

## HRccine(HFRS-virus vaccine)의 Rat에서의 아급성독성

조효진 · 백영옥 · 임동문 · 최재묵 · 김달현 · 박관하 · 조정식 · 이영순\*

제일제당(주) 종합연구소, \*서울대학교 수의과대학

### Subacute Toxicity of HRccine (HFRS-virus vaccine) in Rats

Hyo Jin Cho, Yeong Ok Baik, Dong Moon Lim, Jae Mook Choi, Dal Hyun Kim,  
Kwan Ha Park, Jung Sik Cho and Yong Soon Lee\*

R&D Center, Cheil Foods and Chemicals, Inc. 522-1 Dokpyong-ri, Majang-myun,  
Ichon-kun, Kyonggi-do 467-810

\*College of Veterinary Medicine, Seoul National University

(Received June 1, 1995)

(Accepted June 8, 1995)

**ABSTRACT :** HRccine was administered subcutaneously to rats for 4 weeks at dose levels of 300, 60 and 12 times the expected clinical dose to evaluate the subacute toxicity. There were no treatment-related effects in clinical signs, body weight changes, food consumption, water consumption, urinalysis and blood biochemistry in any dose groups. In hematological examinations, increase of leucocyte counts and decrease of hemoglobin concentration were observed in the high dose-treated group. However, no treatment-attributable pathological changes were observed in microscopic examinations. The no-effect dose in subacute toxicity study of rats was considered to be 300 times the expected clinical dose.

**Key Words :** HRccine, Rats, Subacute Toxicity.

## I. 서 론

신증후성 출혈열은 한탄 바이러스속의 바이러스에 감염되어 발병하는 질환으로서 현재 전세계적으로 발병하고 있으며, 본 질환에 대한 대책으로는 백신을 접종하여 감염 예방을 하는 것이 바람직한 것으로 알려져 있다(Yamanishi 등, 1988). 본 시험은 신증후성 출혈열 예방을 위한 목적으로 제조된 HRccine의 안전성을 평가하기 위하여 rat에 4주간 연속으로 피하 투여하였으며, 의약품등의 독성시험기준(국립보건안전연구원 예규 제 94-3호)에 따라 수행되었다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 시험물질

시험물질인 HRccine은 제일제당에서 임상 예상용량(4096 EIA 역가/0.5 ml/60 kg)을 기준으로 제조(Lot No. CFC-HR 9405)하여 이 용액을 최고용량으로 사용하였고

계속 5배씩 희석하여 중간용량, 최저용량으로 사용하였다.

### 2. 투 여

급성독성시험 결과 임상예상용량의 600배까지 투여해도 별다른 이상이 발견되지 않았으므로, 임상예상용량의 300배를 최고 용량으로 선정하고 이하 공비 0.2로 하여 임상예상용량의 60배를 중간 용량으로, 12배를 최저용량으로 선정하여 2.5 ml/kg/day의 투여액량으로 일주일에 7회 일회용 멸균주사기를 이용하여 28일간 피하투여하였다.

### 3. 실험동물

Charles River, Japan에서 5주령의 SPF Sprague Dawley Rat를 수입하여 7일간의 순화기간을 거친 후 발육이 정상이고 건강한 Rat 80마리를 시험에 사용하였다. 사육 환경은 온도 23±3°C, 상대습도 50±5%, 환기횟수 10~12회/hr, 형광등 명암 12 hr cycle, 조도 150~300 Lux였으

며, 실험동물용 고품사료(제일제당)와 수돗물을 자유로이 섭취하게 하였다.

#### 4. 일반증상관찰 및 체중측정

체중은 시험기간중 주 2회 투여 직전에 측정하였으며, 투여 후 1시간 동안 일반상태의 변화, 중독증상 및 폐사 유무를 관찰하였다.

#### 5. 사료섭취량 및 음수량측정

1주일에 2회 사료섭취량과 음수량을 측정하였다.

