

ACUTE TOXICITY OF HANTABAX (HFRS-VACCINE) IN RATS AND MICE

Chang-Kiu Moon, Kwang-Sik Park, Gui-Seo Hwang, Myung-Soo Mock, Seong-Gon Kim,
Myung-Kiu Jung, Hyun-Soon Won and Ji-Young Kim

College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

(Received November 28, 1989)

(Accepted December 12, 1989)

ABSTRACT: Single dose of Hantabax, HFRS-vaccine, was given to both sexes of Sprague-Dawley rats and ICR mice, subcutaneously and intraperitoneally. Any toxic symptom was not noted in the treated animals. Macroscopic examination on the organs of tested animals showed no abnormal findings. In general toxicological aspects Hantabax was practically nontoxic in rats and mice upto a single dose of 1000 times of human clinical dose equivalent via subcutaneous and intraperitoneal administration.

Key words: Hantabax, HFRS-vaccine, Acute toxicity.

서 론

한타 박스는 Hantan virus 에 의한 신증후 출혈열(유행성 출혈열)을 예방하기 위해 개발된 백신 제제로서(이, 1979, 1982a, 1982b) 본보에서는 이 백신에 대한 안정성 평가의 일환으로서 랫트 및 마우스에서의 급성 독성실험을 실시하여 얻은 결과를 발표하고자 한다.

재료 및 방법

본 실험은 의약품 등의 독성시험기준(국립보건안전연구원, 1988)에 준하여 실시하였으며, Standard Operating Procedure in Toxicology(Paget 등, 1979)를 참조하였다.

시험물질

시험에 사용한 한타 박스는 Hantan virus 에 의한 출혈열을 예방하기 위해 개발된 vaccine제이다. 한타 박스는 백색 액체인 무균 제품으로서 각 투여군의 용량에 맞게 조제하여 녹십자(주)로부터 제공받았다. 대조약품으로써 saline 을 투여하였다.

실험동물 및 사육환경

약 6주령의 Sprague-Dawley 랫트 및 ICR 마우스의 자웅을 서울대학교 실험동물 사육장에서

구입하여 2주간 예비 사육한 후 시험에 사용하였다. 이들 동물은 인수시에 일반증상에 이상이 없었다. 동물은 실온 $23\pm 2^{\circ}\text{C}$, 상대습도 $55\pm 10\%$ 의 사육실에서 깔집을 넣은 plastic cage ($W25\times D42\times H18\text{ cm}$)에 랫트 6마리, 마우스 6마리씩 수용하고 고형사료(삼양사료) 및 수도물을 각각 자유롭게 섭취시켜 사육하였다. 시험에 사용한 동물은 예비사육 기간 중, 일반증상의 이상이 인정되지 않았으며 체중 증가량이 정상이고, 또한 군별시의 체중이 전 동물의 평균치에 가까운 체중의 랫트 및 마우스를 선택하였으며, 무작위로 군별하였다.

투여방법

1) 경 로

투여경로는 랫트 및 마우스에 피하 및 복강내 투여하였다.

2) 투여량 및 실정 이유

랫트 및 마우스 공히 사람에 대한 추정 임상용량인 ELISA titer 1024배인 것(이 때 성인 기준 체중을 60 kg으로 하였다.) 0.5 ml에 상응하는 용량을 산정하고 이의 용량을 점증하며 투여가능 최고 용량까지 투여하였으나 사망이 없어, 별도로 사람 기준량에 상응하는 용량의 1000배까지 농축 조절 제조하여 투여하였다.

3) 투여조건 및 투여기간

투여 액량은 마우스에서는 0.1-0.2 ml, 랫트에서는 0.3-0.5 ml 범위내에서 실시하였으며 각각 1회 피하 및 복강내에 투여하였다. 대조군은 생리식염수를 각각 시험물질의 투여량에 상당하는 액량으로하여 투여하였다.

관 찰

1) 일반증상

투여당일은 시험물질 및 대조물질 투여직후로부터 6시간은 계속 관찰하고 투여 익일로부터 7일간은 적절한 시간에 운동성, 외관 및 자율신경증상 등의 임상증상을 관찰하였다.

2) 체중측정

시험물질과 대조물질 투여일 및 투여일로부터 매 2일째마다 측정하였다.

3) 부 겁

투여일로부터 14일째 부검하여 주요장기의 육안적 이상여부를 관찰하였다.

