinc q12H	일반적으로 부작용이 없으나, 소화기계 부작용이 있을 수 있다.	- 임상적으로 유일한 치료법이며서는 안됨 - 서서히 나타나는 효과 - 혈장 아연 농도 모니터링 필요

나타나는 부작용은 식욕 부진 및 구토이지만, 이러한 부작용은 약물을 점진적으로 증량하여 투여함으로써 최소화할 수 있다.

또한, 정제 제형(복합 캡슐 vs. 장용성 코팅 정제)은 부작용의 발생에 영향을 미칠 수 있다. 간세포 내 구리 농도가 정상화될 때까지 치료를 계속해야 하며, 이는 구리 농도를 평가하기 위한 정기적 간 생검을 필요로 한다(그림 4). Bedlington Terriers는 일반적으로 평생 지속되는 D-페니실라민 치료법을 필요로 하는 반면, 다른 견종에서의 지속적인 치료는 구리 및 아연 결핍을 초래할 수 있다. 이러한 견종에서는 1년에 한번씩 진행되는 간 생검의 조직학적 검사를 기반으로한 간헐적 치료법이 권장된다. 치료 소요 기간은 치료전 시행한 간 생검을 통해 확인한 구리 농축도를 기반으로 산출한다(11).

아연

구강으로 섭취한 아연은 장세포에서 구리 흡수를 차단한다. 권장 복용량은 1 일 2회 5-10mg/kg이며(표1), 초기에 복용량 범위 내 최고 수준을 사용한 다음 점차 감소한다(12). 음식물이 약물의 효능을 감소시킬 수 있기 때문에, 식사와 1-2시간 정도 간격을 두는 것이 권장된다.

아연 과잉도 유해할 수 있다. 1000µg/dL이상의 혈장 아연 농도는 용혈을 일으킬 수 있으므로, 안전성을 보장하기 위해 치료 중 혈장 아연 농도를 모니터링해야 한다. 구강으로 아연을 복용함으로써 장에서의 구리 섭취를 효과적으로 차단하기까지는 3개월 가량이 걸릴 수 있으므로, 이 치료법은 임상적 징후를 나타내는 구리 축적성 간염 환자에게 유일한 치료법으로는 권장되지 않는다.



© Hille Fieten

그림 4. 치료의 효능을 평가하고 구리 농축도를 모니터링하기 위해 정기적인 간 생검(예: ultrasound-guided needle method)이 필요하다.



참고 문헌

- Kim BE, Nevitt T, Thiele DJ. Mechanisms for copper acquisition, distribution and regulation. *Nat Chem Biol* 2008;4:176-185.
- Kaler SG. ATP7A-related copper transport diseases — emerging concepts and future trends. *Nat Rev Neurol* 2011;7:15-29.
- Roberts EA, Schilsky ML. American Association for Study of Liver Diseases (AASLD). Diagnosis and treatment of Wilson Disease: an update. *Hepatology* 2008;47:2089-2111.
- van de Sluis B, Rothuizen J, Pearson PL, et al. Identification of a new copper metabolism gene by positional cloning in a purebred dog population. *Hum Mol Genet* 2002;11:165-173.
- Fieten H, Gill Y, Martin AJ, et al. The Menkes and Wilson Disease genes counteract in copper toxicosis in Labrador Retrievers: a new canine model for copper metabolism disorders. *Dis Model Mech* 2016;9:25-38.
- Fieten H, Hooijer-Nouwens BD, Biourge VC, et al. Association of dietary copper and zinc levels with hepatic copper and zinc concentration in Labrador Retrievers. *J Vet Intern Med* 2012;26:1274-1280.
- Langlois DK, Smedley RC, Schall WD, et al. Acquired proximal renal tubular dysfunction in 9 Labrador Retrievers with copper-associated hepatitis (2006-2012). *J Vet Intern Med* 2013;27:491-499.
- Fieten H, Biourge VC, Watson AL, et al. Dietary management of Labrador Retrievers with subclinical hepatic copper accumulation. *J Vet Intern Med* 2015;29:822-827.
- Fieten H, Biourge V, Watson A, et al. Nutritional management of inherited copper-associated hepatitis in the Labrador Retriever. *Vet J* 2014;199:429-433.
- Fieten H, Hugen S, van den Ingh TS, et al. Urinary excretion of copper, zinc and iron with and without D-penicillamine administration in relation to hepatic copper concentration in dogs. *Vet J* 2013;2:468-473.
- Fieten H, Dirksen K, van den Ingh TS, et al. D-penicillamine treatment of copper associated hepatitis in Labrador Retrievers. *Vet J* 2013;196:522-527.
- Brewer GJ, Dick RD, Schall W, et al. Use of zinc acetate to treat copper toxicosis in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1992;201:564-568.



결론

구리 축적성 간염은 식이를 통한 구리의 섭취가 중요한 위험 요소인 유전질환이다. 간 손상이 이미 진행되고 나서야 비로소 임상 징후가 나타나며 구리 축적성 간염에서만 나타나는 특이적 임상병리 이상조건이 따로 있는 것이 아니기 때문에, 진단과 치료가 쉽지 않다. 그러나 조기 진단에 이은 엄격한 모니터링 및 관리를 통해 구리 축적성 간염 위험을 가진 견종도 정상 기대 수명만큼 생존할 수 있다.

HOW I APPROACH... PERIANAL FISTULA DISEASE IN DOGS



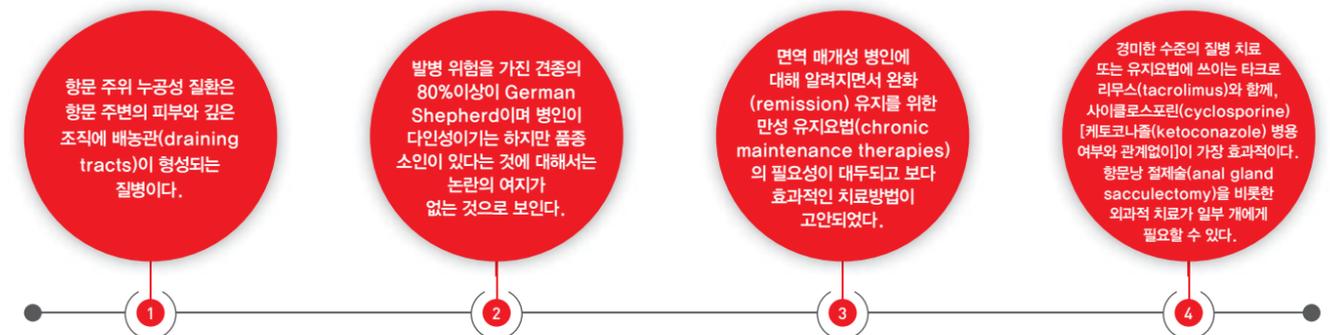
Lindsay W. McKay,

DVM, Dipl. ACVD, VCA Arboretum View Animal Hospital, Chicago, Illinois, USA

Dr. McKay는 2003년에 Florida 주립대학교를 졸업하고 2007년까지 수의 피부과 레지던트 과정을 마친 후, 같은 해 피부과 전문의가 되었다. 적극적으로 공부를 계속하고 있으며 임상 연구를 즐겨하고, 개에게 나타나는 아토피성 피부염(atopic dermatitis)과 소양증(pruritus)을 비롯한 다양한 피부과 연구에 참여하고 있다.

항문 주위 누공성 질환(Perianal fistula disease)은 수의임상에서 흔하고도 치료가 어려운 질병이다. 이 질병의 만성적이고 점진적인 특성으로 인해 치료가 상당히 까다롭기에, Lindsay McKay는 최상의 치료법과 재발 위험 관리법에 대해 몇 가지 제안을 하고자 한다.

핵심 포인트



서론

항문 주위 누공성 질환(Perianal fistula disease, PFD)은 항문 주변의 피부와 깊은 조직에 배농관(drainage tracts)이 형성되는 질병이다. 대부분의 환자의 경우, 고통스러워하고 쇠약해지며, 임상적 징후는 혈액과 고름이 섞인 분비물과 냄새로 인한 통증 부위를 핥는 것에서부터 배변이 어려워 심지어 심한 변비에 걸리는 등 다양하다. 다양한 견종에서 발병할 수 있지만, German Shepherd에서 많이 나타나 품종 소인이 있다고 여겨진다. 조기 발견과 치료가 중요하며, 대부분 완화(remission) 유지를 위해 장기간의 유지요법(maintenance therapies)을 필요로 하기 때문에 보호자와의 의사소통이 중요한데, 그래야 PFD를 가진 동물이 삶의 질을 유지할 수 있기 때문이다.

병인

PFD에 대한 지식은 이 질병이 1960년대에 처음 다루어졌을 때에 비해 극적으로 변했다. 원래는 (i) 넓은 꼬리(broad-based tail) (ii) 낮은 꼬리 캐리지(tail carriage), (iii) 항문관(anal canal) 주변의 아포크린 땀샘(apocrine sweat glands)의 밀도 증가와 같은 해부학적 요소가 만들어낸 결과로 생각되었다. 그래서 수십년동안 이 질병은 꼬리 절단술, 누관(fistulous tracts) 제거 또는 축소술, 항문낭 제거술에 이르기까지 다양한 방식을 통해 외과적으로 치료되었다. 일부 경우 여전히 외과적 개입이 필요할 수도 있지만, 대부분의 수의사는 현재 일반적으로 PFD 치료에 내과적 치료 및 관리를 적용한다. 이와 같은 새로운 접근법은 PFD가 (적어도 부분적으로는) 면역기능 장애로 인한

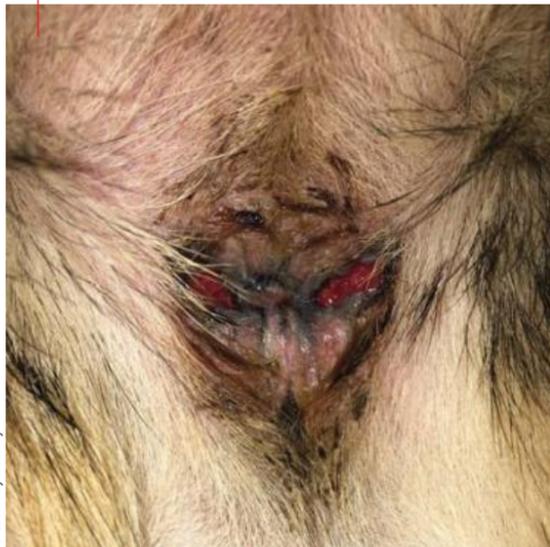
것임을 최근에 발견한 데서 비롯되었다. 개에게 발생하는 PFD는 임상 징후, 조직 병리학 및 사이클로스포린(cyclosporine) 요법에 대한 반응을 포함하여, 인간에서 나타나는 크론병(Crohn's disease)의 특정 변이체(variants)의 많은 특징을 가지고 있다(2-6).

크론병은 위장관 세포 또는 관련 미생물 항원에 대한 자가면역 공격으로부터 발생하는 것으로 여겨진다(7). PFD에 대해서 구체적인 원인 항원이 밝혀지지 않았지만 염증이 회음부 피부나 대변의 정상 세균총에 대한 부적절한 면역반응 때문이라는 견해가 있다. 또한, 인간과 마찬가지로, 질병의 발전에 대한 품종 소인이 확인되었는데(8,9), 즉 PFD로 진단된 견종 중 80% 이상이 German Shepherd(GSD)이다(10). 연구에 따르면 특정 MHC 클래스 II 대립 유전자와 일배체형(haplotype)을 가진 GSD는 항문주위 누공(perianal fistulae)이 발생할 가능성이 5배 더 높다(9). 마지막으로, 개에서 나타나는 PFD, 대장염 및 식이 알러지 사이에는 강한 상관관계가 있는 것으로 나타났다(11). 따라서, PFD는 견종 간, 특히 GSD 이외의 품종 사이에서도 다양하게 나타날 가능성이 높은 복합적인 다인성 발병기전(multi-factorial pathogenesis)을 갖는다.

환자정보

PFD가 GSD에서 가장 흔하게 발견되는데, 최대 84%의 PFD 발병견이 GSD이었다. 기타 PFD 발병견으로는 Labrador Retrievers, English Bulldogs, Beagles, Spaniels, Collies, Border Collies, Old English Sheepdogs 및 믹스견종이 있었다(10). 이 질환은 중년견에서 더 흔하게 나타나며, 평균 발병 연령은 4-7세이지만 확연한 성별 소인(sex predilection)은 확인되지 않았다(10).

그림 1. 소수의 작은 누공들을 동반한 경미한 PFD의 증례



© Lindsay McKay

임상적 징후와 진단

PFD의 진단은 반려동물의 환자정보, 병력, 임상 징후 및 신체 검사 결과의 상관관계에 따라 결정된다. PFD가 발병하면 배변 시에 고통스러워하고 힘을 많이 주며, 혈변, 변비(constipation) 및 심각한 변비(obstipation), 설사 또는 리본같은 모양의 변(ribbon-like stools), 배변 빈도 증가, 항문 주위 고름 및 출혈, 항문 주위 핏기 및 긁기, 악취 및 체중 감소가 종종 나타난다(10). 항문 주위 검사에서는 습성 피부염(moist dermatitis)과 혈액과 고름이 섞인 분비물 뿐만 아니라, 심한 경우 항문 주변 전반에 걸쳐 나타난 다발성의 누공을 흔히 확인하게 되기도 한다(그림 1-3). 진찰시 반드시 직장검사를 시행한다. PFD로 인한 통증을 감안할 때 정확한 임상 평가를 얻으려면 진정제 투여 또는 전신 마취가 필요할 수 있다. PFD를 정확하게 진단하고 이차 누공을 가진 만성 항문낭 농양(chronic anal sac abscessation with secondary fistulae), 대장염, 항문낭 선암종(anal sac adenocarcinoma)을 비롯한 항문주위선종(perianal tumors), 부식성 손상(caustic injury), 다른 개에게 물린 상처와 같은 다른 질병과 감별진단하는 것이 매우 중요하다(1). PFD 환자의 50%가 조직병리학적으로 대장염 진단을 받았다는 연구도 있었다(12). 대장염과 PFD는 매우 유사한 임상 증상을 나타낼 수 있으므로 PFD와 대장염이 모두 존재하는 경우, 대장 내시경 검사와 생검이 환자의 질병 범위를 상세히 확인하는데 필요할 수 있다. 항문 주위 누공은 항문낭까지 확장될 수 있으며, 이는 치료를 더 어렵게 하고 재발률이 높아지므로 전반적인 예후에 영향을 미칠 수 있다. 또한 회음부의 세포검사가 포도상구균 감염과 같은 이차감염을 확인하는데 중요하다. 세포내 세균, 특히 쌍구균이 염증세포에 존재하면, 이는 항생제 치료가 필요한 이차 세균성 피부 감염을 일으킬 수 있다.

그림 2. 다수의 큰 누공들을 동반한 중등도 PFD의 증례



© Lindsay McKay



© David Scarff

그림 3. 365도(3차원)로 회음부를 둘러싸며 접근한 (approaching 365-degree involvement) 심각한 PFD의 증례



© David Scarff

그림 4. 항문 주위 조직, 항문, 직장까지 확장된 큰 누관이 보이는 심각한 PFD의 증례

치료

PFD는 만성 진행성 염증성 질환으로 시간 경과에 따라 심각성이 증가하는 경향이 있으며 종종 주기적 발작이 있다. 자발적 치유는 극히 드물며 일반적으로 완화 유지를 위해 평생 치료가 필요하다(10). 내과적 치료, 식이요법 및 (경우에 따라) 수술을 통해 관리된다.

외과적 치료법

처음에 PFD는 외과적 치료가 필요한 해부학적 문제로 이해되었지만 현재는 내과적 치료 및 관리가 주를 이루고 있다. 외과적 치료는 재발을 막기 위해 과사조직을 제거하고 상피조직(epithelial lining)을 파괴하기 위해 시행되었지만 성공률은 방법에 따라 48-97%로 다양하게 보고되었고 재발률은 70%에 달했다(10). 수술 합병증은 흔히 보고되었는데, 수술 환자의 최대 15%에서 항문 협착증(anal stenosis)이, 최대 27%에서 대변실금(fecal incontinence)이 발생했다. 그러나 한 연구를 통해, 내과적 치료 및 관리, 식이요법, 수술이 적절히 결합되었을 때 88%의 증례에서 완전한 또는 거의 완전한 질병 치료가 가능했음이 밝혀졌다. 그 중 거의 80%는 임상 징후를 더 이상 보이지 않았고 나머지 20%는 1년 추적 관찰에서 경미하거나 간헐적인 임상 징후를 보였다(13). 이 연구에서 33마리의 PFD 환자는 최대 6개월 동안 흰살 생선과 감자로 이루어진 식단과 함께 세팔렉신(cephalexin), 메트로니다졸(metronidazole), 설파살라진(sulfasalazine)으로 치료를 받았다. 그런 다음 누관의 일괄절제술(en bloc surgical excision)과 양측 항문낭절제술(bilateral anal saccullectomy)을 시행했다. 수술 후에는 이전까지 먹지 않았던 단백질 성분은 식이(novel-protein diet, NPD)를 지속 급여하였다.

이 연구를 통해 치료를 받은 환자에서 대변실금이 한 건도 보고되지 않았으며, 이렇게 내과적 접근과 외과적 치료의 결합을 통해 치료받은 경우가 외과적 수술만 받은 경우에 비해 전반적으로 합병증이 덜한 것으로 나타났다. PFD의 병인 및 재발률에 대해 현재까지 알려진 바와 수술만으로 치료되었을 경우 나타날 수 있는 심각한 합병증을 감안할 때, 면역 억제 요법 또는 면역 조절 요법(immune-suppressive/immune-modulatory therapies)을 동반한 내과적 치료 관리가 가장 좋은 치료법이라 생각된다. 그러나 항문낭염(anal gland sacculitis)을 동반한 항문 주위 누공이 있거나, 누공이 항문낭과 연결되어 있는 경우(그림 4 및 그림 5), 약물 치료만으로 효과적이지 못하다면 항문낭 제거를 위해 수술이 필요할 수 있다. 이와 같은 경우는 드물긴 하지만, 재발성 PFD의 중요한 원인이며 일반적으로 항문낭 절제술을 필요로 한다.

내과적 치료법

PFD의 면역학적 병인 및 인간에서 나타나는 크론병과의 유사성으로 인해 면역 억제 또는 면역 조절 요법이 치료의 주요 수단으로 사용되고 있다. PFD는 만성적으로 평생 지속되는 질병이기 때문에, 치료의 첫단계는 임상적 징후가 통제되는 완전 완화 또는 거의 완전 완화의 수준으로(complete or near-complete remission) 질병을 치료할 방법을 찾는 유도 단계(induction phase)로 생각할 수 있다. 그 다음, 유지 치료 약제로 질병을 장기간 관리하는 두번째 단계가 있다. 유도 단계에서 사용되는 가장 보편적인 약물로는 사이클로스포린 [케토코나졸 병용 여부와 상관없이], 글루코코르티코이드, 아자티오프린(azathioprine) 및 국소 타크로리무스(tacrolimus)가 있다. 면역 억제 투여량(2mg/kg q24H로 시작)으로 프레드니손(prednisone)의 단독 사용은 효능이



© Lindsay McKay

그림 5. 그림2에서 보았던 병변의 내과적 치료 관리 후 모습. 누관의 흔적이 우측 항문낭 근처에 위치해 있다. 결국 이 환자는 항문낭 절제술(anal gland sacculotomy)을 시행하였다.

낮다고 보고된 바 있다. 연구 결과, 프레드니손 투여로 33%의 누관이 완전히 해결되었지만 나머지 33%는 부분적으로만 해결되었다(10). 또 다른 면역 억제제인 아자티오프린도 PFD 치료에서 적절한 효능을 보여주었다. 아자티오프린의 최적 혈중 농도에 도달하는데 몇 주가 걸리기 때문에 유도 단계 동안 프레드니손을 동시 사용하는 것이 권장된다. 아자티오프린의 유도 용량(induction dose)은 누공 완화가 달성될 때까지 2 mg/kg q24H이며, 그 다음 2 mg/kg q48H로 줄이고 이후 가능한 낮은 1mg/kg q48H의 완화 유지 용량을 투여한다. 아자티오프린과 프레드니손으로 치료한 14마리의 환자 중 64%에서 완전 완화 또는 부분 완화가 보고되었다. 아자티오프린 사용시 골수억제와 간독성을 모니터링하기 위해 전혈구검사



“처음에는 항문 주위 누공성 질환이 외과적 치료를 반드시 필요로 하는 해부학적 문제라 생각했다. 하지만 이제는 내과적 치료가 주된 치료법이 되었다.”

Lindsay W. McKay

(complete blood counts, CBC)와 혈청화학검사(serum chemistries)를 비롯한 검사실 검사가 필요하다.