#### 6. 요검사

최종 투여 후 실험동물을 대사 Cage에 넣고 18시간 동안 뇨를 채취하여 뇨량, 색조, 혼탁도 검사를 하였고, N-multistix(Ames)을 이용해서 pH, Protein, Glucose, Occult blood, Ketone, Bilirubin, Urobilinogen, Nitrite를 검사하였으며, 요침사에 대해서는 현미경으로 검사하였다. 실험동물을 대사 Cage에 넣을 때는 물과 사료는 공급하지 않았다.

#### 7. 혈액학적 검사

부검직전 Ether 마취하에 혈액을 복대동맥으로부터 채취한 후 일부 혈액을 EDTA를 첨가한 Microtainer에 담은 후 교반하여 WBC, RBC, HT, Hb, Plt, MCV, MCH 및 MCHC를 자동 혈구계산기(Minos-Vet)로 측정하였고, 백혈구감별계산은 Wright 염색, 망상적혈구검사는 초생체 염색 후 현미경으로 검경하였다. 채취한 혈액 중 일부는 Sodium citrate를 첨가한 병에 담아 PT 및 PTT 측정에 사용하였다.

#### 8. 혈액 생화학적 검사

채취한 혈액중 일부를 무처리 용기에 담아 1시간 후에 원심분리하여 얻은 혈청을 이용하여 생화학 자동분석기(Express 550)를 이용하여 AIP, ALT, BUN, Cholesterol, TG, TB, Albumin, TP, Cl을 측정하였다. 일부의 혈액은 Heparin이 들어있는 용기에 넣고 잘 교반한 후 즉시 원심분리하여 얻은 혈장으로 AST, Glucose, LDH, CK을 측정하였다.

#### 9. 부검 및 병리 조직학적 검사

Ether 마취하에 혈액을 채취한 후 방혈 치사시키고 육안적으로 모든 장기의 이상 여부를 관찰하여 기록하였고 신장, 폐장, 간장, 심장, 비장, 정소, 난소, 뇌, 부신, 흉선을 부검시에 적출하여 중량을 측정하여, 부검시의 체중으로부터 체중비 장기중량을 산출하였다.

중량을 측정한 장기와 전립선, 자궁, 췌장, 악하타액선, 소화관, 악하임파절, 정낭, 부고환, 갑상선, 기도, 식도를 10% 중성 Formalin용액에 고정하였다. 조직은 Paraffin wax에 포매하고 H&E 염색을 한 후 현미경으로 관찰하였다.

#### 10. 통계학적 방법

측정결과가 연속변수인 항목에 대해서 평균치와 표준편차를 구하였고 대조군과 각 투여군 사이의 유의성을 Anova 및 Dunnett-t 검정으로 비교하였다(小坂 및 眞板, 1988).

### III. 결 과

#### 1. 임상증상

대조군과 투여군 암수 모두에서 시험기간 동안 시험물질에 의한 폐사 동물은 없었으며 모든 투여군에서 별다른 임상증상은 관찰되지 않았다.

#### 2. 체중변화

투여군의 암수 모두에서 대조군과 비교하여 유의성있는 체중증가율의 변화는 관찰되지 않았다(Fig. 1, 2).

#### 3. 사료섭취량 및 물섭취량

암수 전 투여군에서 대조군과 비교했을때 사료섭취량 및 물섭취량에 있어서 시험물질에 의한 변화는 관찰되지 않았다(Fig. 3~6).

#### 4. 뇨검사

암수 전 투여군에서 대조군과 비교했을 때 뇨검사에서의 시험물질에 의한 변화는 관찰되지 않았다 (Table 1, 2).

#### 5. 혈액학적 검사

Hemoglobin 농도 및 Hematocrit치의 저하가 고농도 투

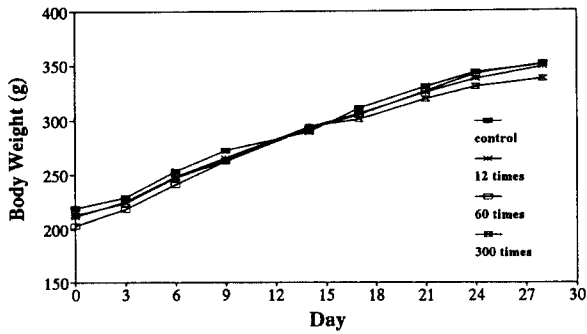


Fig. 1. Body weight changes of male rats treated subcutaneously with HRccine for 28 days.