자료의 통계학적 처리

실험계 각 군에 대한 측정치는 생물학적 통계처리 프로그램을 이용한 one way ANOVA를 실시하고 F ratio 값을 $p < 0.05$ 수준에서 검정하였다. 각 군의 유의성있는 차이가 검출된 검사항목은 다시 Tukey's HSD-test를 실시하여 어느 구간에 유의성있는 차이가 도출되는지 $p < 0.05$ 수준에서 검정하였다.

결과 및 고찰

랫트의 피하 투여

Table 1. Body weight changes of male SD rats subcutaneously injected with Hantabax

| | Control* | 100×* | 200×* | 500×* | 750×* | 1000×* |
|-------|-----------|------------|------------|------------|-----------|-----------|
| day 0 | 168.8±7.1 | 179.0± 5.1 | 180.0± 7.8 | 182.2± 8.9 | 183.3±4.4 | 185.8±5.8 |
| day 2 | 178.7±6.5 | 180.5± 6.1 | 188.8± 6.5 | 188.5± 7.4 | 190.3±3.8 | 200.2±6.9 |
| day 4 | 186.3±4.7 | 203.5±14.9 | 186.0±35.5 | 220.2±36.6 | 207.5±7.1 | 210.0±6.2 |
| day 6 | 202.2±9.0 | 213.5±13.1 | 216.0±10.2 | 215.5± 9.6 | 214.0±3.2 | 217.2±7.4 |
| gain | 33.3±5.3 | 34.5±10.6 | 36.0± 4.7 | 32.8± 2.9 | 30.7±5.9 | 31.3±9.2 |

*Each group consisted of 6 rats.

Body weight changes are expressed in g unit.

Table 2. Body weight changes of female SD rats, subcutaneously injected with Hantabax

| | Control* | 100×* | 200×* | 500×* | 750×* | 1000×* |
|-------|-----------|-----------|------------|-----------|-----------|-----------|
| day 0 | 141.0±3.0 | 140.2±5.5 | 145.8± 8.4 | 148.8±5.3 | 143.7±5.2 | 145.8±6.7 |
| day 2 | 150.7±2.3 | 148.2±5.3 | 156.3±10.1 | 154.0±6.2 | 152.0±6.3 | 155.8±5.1 |
| day 4 | 156.0±5.1 | 156.8±4.5 | 162.8±10.9 | 157.0±6.2 | 156.7±6.7 | 162.5±3.9 |
| day 6 | 165.5±5.0 | 164.2±3.1 | 165.2± 8.8 | 166.3±4.6 | 163.0±6.7 | 165.8±3.6 |
| gain | 24.5±3.2 | 24.9±3.9 | 19.3± 5.2 | 18.0±3.9 | 19.3±2.7 | 20.0±4.5 |

*Each group consisted of 6 rats.

Body weight changes are expressed in g unit.

Table 3. Body weight changes of male SD rats intraperitoneally injected with Hantabax.

| | Control* | 100×* | 200×* | 500×* | 750×* | 1000×* |
|--------|------------|------------|------------|------------|-----------|-----------|
| day 0 | 183.2±10.5 | 183.3± 7.5 | 180.5± 7.5 | 184.8± 8.7 | 186.3±5.3 | 186.2±5.3 |
| days 2 | 204.8±15.7 | 183.7±10.7 | 187.2± 5.9 | 185.8± 9.7 | 192.2±4.9 | 196.8±8.3 |
| day 4 | 214.0±13.9 | 206.3±13.6 | 203.3± 9.0 | 202.5±13.4 | 208.7±5.6 | 210.1±9.5 |
| day 6 | 219.0±14.7 | 217.5±13.0 | 218.3±10.3 | 218.7±10.0 | 216.7±5.3 | 218.3±8.1 |
| gain | 35.8± 5.1 | 34.2±10.5 | 37.8± 7.4 | 33.8± 2.3 | 30.3±6.6 | 32.2±6.6 |

*Each group consisted of 6 rats.

Body weight changes are expressed in g unit.