최근 한 연구에서, PFD 치료를 위해 한 마리의 개에게 미코페놀레이트모페틸(mycophenolate mofetil)을 사용하였다. 미코페놀레이트모페틸은 다양한 면역 매개 질환 치료에 사용되는 림프구성 면역 억제제이지만 4주간의 치료 후에도 PFD의 치료에 도움이 되지 않았다(15).

가장 성공적인 내과적 PFD 치료법은 경험상으로도 사이클로스포린이었다. 사이클로스포린은 T 림프구의 활성화와 증식을 막는 IL-2 전사를 억제하는 칼시뉴린 억제제(calcineurin inhibitor)이다. 이 면역 조절 작용이 PFD에서 의심되는 면역 기능 장애를 치료하는 것으로 추측된다(16). 사이클로스포린 치료를 받은 PFD 환자에서의 임상 징후 해결 및 완전 완화에 대해 보고한 몇몇 연구들에 따르면, 69-100%의 환자에서 임상 징후가 해결되었고 69-93%의 환자에서 완전 완화가 이루어진 것으로 나타났다(17-20). 그러나, 이 연구들 중 일부 연구에서는 사이클로스포린 요법이 중단되자 재발률이 대략 50%에 달한 것으로 나타났다(17-20). 면역 매개성 기저 병인 및 높은 재발률로 인해 PFD는 지속적 유지 관리 치료가 필요하다. 사이클로스포린을 단독으로 사용할 때, 병변이 완화될 때까지 초기 용량은 4-8 mg/kg q24H 범위이다(11,21). 치료 시작 2주만에 뚜렷한 임상적 개선을 볼 수 있다(17). 일단 모든 병변이 완화되면, 사이클로스포린을 유지 용량으로 서서히 줄인다. 경험상, 동일한 총 일일 투여량을 유지하고 주당(per week) 약물 투여 일수를 줄이는 것을 선호한다. 궁극적인 목표는 3-6개월에 걸쳐 서서히 사이클로스포린 투약을 중단하고 완화 유지 요법으로 타크로리무스를 동시에 사용하는 것이다(**BOX 1**). 일부 환자는 여전히 사이클로스포린을 필요로 하겠지만, 대부분은 투약 요법의 점진적인 감량을 견뎌낸다. 사이클로스포린 최저 농도(trough concentration)와 PFD 치료 효능 간에 상관관계가 없으므로, 사이클로스포린 수치를 일상적으로 모니터링할 필요는 없다(16). 사이클로스포린의 가장 빈번한 부작용은 잇몸증식(gingival hyperplasia)과 다모증과 같은 만성 부작용 및 위장관 부작용(식욕 부진, 구토, 무른변, 설사)이다. 드물게, 유두종증(papillomatosis), 비정형 세균 감염 및 곰팡이 감염, psoriaform 유사 피부염(psoriaform-like dermatitis)이 보고된 바 있다.

사이클로스포린이 값비싼 약제이기도 하고, 대부분의 환자가 많은 투약량이 필요한 대형견 품종이므로, 케토코나졸 병용 투여로 사이클로스포린 투약량을 줄일 수 있다. 케토코나졸은 경쟁적으로 사이토크롬 P450 3A 효소를 억제하여, 사이클로스포린의 혈청반감기를 연장하고 더 높은 혈중 약물 농도를 유지하도록 해 준다(22). 사이클로스포린과 케토코나졸의 병용 요법 시, 투약 프로토콜은 0.5mg/kg q12H 부터 5mg/kg q24H 범위내 사이클로스포린 투여, 5-7.5mg/kg q12-24H 범위로 케토코나졸 투여가 추천된다(11,22). 개인적 경험상, 유도 요법으로 케토코나졸 7.5 mg/kg q24H 을 병용하여 사이클로스포린 2.5 mg/kg q24H로 시작하는 방식을 쓴다. 이러한 병용 투여 프로토콜을 통해 사이클로스포린 단독 투여에 비해 같은 치료 효능으로 비용을 70%까지 절감할

수 있다(21). 케토코나졸 또한 위장관 부작용을 유발할 수 있고, 드물게 간독성, 혈소판감소증, 소양증, 탈모를 비롯한 피부 반응을 야기할 수 있다.

타크로리무스는 사이클로스포린과 유사한 면역 조절 작용을 갖는 국소 칼시뉴린 억제제로, 경미한 PFD 증례에서 단독으로 사용될 수 있다(**그림 1**). 타크로리무스를 단일 요법으로 사용한 한 연구에서, 환자 중 50%에서 임상적 완화가 나타났으며, 90%에서 임상 징후가 유의하게 개선되었다. 그러나 PFD에서 흔히 볼 수 있듯이, 치료 중단 후 재발은 약 50%에서 나타났다(23). 또 다른 연구에서는 타크로리무스와 함께 프레드니손, NPD(novel-protein diet) 급여, 메트로니다졸의 단기간 사용을 결합한 치료법의 효능을 연구하였다. 그 결과 87%가 2년 동안 재발이 없는 완치에 이르렀다.(24). 이 연구에서 사용된 유지 요법은, 1 일에서 7일 간격으로 타크로리무스를 적용하는 것이 포함되어 있었으며, 73%는 NPD 급여를 지속했고 33%는 프레드니손을 q48H까지 간헐적으로 투여했다(24). 개인적으로, 경미한 PFD 치료에 타크로리무스가 사용될 수 있다고 생각하는데(치료 초기에는 일일 2회 적용), 임상 징후 발현 및 누공 재발을 예방하기 위해 q24-72H로 장기간의 유지요법에도 적합하다고 생각한다. 사이클로스포린과 케토코나졸과 같은 경우 면역 조절법이 임상 증상을 조절하기 시작하고 회복을 보초자가 국소적으로 치료할 수 있게 되면, 유지요법으로써 타크로리무스 요법이 시작될 수 있다.

PFD 치료의 새로운 지평을 여는 치료법이 있다. 최근 몇몇

Box 1. 사이클로스포린(cyclosporine) · 케토코나졸(ketoconazole) · 타크로리무스(tacrolimus) 병용 치료(유도 요법에서 유지 요법까지)

- **초기 방문:** 유도 요법 시작. 사이클로스포린(2.5mg/kg q24H)와 케토코나졸 (7.5 mg/kg q24H) 병용 투여. 이차 감염이 있다면, 세팔렉신 (22-30 mg/kg q12H)과 같은 경우 항생제 추가 투여. 30일 내 재확인.
- **재확인 1;** q12H로 병변 부위 타크로리무스 추가 적용. PFD가 완화 상태에 접어들었다면, 사이클로스포린과 케토코나졸 투여량 점감(tapering). 투약량은 동일하게 유지하되, 빈도를 주 5일로 감소 (즉, 수요일과 일요일은 건너뛰기). PFD가 완화되지 않는다면, 동일 투약 프로토콜 적용 및 타크로리무스 추가 적용. 30일 내 재확인.
- **재확인 2;** PFD가 완화된 상태로 유지된다면, q48H로 투약 빈도를 줄임으로써 경구 투여량을 지속적으로 점감하고 타크로리무스는 q12H로 적용 유지. PFD가 완화 상태에 접어들었다면, 재확인1에서 언급한대로 투약 점감 시작. PFD가 여전히 완화되지 않으면, 경구 투여량 25% 증가를 고려. 30일 내 재확인.
- **재확인 3;** PFD가 완화된 상태로 유지된다면, q48H에서 주 2회까지 투약 빈도를 줄임으로써 경구 투여량을 지속적으로 점감하고 타크로리무스는 q12H로 적용 유지. 30일 내 재확인.
- **재확인 4;** PFD가 완화된 상태로 유지된다면, 경구 투여 중지 및 타크로리무스는 q12H로 적용 유지. 30일 내 재확인.
- **재확인 5;** PFD가 완화된 상태로 유지된다면, 타크로리무스는 q24H로 적용. 30일 내 재확인. 환자의 상태가 여전히 좋다면 타크로리무스도 누공의 완화 유지를 위한 가장 낮은 빈도로 감량 적용(보통 q24H에서 주 1 회 적용을 말함).



© Candace Sousa

그림 6. 피부점막 농피증(mucocutaneous pyoderma)을 동반한 중등도에서 심각한 수준의 PFD의 증례

인간 대상 임상시험에서 누공형성 크론병(fistulizing Crohn 's disease)를 관리하기 위해 중간엽 줄기세포(mesenchymal stem cells)를 사용하여 긍정적인 결과를 얻었다. 난치성 PFD 를 가진 6마리의 대상견에게 인간 배아 줄기세포 유래 중간엽 줄기세포를 1회 주입하였고, 주사 후 3개월 동안 6마리 대상견 모두 병변이 없어졌지만 2마리는 치료 후 6개월이 지나자 재발하였다(25). 이 요법은 현재 연구 단계에 있으며 임상에서는 사용할 수 없다.

식이요법

PFD, 대장염, 식이 알러지 간의 상관관계로 인해, 기존에 먹지 않았던 단백질로 구성된(novel-protein) 사료나 가수분해된 사료(hydrolyzed diet)를 제거 식이(elimination diet)로 급여하는 것이 PFD 관리에 도움이 될 수 있다(11). 피부과적 징후를 동반한 식이역반응(adverse food reactions)에 대해 조사한 후향적 연구(retrospective study)에서, 연구 대상 개의 100%에게 소양증이 나타났으며, 그 중 3/16은 PFD도 보였다. PFD를 보인 3마리의 견종이 모두 GSD였으므로, 이 연구 결과를 다른 견종에게 적용시킬 수는 없겠지만, 적어도 GSD에게는 PFD와 음식물 알러지가 연관되어 있을 수 있다. 또한, 앞에서 언급했던 대로, 손상 조직의 외과적 절제술과 양측 항문낭 절제술 후 재발률을 낮추기 위해 NPD가 급여되었으며, 이는 PFD의 발병 기전에서 식이역반응의 역할을 뒷받침하였다 (13). NPD로 인해 재발률이 낮아졌다. 사이클로스포린과 같은 약물은 위장관 장애를 일으킬 수 있으므로, 내과적 요법의 유지 단계에서 환자의 경구 복용량을 줄였을 때, NPD로 바꾸는 것이 좋다. 소양증과 같은 식이 알러지의 다른 징후를 보이거나, 경구 복용량의 점진적인 감량 또는 유지요법으로써 낮은 투약량 적용시 병변이 재발한다면 제거식이 급여가 권장된다. 개인적으로, 제거식은 적어도 8주간 NPD나 가수분해 사료로 급여할 것을 추천한다.

항생요법

이차 세균성 피부 감염은 PFD의 일반적인 후유증(sequelae)이다(그림 6). 회음부를 청결하게 유지하기 위한 국소 치료는 세균성 피부 감염을 치료 및 예방하는 데 도움이 된다. 국소 치료는 해당 부위 털을 깎고 국소 살균제를 사용하여 소독한 후, 국소항생요법을 적용하는 것을 말한다. 경구 항생제 또한 감염 정도에 따라 필요할 수 있다. 경험적 항생요법으로 세팔렉신(22-30 mg/kg q12H) 또는 세프포독심(cefpodoxime, 5-10 mg / kg q24H)을 선호하나, 메트로니다졸(10-15 mg/kg q12H) 또는 아목시실린-클라불란산(amoxicillin-clavulanate, 14.5-22 mg/kg q12H)도 좋은 선택이다. 감염 부위가 경험적 항생제로 치료되지 않는다면 균 배양 및 감수성 검사가 권장된다. 또한 무피로신(mupirocin)이나 실버 설파다이아진(silver sulfadiazene)을 이용한 국소적 보조 항생요법은 개가 해당 항생연고를 바를 때 잘 참아낸다면 유용할 수 있다.

참고 문헌

- DeNovo RC, Bright RM. Recto-anal Disease. In: Ettinger SJ, Feldman EC (eds.) *Textbook of Veterinary Internal Medicine* 5th ed. St. Louis: Elsevier Saunders, 2000;1264-1266.
- Day MJ, Weaver BM. Pathology of surgically resected tissue from 305 cases of anal furunculosis in the dog. *J Small Anim Pract* 1992;33: 583-589.
- House A, Gregory SO, Catchpole B. Expression of cytokine mRNA in canine anal furunculosis lesions. *Vet Rec* 2003;153:354-358.
- Mullin GE, Lazenby AJ, Harris ML, et al. Increased interleukin-2 messenger RNA in the intestinal mucosal lesions of Crohn's disease but not ulcerative colitis. *Gastroenterology* 1992;102:1620-1627.
- Tivers MS, Catchpole B, Gregory S, et al. Interleukin-2 and interferon-gamma mRNA expression in canine anal furunculosis lesions and the effects of cyclosporine therapy. *Vet Immunol Immunopathol* 2008;125:31-35.
- Matthews KA, Sukhiani HR. Randomized controlled trial of cyclosporine for treatment of perianal fistulas in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1997;211:1249-1253.
- Boypati R, Satsangi J, Ho GT. Pathogenesis of Crohn's disease. *F1000Prime Rep* 2015;7:44.
- Massey J, Short AD, Catchpole B, et al. Genetics of canine anal furunculosis. *Immunogenetics* 2014;66:311-324.
- Kennedy LJ, O'Neill T, House A, et al. Risk of anal furunculosis in German Shepherd dogs is associated with the major histocompatibility complex. *Tissue Antigens* 2007;71:51-56.
- Patterson AP and Campbell KL. Managing anal furunculosis in dogs. *Comp Cont Educ Practicing Vet* 2005;27:339-355.
- Proverbio D, Perego R, Spada E, et al. Prevalence of adverse food reactions in 130 dogs in Italy with dermatological signs: a retrospective study. *J Small Anim Pract* 2010;51:370-374.
- Jamieson PM, Simpson JW, Kirby BM, et al. Association between anal furunculosis and colitis in the dog: preliminary observations. *J Small Anim Pract* 2002;43:109-114.
- Lombardi RL and Marino DJ. Long-term evaluation of canine perianal fistula disease treated with exclusive fish and potato diet and surgical excision. *J Am Anim Hosp Assoc* 2008;44:302-307.
- Harkin KR, Phillips D, Wilkerson M. Evaluation of azathioprine on lesion severity and lymphocyte blastogenesis in dogs with perianal fistulas. *J Am Anim Hosp Assoc* 2007;43:21-26.
- Ackermann AL, May ER, Frank LA. Use of mycophenolate mofetil to treat immune-mediated skin diseases in 14 dogs. *Vet Dermatol* 2017;28:195-199.
- Guagère E, Steffan J, Olivry T. Cyclosporine A: a new drug in the field of canine dermatology. *Vet Dermatol* 2004;15:61-74.
- Klein A, Deneuche A, Fayolle P, et al. Preoperative immunosuppressive therapy and surgery as a treatment for anal furunculosis. *Vet Surg* 2006;35:759-768.
- Mouatt JG. Cyclosporine and ketoconazole interaction for treatment of perianal fistulas in dogs. *Aust Vet J* 2002;80:207-211.
- Patricelli AJ, Hardie RJ, McNulty JF. Cyclosporine and ketoconazole for the treatment of perianal fistulas in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 2002;220:1009-1016.
- Doust R, Griffith LK, Sullivan M. Evaluation of once-daily treatment with cyclosporine for anal furunculosis in dogs. *Vet Rec* 2003;152:225-229.
- Hardie RJ, Gregory SP, Tomlin J, et al. Cyclosporine treatment of anal furunculosis in 26 dogs. *J Small Anim Pract* 2005;46:3-9.
- O'Neill T, Edwards GA, Holloway S. Efficacy of combined cyclosporine A and ketoconazole treatment of anal furunculosis. *J Small Anim Pract* 2004;45:238-243.
- Misseghers BS, Binnington AG, Mathews KA. Clinical observations of the treatment of canine perianal fistulas with topical tacrolimus in 10 dogs. *Can Vet J* 2000;41:623-627.
- Stanley B and Hauptman J. Long-term prospective evaluation of topically applied 0.1% tacrolimus ointment for treatment of perianal sinuses in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 2009;235:397-404.
- Ferrer L, Kimbrel EA, Lam A, et al. Treatment of perianal fistulas with human embryonic stem cell-derived mesenchymal stem cells: a canine model of human fistulizing Crohn's disease. *Regen Med* 2016;11:33-43.



결론

항문 주위 누공성 질환(Perianal fistula disease)은 관리하기가 어려우며 재발률이 높고 쇠약하게 만드는 만성 질환이며, 예후가 좋지않은 않다. 그러나, 이 질병의 면역 매개성 병인이 알려지면서 완화(remission) 유지를 위해 만성 유지요법(chronic maintenance therapies)의 필요성이 대두되고 보다 효과적인 치료 방법이 고안되었다. 추천 치료 약물은 사이클로스포린이며, 일반적으로 케토코나졸을 병용한다. 이후, 재발 방지를 위한 장기간의 유지 요법으로 타크로리무스를 추가한다. 지속적인 항문낭 문제가 있는 경우, 초기 면역 억제 또는 면역 조절 치료 후에 항문낭 절제술이 필요할 수 있다. 또한, 관리요법의 일환으로 식이 알려지기로 인한 부분을 고려하여 알려지기가 있는 음식을 제거한 식단을 시도해 볼 것을 고려해야 한다.

THE TOM AND JERRY SYNDROME

현재 고양이에서 발생하는 발작장애(seizures)에 대한 접근은 주로 개의 간질(canine epilepsy)에 대한 지식을 기반으로 하지만, 최근 연구 결과에 따르면, 이러한 접근은 지나친 단순화일 뿐 아니라 오해를 불러일으킬 수 있다. Mark Lowrie와 Laurent Garosi가 특정 고양이 발작장애에 대해 최근 연구 결과와 관련된 증거를 제시한다.

Mark Lowrie, MA, VetMB, MVM, Dipl. ECVN, MRCVS, Dovecote Veterinary Hospital, Castle Donington, Derby, UK

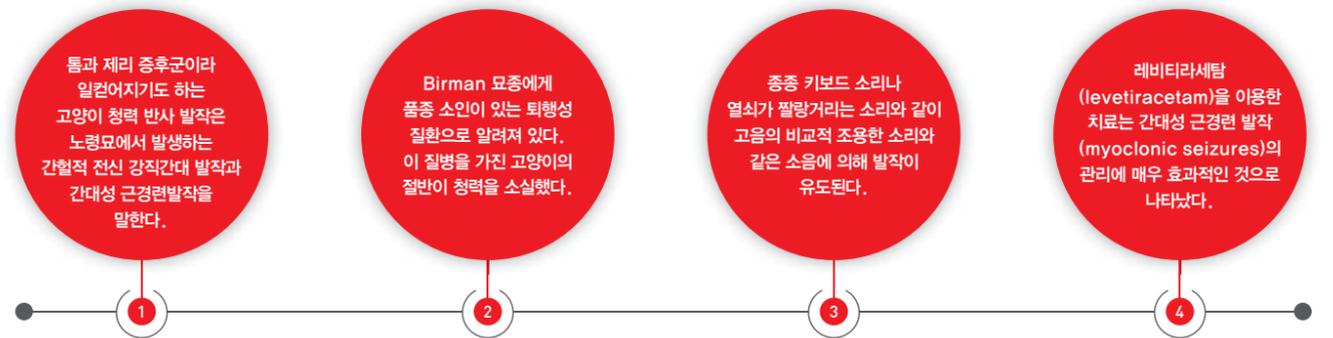
Dr. Lowrie는 Cambridge 대학교를 졸업한 영국 왕립 수의사(Royal College of Veterinary Surgeons, RCVS)이며, 수의 신경학(veterinary neurology)분야의 전문의(European specialist)이다. 그의 석사논문은 개에서 발생한 스테로이드 반응성 뇌수막염-동맥염(steroid-responsive meningitis-arteritis)을 주제로 하였으며, 특히 불수의적 근육 수축(involuntary muscle contractions), 반사간질(reflex epilepsy), 염증성 중추신경계 질환(inflammatory central nervous system disease) 및 고양이 신경학에 관심이 많다. 현재 이차 동물병원(private referral practice)의 Clinical Director를 맡고 있다.



Laurent Garosi, DVM, Dipl. ECVN, MRCVS, Davies Veterinary Specialists, Higham Gobion, Hitchin, UK

Dr. Garosi는 1996에 Toulouse 수의대를 졸업한 영국 왕립 수의사(Royal College of Veterinary Surgeons, RCVS)이며, 수의 신경학(veterinary neurology)분야의 전문의(European specialist)이다. 현재 한이자 동물병원(private referral practice)의 신경외과 과장으로, 그는 이 병원에서 2012년에 유럽에서 최초로 고양이 전문 신경과를 신설했다. 주요 임상 연구 주제는 뇌혈관 질환(cerebrovascular diseases), 복잡한 신경외과 수술(complex neurosurgical procedures), 뇌영상(neuroimaging) 및 고양이 신경학(feline neurology)이다.

