

Sci-B-Vac의 급성독성에 관한 연구

이영순 · 강경선 · 조재진 · 서광원 · 남기환

서울대학교 수의과대학 공중보건학교실

ACUTE TOXICITY OF SCI-B-VAC IN RATS AND MICE

Yong-Soon Lee, Kyung-Sun Kang, Jae-Jin Cho,
Kwang-Won Seo and Ki-Hoan Nam

College of Veterinary Medicine, Seoul National University, Suwon 441-744, Korea

(Received August 12, 1993)

(Accepted August 24, 1993)

ABSTRACT: *Sci-B-Vac, the 3rd hepatitis B vaccine, was selected for clinical evaluation on the basis of toxicologic profiles in preclinical studies. These studies were performed to obtain information on its toxic signs, organs which are mainly affected, and to estimate its lethality in mice and rats given Sci-B-Vac through two routes of administration. In male and female rats given a single intragastrical dose of Sci-B-Vac, we estimated that LD₅₀ values were over 2.00 ml/100 g B.W. (10 µg/ml), respectively. In male and female mice given a single intragastrical dose of Sci-B-Vac, we estimated that LD₅₀ values were over 1 ml/10 g (10 µg/ml). In a single subcutaneous dose of Sci-B-Vac, we determined that LD₅₀ values of male and female rats were over 1 ml/100 g (10 µg/ml), and those of male and female mice were 0.2 ml/10 g (10 µg/ml).*

Sci-B-Vac did not induce any toxicological effect such as mortality, clinical and autopsy findings, and body weight changes in rats and mice.

Key Words: *Sci-B-Vac, Hepatitis B Vaccine, LD₅₀. Rat, Mice*

서 론

인류가 의학의 발전을 거듭하면서 불치의 병으로 알려져 있던 많은 질병들을 정복해 나가고 있다. 그러나 아직도 정복하지 못하고 있는 질병들이 많이 있으며 이러한 질병들의 예방과 치료를 위한 방법들이 나날이 개발되어 도입되고 있다. 그러나 아직도 우리나라를 비롯한 아

시아지역을 중심으로 전세계적인 사망의 원인이 되고 있는 것으로 간의 질병이 있다(Gibbons, 1992; Harold, 1993).

간의 질병은 원인에 따라서 환경적인 요인에 의한 것이나 화학적, 세균 또는 바이러스에 의한 것이다. 그 중에서 특히 간염바이러스에 의한 급성 또는 만성 간염이 간 질병들 중에서 주요한 질병이 되고 있다. 간염 바이러스는 그 혈청학적 분류에 따라 A, B, C, δ 그리고 E형으로 나누어지며 주로 간에서 증식하는 것으로 알려져 있다(Wimmer와 Murdin, 1991; Bonino 등, 1986; Bradley 등, 1992). A형과 E형 바이러스는 주로 분변을 매개체로 전파되고, B, C 그리고 δ 형 바이러스는 혈액과 체액을 주 매개체로 하여 전파된다. 이러한 바이러스의 이환은 급성바이러스 환자들로부터 일어나며(Halliday 등 1991; Melnick, 1957), 혈액과 함께 바이러스가 순환하다가 이환되어 결국은 만성 간염이나 간세포 암종으로 사망하게 된다. 이러한 병적 상태는 초기 감염 후 수년이 지날때까지 나타나지 않으며 사회적 활동이 왕성할 때에 주로 발병하게 된다(Gibbone, 1992).