Table 4. Body weight changes of female SD rats intraperitoneally injected with Hantabax

| | Control* | 100×* | 200×* | 500×* | 750×* | 1000×* |
|-------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| day 0 | 140.0±4.3 | 140.5±4.8 | 144.7±6.9 | 142.5±8.8 | 140.5±3.6 | 142.2±4.9 |
| day 2 | 151.3±6.3 | 149.7±4.9 | 152.5±7.4 | 153.0±7.9 | 149.2±4.2 | 156.7±6.0 |
| day 4 | 152.7±5.9 | 150.5±3.9 | 153.7±7.1 | 155.0±7.4 | 151.2±3.8 | 158.3±6.2 |
| day 6 | 160.5±5.7 | 157.5±4.5 | 161.0±6.3 | 159.5±8.9 | 158.7±4.8 | 160.8±5.8 |
| gain | 20.5±2.0 | 17.0±0.6 | 16.3±2.1 | 17.0±3.3 | 18.2±3.3 | 18.6±2.1 |

*Each group consisted of 6 rats.

Body weight changes are expressed in g unit.

추정 임상용량의 1000배에 해당하는 용량을 투여했을 때도 치사하는 동물이 없었으며, 체중, 일반증상, 부검 소견 등에 있어서도 시험군과 대조군 사이에 유의할만한 차이가 인정되지 않았다(Table 1 및 2). 따라서 한타박스의 피하투여에 의한 랫트에서의 LD₅₀은 추정 임상용량인 ELISA titer 1024배인 것 0.5 ml의 상용 용량의 1000배까지의 용량에서는 일반급성 독성학적 개념으로는 거의 무독하여 그 측정이 불가능하였다.

Table 5. Body weight changes of male ICR mice subcutaneously injected with Hantabax.

| | Control* | 100×* | 200×* | 500×* | 750×* | 1000×* |
|-------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| day 0 | 23.8±1.6 | 27.3±0.9 | 24.3±1.7 | 27.0±0.2 | 23.8±1.5 | 24.0±1.7 |
| day 2 | 25.3±1.5 | 28.5±1.1 | 26.0±1.7 | 27.3±3.5 | 26.2±1.9 | 25.5±1.4 |
| day 4 | 26.2±1.9 | 30.3±1.5 | 26.5±1.5 | 30.3±2.1 | 26.7±0.2 | 26.3±1.5 |
| day 6 | 27.3±1.3 | 30.8±0.7 | 30.8±0.7 | 30.8±2.4 | 27.2±2.3 | 27.2±1.5 |
| gain | 3.5±0.8 | 3.5±0.5 | 6.5±1.5 | 3.8±0.9 | 3.3±.2 | 3.2±1.3 |

*Each group consisted of 6 mice

Body weight changes are expressed in g unit.

Table 6. Body weight changes of female ICR mice subcutaneously injected with Hantabax.

| | Control* | 100×* | 200×* | 500×* | 750×* | 1000×* |
|-------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| day 0 | 20.8±1.1 | 20.0±0.8 | 19.8±1.6 | 21.2±1.8 | 22.3±2.8 | 20.8±1.7 |
| day 2 | 22.2±1.1 | 21.5±1.3 | 21.7±1.7 | 22.8±1.7 | 22.0±1.7 | 22.5±1.4 |
| day 4 | 23.2±1.7 | 22.2±1.1 | 22.7±1.1 | 23.8±0.9 | 23.7±1.5 | 24.2±1.8 |
| day 6 | 24.0±1.3 | 23.2±0.7 | 23.0±1.2 | 24.7±0.7 | 25.0±1.9 | 24.0±1.2 |
| gain | 3.2±1.2 | 3.2±0.9 | 3.2±1.3 | 3.5±1.3 | 2.7±3.8 | 3.2±1.1 |

*Each group consisted of 6 mice.

Body weight change are expressed in g unit.

Table 7. Body weight changes of mice ICR intraperitoneally injected with Hantabax.

| | Control* | 100×* | 200×* | 500×* | 750×* | 1000×* |
|-------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| day 0 | 25.0±1.3 | 28.0±1.9 | 24.2±2.1 | 26.8±2.8 | 26.0±2.2 | 26.2±1.6 |
| day 2 | 27.7±1.8 | 30.5±2.0 | 27.2±2.5 | 29.3±2.6 | 28.2±2.4 | 28.7±1.5 |
| day 4 | 28.3±1.5 | 31.0±1.6 | 28.3±2.3 | 30.5±2.1 | 29.2±2.2 | 29.8±1.1 |
| day 6 | 28.8±1.3 | 31.0±1.3 | 28.3±2.4 | 30.5±1.7 | 29.7±2.1 | 29.7±0.7 |
| gain | 3.8±1.3 | 3.0±1.0 | 4.2±0.7 | 3.7±1.8 | 3.7±0.9 | 3.5±1.3 |

*Each group consisted of 6 mice.