핵심 포인트



서론

고양이 질병에 관한 정보는 개에서 발생한 비슷한 질환에 대한 추론 지식을 통해 종종 얻어진다. 개에게 적합하다고 여겨지는 치료법과 관리법을 반영하여 치료하는 고양이 발작장애(feline seizure disorders)가 그 일례이다. 그러나 지난 10년동안 고양이의 특정 발작 장애에 초점을 두어 연구가 이루어졌다. 바로 어린이 만화 시리즈 이후로 "통과 제리 증후군(Tom and Jerry Syndrome)"이라 일컫어지기도 하는 고양이 청력 반사 발작(feline audiogenic reflex seizures, FARS)에 관한 연구였는데, 이 질병에 대한

새로운 인식은 향후 반려동물의 간질(epilepsy) 치료 및 관리 측면을 일부 바꾸어 놓을 것이다. 다음에서 FARS 및 고양이 간질에 대한 설명을 시작하기로 한다.

발작의 분류

간질은 만성적이고 반복적인 발작으로 정의되며 따라서 단일 질병이 아니라 이형질적인 장애의 그룹(a group of

heterogeneous disorders)이다(1). 역사적으로, 발작은 병인(etiology) 또는 임상 유형(증후학(semiology))에 따라 분류되었다.

병인에 따른 분류

발작에 대한 병인적 분류는 특발성 또는 원발성 간질, 증상성(symptomatic) 또는 속발성 간질, 그리고 반응성 발작(reactive seizures)의 3가지로 나눈다(2). 증상성 간질(symptomatic epilepsy)이란 식별 가능한 두개내 구조적 병변(뇌종양(그림 1), 염증성 또는 감염성 뇌질환, 수두증과 같은 선천성 두개내 기형)으로 인한 발작을 설명하기 위해 사용되는 용어이다. 반응성 발작(reactive seizures)은 정상적인 뇌의 전신성 대사성·독성 사건(a systemic metabolic or toxic event)에 대한 반응이다. 대사성·독성 사건이 지나가면, 고양이는 반복적 발작이 없으므로 반응성 발작은 간질의 한 형태로 간주되지 않는다. 특발성(원발성) 간질은 기저 질환 없이 만성적으로 반복적인 발작을 하는 경우를 의미한다. 초기 연구에서 반복적으로 발작을 하는 고양이의 최대 87%가 식별 가능한 원인으로 인한 간질로 진단되었다. 다만, 이 연구는 일차 간질과 관련된 부분 발작이 있는 고양이는 제외했다. 추후 수행된 더 큰 규모의 연구에서 구조적 발작이나 반응성 발작을 가진 간질 고양이의 비율이 훨씬 낮은(약 10%) 것으로 밝혀짐에 따라(4), 이 수치는 현재 논란의 여지가 있다.

증후학에 따른 분류

증후학적 분류는 발작이 전신성이거나 국소성일 수 있다는 일반적인 개념에 기초한다(5).

i) **전신성 발작(generalized seizure)**은 전두엽의 양쪽 반구에서 발생하는 것으로 간주된다(반드시 전체 피질에서 발생하는 것은 아닐지라도).

• **전신강직간대발작(Generalized tonic-clonic seizures, GTCS)**은 비교적 단순한 임상적 인식(clinical recognition)이 가능한 가장 흔한 유형의 전신성 발작이다. 고양이가

찡찡거리거나 뭔가를 씹는 듯한 턱 움직임을 보이는 채로, 입에 거품을 문 채, 다리를 노젓듯 휘저으며, 때때로 소변이나 대변을 지리면서, 갑자기 땅에 떨어져 의식을 잃는 경우에 해당된다. 발작은 보통 수분이상 지속되지 않는다.

• **전신성 간대성 근경련발작(generalized myoclonic seizures)**은 이름처럼 전신성 발작으로 양쪽 대뇌반구와 관련이 있으며, 의식의 소실을 일으킨다. 그러나, 특성상 너무나 짧은 시간동안 일어나는 까닭에 의식 수준의 객관적 측정이 불가능하며, 발작이 인식할 수 있는 명백한 의식 소실 없이 지나가 버릴 수도 있다. 간대성 근경련발작은 갑작스럽고 짧은, 마치 전기적 충격에 의한 듯한 불수의적 수축이다(6).

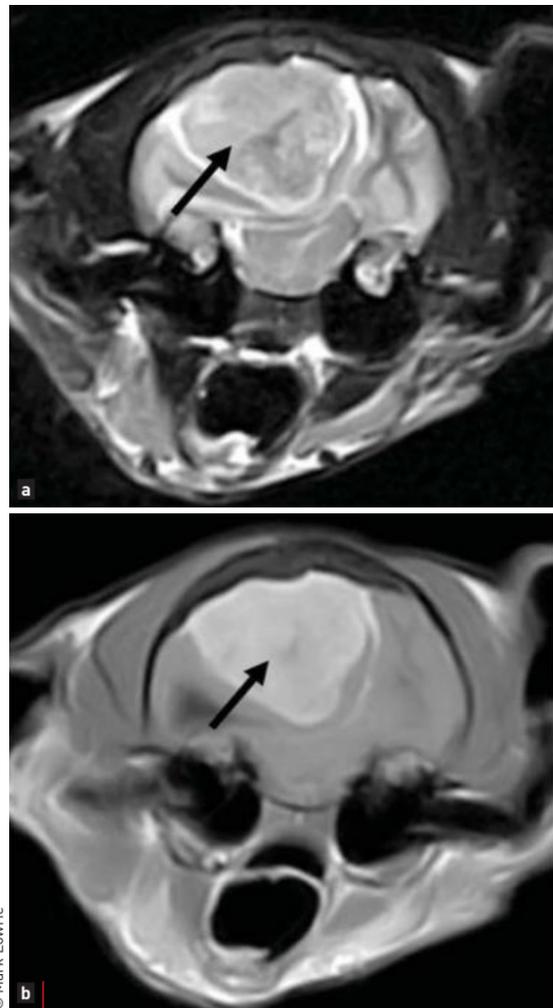


그림 1. 뇌종양은 종종 고양이에서 발작을 일으킬 수 있다. 여기 제시된, 12세 고양이의 고실볼록(tympanic bullae) 수준에서 촬영된 뇌의 post-contrast transverse 이미지 T2 강조자기공명영상(a)과 T2 강조자기공명영상(b)은 전뇌의 큰 경막외(extradural) 종괴(화살표)를 보여준다. T2에서 종괴는 회질(grey matter)과 같은 비슷한 색(isointense)으로 보이지만, 동질 조영증강(homogenous contrast enhancement)을 한 T1에서는 진한색(hyperintense)으로 보인다. 영상의 특성은 수막종(meningioma)과 같다.

© Mark Lowrie



“고양이 청력 반사 발작 (feline audiogenic reflex seizures, FARS)에 대한 새로운 인식은 향후 반려동물의 간질 치료 및 관리 측면을 일부 바꾸어 놓을 것이다.”

Mark Lowrie

• **전신성 소발작(generalized absence seizures)**은 고양이가 일시적으로 주변 환경에 대한 인식을 잃어 멍한 상태로 보호자가 이름을 불러도 반응이 없는 등 자극에 반응하지 않는 발작을 말한다(7). “쁘띠말(petit mal)” 발작이라고도 한다.

ii) **초점발작(focal seizure)**은 전뇌의 특정부위 내에서 발생하고 한쪽 반구에 한정되어 나타난다. 초점발작은 한쪽 반구 전체에 퍼질 수 있고, 반대편 반구까지 퍼져 전신성 강직간대발작(GTCS)으로 이어질 수도 있다. 하위분류로 단순부분발작(Simple partial seizures) 과 복합부분발작(Complex partial seizures)으로 나뉘며, 분류를 위해서는 의식 수준의 주관적 평가가 필요하다.

• **단순부분발작(Simple partial seizures)**은 의식 수준의 변화가 없고, 얼굴을 씹룩거리거나 등 비대칭적인 국소 운동성 징후(asymmetric localized motor signs)를 보이는 것을 말한다.

• **복합부분발작(Complex partial seizures)**은 어느 정도의 손상된 정신 활동이 있다는 점에서 다르다. 두 가지 유형이 고양이에게서 나타난다고 알려져 있다. 첫번째는 구강안면 발작(orofacial seizures)으로, MRI에서 볼 수 있는 해마병리(hippocampal pathology) 특징 및 전압의존성 칼륨통로 복합 항체(voltage-gated potassium channel complex antibodies)의 혈청학적 증거를 동반한다(8). 이 형태는 많은 면에서 인간에게 나타나는 변연뇌염과 유사하다. 두번째 유형은 분노, 이유 없는 공격성, 파리 잡기(fly-catching), 빙글빙글 돌며 뛰기, 바닥 활기, 소리 지르기(vocalization), 꼬리 잡기, 별 쳐다보기(star-gazing) 등으로 나타나는 변연계와 관련된 “행동” 발작의 유형이다(9). 고양이의 지각과민 증후군(hyperesthesia syndrome)도 이 분류에 속한다고 생각하는 학자들이 있다. 정신운동성발작(psychomotor seizures)은 강박반응성장애(obsessive compulsive disorder)의 형태를 띠지만 이에 대해 지지하거나 반박할 강력한 증거가 없다는 점에서 논란의 여지가 있다.



“FARS에서 가장 흔하게 나타나는 발작은 전신성 간대성 근경련발작(generalized myoclonic seizure)이다. 이 발작은 많은 고양이들이 하루에도 10번 이상 겪을 정도로 빈번하게 발생할 수 있다.”

Laurent Garosi

FARS의 특성

FARS는 노령묘에서 나타나는 간헐적 전신 강직간대 발작(occasional generalized tonic-clonic seizures)을 동반한 간대성 근경련발작(myoclonic seizures)을 말한다. FARS의 표현형을 형성하는 주요 기준이 있으며, 따라서 이러한 특징들이 결합되어 나타나면 진단이 가능하다.

발작 유형

FARS에서 가장 흔하게 나타나는 발작은 전신성 간대성 근경련발작(generalized myoclonic seizure)이다. 이 발작은 많은 고양이들이 하루에도 10번 이상 겪을 정도로 빈번하게 발생할 수 있다. 발작의 대부분은 소음으로 유발되지만 이것이 진단에 있어 엄격한 기준인 것은 아니다. 더 드물게 전신 강직간대발작(GTCS)이 관찰 될 수도 있다. 이것은 일련의 소음으로 인한 간대성 근경련발작이 최고점에 달한 결과 GTCS가 된 것일 수 있으며, 혹은 명백한 유발 요인 없이 자발적이고도 개별적으로 GTCS가 발생할 수 있다. FARS에서 관찰된 덜 일반적인 발작은 전신성 소발작이며, FARS 환자군에서 6%의 유병률이 보고되었다(7).

환자정보

FARS는 20세 전후의 초노령묘에게 발생하는 경향이 있으며, 발병 시기는 평균 15세이다(7). 따라서 이 노인병의 발병은 퇴행성 질환의 가능성을 반영하기에 중요하다. 어떤 묘종도 FARS로 진단될 수 있지만, FARS 고양이 3마리 중 1마리가 Birman 종인 것으로 미루어보아 Birman 종에서 품종 소인이 있는 것으로 보인다(그림 2). 또한, 현재까지 보고된 FARS를 가진 Birman은 모두 블루포인트(blue point)나 셸포인트(seal point)를 가지고 있었다. 성별 소인은 없는 것으로 나타났다.

반사간질(Reflex epilepsy)

반사간질은 발작이 빛, 소리, 촉각과 같은 자극에 의해 유발될 수 있다(10). 순수한 반사성 간질을 가진 개체는 특정 자극에만 오로지 반응하여 발작을 일으킨다. 다만, 자발적 발작도 발생할 수는 있다(11). 청각원성(audiogenic) 및 감광성(photosensitive) 간질은 개와 고양이 모두에게서 보고된 바 있다(7,12-14). 반사간질은 비교적 드물게 나타나고, 일반적인 경련제와 다른 항경련제(anti-epileptic medication)로 치료하며 자발적 발작에 대한 관리가 필요한 경우가 많기 때문에 증상 목격시 반사간질로써 인식하는 것이 중요하다. FARS는 점점 더 인식되고 있으며, 생각보다 더 일반적 일 수 있다(7).



© Mark Lowrie

그림 2. FARS는 순종묘와 믹스묘 모두에게서 발생하지만, 순종묘 중에서는 Birman 고양이에게 많이 나타난다. FARS는 주로 노령묘에게 나타나는 질환으로, 발병 연령이 10세부터 19세까지의 범위 내로 중간값은 15세로 보고되었다.



© Mark Lowrie

그림 3. FARS로 인해 간대상 근경련발작을 자주(매일), 그리고 간헐적 전신 강직간대발작(GTCS)을 겪는 단모종 집고양이. 모든 발작이 소음에 의해 유발되기 때문에, 발작을 유발하는 소음을 피하는 것이 발작 횟수를 줄이는데 도움이 되지만, 이 고양이가 일반적인 소리에도 민감성을 가지고 있다는 점을 고려하면, 소음을 회피함으로써 발작을 완전히 제거하는 것은 불가능하다.

임상 징후

FARS 고양이에서 발작 이외의 임상 징후가 보고되긴 하였으나, 처음 발작이 관찰된 뒤 2년 이상이 지나서야 나타나는 경향을 보였다. 임상 징후로, 불완전 마비(paresis), 실조(ataxia), 우울(depression), 체중감소, 점프하기 싫어함, 학습행동 소실, 머리 누르기(head pressing)가 나타난다. 이외에도, 50%의 FARS 고양이에게 청력소실이 보고되었다는 점을 주목해야 한다(7). 이 역설적인 상황에 대해서는 아직 설명된 바가 없다.

소음이 유발인자

소음성 FARS에서, 종종 키보드 또는 마우스 클릭 소리나 종이, 비닐봉지, 호일이 부스럭대는 소리, 음식을 먹을 때나 준비할 때 도자기 그릇에 식기구가 부딪히며 잘그락대는 소리, 열쇠가 찰랑거리는 소리와 같이 고음의 비교적 조용한 소리와

같은 소음에 의해 발작이 유도된다. 다소 특이한 소음들에 의해서도 발작이 유도되는데, 맨 발바닥이나 끼익 소리가 나는 신발을 신고 나무로 된 마룻바닥을 걸을 때 나는 소리, 어린 아이의 짧고 날카로운 비명 소리가 그 예이다. 소음의 음량이 커질수록, 발작의 정도도 심해진다. 소음이 지속되면, 반복적인 간대상 근경련발작을 불러오고, 때때로 최고점에 달하여 GTCS가 되기도 한다(그림 3). 청각점화현상(audiogenic kindling)이라 알려진 작은 소음 자극들이 많이 모여 큰 반응을 일으키는 이 현상이 GTCS로 나타나는 것이다. 반복적인 소음성 발작(즉, 청각점화현상)은 점진적으로 뇌간(간대상 근경련발작)으로부터 전뇌(전신 강직간대발작)로의 간질 활동의 전이(transference)를 유도하며, 이는 고양이의 행동 변화를 동반한다(7). 그러므로, “뇌간발작(brainstem seizure)”이라는 용어는 뇌간에서 시작해 변연계를 따라 전파되어 대부분의 수의사들에게 익숙한 전형적인 전뇌발작(forebrain seizures)을 가져오는 발작을 말한다(7).

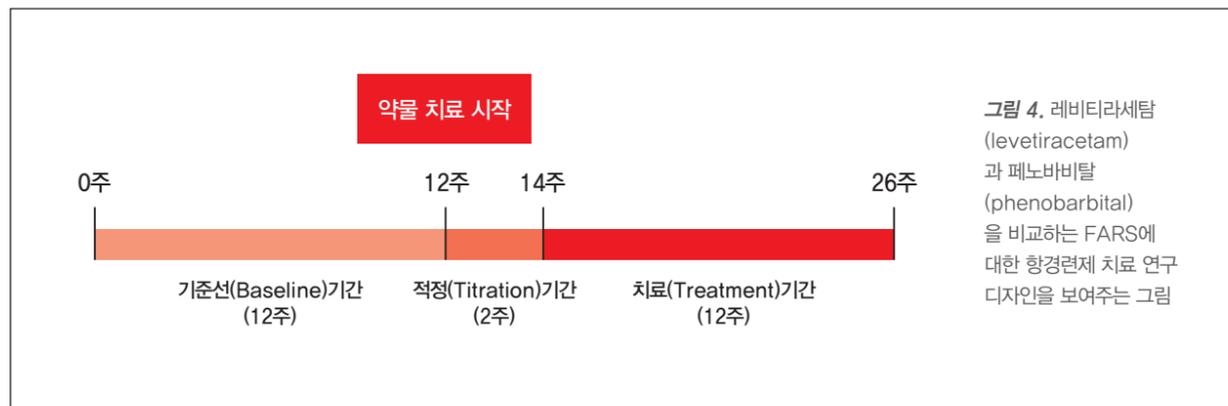


그림 4. 레비티라세탐(levetiracetam)과 페노바비탈(phenobarbital)을 비교하는 FARS에 대한 항경련제 치료 연구 디자인을 보여주는 그림

© Mark Lowrie

치료

연구에 따르면, 인간과 마찬가지로 동물 환자에서도 간대상 근경련(myoclonus)의 치료 성공은 제한적인 것으로 나타났다. 최근의 연구에서, FARS가 있는 고양이에게 레비티라세탐(levetiracetam)(n=28)을 20-25 mg/kg q8h로 투여시 간대상 근경련발작 빈도를 50% 이상 감소시키는 반면, 페노바비탈(phenobarbital)(n=29)을 3-5 mg/kg q12h로 투여시 간대상 근경련발작에 미치는 영향이 미미한 것으로 나타났다. 이 연구에서는, 새로운 항경련제를 적용하기 전에 12주간의 기준 기간(baseline period)동안 적어도 12번의 간대상 근경련발작이 발생한 고양이가 연구 대상에 포함되었다. 항경련제를 투여하며 대상 고양이들을 12주간 관찰(그림 4)한 결과를 표 1에 정리하였다.

레비티라세탐으로 치료한 고양이의 100%는 간대상 근경련발작이 발생한 일수가 적어도 50% 감소한 반면 페노바비탈로 치료한 고양이는 3%만 비슷한 반응을 보였다. 레비티라세탐 적용군의 절반은 더 이상의 간대상 근경련발작이 없었고, 페노바비탈 적용군은 모두 간대상 근경련발작이 계속 유지되었다. 이 연구 결과를 통해 간대상 근경련발작에 대한 레비티라세탐의 효능이 입증되었으며, 비슷한 결과를 보인 인간 환자를 대상으로 한 연구와도 맥락을 같이 하였다. 또한 레비티라세탐으로 치료하면 청각점화현상이 예방될 가능성이 있으며, 이로 인해 병의 진행이 지연되거나 심지어 병이 더이상 진행되지 않도록 막을 수도 있다. 그러나 이를 증명하기 위해서는 더 많은 연구가 필요하다(15).

표 1. 고양이 청각 반사 간대상 근경련발작(feline audiogenic reflex myoclonic seizures)의 관리에 있어 레비티라세탐(levetiracetam)과 페노바비탈(phenobarbital)의 효능(15).

	레비티라세탐 적용군	페노바비탈 적용군	P 값
주당 간대상 근경련 발작을 하는 날이 50%이상 감소한 고양이의 수	28 (100%)	1 (3%)	< 0.001
주당 간대상 근경련 발작을 하는 날의 평균 감소율(%)	98.8 (±4.7)	2.8 (±23.3)	< 0.001
간대상 근경련 발작이 해소된 고양이의 수	14 (50%)	0 (0)	< 0.001
간대상 근경련 발작이 발생하지 않은 날의 평균 증가율(%)	95.7 (±8.8)	-57 (±54.5)	< 0.001

참고 문헌

- Blume WT, Lüders HO, Mizrahi E, et al. Glossary of descriptive terminology for ictal semiology: report of the ILAE task force on classification and terminology. *Epilepsia* 2001;42:1212-1218.
- Engel J Jr. Introduction to temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res* 1996;26:141-150.
- Quesnel AD, Parent JM, McDonnell W, et al. Diagnostic evaluation of cats with seizure disorders: 30 cases (1991-1993). *J Am Vet Med Assoc* 1997;210:65-71.
- Raimondi F, Shihab N, Gutierrez-Quintana R, et al. Magnetic resonance imaging findings in epileptic cats with a normal interictal neurological examination: 188 cases. *Vet Rec* 2017. doi: 10.1136/vr.104142.
- Parent JM, Quesnel AD. Seizures in cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1996;26: 811-825.
- Lowrie M, Garosi L. Classification of involuntary movements in dogs: myoclonus and myotonia. *J Vet Int Med* 2017;31(4):979-987.
- Lowrie M, Bessant C, Harvey RJ, et al. Audiogenic reflex seizures in cats. *J Feline Med Surg* 2016;18:328-336.
- Pakozdy A, Halasz P, Klang A, et al. Suspected limbic encephalitis and seizure in cats associated with voltage-gated potassium channel (VGKC) complex antibody. *J Vet Intern Med* 2013;27:212-214.
- Berendt M, Gredal H, Alving J, et al. Characteristics and phenomenology of epileptic partial seizures in dogs: similarities with human seizure semiology. *Epilepsy Res* 2004;61:167-173.
- Engel J Jr. A proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures and with epilepsy: report of the ILAE task force on classification and terminology. *Epilepsia* 2001;42:796-803.
- Panayiotopoulos CP. Reflex seizures and reflex epilepsies. In: *The Epilepsies: Seizures, Syndromes and Management*. Oxford, Bladon Medical Publishing 2005;497-532.
- Lohi H, Young EJ, Fitzmaurice SN, et al. Expanded repeat in canine epilepsy. *Science* 2005;307:81.
- Shell L, Scariano R, Rishniw M. Features of stimulus-specific seizures in dogs with reflex epilepsy: 43 cases (2000-2014). *J Am Vet Med Assoc* 2017;250:75-78.
- Wielander F, Sarviaho R, James F, et al. Generalized myoclonic epilepsy with photosensitivity in juvenile dogs caused by a defective DIRAS family GTPase 1. *Proc Natl Acad Sci USA* 2017;114:2669-2674.
- Lowrie M, Thomson S, Bessant C, et al. Levetiracetam in the management of feline audiogenic reflex seizures: a randomised, controlled, open-label study. *J Feline Med Surg* 2017;19:200-206.