이러한 간염 바이러스에 의한 질병의 감염과 전파를 방지하는데 효과가 있으며 또한 경제적으로도 가치있는 것으로 면역시키는 것이 추천되고 있다. 간염 바이러스 백신은 80년대 초에 최초로 사용된 이래 큰 효과가 있는 것으로 알려져 있고 감염이 성인 뿐만아니라 유아때부터 일어나기 때문에 유아들도 면역시켜야 전체적인 감염율을 줄일 수 있다. 따라서 세계 보건기구(W.H.O)에서도 간염예방을 위해 면역방법을 추천하고 있다(Henderson, 1984; National Vaccine Advisory Committee, 1991). 우리나라에서도 바이러스 간염, 특히 B형 바이러스에 의한 감염율이 상당히 높아 문제가 되고 있으며, 이미 몇몇 국내 회사에서 B형 바이러스성 간염 백신을 개발하여 시판되고 있고 또한 큰 효과를 얻고 있다. 이에, 이번에 새로이 독십자에서 개발된 제 3세대 B형 간염 바이러스 백신을 임상 시험에 앞서 비임상시험으로써 국립보건안전연구원 예규 제 10호에 따라 급성 피하 및 경구독성시험을 수행하였다.

재료 및 방법

실험동물

실험동물은 암수 각각 5주령의 Sprague-Dawley(SD) 랫드 60마리와 ICR 마우스 60마리를 서울대학교 실험동물 사육장으로부터 분양받아 동물입수 후 약 1주일간 동물실 환경에 순화시켰으며, 순화기간중 일반상태를 관찰하여 건강한 동물만을 실험에 사용하였다.

사육환경

본 시험은 온도 $20 \pm 2^\circ\text{C}$, 상대습도 $50 \pm 5\%$, 환기 호수 10~12회/hr, 조명시간 12시간(07:00~19:00), 조도 150~300 Lux로 설정된 서울대학교 수의과대학 소동물실험실(1동 본관 1호실)에서 실시되었다. 순화기간 및 시험동물기간중에 랫드와 마우스는 polycarbonate 상자에 5마리/사육상자로 사육하였다.

사료는 실험동물용 고품사료(삼양사료)와 수도물을 자유섭취시켰다.

시험동물

(주) 독십자에서 개발한 제 3세대 간염백신(Sci-B-Vac)을 공급받아 실험에 사용하였다. 경구투여는 sonde를 이용하여 시험물질을 체중용량별로 위내로 1회 투여하였으며, 피하투여는 25~26 G의 주사바늘을 가진 주사기로 등배부의 피하에 1회 투여하였다.

투여량 및 시험군의 구성

랫드와 마우스에서 경구로 투여할 수 있는 최고용량으로 랫드는 2 ml(10 $\mu\text{g}/\text{ml}/100 \text{ g B.W.}$)

동물은 관찰되지 않았다.

임상증상

시험 전기간을 통하여 경구 및 피하투여시 랫드와 마우스의 암수 모두에서 본 시험물질에

Table 5. Body-weights of male and female ICR mice intragastrically treated with Sci-B-Vac (Mean \pm SD: g).

| Sex | Days after treatment | Dose ($\times 10 \mu\text{g}/10 \text{ g B.W.}$) | | | | | |
|--------|----------------------|--|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | | 0 | 1 | 1/2 | 1/4 | 1/8 | 1/16 |
| Male | 0 | 20.23 \pm 3.02 (5) | 21.12 \pm 0.31 (5) | 21.12 \pm 2.10 (5) | 19.99 \pm 1.23 (5) | 20.12 \pm 1.43 (5) | 20.41 \pm 2.51 (5) |
| | 7 | 24.42 \pm 1.22 (5) | 24.76 \pm 3.32 (5) | 22.12 \pm 4.56 (5) | 23.97 \pm 4.56 (5) | 24.87 \pm 1.32 (5) | 24.23 \pm 1.20 (5) |
| | 14 | 30.01 \pm 3.14 (5) | 29.23 \pm 4.51 (5) | 30.00 \pm 2.42 (5) | 28.19 \pm 5.55 (5) | 31.31 \pm 2.84 (5) | 29.43 \pm 6.65 (5) |
| Female | 0 | 17.34 \pm 3.14 (5) | 17.55 \pm 2.23 (5) | 16.98 \pm 3.45 (5) | 17.34 \pm 2.54 (5) | 17.22 \pm 1.05 (5) | 17.22 \pm 3.45 (5) |
| | 7 | 20.54 \pm 1.93 (5) | 19.64 \pm 2.44 (5) | 21.32 \pm 0.68 (5) | 20.12 \pm 2.86 (5) | 20.11 \pm 0.58 (5) | 20.33 \pm 3.02 (5) |
| | 14 | 23.65 \pm 3.67 (5) | 24.16 \pm 4.56 (5) | 24.11 \pm 3.33 (5) | 23.17 \pm 6.56 (5) | 22.99 \pm 4.56 (5) | 23.89 \pm 4.56 (5) |