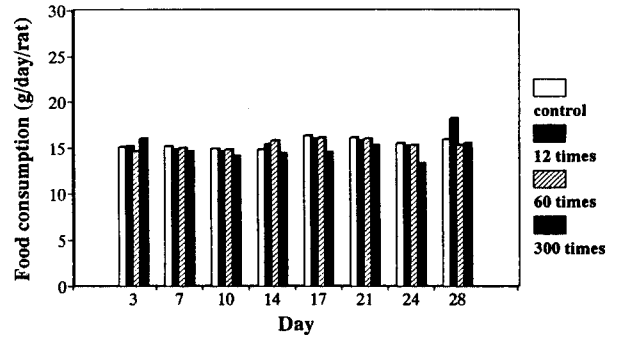


Fig. 4. Food consumption of female rats treated subcutaneously with HRccine for 28 days.

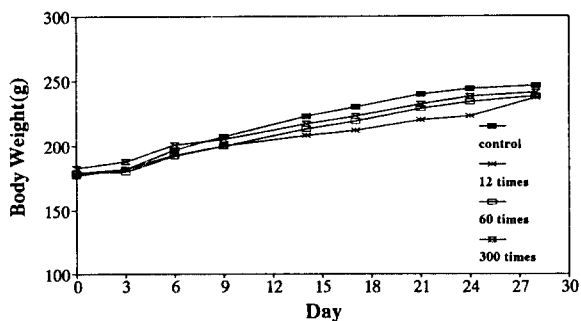


Fig. 2. Body weight changes of female rats treated subcutaneously with HRccine for 28 days.

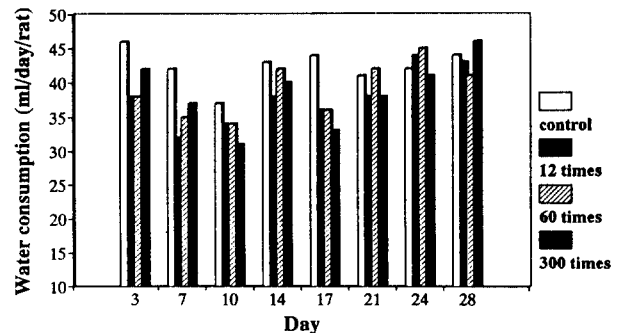


Fig. 5. Water consumption of male rats treated subcutaneously with HRccine for 28 days.

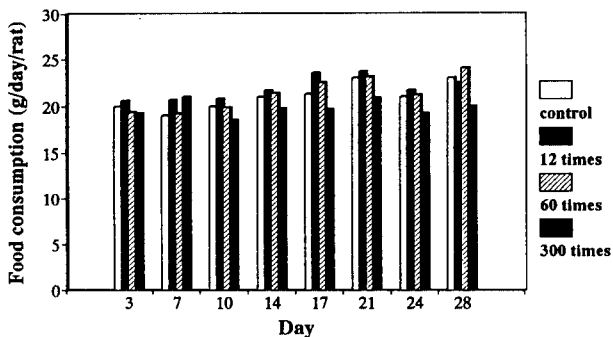


Fig. 3. Food consumption of male rats treated subcutaneously with HRccine for 28 days.

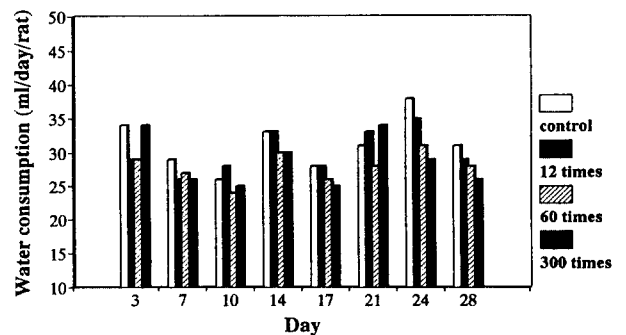


Fig. 6. Water consumption of female rats treated subcutaneously with HRccine for 28 days.