결론

노령묘에서의 간대상 근경련발작(myoclonic seizure)은 노화에 따른 결과라 여겨져 쉽사리 무시될 수 있다. FARS를 조사한 연구에 따르면, FARS는 레비티라세탐(levetiracetam)을 이용해 어렵지 않게 치료될 수 있다. 다만, 이 질환이 일반적으로 몇 년에 걸쳐 서서히 진행되어 전뇌질환의 징후를 만들기 때문에 장기적인 예후가 좋지만은 않다. 추후 지속적인 연구로 임상 수의사들의 FARS와 그 치료법에 대한 인식과 관심이 높아지기를 희망한다.

HEREDITARY ERYTHROCYTE DISORDERS

몇몇 유전성 적혈구질환(hereditary erythrocyte defects)이 개와 고양이에서 발견되었으며, 최근 연구 결과 많은 양의 새로운 정보가 밝혀졌다. Urs Giger가 현상학을 개괄적으로 제시하고 유전성 적혈구질환의 진단과 치료 관리에 있어 중요한 핵심들을 짚어줄 것이다.

핵심 포인트



서론

빈혈은 반려동물에게 나타나는 가장 흔한 임상 징후 중 하나이며 검사실 혈액 검사에서도 자주 발견된다. 비록 감염, 면역장애, 독극물 노출, 출혈, 만성 장기 부전과 같은 외부적 요인이 빈혈의 주된 요인이지만, 빈혈의 유발 요인인 유전성 적혈구질환도 수의 임상에서 점차 중요성이 부각되고 있다. 반려동물에서 임상적으로 보고된 일부 유전적 적혈구질환을 기반으로 하여, 일부 질환에 대한 분자적 접근(molecular basis)을 포함해 훨씬 더 많은 새로운 정보가 밝혀지면서 특정 임상 진단을 보다 용이하게 하였다(1, 2). 일부 품종에게 비교적 흔하고 잘 알려진 질병임에도 불구하고, 면역 및 감염 질환 치료가 실패하거나 빈혈이 반복되거나 지속되는 경우에만 유전적 적혈구질환이 고려된다. 이 간략한 리뷰를 통해, 개와 고양이에게 발생하는 유전성 적혈구질환에서 나타나는 적혈구의 특이성 및 질병의 임상 진단 및 관리 측면에 대해 중점적으로 다루어보려고 한다.

개와 고양이의 적혈구

적혈구의 주요 구조적 특징과 기능은 모든 포유류에서 유사하지만, 개와 고양이의 적혈구 사이에는 눈에 띄는 차이가 있다. 고양이의 적혈구는 개의 적혈구보다 훨씬 작아서 고양이에게서는 구형적혈구가 발견되지 않는다. 그러나, 평균 적혈구 헤모글로빈 농도(mean cellular hemoglobin concentration, MCHC)는 두 종 모두에서 동일하다. 흥미롭게도, 몇 가지 정상적인 변이가 알려져 있는데, 예를 들어, 많은 Akitas에서 소적혈구질환(microcytosis)이 관찰되며, Miniature Poodles에서는 대적혈구질환(macrocytosis)이 발견된다. 개와 인간에서 적혈구의 정상적인 수명은 비슷하지만(100-120일),

고양이의 경우 70-75일 밖에 되지 않는다.

핵과 미토콘드리아가 없는 적혈구는 순환계 내에서 생존하고 적절하게 산소를 운반 할 수 있도록 제한적이고 전문화된 대사작용을 한다. 에너지는 거의 전적으로 혐기성 해당작용(anaerobic glycolysis(Embden-Meyerhof 경로))을 통해 생성된다. 육탄당일인산염 회로(hexosemonophosphate shunt)는 산화제의 분해에 필요한 피리딘뉴클레오타이드(pyridine nucleotides) 및 글루타티온(glutathione)을 감소시켜 세포막 손상 및 헤모글로빈 변성(산화)을 방지한다. 또한, 메트헤모글로빈(methemoglobin) 또는 사이토크롬-b5 환원효소계(cytochrome-b5 reductase system)가 3가 철이온(Fe³⁺)에서 2가 철이온(Fe²⁺) 형태로 헴철(heme iron)을 감소시키며, 감소된 헤모글로빈만이 산소와 결합하여 산소를 운반할 수 있다. Rapoport-Luebering 경로를 통해 개의(고양이는 해당없음) 헤모글로빈의 산소 친화성에 영향을 미치는 2,3-이인산글리세린산(2,3-diphosphoglycerate, DPG)의 함성이 이루어진다. 실제로, 적혈구 DPG 농도(erythrocytic DPG concentration)가 개와 인간에서는 유사하지만 고양이에서는 매우 낮다.

개와 고양이에게는 배아헤모글로빈(embryonic hemoglobin)은 있지만 태아 헤모글로빈(fetal hemoglobin)은 없다. 2개의 헤모글로빈(HbA 및 HbB)을 가진 일부 일본 품종을 제외하고는, 오직 하나의 성인형 헤모글로빈(adult hemoglobin)이 개에서 발견된다. 그러나, 개의 헤모글로빈을 특성화하기 위해서는 더 많은 연구가 필요하다. 흥미롭게도 고양이는 하나의 알파글로빈(α -globin)과 적어도 6개의 다양한 베타글로빈(β -globin)을 가지고 있다. 또한, 각 고양이는 서로 다른 1-4개의 베타글로빈을 가지고 있으며, 다양한 헤모글로빈 양상을 보이는 것으로 알려져 있다.



Urs Giger,

Dr. med. vet., MS, PD, Dipl. ACVIM-SA, Dipl. ECVIM-CA, Dipl. ECVCP
School of Veterinary Medicine, University of Pennsylvania, Philadelphia, PA, USA

Giger 교수는 스위스 Zürich 대학교에서 수의학을 전공하고, Florida 대학교에서 레지던트 과정을 마쳤으며 Pennsylvania 대학교에서 석좌교수(the endowed Charlotte Newton Sheppard Professor chair)로 재임 중이다. 그는 American and European College of the Veterinary Internal Medicine에서 인증한 수의 내과전문의이자, European College of Clinical Pathology에서 인증한 임상병리전문의이다. 현재 WSAVA Hereditary Disease Committee에서 의장직을 맡고 있으며, WSAVA International Scientific Lifetime Achievement Award, International Bourgelat Award from the BSAVA, AVMA Excellence in Feline Research Award의 수상자이다.

적혈구 세포막은 막 골격(membrane skeleton)에 부착된 지질 이중층(lipid bilayer)으로 구성되어, 이로 인해 원반 모양의 세포 모양이 되고 모세 혈관을 통과 할 때 쉽게 모양을 변형할 (deformability) 수 있다. 다양한 막통과 당단백질(transmembrane glycoproteins)은 수용체 또는 전달체로 기능한다. 개과 고양이의 적혈구는 (몇몇 일본 품종의 적혈구를 제외하고) 골수에서 늦게 성숙되는 동안 단백질분해(proteolysis)로 인해, Na⁺, K⁺-ATPase를 소실한다. 따라서 적혈구는 나트륨 농도가 높고 칼륨 농도가 낮으며, 혈청의 전해질 농도도 마찬가지로이다. 결과적으로, 일본 견종에게서 스트레스 망상적혈구(stress reticulocytes)나 고칼륨 적혈구(high-potassium erythrocytes)가 용해되지 않는 한, 혈관내 용혈(intravascular hemolysis) 후 또는 혈장과 분리되지 않은 채로 혈액이 저장될 때에도 일반적으로 고칼륨혈증이 발생하지 않는다. 사실 Akitas 견종은 적혈구가 체외(in vitro)에서 “새기(leaky)” 때문에, 임상적으로 중요하지는 않지만, 가상고칼륨혈증(pseudohyperkalemia)이 혈액(clo)과 즉시 분리되지 않는 혈청샘플에서 관찰될 수 있다(Box 1). 마지막으로, 고양이 및 다른 종의 적혈구와 비교하여 개의 적혈구는 독특하게 알칼리성 조건하에서 취약한 것으로 알려져 있는데, 아마도 알칼리성 조건에서 칼슘 유입이 촉진되기 때문일 것으로 추측된다. 이러한 pH 민감성은 검사실의 마개가 없는 시험관에서 개의 적혈구가 용해되는 경향을 설명 할 수 있으며, 포스포프рук토키나아제(phosphofructokinase)가 결핍된 개에서 볼 수 있는 용혈 위기를 근본적으로 설명한다.

혈액형

적혈구 세포막은 여러 혈액형 항원을 가지고 있으며, 동물병원과 검사실에서 다양한 혈액형 검사 키트를 이용해 혈액형을 확인할 수 있다(3). 특정 혈액형 항원이 결핍된 개는 수혈로 인해 감작되면, 급성 용혈성수혈반응(acute hemolytic transfusion reactions)이 나타날 수 있으며, 동종항체(alloantibodies)를 생성하게 된다. 개의 혈액형은 그 종류가 12개 이상이며, DEA 1 혈액형이 가장 중요하다. 개의 혈액형은 DEA 1-(음성)이거나 DEA 1+(양성)으로, 양성은 강력한 면역반응을 보이는 DEA 1.1과 비교적 약한 면역반응을

Box 1. Akitas 견종에게는 체외(in vitro)에서 <새는(leaky)> 적혈구가 있다. 혈액 샘플은 여기에 제시된 샘플 결과에서처럼 소적혈구 및 위고칼륨혈증이 나타날 수 있다. 이 현상은 샘플 채취 시 즉시 혈청이 분리되지 않으면 나타나지만 임상적으로 중요하지 않다.

매개변수	값	정상 참고치
Hematocrit	48%	37-55%
Hb	16g/dL	12-18g/dL
MCV	52 fl	60-77 fl
MCHC	33%	32-36%
Sodium	148 mmol/L	146-156 mmol/L
Potassium	9 mmol/L	3.8-5.6 mmol/L

보이는 DEA 1.2로 나뉜다. 수혈 시, DEA 1- 공혈견의 혈액이 DEA 1- 수혈견을 감작하지 않으므로 선호되며, DEA 1+ 공혈견의 혈액도 DEA 1+ 수혈견에게 수혈될 수 있다. DEA 4 혈액형 (DEA 4+인 개는 99.9%), Dal 혈액형이 혈액형은 Dalmatians, Doberman Pinschers에게 나타나며, Shi Tzus, Lhasa Apsos는 Dal 4- 일 수 있음 등의 임상적 중요성이 있는 다른 종류의 혈액형들도 있다(4-6). 수혈에 앞서 수혈견과 공혈견이 DEA 1에 대해 양성인지 음성인지 분류하여야 하며, 추후 수혈 또 필요하다면, 첫번째 수혈 4일 후에 수혈견에게 교차적합검사(crossmatch)를 해보아야 한다. DEA 1에 대한 유전자 마커(genetic marker)가 발견되었지만, 현재 임상에서 이용 가능한 DNA 검사는 없는 실정이다.

A, B, AB 유형으로 나뉘는 AB 혈액형 체계를 가진 고양이는 이전의 감작반응 없이도 자연 발생적으로 동종항체가 형성될 뿐만 아니라 급성 용혈성수혈반응 및 신생아 적혈구용해증(neonatal isoerythrolysis) (A형 및 AB형 신생아가 B형 어미묘에게 태어날 경우)이 나타나는 것으로 잘 알려져 있다. 따라서 모든 공혈묘와 수혈묘는 같은 혈액형이어야 한다(교배시에도 어미묘의 혈액형 확인). B형과 AB형의 경우, 생후 3개월 이상된 B형 고양이의 혈청/혈청 내 강력한 항-A 항체(anti-A antibodies)를 확인하기 위하여 재검이 필요하다. 또한, 최근 Mik으로 알려진 적혈구 항원이 발견되면서 고양이의 새로운 혈액형이 알려지고 있다. 이러한 항원은 동종항체를 생성하여, 이전의 감작반응 없이 교차적합검사 상 부적합 결과가 나오게 할 수 있고, 급성 용혈성수혈반응을 일으킬 수도 있다. 따라서 수혈 전에 AB형인지 확인해야 할 뿐만 아니라 교차적합검사를 하는 것이 마땅하다. AB형은 비교적 드물지만 Ragdolls에서 자주 발견되며, 최근 A, B, AB형을 구별하는 DNA 검사가 개발되었다.

적혈구질환의 분류

유전성 적혈구질환에는 다양하고 임상적으로 이질적인 형태를 띤 질병들이 포함된다. 몇몇 효소 결핍증이 특정 품종 내에서 자주 발생하지만, 그에 따른 적혈구 질환은 드물게 관찰된다(표 1). 양성 또는 열성으로 유전될 수 있는 고양이 포르피린증(porphyrin)과 구형적혈구증(spherocytosis)을 제외하고는 각 적혈구질환은 상염색체 열성으로 유전된다. 각 질환은 다양한 특징을 나타내지만, 많은 수가 인간에게 나타나는 유전질환과 일치하는 특성을 가지는 것으로 보인다. 적혈구질환은 4가지 하위 범주로 분류할 수 있는데, (i) 헴 결함(heme defect)과 헴색소병증(hemoglobinopathies), (ii) 세포막 이상증(membrane abnormalities), (iii) 해당효소 결핍증(glycolytic enzyme deficiencies), 그리고 (iv) 적혈구형성 및 성숙 결함(production and maturation defects)으로 분류되며, 몇 가지 특정 질환에 대해서는 아래에서 자세히 설명하기로 한다. 적혈구질환은 전형적으로 용혈성 빈혈(hemolytic anemia)을 일으키며 이는 적혈구형성 및 성숙 결함을 제외한 모든 하위범주의

표 1. 주요 적혈구 질환의 분류

헤모글로빈 관련 이상증	
메트헤모글로빈 환원효소 결핍증 (Methemoglobin reductase deficiency)	다양한 견종 및 단모종 집고양이와 다양한 품종의 순종 고양이에게서 나타남 빈혈 (anemia)보다는 청색증 (cyanosis)과 적혈구증가증 (erythrocytosis)이 주요 임상 소견
포르피린증 (Porphyrias)	단모종 집고양이와 다양한 품종의 순종 고양이에게서 나타남 - 적색치(erythrodontia) 소견
적혈구막 이상증	
소적혈구증 (Microcytosis)	Akita와 Shiba Inu에게 나타나, 임상적으로 중요치 않음
거대적혈구증 (Macrocytosis)	Miniature Poodles - 임상적으로 중요치 않음
구형적혈구증 (Spherocytosis)	Golden Retriever 및 (이따금씩) 기타 견종에게서 경미한 빈혈 동반
구상(口狀)적혈구증 (Stomatocytosis)	Alaskan Malamutes에게서 나타나며 연골형성장애 (chondrodysplasia)동반 Miniature 및 Standard Schnauzers에게서 나타나며 경미한 빈혈 동반
타원적혈구증 (Elliptocytosis)	견종에게 거의 나타나지 않으며, 경미한 빈혈 동반
삼투압 취약성 (Osmotic fragility)	단모종 집고양이와 다양한 품종의 순종 고양이에게서 나타나, 견종에게는 거의 나타나지 않음 비장비대 (splenomegaly)를 동반한 간헐적 빈혈 소견
적혈구효소병증 (Erythroenzymopathies)	
피루브산염기나아제 (Pyruvate kinase, PK) 결핍증	많은 견종에게 나타나며, 골경화증(osteosclerosis) 동반한 만성 빈혈 소견 Abyssinian과 기타 견종에게서 간헐적 빈혈 소견
포스포프рук토키나아제 (Phosphofructokinase, PFK) 결핍증	English Springer Spaniels에게 나타나며, 드물게 Cocker Spaniels, Whippets, Wachtelhund, 믹스견종에게도 나타남 운동, 열노출, 헐떡임(panting), 짙은 후에 색소노증(pigmenturia)을 동반한 간헐적 빈혈 소견
적혈구생성 (erythropoiesis) 감소	
유전성 코발라민 흡수장애 (Hereditary cobalamin malabsorption)	Australian Shepherd, Beagle, Border Collies, Giant Schnauzer, Komondor에게 나타나며 범혈구감소증 (pancytopenia), 성장장애(failure to thrive), 코발라민 결핍으로 인한 메틸말론산증 (methylmalonic aciduria) 소견
철저항성 철결핍성 빈혈 (Iron-resistant iron deficiency anemia, IRIDA)	Cocker Spaniel에게 나타나며, 소적혈구증 소견이 있으나, 견종의 경우 반드시 빈혈을 동반하지는 않음

적혈구질환에 동반된다.

빈혈의 환자정보(signalment), 유형 및 중증도와 다면발현효과 (pleiotropic effect)를 관찰함으로써 유전성 적혈구질환의 단서를 찾을 수 있지만(표 2), 가능한 검사실 검사를 모두 시행하는 것이 확진과 새로운 유전질환의 발견에 있어 필수적이다. 몇 가지 품종에게 발생하는 한 가지 이상의 적혈구질환이 알려져 있다. 망상적혈구 검사(reticulocyte count)를 포함한 전혈구검사(complete blood counts, CBC), 혈액도말표본 현미경검사(microscopic blood smear review), 혈청화학검사, 요검사 등 일상적인 혈액학 검사는 혈액학적 이상을 찾아내고 후천성 빈혈의 가능성을 배제하는데 사용된다. Coombs' 검사에서 음성인 용혈성 빈혈(Coombs-negative hemolytic anemia)이 있고, 독소나 감염에 노출되지 않았으며, 신장과 간기능이 적절한 경우, 이 세 가지가 모두 확인되면 유전성 적혈구질환을 고려해야 한다. 대부분의 적혈구질환은 세포 형태의 변화를 일으키지 않고 비구형 적혈구성 용혈성 빈혈(non-spherocytic hemolytic anemias)을 일으키는 것으로 지금까지 알려져 있기는 하지만, 타원적혈구증(elliptocytosis), 구형적혈구증, 구상(口狀)적혈구증(stomatocytosis)과 같은 변형적혈구증가증(poikilocytosis)을 발견하는데 있어 말초혈액도말 검사가 주축이 된다. 망상적혈구증의 정도는 경미한 빈혈증이있는 경우에도 종종 나타나며, 일반적으로 결함이 있는 적혈구의 단축된 생존 기간에 비례한다. 따라서

표 2. 빈혈 유발 적혈구질환의 임상적 특성

- 어린 동물들에게 나타남
- 품종 소인이 있고 원인불명의 빈혈과 관련됨
- 만성적/재발성 빈혈
- 감염질환 검사에서 음성반응
- 독극물/약물/환경적 유해인자 노출에 대한 검사에서 음성반응
- Coombs' 검사에서 음성반응
- 난치성이거나 재발성 질환

적혈구질환의 경우, 골수 검사를 통해 얻을 수 있는 새로운 정보가 거의 없다. 만성도(chronicity), 용혈 지속에 대한 골수의 강력한 보상작용(strong compensation), 미약한 용혈작용으로 인해 용혈의 징후가 경미하게 나타날 수 있으며, 이러한 경우 환자도 만성 빈혈에 매우 잘 적응한채로살아간다. 고빌리루빈혈증(Hyperbilirubinuria/-emia)이 발견되어도, 환자의 적응으로 인해 증상이 경미할 수 있다. 혈관내 용혈을 의미하는 낮은 혈청 합도글로빈(haptoglobin) 농도, 헤모글로빈혈증(hemoglobinemia)이나 헤모글로빈뇨(hemoglobinuria)가 보고되기도 하지만, 인위적으로 발생했을 가능성이 있으므로 주의 깊게 평가해야 한다. 즉, 일부 결함이 있는 적혈구는 체외에서 극도로 취약해서, 시험관 내에서 인위적인 용해가 일어난다는 점에 주의해야 한다. 메트헤모글로빈 혈증(methemoglobinemia)을 가진 동물은(산소 투여 중일지라도) 청색증(cyanosis)을 나타내며 이차적인 적혈구증이 발생할 수 있다. 또한, 포르피린증에 걸린 고양이는 포르피린 축적으로 인한 적색치(erythrodontia) 및 색소노증(pigmenturia)을 보인다.