(5): No. of animals examined

Table 6. Body weights of male and female ICR mice subcutaneously treated with Sci-B-Vac (Mean \pm SD: g).

| Sex | Days after treatment | Dose ($\times 2 \mu\text{g}/10 \text{ g B.W.}$) | | | | | |
|--------|----------------------|---|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | | 0 | 1 | 1/2 | 1/4 | 1/8 | 1/16 |
| Male | 0 | 21.26 \pm 2.03 (5) | 21.34 \pm 3.13 (5) | 22.15 \pm 1.11 (5) | 19.99 \pm 3.21 (5) | 20.12 \pm 3.42 (5) | 20.41 \pm 5.52 (5) |
| | 7 | 23.12 \pm 2.45 (5) | 23.33 \pm 3.68 (5) | 23.59 \pm 2.65 (5) | 24.37 \pm 4.58 (5) | 23.27 \pm 3.22 (5) | 23.44 \pm 1.56 (5) |
| Female | 0 | 17.48 \pm 2.35 (5) | 18.12 \pm 2.23 (5) | 17.78 \pm 1.54 (5) | 18.11 \pm 1.78 (5) | 17.56 \pm 2.54 (5) | 17.26 \pm 2.57 (5) |
| | 7 | 21.3 \pm 0.93 (5) | 20.15 \pm 3.35 (5) | 20.35 \pm 2.78 (5) | 20.21 \pm 4.11 (5) | 21.33 \pm 1.15 (5) | 21.04 \pm 2.52 (5) |

(5): No. of animals examined

Table 7. Body weights of male and female SD rats intragastrically treated with Sci-B-Vac (Mean \pm SD: g).

| Sex | Days after treatment | Dose ($\times 20 \mu\text{g}/100 \text{ g B.W.}$) | | | | | |
|-----|----------------------|---|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| | | 0 | 1 | 1/2 | 1/4 | 1/8 | 1/16 |
| | 0 | 150.15 \pm 22.23 (5) | 149.96 \pm 15.34 (5) | 151.32 \pm 11.21 (5) | 150.34 \pm 20.16 (5) | 150.24 \pm 17.78 (5) | 150.78 \pm 19.18 (5) |

Table 7. Continued.

| Sex | Days after treatment | Dose ($\times 20 \mu\text{g}/100 \text{ g B.W.}$) | | | | | |
|--------|----------------------|---|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | | 0 | 1 | 1/2 | 1/4 | 1/8 | 1/16 |
| Male | 7 | 192.40 | 195.33 | 193.52 | 194.34 | 195.14 | 194.93 |
| | | ± 19.25 | ± 21.32 | ± 18.15 | ± 19.15 | ± 20.67 | ± 19.13 |
| | | (5) | (5) | (5) | (5) | (5) | (5) |
| | 14 | 209.11 | 201.23 | 209.34 | 215.67 | 210.64 | 211 |
| | | ± 24.35 | ± 30.55 | ± 17.34 | ± 18.33 | ± 32.58 | ± 40.23 |
| | | (5) | (5) | (5) | (5) | (5) | (5) |
| Female | 0 | 132.53 | 133.51 | 134.54 | 134.43 | 135.25 | 135.11 |
| | | ± 33.16 | ± 14.51 | ± 17.32 | ± 18.12 | ± 22.65 | ± 11.34 |
| | | (5) | (5) | (5) | (5) | (5) | (5) |
| | 7 | 161.33 | 163.66 | 159.16 | 160.24 | 162.24 | 161.22 |
| | | ± 31.29 | ± 20.25 | ± 14.23 | ± 14.22 | ± 15.22 | ± 15.33 |
| | | (5) | (5) | (5) | (5) | (5) | (5) |
| 14 | 180.05 | 178.43 | 182.67 | 184.23 | 181.24 | 180.56 | |
| | ± 11.23 | ± 22.56 | ± 23.65 | ± 10.07 | ± 15.08 | ± 11.19 | |
| | (5) | (5) | (5) | (5) | (5) | (5) | |