여군의 자궁 모두에서 유의성 있게 관찰되었으며, 백혈구 수의 증가, MCH 및 MCHC의 저하가 음성에서 관찰되었다(Table 3, 4). 이외의 다른 유의성 있는 변화는 관찰할 수 없었으며, PT 및 PTT도 대조군과 투여군 사이에 유의성 있는 차이는 인정되지 않았다.

### 6. 혈액 생화학적 검사

암수 전 투여군에서 대조군과 비교했을 때 혈액 생화학적 검사에서 시험물질에 의한 변화는 관찰되지 않았다

(Table 5, 6).

### 7. 부검 및 장기중량

간장의 횡격막 Hernia가 대조군 음성에서, 흉막 및 정소위축이 중간 용량군 음성에서, 폐렴이 고용량 음성 및 대조군 자성에서, 위출혈이 저용량군 자성에서 각각 1예에서 관찰되었다. 비장의 절대 중량이 고용량군 자성 모두에서, 비장의 상대중량이 고용량군 음성에서 유의성 있게 증가 하였다(Table 7, 8).

**Table 1.** Urinalysis data in male rats treated subcutaneously with HRccine for 28 days.

Group		Control	12 times	60 times	300 times
No. of Animal		10	10	10	10
Volume (ml/18 hr)		6.8±1.76	6.6±1.85	7.7±2.1	7.1±1.84
pH		6.7±0.42	6.7±0.35	6.8±0.42	6.9±0.34
Specific gravity		1.03±0.05	1.03±0.02	1.03±0.02	1.02±0.04
Protein (mg/dL)	0	5	4	5	5
	30	5	6	5	5
	100	-	-	-	-
	300	-	-	-	-
Nitrite	Negative	10	10	10	10
	Positive	-	-	-	-
Occult blood	-	10	10	10	9
	+	-	-	-	-
	++	-	-	-	1
	+++	-	-	-	-
Ketone (mg/dL)	0	10	10	10	7
	5	-	-	-	3
	15	-	-	-	-
Urobilinogen (Ehrich단위/dL)	0	10	10	10	10
	0.1	-	-	-	-
	1	-	-	-	-
Bilirubin	+	10	10	10	10
	++	-	-	-	-
Glucose (g/dL)	0	10	10	10	10
	0.1	-	-	-	-
	0.25	-	-	-	-
Epithelial cell*	+	-	-	-	-
	++	-	-	-	-
	+++	-	-	-	-
Crystals*	+	-	-	-	-
	++	-	-	-	-
	+++	-	-	-	-
Cast*	+	-	-	-	-
	++	-	-	-	-
	+++	-	-	-	-
WBC*	+	-	-	-	-
	++	-	-	-	-
	+++	-	-	-	-
RBC*	+	-	-	-	-
	++	-	-	-	-
	+++	-	-	-	-

\*+ : Slight; ++ : Moderate; +++ : Severe.

## 8. 조직병리검사

대조군 음성 10마리에서 나타난 병변은 간에서 간세포 focal necrosis, spleen에서 hemosiderosis와 extramedullary hematopoiesis 등을 나타내었다. 고용량 투여군 10마리에서는 간에서 경도의 perilobular hepatocyte에 lipid granules accumulation, 대조군에서와 같이