유전적 적혈구질환(intrinsic erythrocyte defect)의 특성을 정의하기 위한 특수 검사실 검사로는, 알려지지 않은 적혈구질환을 특성을 확인하는데 사용되는 일반 선별검사(general screening tests)와 특정 품종에게 나타나는 것으로 알려진 질환에 대한 특정 선별검사(specific screening tests)로 2가지가 있다. 둘 다 전문화된 검사실에서만 검사가 이루어지며, 지금까지 보고된 대부분의 DNA 질환을 다루는 특정 견종에 대한 몇 가지 DNA 패널 검사(panel DNA tests)가 개발되어 있다.*

적혈구질환으로 인한 용혈은 골수의 활발한 적혈구생성을 통해 충분히 보상될 수 있으며, 이로 인해 임상징후가 나타나지 않거나 최소한의 수준으로만 나타나고(위기 상황 시에는 제외) 정상 기대수명만큼 생존할 수 있다. 또, 환자가 만성 빈혈에 잘 적응할 수도 있다. 대조적으로 일부 질환에서는, 혈액형 확인 및 이전 수혈 경험이 있을 경우 교차적합검사 후 시행되는 수혈을 비롯한 지지요법(supportive therapy)을 필요로 하는 심각한 용혈위기(hemolytic crises)가 발생하기도 한다. 일부

적혈구질환을 앓는 고양이에서 현저한 비장종대가 나타나며, 적혈구 파괴의 주요 장소인 비장을 적출하는 비장절제술로 치료할 수 있다. 그러나, 동일한 소견을 가진 견종의 경우에는 비장절제술이 도움이 되지 않는다. 마지막으로, 질병의 확산을 막기 위하여, 유전성 적혈구질환을 가진 개체는 교배 목적으로 쓰여서는 안된다. 유전적 다양성을 유지하기 위해, 바람직한 특성을 지닌 무증상 보인자의 경우에는 정상 개체와 안전하게 교배될 수 있다. 물론, 이들 사이에 생산된 모든 자손 개체들도 추후 교배시 마찬가지로 돌연변이 DNA 검사(mutation-specific DNA tests)를 거친다는 가정하에 말이다.

●●● 헤모글로빈 이상증 ○○○

인간에게서 지중해빈혈(thalassemia) 및 겸상적혈구성 빈혈(sickle cell anemia)이 흔히 발생하는 것과는 달리, 개와 고양이에게는 혈액소병증(hemoglobinopathies)이 발견되지 않았다. 단지 사이토크롬 B5 환원 효소 결핍(cytochrome b5 reductase deficiency)과 관련된 메트헤모글로빈혈증의 여러 종류가 다양한 견종 및 단모종 집고양이에서 발견된 바 있다. 유전성·선천성 메트헤모글로빈혈증은 검사실 여과지 위에 혈액 한방울을 떨어뜨렸을 때 혈액이 계속 어두운 색으로 남아있는 경우에 의심할 수 있다. 유전성 메트헤모글로빈혈증은 빈혈보다는 종종 청색증과 속발성 적혈구증가증과 관련이 있으며, 산화제(예: 일부 약물, 중금속, 양파 또는 마늘)에 노출될 경우 대량의 용혈이 발생할 위험이 있다. 이 질환을 가진 환자들에게서 사이토크롬 B5 환원 효소 유전자에서 돌연변이가 확인되었다(8).

포르피린증은 헴 생합성(heme biosynthesis)에서 특정 효소의 작용 결핍으로 인한 포르피린 축적으로 야기되는 선천성 질환으로, 지금까지 개에서는 발견되지 않았고, 고양이에서만 발견되었다. 인간에게서 이 질환은 임상적으로 급성 신경내장성 발작(acute neurovisceral attacks)을 동반한 피부 또는 간과 관련된 적혈구증(erythroid)으로 분류된다. 포르피린증 고양이는 적색치(형광 분홍색을 띠는 갈색으로 변색된 치아), 포르피린뇨증(porphyrinuria), 경미한 용혈성 질환 소견이 있었지만, 생명을 위협하는 급성 신경내장성 발작이나 피부학적 병변은 나타나지 않았으며, 정상 기대 수명에 근접하게 생존하였다(9). 이 질환을 가진 고양이는 포르피린 소변 농축도가 증가하며, 이러한 포르피린 소변 양상과 효소결핍을 기반으로 급성 간헐성 포르피린증(acute intermittent porphyria, AIP; 우성유전)이나 선천성 포르피린 적혈구증(congenital erythroid porphyria, CEP; 열성유전)으로 분류된다. DNA 복제 돌연변이, 삭제 돌연변이, 미스센스(missense : DNA 암호가 바뀌어 본래와 다른 아미노산을 지정하게 되는 돌연변이 암호) 돌연변이를 포함하여 몇 가지 돌연변이가 포르포피리노겐탈아미노효소 (hydroxymethylbilane synthase, HMBSS) 또는 우로포르피리노겐 III-합성효소(uroporphyrinogen III-synthase, UROS) 유전자에서 발견되었으며, 이는 지금까지 밝혀진 고양이에게 나타난 유전자 돌연변이 중 가장 많이 변이된 유전자이다. 따라서 변색된 치아를 가진, 정상 또는 경미한 빈혈을 보이는 고양이는 HMBSS 나 UROS 작용 결핍 유전자를 가지고 있을 수 있으며, 생화학적, 분자적 특성으로 인해 전문 검사실 검사가 필요할 수 있다.*

●●● 적혈구막 이상증 ○○○

세포골격 스펙트린(spectrin) 및 적혈구막 단백질 4.1(erythrocyte membrane protein band 4.1, EPB 4.1)의 결핍으로 야기되는 타원적혈구증 및 구형적혈구증은 임상적으로, 분자 수준으로 이종교배 개에서 특징적으로 나타난다. 기타 적혈구막 이상증으로

추정되는 질환으로는 Alaskan Malamutes와 Miniature, Standard/Middle Schnauzers에게 나타나는 구상적혈구증, 위염을 가진 Golden Retrievers에게 나타나는 구형적혈구증, Beagles에게서 발견되는 비구형적혈구 빈혈(non-spherocytic anemia), Abyssinian과 기타 순종 및 믹스묘종에게서 발견되는 삼투압 취약성이 높아진 적혈구증이 있다. 고양이에게 나타나는 삼투압 취약성 증가를 제외하고, 이러한 적혈구막 이상증은 드물며 산발적이다(그림 1)(10).

적혈구의 삼투압 취약성 증가는 적혈구막 결함 및 이온 수송 결함 (ion transport defect)을 의미한다. 구상적혈구증을 가진 의 연골형성장애(chondrodysplastic)를 지닌 왜소증(dwarfs) Alaskan Malamute가 삼투압 취약성이 높은 적혈구를 가진 것으로 보고된 첫번째 견종이었지만(11), 정확한 기전은 여전히 알려지지 않았다. 구상적혈구증을 가진 Miniature, Standard/Middle Schnauzers는 적혈구막 세포골격에 어떠한 결함도 없는 것으로 보고되었다. 흥미롭게도, 거대적혈구증(macrocytosis)이 심각한 수준이라도, (헤모글로빈 측정을 기반으로) 빈혈은 경미하게 나타났다 (12)(그림 2).

간헐적 빈혈, 심각한 비장비대, 고빌리루빈혈증과 관련된 현저하게 높은 적혈구 삼투압 취약성은 Abyssinians과 기타 순종 및 믹스묘에게 발견된다. 이 질환에서 나타나는 거대적혈구는 체외에서 극도로 취약하여 샘플 채취 후 냉장고에 두면 밤사이 용혈되어 버린다. 원인이 확인되지는 않았지만, 적혈구막에 결함이 있을 것이라 의심된다. 상당한 비장종대를 보이는 고양이의 경우, 프레드니솔론을 항염증 목적으로 투여하면 효과를 볼 수 있다. 빈혈이 심각하고 자주 나타나는데 심각한 비장종대가 있다면, 비장절제술이 도움이 된다. 그러나, 비장을 적출한 동물은 수술 후 한 달간 특히 패혈증 위험이 있다는 점에 주의해야 한다. 일부 검사실에서 삼투압취약성 검사가 가능하다.*

●●● 적혈구효소병증 (Erythroenzymopathies) ○○○

포스포프рук토키나아제(phosphofructokinase, PFK)와 피루브산염기나아제(pyruvate kinase, PK), 즉 이 두가지의 핵심적인 해당작용 조절효소(regulatory glycolytic enzymes)의 결핍은 일부 견종에게서 독특하게 다양한 형태의 용혈성 빈혈을 초래한다. 다수의 묘종에서 PK 단독 결핍이 간헐적 빈혈을 유발하는



“유전성 적혈구질환(hereditary erythrocyte defects)에는 다양하고 임상적으로 이질적인 형태를 띤 질병들이 포함되는데, 일반적으로는 드물게 나타나는 특정 질환들이 일부 품종에서는 비교적 빈번하게 나타난다.”

Urs Giger

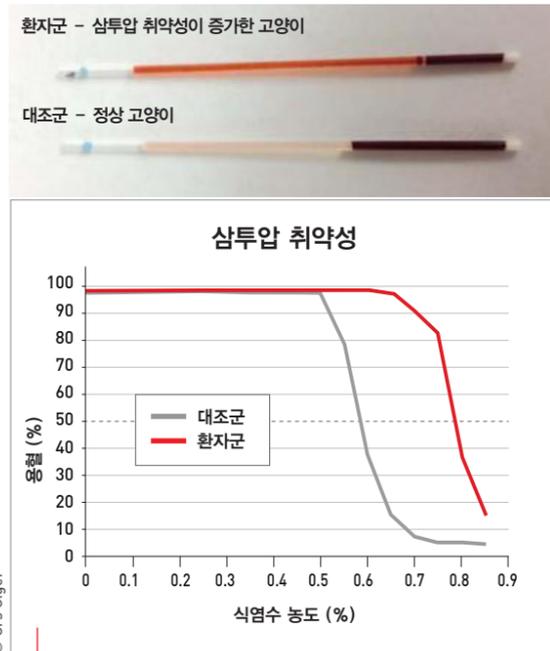


그림 1. 삼투압 취약성이 증가한 적혈구는 Abyssinian을 비롯해 다양한 모종에서 나타난다. 위 도표는 고양이 혈액 샘플 채취 후 냉장고에 저장한 채로 24시간이 지나서 미세적혈구용적(microhematocrit, PCV)을 측정된 결과를 보여준다. 정상묘에게 채취된 샘플과 비교하여 붉은색으로 표시된 환자에서 채취된 혈장 샘플은 낮은 PCV를 보인다. 적혈구의 삼투압 취약성은 생리식염수 농도가 높아짐에 따른 용혈 정도를 측정하는 삼투압 취약성 검사(Osmotic Fragility Test)로 평가하였다. 정상 적혈구는 체액에서 중간정도 농도의 식염수(0.6%)에서 50%까지 용해되는데, 환자의 적혈구는 생리식염수 수준의 농도(0.8%)에서도 용해되는 모습을 볼 수 있다.

것으로 나타났다(표 3). 약 50년 전에 PK 결핍이 최초로 Basenji 품종에게 특징적으로 나타났지만, 전형적인 임상적 특성과 생화학적 이상이 기타 견종에게도 동일하게, 그리고 개에게만 독특하게 발생하는 것으로 나타났다. 대조적으로, PK 결핍 고양이의 경우, PFK 결핍 개에서 나타나는 것과 흡사한 형태의 간헐적 빈혈을 보이는 것으로 알려졌다. 이 질환을 가진 많은 환자들이 정확한 진단 이전에 수 개월에서 수 년동안 면역매개 용혈성빈혈(immune-mediated hemolytic anemia)로 추정되어 치료받음으로써, 불필요한 진단검사 및 해로울 수 있는 치료법에 노출되었을 수 있다.

표 3. 개와 고양이에에서 나타나는 유전성 PK 결핍증 및 PFK 결핍증의 비교

변수	피루브산염키나아제(PK) 결핍		포스포프рук토키나아제(PFK) 결핍
	개	고양이	개
빈혈	심각한 만성	간헐적	간헐적
유발인자	알 수 없음 - 질병이나 스트레스	알 수 없음 - 질병이나 스트레스	과도한 할떡거리고 짖음, 심한 운동, 고열이나 고온에 노출된 후
재생성 적혈구 반응	매우 강함	경미함	빈혈이 없어도 강함
장골 방사선 촬영	1세경 골경화증(osteosclerosis)	정상	정상
비장절제술에 대한 치료반응	없음	좋음	없음
기대수명	품종에 따라, 1-10세	1-12세	위기 상황이 발생하지 않으면, 12세까지

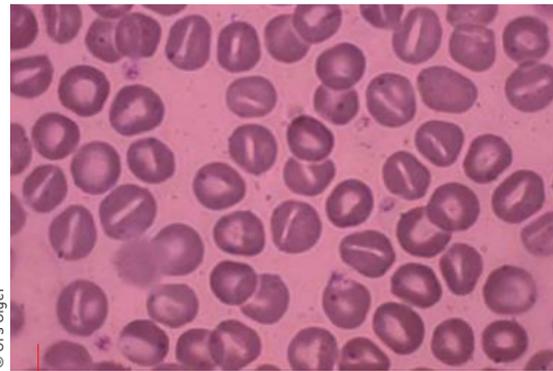


그림 2. Miniature Schnauzer에게 나타나는 구상(口狀) 적혈구증(stomatocytosis); 구상적혈구는 가는 틈처럼 보이는 중앙의 흰 부분이 있어 "커피콩"모양을 띤다.

포스포프루토키나아제(PFK) 결핍증

이 질병이 발견된 지 30년 이상이 흘렀으며, 효소 검사 및 DNA 감사가 이용 가능함에도 불구하고, 이 해당 효소 결핍증은 미국과 유럽의 수렵대회 출전용(field-trial) English Springer Spaniels에서 여전히 발견된다. 또한, 일부 Cocker Spaniels, Whippets, Wachtelhunds 및 믹스견을 비롯한 출품견(bench/show dogs)들에게서도 나타난다. PFK 결핍증은 근육형(muscle-type) PFK에서 단 하나의 미스센스 돌연변이가 유전자에 의해 유발되는데, 이 돌연변이가 유전자는 돌연변이가 발생한 모든 견종에서 PFK 효소 단백질의 절단(truncation)과 불안정성(instability)을 초래하는 것으로 보고되었다(다른 종류의 PFK 돌연변이를 가진 Wachtelhund의 경우는 제외(13)).

이 질환은 용혈위기와 운동성 근육병증(exertional myopathy)이 특징적으로 나타난다. 심한 혈뇨 및 고빌리루빈증으로 인해 이따금씩 나타나는 어두운 색소뇨가 핵심 특성이며, 일반적으로 과도한 할떡거리고 짖음, 심한 운동, 고열이나 고온에 노출된 후에 발생한다. 결과적으로, 과호흡으로 인한 알칼리혈증이 결핍 적혈구의 혈관내 용혈을 초래하는 것이다. 위기 상황에서 환자는 심각한 빈혈 증상과 황달을 보이며(그림 3), 보통 수 일 내에 진정되지만 열이 나고, 기면 상태가 되며 식욕부진을 보인다. 위기 상황이 발생하고 나면 그 다음 위기 상황이 발생할 때까지 환자는 강력한 재생성 적혈구반응(regenerative erythroid response)을 보인다. 또, 근육에서 PFK 작용이 전혀 일어나지 않는 개에서는 운동 불내성, 간헐적인 근육 경련, 경도에서 중등도로 증가한 혈청 크레아틴키나아제(serum creatine kinase) 작용을 비롯한 특성을 보이는 대사성 근육병증



그림 3. PFK 결핍증으로 황달을 보이는 English Springer Spaniel

(metabolic myopathy)을 가진다. 이 질환을 가진 개들은 일정 시간 심하게, 빠르게 뛰지 못하므로, 수렵대회(field-trial)에서 부진한 성적을 거두게 된다.

많은 검사실에서 제공되는 단순 돌연변이 검사가 PFK 결핍증 및 이 질환의 보인자를 정확하게 진단하는데 활용된다.* 알려진 PFK 돌연변이를 가지고 있지 않은 품종인 경우, 낮은 효소 작용 및 헤모글로빈-산소 해리 곡선 검사(hemoglobin-oxygen dissociation curve test) 상 높은 수치가 질병을 시사할 수 있다. 과도한 할떡거리고, 짖음, 운동, 열 노출과 같은 상황에 따른 용혈위기는 반드시 피해야한다. 위기 발생 시, 휴식이 도움이 될 수 있으나, 지지요법이나 때에 따라 수술이 필요할 수도 있다. PFK 결핍증은 정상 수명을 기대할 수 있지만, PFK 결핍 적혈구의 높은 헤모글로빈-산소 친화성으로 인해 정상에 근접한 적혈구용적률(hematocrit)을 가진에도 불구하고, 지속적인 고빌리루빈증과 망상적혈구증에 시달린다.

피루브산염키나아제(PK) 결핍증

결핍증의 심각하고 지속적인 빈혈에도 불구하고, 창백함을 제외한 임상적 징후는 경미하다. 그러나 유발 인자로 인한 용혈위기가 어느 연령에나 발생할 수 있고 치명적일 수 있다. 이 질병에서 빈혈은 수많은 혈중 후적혈구(metarubricytes, nucleated red blood cells)와 망상적혈구 수가 90%까지 높게 나타나면서 높은 재생성을 보인다. 원인불명의 진행성 골수섬유증(myelofibrosis)과 골수의 골경화증(osteosclerosis)(그림 4) 및 간기능 부전을 동반한 전신적 혈철소증·혈색소침착증(hemosiderosis/-chromatosis)(14) 발생할 수 있으며, 이는 보통 6세 이전 사망으로 이어진다. 일부 PK 결핍증을 가진 West Highland White Terriers, Cairn Terriers, Beagles 이 10세까지 살았다고 보고된 바 있다. 결핍증의 분자 유전학적 근거가 Basenjis, Beagles, Labrador Retrievers, Pugs, Cairn Terriers, West Highland White Terriers에게서 확인되었으며 (15,16), 이 견종들에 대한 DNA 돌연변이 검사가 가능하지만, 기타 다른 견종들에 대해서는 불가능하다.* PK 결핍증은 Miniature Poodles, Eskimo Toy Dogs, Dachshunds, Chihuahuas 에게서도 발견되었고, 이전에 Poodles에게 비구형적혈구형 용혈성 빈혈(non-spherocytic hemolytic anemia)과 골경화증(osteosclerosis)이 동반되어 나타난 경우가 PK 결핍증에 의한 것으로 추정된다(17). 이 견종에서, PK 결핍증을 확인하려면 동종효소

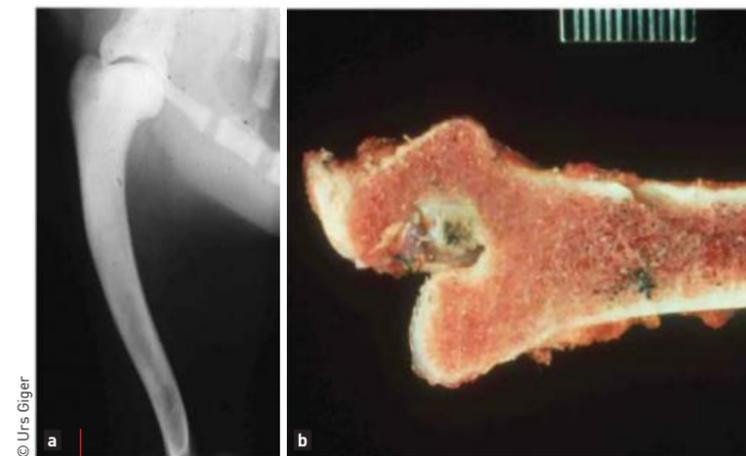


그림 4. West Highland White Terrier에게 나타난 PK 결핍증 관련 골경화증(osteosclerosis). 방사선 촬영(a) 및 부검(b) 상 피질의 밀도 증가가 뚜렷하게 보인다.

특성화와 함께 다루기 힘든 PK 효소 검사가 필요하다. 또한, 적혈구 효소 작용(erythrocytic enzyme activity)에 기반하여 보인자와 동형접합(homozygous) 정상견을 감별해야 하는데, 이것이 까다롭다. 심각한 빈혈에 대한 만성적 적응과 산소 전달을 촉진하는 높은 적혈구 DPG 농도(low hemoglobin-oxygen affinity)으로 인해 임상적 징후는 경미하다. 심각한 혈관외 용혈 및 골수의 조혈(extramedullary hematopoiesis), 혈철소증·혈색소침착증으로 인해 간비대와 비장종대가 야기될 수 있다. 철의 킬레이트화(iron chelation)를 통해 치료할 수 있지만, 아직 효과와 안전성이 입증되지 않았으며, 비장절제술은 효과적이지 않은 것으로 나타났다.