Table 8. Body weights of male and female SD rats subcutaneously treated with Sci-B-Vac (Mean \pm SD: g).

| Sex | Days after treatment | Dose ($\times 10 \mu\text{g}/100 \text{ g}$) | | | | | |
|--------|----------------------|--|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | | 0 | 1 | 1/2 | 1/4 | 1/8 | 1/16 |
| Male | 0 | 151.33 | 150.55 | 150.24 | 151.35 | 149.13 | 151.38 |
| | | ± 13.34 | ± 20.14 | ± 18.22 | ± 19.26 | ± 16.26 | ± 20.01 |
| | | (5) | (5) | (5) | (5) | (5) | (5) |
| | 7 | 195.21 | 194.32 | 197.12 | 195.33 | 194.21 | 195.68 |
| | | ± 13.20 | ± 16.22 | ± 17.34 | ± 18.24 | ± 19.45 | ± 20.32 |
| | | (5) | (5) | (5) | (5) | (5) | (5) |
| Female | 0 | 130.05 | 131.23 | 130.44 | 132.13 | 135.25 | 134.12 |
| | | ± 21.33 | ± 18.32 | ± 16.47 | ± 22.11 | ± 21.35 | ± 18.31 |
| | | (5) | (5) | (5) | (5) | (5) | (5) |
| | 7 | 162.35 | 161.67 | 164.26 | 162.56 | 163.45 | 163.21 |
| | | ± 25.09 | ± 22.35 | ± 19.21 | ± 20.21 | ± 22.12 | ± 11.03 |
| | | (5) | (5) | (5) | (5) | (5) | (5) |

(5): No. of animals examined

의한다고 생각되는 어떠한 임상증상도 관찰되지 않았다.

체중변화

랫드와 마우스의 암수 각각 5개 용량으로 경구 및 피하 투여한 군에서 대조군에 비하여 유의성 있는 차이를 나타내지 않았다. 또한, 투여용량군 사이의 체중변화는 용량의존성을 나타내지 않았다.

해부병리 소견

랫드와 마우스 모두에서 본 시험물질의 투여에 기인한다고 사료되는 어떠한 유의할 만한 병변을 관찰하지 못하였다.

이상과 같은 결과를 종합하여 볼 때 시험물질인 Sci-B-Vac는 경구 및 피하 투여시 마우스와 랫드에서 아무런 급성독성을 나타내지 않고, LD₅₀값은 경구 투여시 최고용량인 마우스에서 10 µg/10 g B.W., 랫드에서 20 µg/100 g B.W. 이상일 것으로 사료되며, 피하투여시는 마우스에서 2 µg/10 g B.W., 랫드에서 10 µg/100 g B.W. 이상일 것으로 사료되었다.