**Table 2.** Urinalysis data in female rats treated subcutaneously with HRccine for 28 days.

Group		Control	12 times	60 times	300 times
No. of Animal		9 <sup>a</sup>	10	10	9 <sup>a</sup>
Volume (ml/18 hr)		3.6±1.59	2.4±1.65	2.7±1.55	2.9±1.37
pH		6.5±0.37	6.3±0.26	6.4±0.41	6.3±0.25
Specific gravity		1.03±0.02	1.03±0.01	1.03±0.06	1.03±0.04
Protein (mg/dL)	0	-	1	-	-
	30	5	2	4	3
	100	4	6	5	4
	300	-	1	1	2
Nitrite	Negative	9	10	10	9
	Positive	-	-	-	-
Occult blood	-	9	10	10	8
	+	-	-	-	-
	++	-	-	-	1
	+++	-	-	-	-
Ketone (mg/dL)	0	8	9	10	9
	5	-	1	-	-
	15	1	-	-	-
Urobilinogen (Ehrich단위/dL)	0	9	10	10	9
	0.1	-	-	-	-
	12	-	-	-	-
Bilirubin	-	9	10	10	9
	+	-	-	-	-
Glucose (g/dL)	0	9	10	10	9
	0.1	-	-	-	-
	0.25	-	-	-	-
Epithelial cell*	+	-	-	-	-
	++	-	-	-	-
	+++	-	-	-	-
Crystals*	+	5	-	1	-
	++	-	-	-	-
	+++	-	-	1	-
Cast*	+	-	1	-	-
	++	-	-	-	-
	+++	-	-	-	-
WBC*	+	-	-	-	-
	++	-	-	-	-
	+++	-	-	-	-
RBC*	+	-	-	-	-
	++	-	-	-	-
	+++	-	-	-	-

<sup>a</sup>One animal was killed by technical error

\*+ : Slight; ++ : Moderate; +++ : Severe.

spleen에서 경도의 hemosiderosis와 extramedullary hematopoiesis 등을 나타내었을 뿐 시험물질에 의한다고 여겨지는 어떠한 변화도 관찰되지 않았다(Table 9).

대조군 음성 10마리에서 나타난 병변은 간에서 focal necrosis, 폐에서 peribronchiolar lymphocytes accumulation 그리고 uterus에 mucosal layer로의 neutrophilic migration을 보였다. 고용량 투여군 10마리에서는

**Table 3.** Hematology data in male rats treated subcutaneously with HRaccine for 28 days.

Dose (times)	No. of Animal	Parameters													
		WBC						Reticulocyte (%)	RBC ( $10^6/\text{mm}^3$ )	Hb (g/dL)	HT (%)	MCV ( $\mu^3$ )	MCH (pg)	MCHC (g/dL)	PLT ( $10^3/\text{mm}^3$ )
		Total ( $10^3/\text{mm}^3$ )	Neutrophil (%)	Lymphocyte (%)	Eosinophil (%)	Stab cell (%)	Monocyte (%)								
0	10	8.0 $\pm$ 1.9	17.8 $\pm$ 4.0	79.0 $\pm$ 4.1	1.7 $\pm$ 1.0	0.0 $\pm$ 0.0	1.5 $\pm$ 1.3	6.2 $\pm$ 0.4	11.8 $\pm$ 0.6	34.9 $\pm$ 1.8	56.8 $\pm$ 2.3	19.1 $\pm$ 0.8	33.8 $\pm$ 0.5	695 $\pm$ 62	
12	10	11.1 $\pm$ 3.0	13.9 $\pm$ 2.1	84.6 $\pm$ 2.4	1.3 $\pm$ 0.8	0.0 $\pm$ 0.0	0.3 $\pm$ 0.5	6.9 $\pm$ 0.6	13.1 $\pm$ 1.1	38.0 $\pm$ 3.1	5.51 $\pm$ 1.3	18.9 $\pm$ 0.5	34.5 $\pm$ 0.4	590 $\pm$ 194	
60	10	12.2 $\pm$ 3.7	6.5 $\pm$ 5.4**	89.9 $\pm$ 8.0**	2.0 $\pm$ 2.4	0.0 $\pm$ 0.0	1.7 $\pm$ 1.1	6.4 $\pm$ 0.4	12.5 $\pm$ 0.8	36.0 $\pm$ 2.2	56.1 $\pm$ 1.7	19.4 $\pm$ 0.9	34.7 $\pm$ 0.6*	754 $\pm$ 118	
300	10	15.1 $\pm$ 6.1**	23.6 $\pm$ 10.0	72.6 $\pm$ 8.4	2.7 $\pm$ 3.6	0.0 $\pm$ 0.0	1.3 $\pm$ 1.4	5.4 $\pm$ 1.4	9.4 $\pm$ 2.9**	28.4 $\pm$ 8.3*	52.5 $\pm$ 2.7	17.2 $\pm$ 1.4**	32.7 $\pm$ 1.3**	1067 $\pm$ 305**	

Each value represents mean  $\pm$  S.D.