골수 이식(bone marrow transplantation)이 개의 PFK와 PK 결핍증 모두에서 실험상 효과적인 것으로 나타났으나, 주요 조직적합성복합체(histocompatibility complex)가 적합한 공여자가 부족할 뿐만 아니라 강한 골수억제(bone marrow suppression)가 요구되므로, 이 치료법은 임상적으로 권장되지 않는다.

고양이의 PK 결핍증

고양이에서 PK 결핍증은 만성적이 아닌 간헐적 빈혈을 유발하며, 경도에서 중등도의 재생성 적혈구 반응을 동반하는데, 개와는 달리, 고양이에게는 골경화증이 발생하지 않는다. 병에 걸린 고양이는 담낭의 빌리루빈 결석(bilirubin calculi), 간기능부전, 경도의 비장종대를 보일 수 있다. 심각한 경우에는 비장절제술, 그밖에는 프레드니솔론(prednisolone)을 항염증 목적으로 투여하는 것이 간헐적인 빈혈의 임상적 징후를 개선하는데 도움이 되는 것으로 보이며, 이 질병을 가진 고양이가 11세까지 산 것이 보고된 바 있다 (3). 적혈구 PK 작용(Erythrocyte PK activity)이 심각한 수준으로 감소하며, M형 PK 발현(M-type PK expression)이 없으므로, 생화학적 진단은 단순하다. 1990년대 후반 이후로 PK 결핍증은 13번 염기 결손을 유발하는 단하나의 유전자 접합 결함(splicing defect)에 의해 야기된다고 알려져 있다(18). 고양이의 PK 결핍증은 Abyssinian, Somali, 기타 순종묘들 뿐만 아니라 다양한 대륙 출신의 단모종 집고양이에게서 보고되었으며, 현재 많은 검사실에서 DNA 검사가 제공된다. 원인불명의 지속적이고 반복적인 빈혈을 가진 고양이에게는 독극물, 감염, 면역매개성 원인에 대한 검사를 한 후에 PK 결핍증에 대한 평가도 반드시 이루어져야 한다. 왜냐하면 면역매개성 용혈성 빈혈일 가능성 보다 PK결핍증이 빈혈의 원인일 가능성이 훨씬 더 높기 때문이다.

적혈구생성 감소

위에서 언급된 질환들이 주로 적혈구 수명 단축, 용혈, 재생성빈혈을 유발했지만, 적혈구생성 및 성숙과 관련된 질병은 적혈구질환 언급 시 일반적으로 포함되지 않으며, 비재생성 빈혈(non-regenerative anemia)뿐 아니라 다른 골수유래세포(bone marrow-derived cells)의 변화를 보인다.

이머스룬트(-그래스베크) 증후군(Imerslund-Gräsbeck syndrome) 이라고도 불리는 선택적 코발라민(비타민B12) 흡수장애(malabsorption)는 회장의 내인성 코발라민 수용체(ileal intrinsic cobalamin receptor)로 인해 유발되며, 몇몇 견종에게서 보고된 바 있다(19,20). Giant Schnauzers와 Australian Shepherds는 AMN 유전자에 돌연변이가, Beagles, Border collies, Komondors는 CUBN 유전자에 돌연변이가 있는 것으로 확인되었다. 병에 걸린 개는 성장지연을 보이며, 경증부터 중증의 악액질, 신경학적 징후, 백혈구감소증, 혈소판감소증, 빈혈, 낮은 혈청 코발라민 수준, 메틸말론산노증(methylmalonic aciduria)을 나타낸다. 그러나, 일단 확진이 되면 예후가 좋다. 격주부터 매달 진행되는 비경구적 코발라민 투여 요법이 개에서 완전한 치료 반응을 보인다.

낮은 혈청 철 농도를 보이며 경구 철분보충제에 반응하지 않는 심각한 소적혈구 저색소 빈혈(microcytic hypochromic anemia)이 한 마리의 Cocker Spaniel과 다른 기타 견종 몇 마리에게 발견되었다(21). 철저항성 철결핍빈혈(iron-resistant iron deficiency anemia, IRIDA)은 헵시딘(hepcidin)의 생산을 조절하고 궁극적으로 철흡수 및 철의 생체이용률을 통제하는TMPRSS6 (matriptase-2) 유전자의 결함 때문인 것으로 밝혀졌다.

*참고> PennGen 웹사이트는 WSAVA Hereditary Disease Database를 제공하며, 특정 질환 또는 특정 품종에 대한 DNA 검사 목록을 정리해놓았다. 또한, PennGen Laboratories는 적혈구 및 기타 유전성 질환의 특성을 확인하고 발견하는 전문화된 검사를 제공한다.

Acknowledgments: 저자의 임상 연구는 부분적으로 미국 국립 보건원(US National Institute of Health) OD 010939의 재정적 연구 지원을 받았다.



결론

수의학 분야에서도 몇 가지 유전적 질환들이 새롭게 파악되고 그 특성이 확인되었다. 특정 개와 고양이의 품종 소인이 있는 질환들은 매우 다양한 임상 징후를 유발하며, 질병이 의심될 경우 반드시 가능한 혈액 검사와 소변 검사를 모두 시행해야 한다. 진단에 있어 돌연변이 DNA 검사를 활용할 수도 있다. 적혈구 질환의 임상 증상은 무증상부터 심한 빈혈에 이르기까지 매우 다양하다. 많은 경우, 면역억제 요법(mmunosuppressive therapy)을 피하고 위기를 유발하는 상황을 만들지 않음으로써, 적혈구 질환을 가진 동물의 삶의 질을 향상시키고 때때로 정상 기대 수명에 근접하게 생존하도록 할 수 있다.



참고 문헌

- Slutsky J, Raj K, Yuhnke ST, et al. A web resource on DNA tests for canine and feline hereditary diseases. *Vet J* 2013;197:182-187.
- Donnor J, Kaukonen M, Anderson H. Genetic panel screening of nearly 100 mutations reveals new insights into the breed distribution of risk variants for canine hereditary disorders. *PLoS One* 2016;11(8):e0161005.
- Giger U: Blood typing and crossmatching: Assuring blood compatibility. *Kirk's Current Vet Therapy* 2014 [online edition] section IV, 260-265 www.kestrel.ws/erasmus/docs/Kirks_Current_Veterinary_Therapy_XIV.pdf
- Polak K, Acierno MM, Raj K, et al. Dog erythrocyte antigen 1: mode of inheritance and initial characterization. *Vet Clin Pathol* 2015;44:369-379.
- Goulet S, Giger U, Arsenault J, et al. Prevalence and mode of inheritance of the Dal blood group in dogs in North America. *J Vet Intern Med* 2017;31:751-758.
- Euler CC, Mizukami K, Raj K, et al. Survey of two new [Kai 1 and Kai 2] and other blood groups in dogs of North America. *J Vet Intern Med* 2016;30:1642-1647.
- Caviezel LL, Raj K, Giger U. Comparison of 4 direct Coombs' test methods with polyclonal antiglobulins in anemic and non-anemic dogs for in-clinic or laboratory use. *J Vet Intern Med* 2014;28:583-591.
- Jaffey JA, Harmon MR, Villani NA, et al. Long-term treatment with oral methylene blue in a dog with hereditary methemoglobinemia due to cytochrome b5 reductase deficiency. *J Vet Intern Med* 2017;31:1860-1865.
- Clavero S, Ahuja Y, Bishop DF, et al. Diagnosis of feline acute intermittent porphyria presenting with erythrodonia requires metabolic and molecular analyses. *Vet J* 2013;198:720-722.
- Tritschler C, Mizukami K, Raj K, et al. Increased erythrocytic osmotic fragility in anemic domestic shorthair and purebred cats. *J Feline Med Surg* 2016;18:462-470.
- Fletcher S Pinkerton P. An inherited anaemia associated with hereditary chondrodysplasia in the Alaskan malamute. *Can Vet J* 1972;13(11):270-271.
- Bonfanti U1, Comazzi S, Paltrinieri S, et al. Stomatocytosis in 7 related Standard Schnauzers. *Vet Clin Pathol* 2004;33(4):234-239.
- Inal Gultekin G, Raj K, Lehman S, et al. Missense point mutation in PFKM associated with muscle-type phosphofructokinase deficiency in the Wachtelhund. *Mol Cell Prob* 2012;26:243-247.
- Inal Gultekin G, Raj K, Foureman P, et al. Erythrocytic pyruvate kinase mutations causing hemolytic anemia, osteosclerosis and secondary hemochromatosis in dogs. *J Vet Intern Med* 2012;26:935-944.
- Hlavac NRC, Lacerda LA, Conrado FO, et al. Hemolytic anemia caused by hereditary pyruvate kinase deficiency in the West Highland White Terrier dog. *Arch Med Vet* 2012;44:195-200.
- Juvel F, Giger U, Battersby I, et al. Erythrocyte pyruvate kinase deficiency in three West Highland White Terriers in Ireland and the UK. *Irish Vet J* 2013;66:12 (epub).
- Randolph JF, Center SA, Kallfelz FA, et al. Familial non-spherocytic hemolytic anemia in poodles. *Am J Vet Res* 1986;47(3):687-695.
- Kushida K, Giger U, Inaba M, et al. Real-time PCR Genotyping assay for feline erythrocyte pyruvate kinase deficiency and mutant allele frequency in purebred cats in Japan. *Vet Med Sci* 2015;77:743-746.
- Fyfe JC, Hemker LS, Venta JP. An exon 53 frameshift mutation in CUBN abrogates cubam function and causes Imerslund-Gräsbeck syndrome in dogs. *Mol Gen Metabol* 2013;109:390-396.
- Fyfe JC, Hempkar SL, Stebbing B, et al. Selective intestinal cobalamin malabsorption with proteinuria (Imerslund-Gräsbeck syndrome) in juvenile beagles. *J Vet Intern Med* 2014;28:356-362.
- Naigamwalla DZ, Webb J, Giger U. Iron deficiency anemia. *Can Vet J* 2012;53:250-256.

LIQUID BIOPSY – THE FUTURE FOR CANCER DIAGNOSTICS?

세침흡인 생검과 조직 생검은 수의학 분야에서 일반적으로 시행되나, 종양 진단에 있어 결점이 없지 않다. 이 칼럼에서는 Breen 교수와 Dr. Wiley가 개의 방광암을 조기 진단하는 새로운 기술을 소개하고 액체생검이 어떠한 미래적 가치를 지니는지 이야기한다.

Matthew Breen,

PhD, C.Biol, FRSB, College of Veterinary Medicine, North Carolina State University (NCSSU), Raleigh, NC, USA

1990년에 동물 유전학으로 박사학위를 받은 후, Dr. Breen은 Human Genome Project의 일원으로 박사후과정 연구원 시절을 지냈다. 호주와 영국에서 몇 년을 보낸 후, Dr. Breen은 2002년에 NCSU로 자리를 옮겼는데, 그곳에서 비교 종양 유전학 분야 교수(Oscar J. Fletcher Distinguished Professor of Comparative Oncology Genetics)직을 맡고 있다. 지난 15년간 유전체학(genomics), 게놈 지도, 개에서 발생하는 암의 비교 종양 연구에 몸담았고, 그의 연구팀이 수의학 분야에서 진단 및 예후 판단 목적으로 쓰일 새로운 분자분석법을 개발하였다.



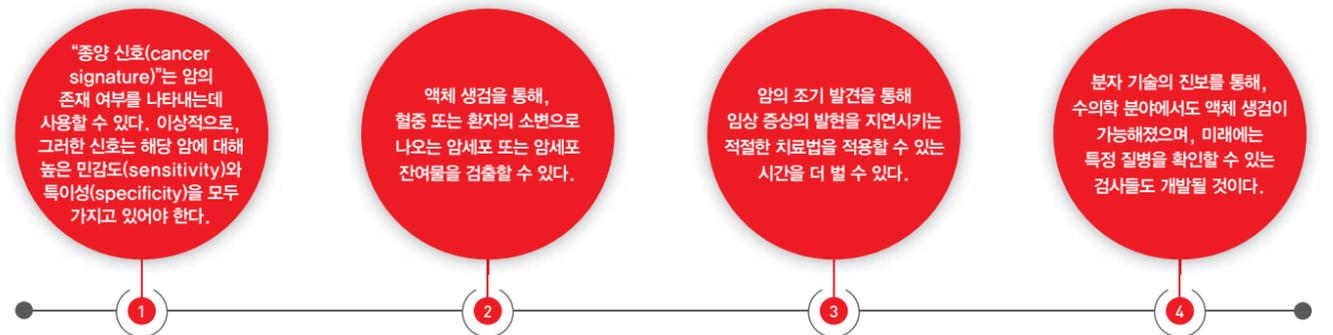
Claire Wiley,

VMD, Dipl. ACVIM (SAIM), College of Veterinary Medicine, North Carolina State University (NCSSU), Raleigh, NC, USA

Dr. Wiley는 Pennsylvania 대학교를 졸업하고 수의사 면허 취득 후 인턴과정을 마쳤다. After completing a small animal internal medicine residency at NCSU에서 소동물 내과학 레지던트 과정을 마친 후, 하부요로기계 질환의 진단과 치료에 초점을 두고 있다. 현재 요로상피세포암종(urothelial carcinoma)과 전립선암(prostatic carcinomas)의 유전적 이상(genetic aberrations)을 평가하는 박사학위 프로그램에 등록되어 있으며 액체 생검의 수의학적 활용에 많은 관심을 가지고 있다.



핵심 포인트



서론

다수의 종양에 있어, 종괴로 추정되는 조직에 대한 생검 및 검체에 대한 조직병리학적 평가를 통한 진단이 수 년동안 암진단의 절대적 표준이었다. 그러나 생검 과정 자체가 침습적이며 비용이 많이 들고 환자에게 합병증을 일으킬 수 있다. 일부 암에서는 확실한 검체를 얻기 위해 생검을 하는 것이 암세포를 퍼뜨릴 위험성을 증가시킬 우려도 있다. 임상 환경에서 환자에게 있을 특정 종양의 존재를 확인하는 것만 어려운 일이다. 기존의 침습적 절차를

보완하기 위해, 임상 및 임상수의사들은 진단에 적합한 근거를 얻기 위한 덜 침습적이고, 안전하고, 비용 대비 효과적인 대안을 찾으려고 열심히 노력해왔다. “종양 신호(cancer signature)”라는 용어는 종양의 존재를 나타내는 지표로 사용된다. 그러한 “신호”를 감지하는 방법을 긴급하게 찾고 있으며, 이상적으로 이 “신호”는 특정 암에 대해 높은 민감도(sensitivity)와 특이도를 가지고 있어야 한다. 액체 생검은 혈장과 소변에서 암세포 및 무세포 종양 DNA(tumor-derived cell-free DNA, cfDNA)를 분석하여 종양의 유전적 변화를 탐지하는 비침습적

방법으로, 진단 검사로서 바람직한 특성을 보여준다. 이 접근법은 암 발견 및 식별법을 개선하는 기회일 뿐 아니라, 시간 경과에 따라 환자에게 나타나는 치료의 효과를 모니터링 할 수도 있다. 의학 분야에서 빠르게 발전하고 있는 액체 생검은 수많은 약물 개발 프로그램에 적용되고 있으며, 인간 환자를 위한 임상 진료 과정에도 빠르게 포함되고 있다.

●●○ 액체생검이란?

종양은 세포와 DNA를 주변 조직 및 체액으로 방출하므로, 체액 샘플을 채취함으로써 고형인 종양의 유전적 구성을 평가할 수 있다. 그러한 체액을 사용하는 것을 “액체생검(liquid biopsy)”이라 한다(1). 혈중 무세포핵산(cell-free nucleic acids, cfNAs)의 존재는 약 70년 전에 처음 알려졌지만, 발암 유전자(a mutant RAS gene)의 조각이 암환자의 혈액에서 발견되었던 1994년이 되어서야 그 중요성이 대두되었다(1). 혈중 무세포 종양 DNA(cfDNA) 농도가 정상 대조군에 비해 암환자들에게서 더 높게 나타나는데, 전이(metastases)가 있는 경우 훨씬 더 높은 농도를 보였다(2). 주변 조직으로의 핵산 방출 기전은 세포의 빠른 전환 및 그에 따른 세포자멸사(apoptosis)와 관련이 있다고 추측된다(1). 그동안, “액체 생검”이라는 용어는 말초 혈류에 존재하는 신생물성 생체물질(예: 혈중 암세포 및 cfDNA)을 가리키는 것으로 간주되었다(3). 최근에는 정의가 넓어져서 소변, 뇌척수액(cerebrospinal fluid, CSF), 공동성 삼출액(cavitary effusions) 등 모든 체액을 포함한다(3). 의학분야에서의 종양 유전형질분석(tumor genotyping)은 증례에 대한 진단 과정의 일상적인 구성 요소가 되고 있다. 종양변이부담(tumor mutational burden)에 대한 지식은 암의 유형과 단계 및 확산의 강도를 파악하는데 활용될 수 있으며, 치료 방법 선택에 있어서도 도움이 될 수 있다. 액체생검을 통해 얻어진 종양 연관 DNA와 cfDNA의 유전형질 분석은 기존의 생검 또는 세침흡인검사와 대조적으로 종양에 쉽고 빠르고 안전하게 접근할 수 있다는 장점을 가진다. 또한, 액체생검은 잔존질환(residual disease)에 대한 환자 모니터링용으로도 점차 더 많이 활용되고 있다. 종양 연관 DNA와 cfDNA의 변화를 모니터링함으로써, 돌연변이



“새로운 분석법은 소변 샘플에서 10개의 돌연변이 보유세포(mutant-bearing cells)를 검출할 수 있으므로, 질병의 전임상 단계에서 방광암 증례를 식별할 수 있습니다.”

Matthew Breen

프로파일의 역동적인 변화에 기반하여 치료법을 조정할 수 있다. 재발 여부와 전이 여부도 기존의 방법에 비해 액체생검을 통해 더욱 조기에 감지할 수 있다(4,5).

인간을 대상으로 하는 의학에서는 종양유전형질분석이 일반적이며 액체생검 활용도 점차 증가하는 추세이지만, 수의 분야에서는 두 가지 접근 모두 매우 초기 단계에 있다. 그러나, “액체생검”이라 불릴 수 있는 몇 가지 기법들이 수의학 분야에서도 사용되기 시작했는데, 개의 이행세포암종(transitional cell carcinoma, TCC) 및 요로상피세포암종(urothelial carcinoma, UC)의 진단과 모니터링을 위한 CADETSM BRAF 돌연변이 분석법, 다양한 종양에 대한 세포블록표본법(cell block preparation) (그림 1), 항원수용체 재배열 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction for antigen receptor rearrangement, PARR), 림프구성 악성종양의 유세포분석(flow cytometry), 개의 악성조직구종(histiocytic malignancies) 진단을 위한 CADETSM HM 분석법 등이 액체생검에 해당된다. 이 칼럼에서는 TCC/UC의 진단과 모니터링을 위한 CADET 돌연변이 분석법에 대해 다룰 것이지만, 기타 기법들에 대한 간단한 소개도 표 1에 정리해놓았다.

●●○ 개의 방광암 발견을 위한 액체생검

최신 기법인 CADETSM BRAF 돌연변이 검출 분석법은 개의 이행세포암종(transitional cell carcinoma, TCC) 및 요로상피세포암종(urothelial carcinoma, UC)의 진단과 BRAF 양성 종양에 대한 추후 모니터링을 위해 개발되었다. 이 기법은 수의분야에서의 암진단을 위한 세계 최초의 액체생검 기법이다. 우선, 개의 방광암에 대한 개괄을 통해 동종 종양에 대한 진단의 변화하는 측면을 이해해 보기로 한다.

TCC/UC는 현재 어떻게 진단되는가?

TCC/UC 진단의 가장 일반적인 방법은 하부요로계 증상을 보이는 개에서 초기에 항균제(antimicrobial)가 반복적으로 투여되는 경우와, 때로는 그 원인이 악성종양이 아닌 것으로 가정하여 비스테로이드성 소염진통제(NSAID)로 관리하는 것로부터 시작한다. 이러한 접근은 수 개월이 소요될 수 있으며, 그동안 TCC/UC가 더욱 진행되어, 더 커지고 근육벽을 침범할 수 있을 뿐 아니라 전이 가능성도 높아진다. 임상적 징후에 대한 반복적 치료가 실패하면, TCC/UC 여부에 대한 검사가 시행되는데, 보통 소변에서의 세포검사, 복부 초음파검사 및 방광경 검사를 통한 평가로 이루어진다.