결 론

Sci-B-Vac의 마우스(ICR)와 랫드(S.D.)에서 경구 투여시 급성 독성을 조사하기 위하여 본 시험물질을 암수 각각 투여할 수 있는 최고 용량인 랫드에서 2 ml/20 µg/100 g B.W., 마우스에서 1 ml/10 µg/10 g B.W.의 용량까지 sonde를 이용하여 위내에 1회 투여하여 14일간 관찰하였다. 또한 피하투여시는 랫드는 1 ml/10 µg/100 g B.W.와 마우스는 0.2 ml/2 µg/10 g B.W.를 최고용량으로 투여하여 7일간 관찰하였다. 모든 투여용량군의 일반적인 임상증상에서 아무런 이상을 발견할 수 없었으며, 체중변화나 전 생존 동물의 부검에서도 아무런 이상을 발견할 수 없었다.

그러므로 Sci-B-Vac은 경구투여시 랫드와 마우스에서 투여할 수 있는 최고 용량인 2 ml/20 µg/100 g B.W.과 1 ml/10 µg/10 g B.W.까지의 투여로도 아무런 독성이 관찰되지 않았으며, 피하투여시에도 랫드는 1 ml/10 µg/100 g B.W.와 마우스는 0.2 ml/2 µg/10 g B.W.까지 투여하여도 아무런 독성이 관찰되지 않았다. 따라서 LD₅₀는 본 실험에서 사용한 최고용량 이상일 것으로 사료되었다. 따라서 Sci-B-Vac은 랫드와 마우스에서 경구 및 피하투여시 매우 안전한 것으로 사료되었다.

참고문헌

- 강경선, 신동진, 조재진, 김형욱, 김배환, 이영순 (1992): 랫드와 마우스에서 *cis*-Malonato[(4R,5R)-4,5-bis(aminomethyl)-2-isopropyl-1,3-dioxolane]platinum(II) (SKI 2053R)의 급성독성에 관한 연구, 한국독성학회지, **8**, 205-216.
- 강경선, 신동진, 김형욱, 조재진, 서광원, 이영순 (1992): 랫드와 마우스에서 유전자 재조합 돼지성장호르몬의 급성독성에 관한 연구, 한국실험동물학회, **8**, 207-211.
- 국립보건안전연구원 (1988): 국립보건안전 연구원 예규 제 10호 '의약품 등의 독성시험 기준'.
- Bonino, F., Heermann, K.H., Rizzetto, M., Gerlich, W.H. (1986): Hepatitis delta virus: protein composition of delta antigen and its hepatitis B virus-derived envelope, J Virol, **58**, 945-950.
- Bradley, D.W., Beach, M.J., Purdy, M.A. (1992): Recent developments in the molecular cloning and characterization of hepatitis C and E virus. Microb Pathog, **12**, 391-398.
- Gibbons, A. (1992): Researchers fret over neglect of 600 million patients. science, **256**, 1135.
- Halliday, M.L., Kang, L.Y., Zhou, T.K. et al. (1991): An epidemic of hepatitis A attributable to the ingestion of raw clams in Shanghai., China, J Infect. Dis., **164**, 852-859.
- Harold, S.M. (1993): Prevention of acute and chronic liver disease through immunization: Hepatitis B and beyond, JID, **168**, 9-14.
- Henderson, R.H. (1984): Providing immunization: the state-of-art. In: Protecting the

- world's children: vaccines and immunization. a symposium. New York: Rockefeller Foundation, 17-38.
- Melnick, F.L. (1957): A water-borne urban epidemic of hepatitis. In: Hartman FW. LoGrippe GA. Matffer JG. Barron J. eds. Hepatitis frontiers. Boston: Little, Brown, 211-225.
- National Vaccine Advisory Committee (1991): The measles epidemic. The problems. barriers and recommendations. JAVMA, **266**, 1547-1552.
- Wimmer, E. and Murdin, A.D. (1991): Hepatitis A virus and the molecular biology of picornaviruses: a case for a new genus of the family Picornaviridae. In: Hollinger FB. Lemon SM. Margolis HS. eds. Viral hepatitis and liver disease Baltimore Williams & Wilkins, 31-41.