Statistically significant against control, \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ .

**Table 4.** Hematology data in female rats treated subcutaneously with HRaccine for 28 days.

Dose (times)	No. of Animal	Parameters													
		WBC						Reticulocyte (%)	RBC ( $10^6/\text{mm}^3$ )	Hb (g/dL)	HT (%)	MCV ( $\mu^3$ )	MCH (pg)	MCHC (g/dL)	PLT ( $10^3/\text{mm}^3$ )
		Total ( $10^3/\text{mm}^3$ )	Neutrophil (%)	Lymphocyte (%)	Eosinophil (%)	Stab cell (%)	Monocyte (%)								
0	9 <sup>a</sup>	10.5 $\pm$ 2.6	7.8 $\pm$ 2.2	88.1 $\pm$ 4.8	1.1 $\pm$ 1.7	0.0 $\pm$ 0.0	3.0 $\pm$ 2.3	5.8 $\pm$ 0.3	11.4 $\pm$ 0.4	33.5 $\pm$ 1.6	58.0 $\pm$ 1.8	19.8 $\pm$ 0.6	34.1 $\pm$ 0.5	688 $\pm$ 173	
12	10	7.9 $\pm$ 1.8	12.4 $\pm$ 7.7	81.9 $\pm$ 7.7	2.1 $\pm$ 1.4	0.0 $\pm$ 0.0	3.6 $\pm$ 2.2	6.5 $\pm$ 0.9	12.2 $\pm$ 0.8	35.2 $\pm$ 1.8	56.9 $\pm$ 1.3	19.6 $\pm$ 0.6	31.5 $\pm$ 9.3	785 $\pm$ 49	
60	10	9.7 $\pm$ 2.0	13.6 $\pm$ 7.1**	89.9 $\pm$ 8.0	2.0 $\pm$ 2.4	0.0 $\pm$ 0.0	2.1 $\pm$ 1.6	6.1 $\pm$ 0.4	11.9 $\pm$ 1.0	34.3 $\pm$ 2.6	56.4 $\pm$ 1.6	19.4 $\pm$ 0.6	34.4 $\pm$ 0.5	868 $\pm$ 50	
300	9 <sup>a</sup>	11.3 $\pm$ 3.5	15.0 $\pm$ 7.8**	72.9 $\pm$ 26.5	0.8 $\pm$ 1.0	0.0 $\pm$ 0.0	1.3 $\pm$ 1.2	4.9 $\pm$ 1.5	9.4 $\pm$ 2.9*	27.5 $\pm$ 8.7*	55.3 $\pm$ 3.3*	18.9 $\pm$ 1.4	34.2 $\pm$ 0.9	843 $\pm$ 461	

Each value represents mean  $\pm$  S.D.

Statistically significant against control, \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ .

<sup>a</sup> One animal was killed by technical error.