종괴가 발견되면, TCC/UC의 확진 및 종양의 근육침범정도를 확인하기 위한 조직병리학 검사에 필요한 생검이 진행된다. 국소 림프절 침범 여부에 대한 검사도 전이 여부를 가리기 위해 진행된다.

진단 시점에 90%이상의 환자들이 중등도에서 중증의 TCC/UC로 진행된 상태이며, 약 20%는 이미 신체의 다른 부위로 전이된 상태이다(6,7). 대부분의 증례에서 종양이 이 정도로 진행된 것은 확진까지 너무 오랜 시간이 걸린 결과로 볼 수 있다.

표 1. 기타 몇 가지 수의학적 분석 기법이 액체생검으로 고려될 수 있으며, 다음과 같은 것들이 있다.

세포블록표본법 (Cell blocks)

몇 가지 기법 중 한 가지를 사용하여, 액체 샘플을 포르말린 고정 세포블록(formalin-fixed cell block)으로 전환하는 것이 가능하다. 여기에는 HistoGel™(15), 외과용 겔 폼(16), 순수우무(agarose)(17)로 포매(embedding)하거나 포르말린 고정 파라핀 포매 액체 표본(formalin-fixed paraffin-embedded liquid samples)이 포함된다(18,19). 이 방법은 세포 클러스터 구조의 유지, 면역조직화학 기법 또는 기타 기법의 적용 가능성, 샘플 보존측면을 비롯해 기존의 방식보다 몇 가지 이점이 있다. 그러나 소요시간은 기존의 세포학적 방식 또는 다른 액체생검 기법보다 오래 걸린다.

세포블록 제조 방법 중 하나인 세포 시험관 블록(cell tube block, CTB)은 광범위한 응용 가능성이 있으며 간단한 재료와 장비를 사용하여 쉽게 제작할 수 있다(그림 1). 간단히 말하면, 평범한 모세시험관을 액체 시료로 채우고 원심분리한다. 그 다음, 시험관을 액체와 고체가 나뉘는 부위(liquid-solid interface)에서 절단하고 24시간동안 포르말린에 고정한다. 포르말린 고정 세포 시험관 블록은 파라핀에 포매된 후, 다양한 염료나 면역조직화학으로 처리할 수 있다(20).

이 방법은 원심분리가 모세시험관에서 세포층을 만들고, 바닥면에 고인 적혈구와 액체-고체가 나뉘는 부위에 모인 중성구(neutrophils), 대식세포(macrophages), 종피세포(mesothelial cells) 사이에 암세포가 농축되어 고정된다는 사실에 기반한다. 농축된 암세포 중 염증세포 또는 적혈구가 없으면 면역조직화학적 방법으로 염색한 배경염색(background staining)이 감소한다(21). 암세포를 분리하는 이 방법은 또한 분자 특성에 대한 이해를 용이하게 할 수 있다는 점에도 주목해야 한다.

항원수용체 재배열 중합효소연쇄반응 (polymerase chain reaction for antigen receptor rearrangement, PARR) 분석법

항원수용체 재배열 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction for antigen receptor rearrangement, PARR) 분석법은 모호한 세포학적 또는 조직학적 형태를 갖는 샘플에서 림프종 또는 백혈병을 진단하는데 사용된다. 또한 B세포 대(vs.) T세포와 같은 표현형 림프종(phenotyping lymphoma)에 사용될 수 있으며, 그 차이가 예후에 영향을 미친다. 이 분석법은 T세포에 있는 B세포 또는 T세포 수용체 유전자에서 면역글로불린(immunoglobulin) 유전자의 길이를 평가하여, 림프구의 클론형성능(clonality)을 평가하기 위해 PCR을 사용한다(21). 민감도와 특이도는 검사실에 따라 다르게 나타났지만, PARR 분석법은 1:100의 비율로 암세포를 검출할 수 있다(21). 또한, Ehrlichia spp.와 같은 감염성 질환은 림프구의 클론 개체군(clonal population)을 야기할 수 있으며(21) PARR의 특이도를 감소시킬 수 있다. 최근 271마리의 개를 대상으로 한 연구에서, 개의 림프종 진단에 대한 PARR의 민감도와 특이도는 각각 86.5%와 98.7%였다(22).

이 분석법은 혈액 샘플, 세포학적 또는 조직학적 검체에서 얻은 암세포에서 DNA를 격리한다. 이어서, T- 세포 수용체 또는 면역 글로불린 유전자의 가변 영역(variable region)을 증폭시키기 위해 프라이머를 사용하여 PCR을 수행한다. PCR 산물은 다양한 방법을 사용하여 크기별로 분리된다. 단일 크기의 PCR 산물의 검출은 클론형성능을 의미하는 반면, 다중 PCR 산물의 검출은 반응성과정(reactive process)을 의미한다.

유세포분석법 (Flow cytometry)

유세포분석법은 혈액, 삼출액 또는 세포 배양 배지에 주사된 세침흡인으로 채취된 액체 샘플을 사용하여 면역 표현형 림프종(immunophenotype lymphoma) 또는 백혈병을 진단하는 분자분석법이다. PARR과는 달리, 유세포분석법은 세포현탁액(cell suspension)을 필요로 한다. 세포학 검체 슬라이드 또는 포르말린 고정 파라핀 포매 표본은 사용할 수 없다. 특정 파장의 빛을 사용하여, 형광 물질 배출을 감지하는 정교한 이미징 장비로 형광단결합(fluorophoreconjugated) 항체 및 단백질을 자극하면, 다양한 세포 특성을 결정할 수 있다. 세포 표면 단백질 발현을 평가하기 위해, 세포는 형광단결합에 접합된 항체로 염색되고, 상대적 형광도에 기반하여 세포가 분류된다. CD45와 같은 일부 단백질은 모든 림프구 세포 표면에서 발현되지만, 다른 단백질은 전형적으로 T세포 (예: CD3) 및 B세포 (예: CD79a, CD20)의 아군(subpopulations)에서만 발현이 제한된다. 이렇게 보다 특이성을 띄는 시약을 사용하면 세포군에서 각 아형의 비율을 확인할 수 있다.

한 연구는 종대된 림프절 생검의 면역조직화학 검사로 결정된대로 면역세포형(immunophenotype) 포함 림프종의 진단을 위해 PARR을 유세포분석법과 비교했다(23). PARR과 유세포분석법 모두 이 연구에서 100%의 특이도를 보였으나 유세포분석법이 PARR보다 민감도가 높았다(98% vs. 74 %). 이 연구는 종대된 림프절에서 림프종을 진단하기 위해 PARR보다 유세포분석법이 우월할 수 있다고 제안하지만, 유세포분석법은 새로운 표본을 필요로 하기 때문에 PARR은 유세포분석법에 적합하지 않은 표본에 대해 명백한 유용성을 갖는다.

CADETSM HM 분석법

The CADETSM HM 분석법은 조직구 악성종양(HM)을 다른 유사한 원형 세포신생물과 구별하기 위한 새로운 분자 검사이다. 일부 연구에 따르면, 초기에 HM로 확인된 증례의 70%가 잘못 분류된 것으로 나타났다(24, 25). HM과 혈장세포종양(plasma cell tumors)의 구별은 특히 어려울 수 있으며, 이러한 어려움은 일상적인 세포학적 검체 제작에서 있어 림프종으로까지 확장될 수 있다. 삼출물이나 세침흡인물과 같은 암세포가 풍부하게 들어있는 작은 샘플을 분석에 사용할 수 있으며 조직학적 샘플도 사용할 수 있다. 이 분석법은 HM 증례의 종양 세포에 존재하는 특정 DNA 서열의 복제본 수를 결정하며, 복제본 수의 감소가 있으면 HM을 진단한다.

이 검사법은 HM 및 림프종, 혈장세포종양, 혈관육종(hemangiosarcoma), 멜라닌결핍 흑색종(amelanotic melanoma), 비만세포종양(mast cell tumor)을 비롯한 HM과 유사할 수 있는 여러가지 다른 종양유형을 가진 500마리 이상의 개에서 병리학적으로 확인된 독특한 암세포 검체를 통해 유효성이 입증되었다. 결과에 따르면, 이 유전적 신호(genetic signature)가 개의 HM과 다른 종양 유형 감별에 있어 매우 민감하고 정확한 표지자인 것으로 나타났으며, 민감도는 78%, 특이도는 95%였다.

그림 1. 그림으로 보는 세포 시험관 블록(cell tube block, CTB) 기술의 개요



모세시험관(capillary tube)이 액체 또는 침전물(적은 수의 세포 샘플)로 채워져 있다.

모세시험관은 점토로 밀봉되어 있다. 중대한 혈액 오염이 없다면, 점토로부터 세포 침전물(cell pellet)의 분리를 용이하게 하기 위해 고밀도 배지(예를 들어 percoll)로 흡인할 수 있다.

원심분리 후, 유리용 다이아몬드칼을 사용하여 모세시험관을 액체와 고체가 나누는 부위에서 절단한다.

적어도 24시간 동안 10% 포르말린에 고정시킨 후, CTB를 종이 클립을 사용하여 모세 시험관에서 밀어내고 파라핀 포매(paraffin embedding)를 할 카트리지에 넣는다.

파라핀 포매된(paraffin-embedded) CTB 색선은 H&E 또는 다른 염료로 염색되어 검사된다.

현재 TCC/UC를 어떻게 치료하는가?

마침내 확진이 되면, 대체로 화학요법을 이용하여 TCC/UC를 치료한다. 단일 제제 요법을 사용할 경우, 관완화되는 개의 비율이 일반적으로 낮다(20% 미만). 사이클로옥시게나제 억제제(cyclooxygenase inhibitors)를 병용하여 화학요법을 진행하면 완화되는 개의 비율이 35~50%까지 증가한다. 단일 제제 NSAID 요법으로 치료받은 개는 생존 기간의 중앙값(median)이 대략 6~7개월로 나타난 것에 반해, 세포 독성 화학요법제제[전형적으로 미톡산트론(mitoxantrone) 사용]과 NSAID를 병용 치료한 경우, 생존 기간의 중앙값이 대략 10개월에 근접하였다. 약물요법에 비해 덜 일반적이기는 하지만, 수술과 방사선요법도 사용된다. 최신 데이터에 따르면, 강도변조방사선요법(full-course intensity-modulated radiation therapy) 및 영상추적방사선치료(Image Guided Radiation Therapy, IGRT)를 추가적으로 사용시, 60%의 치료 반응율을 보였고 생존 기간의 중앙값도 21개월을 초과한 것으로 나타났다(8).

TCC/UC 진단에 있어 어려운 점은?

소변 침전물의 비정상적 상피세포, 또는 외상성 카테터 삽입(traumatic catheterization), 전립선 세척(prostatic wash) 및 세침흡인으로 얻은 샘플이 TCC/UC의 진단을 위해 사용된다(9). 그러나, 상피세포의 세포학적 분석은 오판의 가능성이 있다. 예를 들어, 양성 상피 세포는 세포 크기가 다양하며 그중에는 악성 세포와 유사한 경우도 있을 수 있다(10). 암조직의 세침흡인은 바늘관을 따라 암세포를 전이시킬 위험이 있다(11). 현재 개에서 나타나는 TCC/UC의 임상 진단은, 전혈구검사(CBC), 혈청생화학검사, 소변검사, 영상 진단, 암세포의 임상병리학 검사 및 생검 검체의 조직병리학을 비롯한 포괄적인 진단 과정으로 필요하다.

대부분의 TCC/UC 증례는 종양이 상당히 진행된 임상 단계에 이를 때까지 진단을 받지 못하기 때문에, 예후가 좋지 않거나 불량하다. 초기에 종양을 발견하면 삶의 질을 향상시키고 생존을 연장할 것으로 기대되는 적절한 치료법을 조기에 적용할 수 있다. 미국 수의과대학 내과 분야의 400명의 연수생과 전문의를 대상으로 한 설문조사에서, 공통적으로 강조되는 불만사항은 TCC/UC 발견을 위한 신뢰할 수 있고 비침습적인 진단 검사가 없다는 점이었으며, 그 이용 가능성에 대한 높은 요구도를 보였다(논문 발표 예정).

개의 TCC/UC 조기 발견에 있어 어떤 새로운 기회가 있는가?

NCSU 연구팀(12)과 미국 국립 보건원(National Institutes of Health, NIH)(13)이 최근 각각 시행한 2개의 연구에서, 개의 BRAF 유전자의 엑손 15에서 단 하나의 돌연변이가 TCC/UC의 종양 생검표본의 병리학검사를 통해 발견되었다. 이 돌연변이는 암세포에서 BRAF 단백질의 아미노산 한 개를 (발린에서 글루탐산으로) 바꾼다. 유전자의 키나아제 영역(kinase domain)의 활성화 부분에 위치한 이 변화는 세포 증식 신호를 주는 키나아제 활성이 증가된 돌연변이 단백질을 초래하여 종양 발생을 유도한다. BRAF 돌연변이는 염색성 방광 조직과 폴립을 포함한 비종양성 방광 조직에서는 발견되지 않았다(12). 개가

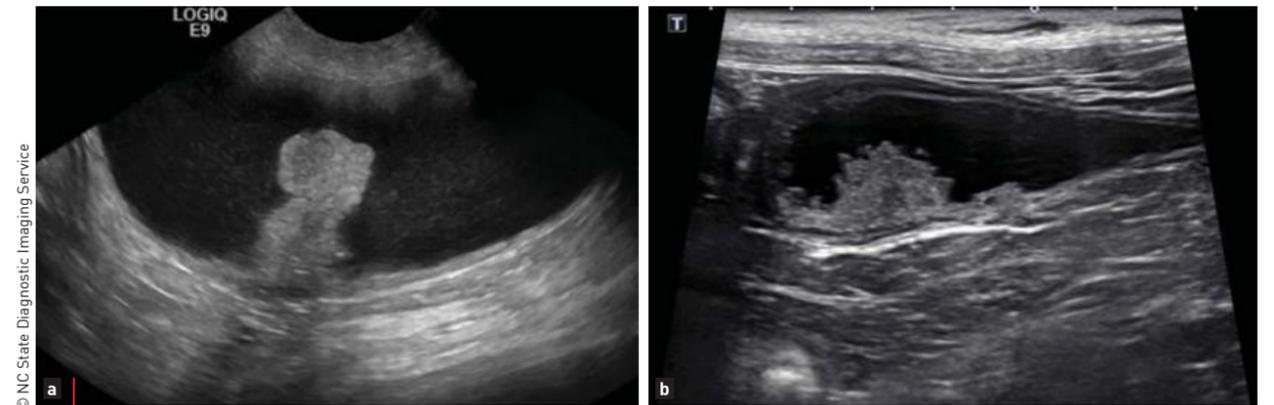


그림 2. 폴립 모양의 방광염과 TCC/UC는 비슷한 초음파검사 결과를 보일 수 있다. 그림 2a와 2b는 배뇨장애, 혈뇨, 농뇨 및 세균뇨를 보이는 두 마리의 중성화된 암컷 노령견에서 나타난 방광 종괴를 보여준다. 두 이미지 모두에서 방광 꼭대기 부근에 소엽성 종괴(lobulated masses)가 보인다. (a) BRAF 돌연변이는 이 개의 소변에서 발견되지 않았으며, 이어진 종괴의 조직병리학적 검사 결과, 양성 용종으로 확인되었다. (b) 두번째 개의 경우, 소변을 통한 검사 결과 BRAF 돌연변이에서 양성으로 나타났고, 세포학 검사 결과도 TCC/UC로 판명되었다. 요로에서 종괴가 발견되면 조직병리학이나 CADETSM BRAF 돌연변이 검출법(Mutation Detection Assay)과 같은 진보된 진단법으로 양성 병변과 암종을 구분할 수 있다.

TCC/UC를 가지고 있는 경우, 질병의 과정에서 매우 초기부터 말기까지 종괴로부터 나온 세포가 소변으로 나온다(그림 2). NCSU 연구팀은 이러한 세포에서 이 돌연변이의 존재 여부를 감지하기 위한 신속하고 민감도가 높은 검사법을 개발했으며(14), 이는 CADETSM BRAF 돌연변이 검출 분석법(CADETSM BRAF Mutation Detection Assay*)라는 이름으로 수의학 분야에서 종양에 대한 세계 최초의 액체생검법 최종 개발과 상용화로 이어졌다(그림 3 참조).

자연 채뇨를 통해 수집한 소변(free-catch urine) 검체를 이용한 TCC/UC 진단 분석법의 전반적 민감도는 85%로 나타났다. 개에게 나타나는 다른 종양의 경우 같은 BRAF 돌연변이가 검출될 수 있기는 하나 그 빈도가 매우 낮아서(12), 다른 종양을 앓는 개에서 수집한 소변 검체에서 BRAF 돌연변이가 검출되었다고 보고된 바는 아직 없다. 따라서 현재까지 개에게 나타나는 TCC/UC 발견에 있어 이 분석법의 특이도는 99%를 넘는다. 중요한 것은, 이 분석법이 세균뇨나 혈뇨에 영향을 받지 않으므로, 다른 분석법이 실패한 악성 TCC/UC 세포의 발견을 위한 매우 효과적인 도구라는 점이다.

액체생검은 수의사에게 어떻게 유용한가?

진단에 도움

민감도와 특이도가 높은 이 새로운 액체생검법은 개의 TCC/UC 진단을 위해 미국에서 널리 활용되고 있다.

이 분석법은 소변으로 배출된 세포를 회수하여 정상형(wild type)과 변이형 BRAF 대립유전자를 식별하고 정량화하는 방식이다.

* CADETSM 분석법 시리즈는 Sentinel Biomedical (www.SentinelBiomedical.com)이 개발 및 상용화함

BRAF 정상형 및 BRAF 돌연변이 대립유전자를 비교함으로써, 소변 샘플에서 회수된 세포의 정량적 측정이 가능하다. 중요한 것은, 병리학적 평가를 위해 육안으로 보이는 종괴의 생검을 수집한 모든 경우와 비교하였을 때, 자연채뇨로 수집된 소변에서 검출된 BRAF 돌연변이와 생검을 통해 확인된 TCC/UC 사이에 100%의 상관관계가 있었다는 점이다. 조직검사와 대조적으로, 이 분석법은 위양성을 나타내지 않는다. 수백개의 대조군을 포함한 연구에서, TCC/UC가 없는 것으로 밝혀진 개 표본에서 BRAF 돌연변이가 전혀 검출되지 않았다. 다만, 이 분석법을 통해 TCC/UC의 위치를 알 수는 없다. 영상진단을 통해 종양의 위치를 확인할 수 있으며 치료 선택을 결정할 때도 도움이 될 수 있다.

연속적 액체생검으로 모니터링

일단 BRAF 양성 TCC/UC로 진단되면, 시간 경과에 따라 치료 기간 돌연변이하중(mutational load)의 변화 수준을



“더 많은 데이터가 모일 수록, 특히 높은 특이도(specificity)과 민감도(sensitivity)를 가진 경우, 액체생검 분석법은 결국 기존의 조직생검 방식을 능가할 것이다.”

Claire Wiley



그림 3. 샘플수집에서부터 CADETSM BRAF 돌연변이 검출 분석 결과까지의 단계를 도식화한 그림. 소변에 섞여 나온 세포들로, 개의 BRAF 유전자의 엑손 15에서 단일 염기 변화를 갖는 세포의 존재 및 비율이 평가된다. TCC/UC가 확진된 개의 85%에서 해당 돌연변이가 존재하며, 비악성 요로 병변(non-malignant urinary tract lesions)을 가진 개의 소변에서는 검출되지 않았기 때문에, 이 분석법은 TCC/UC 여부에 대해 99%가 넘는 특이도를 갖는다.

모니터링하는데 분석법이 사용될 수 있다. 초기의 임시 데이터에 따르면, 피록시캄(piroxicam)과 같은 NSAIDs가 소변으로 나온 BRAF 돌연변이의 감소에 미미한 영향을 미칠 수 있지만, 미톡산트론과 같은 기존의 화학요법제제를 이용한 치료를 통해서는 BRAF 돌연변이 수준의 점진적이고 상당한 감소가 있었음을 알 수 있었다(논문 발표 예정). 동시기에 시행된 수십 건의 초음파 검사를 통해, 완화된 임상 징후와 함께 방광 종괴 크기와 방광벽 두께가 점진적으로 감소하는 일치된 결과를 확인할 수 있었다. 이 연구 결과를 통해 시간 경과에 따라 소변에서 검출되는 BRAF 돌연변이 수준의 큰 변화가 종괴의 크기와 암세포 증식에 있어서의 변화를 알려주는 지표로서 사용될 수 있다는 것을 알 수 있다.