Body weight changes are expressed in g unit.

랫트의 복강내 투여

피하투여의 경우와 마찬가지로 임상용량의 1000배에 해당하는 용량을 투여했을 때도 치사하는 동물이 없었으며 체중, 일반증상, 부검 소견 등에 있어서도 시험군과 대조군 사이에 유의할만한 차이가 인정되지 않았다(Table 3 및 4). 따라서 한타박스의 복강내 투여에 의한 랫트에서의 LD₅₀은 추정 임상용량인 ELISA titer 1024배인 것 0.5 ml의 상용 용량의 1000배까지의 용량에서는 일반급성 독성학적 개념으로는 거의 부득하여 그 측정이 불가능하였다.

마우스의 피하투여

임상용량의 1000배에 해당하는 용량을 투여했을 때도 치사하는 동물이 없었으며 체중, 일반증상, 부검 소견 등에 있어서도 시험군과 대조군 사이에 유의할만한 차이가 인정되지 않았다(Table 5 및 6). 따라서 한타박스의 피하투여에 의한 마우스에서의 LD₅₀은 추정 임상용량인

Table 8. Body weight changes of female ICR mice intraperitoneally injected with Hantabax

| | Control* | 100 × * | 200 × * | 500 × * | 750 × * | 1000 × * |
|-------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| day 0 | 18.7 ± 4.3 | 20.5 ± 2.0 | 19.2 ± 2.0 | 20.8 ± 1.9 | 18.2 ± 2.3 | 20.0 ± 1.9 |
| day 2 | 19.3 ± 4.5 | 21.8 ± 2.7 | 20.5 ± 2.1 | 22.5 ± 2.1 | 21.5 ± 2.6 | 22.2 ± 1.8 |
| day 4 | 21.2 ± 4.1 | 22.5 ± 3.0 | 21.2 ± 2.0 | 23.3 ± 2.2 | 22.5 ± 2.6 | 23.0 ± 1.5 |
| day 6 | 22.3 ± 4.1 | 23.0 ± 2.4 | 21.5 ± 1.7 | 23.8 ± 2.0 | 23.0 ± 2.2 | 23.3 ± 1.6 |
| gain | 3.7 ± 2.4 | 2.5 ± 1.7 | 2.3 ± 1.5 | 3.0 ± 1.8 | 4.8 ± 1.2 | 3.3 ± 0.7 |

*Each group consisted of 6 mice.

Body weight changes are expressed in g unit.

ELISA titer 1024배인 것 0.5 ml 의 상용 용량의 1000배까지의 용량에서는 일반급성 독성학적 개념으로는 거의 무독하여 그 측정이 불가능하였다.

마우스의 복강내 투여

피하투여의 경우와 마찬가지로 임상용량의 1000배에 해당하는 용량을 투여했을 때도 치사하는 동물이 없었으며 체중, 일반증상, 부검 소견 등에 있어서도 시험군과 대조군 사이에 유의할만한 차이가 인정되지 않았다(Table 7 및 8). 따라서 한타박스의 복강내 투여에 의한 마우스에서의 LD₅₀은 추정 임상용량인 ELISA titer 1024배인 것 0.5 ml 의 상용 용량의 1000배까지의 용량에서는 일반급성 독성학적 개념으로는 거의 무독하여 그 측정이 불가능하였다.

참고문헌

- 이호왕(1979) ; 한국인 혈청 중의 한국형 출혈열 virus 에 대한 항체분석, 고려대학 의과대학 논문집, **16**(3), 471-475.
- 이호왕(1982a) ; 유행성 출혈열에 관한 임상적 연구. 감염증학, **56**(6), 466-475.
- H. K. Lee et al.(1982b) ; Isolation of Hantan Virus, *J. Infec. Disease*, **146**(5), 638-644.
- 국립보건원 예규 제 10호(1988) ; 의약품 등의 독성시험기준.
- G.E. Paget and R. Thompson(1979) ; Standard Operating Procedure in Toxicology. (MTP press Ltd., Lancaster, England).