**Table 5.** Blood biochemistry data in male rats treated subcutaneously with HRaccine for 28 days.

Dose (times)	No. of Animal	Parameters												
		Albumin (g/dL)	AIP (U/L)	ALT (U/L)	AST (U/L)	Total Bilirubin (mg/dL)	BUN (mg/dL)	Chloride (meq/dL)	Cholesterol (mg/dL)	Creatine kinase (U/L)	Glucose (mg/dL)	LDH (U/L)	Total protein (g/dL)	Triglyceride (mg/dL)
0	10	3.0 $\pm$ 0.30	144 $\pm$ 37	10.5 $\pm$ 4.0	31.3 $\pm$ 7.4	0.26 $\pm$ 0.22	14.7 $\pm$ 4.36	113 $\pm$ 11.3	64 $\pm$ 13.6	13.0 $\pm$ 8.1	164 $\pm$ 34.5	173 $\pm$ 106.1	5.4 $\pm$ 0.72	140 $\pm$ 64.8
12	10	2.9 $\pm$ 0.91	214 $\pm$ 88	16.5 $\pm$ 3.2	39.4 $\pm$ 11.7	0.28 $\pm$ 0.33	19.2 $\pm$ 4.56	123 $\pm$ 9.7	83.2 $\pm$ 26.8	13.1 $\pm$ 10.4	172 $\pm$ 46.1	155 $\pm$ 163.9	5.7 $\pm$ 1.48	145 $\pm$ 85.4
60	10	2.7 $\pm$ 0.75	193 $\pm$ 59	12.9 $\pm$ 3.7	39.0 $\pm$ 13.6	0.17 $\pm$ 0.07	18.3 $\pm$ 6.24	133 $\pm$ 20.3	78.4 $\pm$ 30.3	17.5 $\pm$ 8.68	185 $\pm$ 42.5	130 $\pm$ 99.8	5.7 $\pm$ 0.92	150 $\pm$ 109.5
300	10	3.1 $\pm$ 0.72	187 $\pm$ 98	17.2 $\pm$ 5.0	37.5 $\pm$ 17.5	0.12 $\pm$ 0.08	18.2 $\pm$ 12.7	129 $\pm$ 49.5	87.9 $\pm$ 69.6	20.8 $\pm$ 14.6	179 $\pm$ 41.1	150 $\pm$ 60.9	5.8 $\pm$ 0.86	147 $\pm$ 165.9

Each value represents mean  $\pm$  S.D.

**Table 6.** Blood biochemistry data in female rats treated subcutaneously with HRaccine for 28 days.

Dose (times)	No. of Animal	Parameters													
		Albumin (g/dL)	AIP (U/L)	ALT (U/L)	AST (U/L)	Total Bilirubin (mg/dL)	BUN (mg/dL)	Chloride (meq/dL)	Cholesterol (mg/dL)	Creatine kinase (U/L)	Glucose (mg/dL)	LDH (U/L)	Total protein (g/dL)	Triglyceride (mg/dL)	
0	9 <sup>a</sup>	3.8±0.30	203±53	22.4±7.8	45.5±10.0	0.24±0.52	13.6±1.91	96.7±2.31	80.5±51.7	209±110.8	180±31.8	211±112.2	6.6±0.60	98±39.7	
12	10	3.8±0.21	175±28	20.1±4.03	62.8±16.6	0.35±0.74	19.5±19.3	101±3.89	68.5±14.7	387±125	215±45.2	312±163.5	6.4±0.44	105±91.7	
60	10	3.9±0.24	209±51	23.6±4.91	56.6±25.0	0.18±0.13	13.9±2.02	108±2.95	102±45.7	303±156.1	163±42.8	285±74.6	6.9±0.32	114±63.6	
300	9 <sup>a</sup>	3.6±0.55	178±37	21.3±1.81	44.5±5.96	0.16±0.22	13.4±1.27	105±5.12	97±50.1	233±110	159±30.7	182±52.3	6.8±0.30	119±61.5	

Each value represents mean ± S.D.

<sup>a</sup> One animal was killed by technical error.

**Table 7.** Organ weight data in male rats treated subcutaneously with HRaccine for 28 days.

Dose (times)	No. of Animal	Absolute weight (g)										
		Brain	Heart	Lungs	Thymus	Liver	Kidneys		Spleen	Adrenals	Testes	
							R	L				
0	10	1.87±0.09	1.09±0.10	1.51±0.23	0.49±0.09	8.45±0.74	1.18±0.12	1.18±0.11	0.60±0.09	0.05±0.01	2.92±0.16	
12	10	1.89±0.08	1.04±0.10	1.32±0.14	0.44±0.06	8.31±0.77	1.20±0.07	1.21±0.10	0.65±0.07	0.05±0.01	2.83±0.22	
60	10	1.89±0.12	1.12±0.09	1.30±0.12	0.46±0.12	8.28±0.83	1.14±0.08	1.13±0.05	0.66±0.07	0.05±0.01	2.82±0.62	
300	10	1.85±0.11	1.02±0.08	1.41±0.20	0.46±0.06	7.83±0.76	1.13±0.08	1.16±0.08	0.77±0.11**	0.06±0.01	2.76±0.51	