반대로, 치료 과정 동안 동안 BRAF 돌연변이 수준의 현저한 증가는 암세포 증식이 치료에 영향을 받지 않는다는 것을 의미한다. BRAF 돌연변이 수준이 초기에는 상당히

감소되었다가, 이후에 다시 증가하는 환자의 경우는, 재발의 지표이자 암세포 증식을 의미할 수 있다. 이러한 연구 결과를 확정하기 위해서는 더 많은 연구가 필요하지만, 이런 결과들을 통해, 치료 및 완화되고 있는 환자의 잔존 질환을 모니터링하는 수단으로서 액체생검을 활용하여 빠르게 알아낼 수 있다.

위험도가 높은 품종 검사

새로운 분석법은 소변 샘플에서 10개의 돌연변이 보유세포(mutant-bearing cells)를 검출할 수 있으므로, 매우 조기에, 임상 증상이 나타나기 전에 TCC/UC 증례를 식별할 수 있다.

이것은 효과적인 조기 선별 검사의 특징이다. 즉, 질병의 진행 과정에서 가능한 한 빨리 암의 존재를 알아내는 것이 암 투병에 있어 가장 적절한 치료법을 적용할 수 있는 시간을 더 벌여준다. 이 분석법은 현재 TCC/UC가 발병할 위험이 높은 견종(예를 들어

Beagle, Scottish Terrier, Shetland sheepdog, West Highland White Terrier)의 소변을 스크리닝하는 데 사용된다. 이 검사법을 통해, 질병의 아주 초기에 양성 반응을 보인 개의 보호자가 수의사에게 추후 관리를 받으며 가장 적절한 치료법을 찾아 반려견의 삶의 질을 개선하고 수명을 연장할 수 있는 희망을 가질 수 있다.

작성에 도움을 주신 분들: Shelly Vaden DVM, PhD, Dipl. ACVIM, Professor of Internal Medicine, College of Veterinary Medicine, NCSU, Raleigh, NC 와 Cindy Cole DVM, PhD, Dipl. ACVCP, General Manager, Wisdom Health™, Vancouver, WA

참고 문헌

1. Siravegna G and Bardelli A. Genotyping cell-free tumor DNA in the blood to detect residual disease and drug resistance. *Genome Biol* 2014;15(8):449.
2. Diaz LA Jr and Bardelli A. Liquid biopsies: genotyping circulating tumor DNA. *J Clin Oncol* 2014;32(6):579-586.
3. Neoh KH, Hassan AA, Chen A, et al. Rethinking liquid biopsy: microfluidic assays for mobile tumor cells in human body fluids. *Biomaterials* 2018;150:112-124.
4. Wimberger P, Roth C, Pantel K, et al. Impact of platinum-based chemotherapy on circulating nucleic acid levels, protease activities in blood and disseminated tumor cells in bone marrow of ovarian cancer patients. *Int J Cancer* 2011;128(11):2572-2580.
5. Beaver JA, Jelovac D, Balukrishna S, et al. Detection of cancer DNA in plasma of patients with early-stage breast cancer. *Clin Cancer Res* 2014;20(10):2643-2650.
6. Knapp DW, Glickman NW, Denicola DB, et al. Naturally occurring canine transitional cell carcinoma of the urinary bladder; a relevant model of human invasive bladder cancer. *Urol Oncol* 2000;5(2):47-59.
7. Patrick D, Fitzgerald S, Sesterhenn A, et al. Classification of canine urinary bladder urothelial tumours based on the World Health Organization/International Society of Urological Pathology consensus classification. *J Comp Pathol* 2006;135:190-199.
8. Nolan MW, Kogan L, Griffin LR, et al. Intensity-modulated and image-guided radiation therapy for treatment of genitourinary carcinomas in dogs. *J Vet Intern Med* 2012;26(4):987-995.
9. Knapp D, McMillan S. Tumors of the urinary system. In: *Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology*. Withrow SJ (ed). St. Louis, Elsevier-Saunders 5th ed. 2013:572-582.
10. Zinkl J. Examination of the urinary sediment. In: *Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat*. Cowell R, Meinkoth J, Denicola D (eds). Maryland Heights, MO, Mosby 2007:350-368.
11. Higuchi T, Burcham GN, Childress MO, et al. Characterization and treatment of transitional cell carcinoma of the abdominal wall in dogs: 24 cases (1985-2010). *J Am Vet Med Assoc* 2013;242(4):499-506.
12. Mochizuki H, Kennedy K, Shapiro SG, et al. BRAF mutations in canine cancers. *PLoS One* 2015;10(6):e0129534.
13. Decker B, Parker HG, Dhawan D, et al. Homologous mutation to human BRAF V600E is common in naturally occurring canine bladder cancer - evidence for a relevant model system and urine-based diagnostic test. *Mol Cancer Res* 2015;13(6):993-1002.
14. Mochizuki H, Shapiro SG, Breen M. Detection of BRAF mutation in urine DNA as a molecular diagnostic for canine urothelial and prostatic carcinoma. *PLoS One* 2015;10(12):e0144170.
15. Joiner KS, Spangler EA. Evaluation of HistoGel-embedded specimens for use in veterinary diagnostic pathology. *J Vet Diagn Invest* 2012;24(4):710-715.
16. Wallace KA, Goldschmidt MH, Patel RT. Converting fluid-based cytologic specimens to histologic specimens for immunohistochemistry. *Vet Clin Pathol* 2015;44(2):303-309.
17. Zannoni DS, Grandi F, Cagnini DQ, et al. Agarose cell block technique as a complementary method in the diagnosis of fungal osteomyelitis in a dog. *Open Vet J* 2012;2(1):19-22.
18. Fernandes PJ, Modiano JF, Wojcieszyn J, et al. Use of the Cell-Dyn 3500 to predict leukemic cell lineage in peripheral blood of dogs and cats. *Vet Clin Pathol* 2002;31(4):167-182.
19. Taylor BE, Leibman NF, Luong R, et al. Detection of carcinoma micrometastases in bone marrow of dogs and cats using conventional and cell block cytology. *Vet Clin Pathol* 2013;42(1):85-91.
20. Marcos R, Santos M, Marrinhas C, et al. Cell tube block: a new technique to produce cell blocks from fluid cytology samples. *Vet Clin Pathol* 2017;46(1):195-201.
21. Burnett RC, Vernau W, Modiano JF, et al. Diagnosis of canine lymphoid neoplasia using clonal rearrangements of antigen receptor genes. *Vet Pathol* 2003;40(1):32-41.
22. Waugh EM, Gallagher A, Haining H, et al. Optimisation and validation of a PCR for antigen receptor rearrangement (PARR) assay to detect clonality in canine lymphoid malignancies. *Vet Immunol Immunopathol* 2016;182:115-124.
23. Thalheim L, Williams LE, Borst LB, et al. Lymphoma immunophenotype of dogs determined by immunohistochemistry, flow cytometry, and polymerase chain reaction for antigen receptor rearrangements. *J Vet Intern Med* 2013;27(6):1509-1516.
24. Pazdzior-Czapula K, Otrocka-Domagala I, Rotkiewicz T, et al. Cytomorphometry of canine cutaneous histiocytoma. *Pol J Vet Sci* 2014;17(3):413-420.
25. Dervisis NG, Kiupel M, Qin Q, et al. Clinical prognostic factors in canine histiocytic sarcoma. *Vet Comp Oncol* 2017;15(4):1171-1180.

결론

분자 기술의 새로운 발전으로 액체 생검이 수의학 분야에서도 가능해졌다. 더 많은 데이터가 모일 수록, 특히 특이도와 민감도가 높을 경우, 액체생검 분석법은 결국 기존의 조직생검 방식을 능가할 것으로 보이나, 아직까지는 다른 진단법을 보완하도록 고안되었다. 액체 생검은 또한 악성 세포 수준의 변화를 평가하는 모니터링 도구로 사용되어, 치료의 효능을 나타내는 지표일뿐만 아니라, 재발을 막는 확인 수단이기도 하다. 인체 의학과 마찬가지로, 수의학에서도 진단에 도움이 될 뿐만 아니라 치료법 선택에도 도움이 되는 새로운 분자 기반 검사가 곧 제공될 것으로 예상된다.

BREED PREDISPOSITIONS FOR UROLITHIASIS

요로결석은 하부요로기계 질환을 앓고 있는 고양이 및 개에서 비교적 흔한 문제이며, 요로결석의 다양한 유형별 유병률뿐 만 아니라 품종 소인 및 성별 소인에 대해 이해하면 최상의 임상적 결정 및 권장 사항을 계획하는데 도움이 될 수 있다.

이 짧은 보고서는 Canadian Veterinary Urolith Center (CVUC) 에 제출된 설문지의 주요 결과를 요약한 것으로, 이 자료는 1998년 2월 1일부터 2014년 11월 30일까지 캐나다의 개와 고양이에서 분석한 모든 방광 결석 환자의 품종 및 성별 정보를 수집하여 만들어졌다. 이 기간 동안 총 95,857건의 요로결석 증례가 제출되었으며, 그 중 개가 75,674건(78.9%), 고양이가 20,183건(21.1%)이었다. 요로결석 성분은 정량분석법으로 분석되었다.

요로결석의 다양한 유형별 유병률과 연구 기간 동안 밝혀진 요로결석

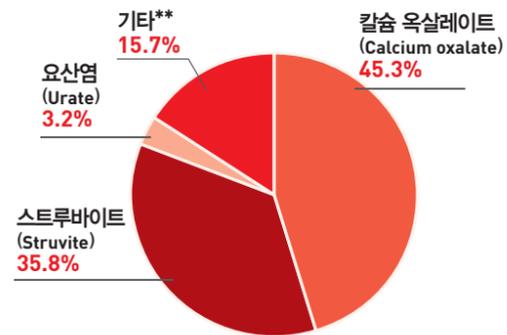
유형의 특정 경향성, 품종 소인 및 성별 소인 등의 주요 연구 결과들을 아래에서 확인할 수 있다(1,2).

개에서 나타나는 시스틴(cystine), 요산염(urate), 산틴(xanthine) 요로결석과 관련된 유전자 돌연변이(genetic mutations)는 여러 견종에서 확인되었으며, 아래에서 언급된 품종 소인을 뒷받침한다(3-5). 잠재적인 칼슘 옥살레이트(calcium oxalate) 감수성 유전자는 Miniature Schnauzers에서 확인되었으며, 유사한 유전적 요인이 다른 품종에서 칼슘 옥살레이트 요로결석의 품종 소인을 설명할 수 있다(6). 고양이에서 시스틴뇨증(cystinuria)을 일으키는 유전자 변이체가 최근에 밝혀졌고(7), 묘종에서 다른 유형의 요로결석에 걸리기 쉬운 유전적 결정인자(genetic determinants)가 (아직 밝혀지지 않았지만) 연구되고 있다. 이 분야에 대한 더 많은 연구가 필요한 실정이다.



연구 기간 동안 밝혀진 특정 경향성 :

- 칼슘 옥살레이트 (Calcium oxalate): ↑
- 스트루바이트 (Struvite): ↓
- 요산염 (Urate): ↓
- 시스틴 (Cystine): ↑
- 혼합 (Mixed): ↑
- 실리카 (Silica): ↓
- 탄산칼슘 인산염 (Calcium phosphate carbonate): ↓



1998년과 2014년 사이에 기록된 결석의 종류

연구를 통해 확인된 결석에 대한 성별 소인 :

- 수컷 : 칼슘 옥살레이트 (calcium oxalate), 요산염 (urate), 인산칼슘인회석 (calcium phosphate apatite), 시스틴(cystine), 실리카(silica)
- 암컷 : 스트루바이트(struvite), 탄산칼슘 인산염(calcium phosphate carbonate), 혼합

개 요로결석 환자의 65%가 다음 품종에 해당 :

- 믹스견
- Shih Tzu
- Miniature Schnauzer
- Bichon Frisé

시스틴(cystine) 요로결석 위험이 높은 견종 * :

- Scottish Deerhound 88%
- Newfoundland 56%
- Mastiff 52%
- Basenji 47%
- Whippet 44%
- French Bulldog 32%
- Great Dane 27%
- Pit Bull 26%
- Bulldog 24%
- Bull Mastiff 24%
- English Bulldog 21%
- Miniature Pinscher 6.3%
- Dachshund 4%
- Chihuahua 3.5%
- Mixed Breed 0.32%

Doreen M. Houston,
DVM, DVSc, Dipl. ACVIM (Internal Medicine),
Doreen Houston Consulting,
Guelph, Ontario, Canada

Dr. Houston은 1980년에 캐나다 Ontario 수의대를 졸업하고 임상, 학계, 사료산업 등 다양한 분야에서 일해왔다. 2011년 은퇴 이후로 강의를 계속하면서 자신의 컨설팅회사에서 내과학 자문을 맡고 있다.



Anne-Marie Germain,
BSc, DVM, Royal Canin Canada,
Guelph, Ontario, Canada

Dr. Germain은 1999년에 캐나다 Ontario 수의대를 졸업하고 개원 9년만인 2008년에 로얄캐닌에 입사했다. Technical Service Veterinarian의 역할을 맡고 있으면서, Canadian Veterinary Urolith Centre와 긴밀한 협조를 하고 있고, 개와 고양이의 하부요로기계 질환에 관심이 많다.

스트루바이트(struvite) 요로결석 위험이 높은 견종 * :

위험 품종으로 확인된 견종 중 오직 18%만이 소형견이었다.

- | | |
|--------------------------------|---------------------------------|
| • Saint Bernard 92% | • Cocker Spaniel 67% |
| • Labrador Retriever 81% | • German Shepherd 67% |
| • Golden Retriever 77% | • Bernese Mountain Dog... 64% |
| • Border Collie 64% | • Australian Shepherd 62% |
| • Rottweiler 72% | • Beagle 57% |
| • Chow Chow 69% | • Pekingese 54% |
| • Scottish Terrier 69% | • Pug 55% |
| • Corgi 68% | • Shih Tzu 46% |
| • Boxer 68% | • Mixed breed 42% |

요산염(urate) 요로 결석 위험이 높은 견종 * :

- | | |
|-----------------------------------|-----------------------------------|
| • Dalmatian 94% | • Pug 3.4% |
| • American Bulldog 72% | • Chihuahua 3.2% |
| • Black Russian Terrier 62% | • Jack Russell Terrier 3.2% |
| • Giant Schnauzer 43% | • Pekingese 3.1% |
| • English bulldog 37% | • Shih Tzu 2.5% |
| • Bulldog 37% | • Dachshund 2.2% |
| • Pit Bull 34% | • Miniature schnauzer 1.8% |
| • Yorkshire Terrier 6.0% | • Mixed Breed 1.2% |
| • Havanese 4.2% | |

칼슘 옥살레이트(Calcium oxalate) 요로결석 위험이 높은 견종 * :

위험 품종으로 확인된 견종 중 74%가 소형견이었다.

- Wire Fox Terrier 81%
- Fox Terrier 79%
- Miniature Pinscher 73%
- Pomeranian 72%
- Schnauzer 71%
- Maltese 71%
- Cairn Terrier 71%
- Chihuahua 68%
- Portuguese Water Dog 69%
- Papillon 69%
- Kerry Blue Terrier 69%
- Miniature Schnauzer 65%
- Doberman Pinscher 64%
- Lhasa Apso 62%
- Yorkshire Terrier 62%
- Jack Russell Terrier 60%
- Standard Poodle 59%
- Miniature Poodle 57%
- Boston Terrier 54%
- Keeshond 54%
- Havanese 50%
- Cavalier King Charles Spaniel 47%
- Bichon Frisé 43.4%
- Mixed Breed 41%



고양이 요로결석 환자의 87%가 다음 요종에 해당 :

- Domestic Shorthair (DSH)
- Domestic Mediumhair (DMH)
- Domestic Longhair (DLH)

연구를 통해 확인된 결석에 대한 성별 소인 :

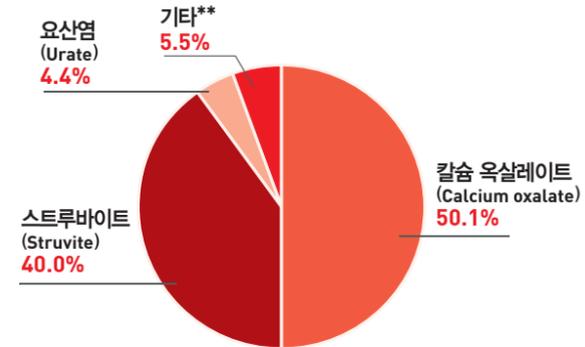
- 수컷 : 칼슘 옥살레이트(calcium oxalate), 요산염(urate), 인산칼슘인회석(calcium phosphate apatite), 고체화혈액결석(dried solidified blood calculi)
- 암컷 : 스트루바이트(struvite)

연구 기간 동안 밝혀진 특정 경향성 :

- 칼슘 옥살레이트(Calcium oxalate): stable
- 스트루바이트(Struvite) : ↓
- 요산염(Urate): ↑
- 혼합물(Compound & Mixed): ↑

칼슘 옥살레이트(calcium oxalate) 요로결석 위험이 높은 요종* :

- Tonkinese 83%
- Burmese 80%
- Himalayan 69%
- Devon Rex 69%
- Persian 68%
- Siamese 59%
- Compared to DSH 49%



요산염(urate) 요로 결석 위험이 높은 요종* :

- Egyptian Mau 80%
- Ocicat 44%
- Birman 29%
- Siamese 16%
- Compared to DSH 4.2%

스트루바이트 (struvite, magnesium ammonium phosphate hexahydrate) 요로결석 위험이 높은 요종* :

- Domestic Longhair 48%
- Compared to DSH 41%

* 이 품종에서 보고된 요로결석 중 해당 성분의 요로결석 %

** 기타: cystine, xanthine, silica, calcium phosphate, potassium magnesium pyrophosphate, dried solidified blood calculi, compound, mixed.

참고 문헌

- Houston DM, Vanstone NP, Moore AEP, et al. Evaluation of 21,426 feline bladder urolith submissions to the Canadian Veterinary Urolith Centre [1998-2014]. Can Vet J 2016;57:196-201. Open access: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4713001/>
- Houston DM, Weese HE, Vanstone NP, et al. Analysis of canine urolith submissions to the Canadian Veterinary Urolith Centre, 1998-2014. Can Vet J 2017;58:45-50. Open access: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5157737/>
- Furrow E, Tate N, Minor K, et al. Three diverse mutations underlying canine xanthine urolithiasis. J Vet Intern Med 2016;30(4):1537.
- Brons A-K, Henthorn PS, Raj K, et al. SLC3A1 and SLC7A9 mutations in autosomal recessive or dominant canine cystinuria: A new classification system. J Vet Intern Med 2013;27(6):1400-1408.
- Bannasch D, Safra N, Young A, et al. Mutations in the SLC2A9 gene cause hyperuricosuria and hyperuricemia in the dog. PLoS Genet 2008;4(11):e1000246.
- Furrow E, Lulich JP, Mickelson JP, et al. Metabolic and genetic determinants of calcium oxalate urolithiasis in dogs. J Vet Intern Med 2014;28(4):1365.
- Mizukami K, Raj k, Osborne C, et al. Cystinuria associated with different SLC7A9 gene variants in the cat. PLoS One 2016;11(7):e0159247.



TAKE A COMPLETE NUTRITIONAL APPROACH TO ALLERGIC DERMATITIS

Only the ROYAL CANIN® Dermatological range offers the choice of extensively-hydrolysed and partially-hydrolysed protein-based diets for cats and dogs, allowing you to choose the level of hypoallergenicity. From diagnosis to long-term management, now there is a diet for every stage of your clinical approach.

Our ANALLERGENIC product is your first choice for elimination diet trials for Adverse Food Reaction (AFR) or diagnosing Atopy by exclusion.



INCREDIBLE IN EVERY DETAIL

A 97% LIKELIHOOD OF WEIGHT LOSS^{1,2*}

STARTS WITH A CONVERSATION ABOUT BEGGING BEHAVIOUR

Resisting a begging pet is difficult and may lead to overfeeding.^{3,4}
Find common ground with pet owners with a new conversation
around begging behaviour, and improve adherence to your weight
loss recommendations.

SATIETY from the ROYAL CANIN brand helped control** begging
during weightloss in 82% of pets by improving the feelings of
fullness and satisfaction - 97% of pets lost weight in 3 months.^{1,2}



INCREDIBLE IN EVERY DETAIL™

*On completion of a 3 month weight loss programme.

**Decreased or stabilised begging behaviour (frequency).

References: 1. Flanagan J et al. *Success of a weight loss plan for overweight dogs: the results of an international weight loss study.* PLoS One 2017;12(9):e0184199. 2. Hours MA et al. *Factors affecting weight loss in client owned cats and dogs: data from an international weight loss study.* Proc of 16th Annual AAVN Clinical Nutrition and Research Symposium; Denver (USA); June 8, 2016. 3. Murphy M. *Obesity treatment. Environment and behaviour modification.* Vet Clin North Am Small Anim Pract. 2016;46:883-898. 4. Kienzle et al. *Human-animal relationship of owners of normal and overweight cats.* J Nutr 2006;136:1947S-1950S.
© ROYAL CANIN® SAS 2018. All rights reserved.