Dose (times)	No. of Animal	Relative weight (g %)										
		B.W. (g)	Brain	Heart	Lungs	Thymus	Liver	Kidneys		Spleen	Adrenals	Testes
								R	L			
0	10	320±20.0	0.59±0.04	0.34±0.03	0.47±0.07	0.15±0.02	2.64±0.14	0.37±0.04	0.37±0.03	0.19±0.03	0.02±0.04	0.92±0.06
12	10	313±15.8	0.60±0.03	0.33±0.02	0.42±0.04	0.14±0.02	2.65±0.16	0.38±0.02	0.39±0.02	0.21±0.02	0.02±0.02	0.90±0.07
60	10	316±26.9	0.60±0.07	0.36±0.05	0.41±0.05	0.15±0.04	2.64±0.39	0.36±0.05	0.36±0.04	0.21±0.03	0.02±0.02	0.90±0.23
300	10	302±20.8	0.61±0.05	0.34±0.03	0.47±0.07	0.15±0.03	2.59±0.10	0.37±0.03	0.38±0.02	0.26±0.04**	0.02±0.02	0.92±0.19

Each value represents mean ± S.D.

Statistically significant against control, \*\*p<0.01.

**Table 8.** Organ weight data in female rats treated subcutaneously with HRccine for 28 days.

Dose (times)	No. of Animal	Absolute weight (g)										
		Brain	Heart	Lungs	Thymus	Liver	Kidneys		Spleen	Adrenals	Ovaries	
0	9 <sup>a</sup>	1.83 ± 0.06	0.76 ± 0.10	1.28 ± 0.25	0.43 ± 0.07	6.61 ± 0.59	0.78 ± 0.08	0.78 ± 0.08	0.57 ± 0.11	0.06 ± 0.01	0.10 ± 0.02	
12	10	1.85 ± 0.09	0.79 ± 0.10	1.15 ± 0.15	0.32 ± 0.04**	6.10 ± 0.65	0.75 ± 0.06	0.74 ± 0.07	0.48 ± 0.06	0.06 ± 0.01	0.10 ± 0.01	
60	10	1.79 ± 0.06	0.80 ± 0.09	1.16 ± 0.10	0.42 ± 0.09	6.39 ± 0.51	0.79 ± 0.07	0.77 ± 0.08	0.56 ± 0.09	0.06 ± 0.01	0.11 ± 0.02	
300	9 <sup>a</sup>	1.63 ± 0.56	0.76 ± 0.25	1.12 ± 0.39	0.33 ± 0.12	5.93 ± 2.13	0.73 ± 0.25	0.73 ± 0.25	0.63 ± 0.22*	0.06 ± 0.02	0.10 ± 0.04	
		Relative weight (g %)										
Dose (times)	No. of Animal	B.W. (g)	Brain	Heart	Lungs	Thymus	Liver	Kidneys		Spleen	Adrenals	Ovaries
								R	L			
0	9 <sup>a</sup>	219 ± 15.5	0.84 ± 0.06	0.35 ± 0.03	0.59 ± 0.13	0.20 ± 0.04	3.02 ± 0.13	0.36 ± 0.03	0.36 ± 0.02	0.26 ± 0.06	0.03 ± 0.06	0.04 ± 0.02
12	10	207 ± 15.4	0.90 ± 0.07	0.38 ± 0.04	0.56 ± 0.07	0.16 ± 0.02	2.95 ± 0.25	0.36 ± 0.02	0.36 ± 0.02	0.23 ± 0.03	0.03 ± 0.00	0.05 ± 0.01
60	10	218 ± 15.2	0.83 ± 0.06	0.37 ± 0.04	0.54 ± 0.04	0.20 ± 0.04	2.94 ± 0.21	0.36 ± 0.03	0.35 ± 0.03	0.26 ± 0.04	0.03 ± 0.01	0.05 ± 0.01
300	9 <sup>a</sup>	201 ± 67.5	0.75 ± 0.26	0.35 ± 0.13	0.51 ± 0.18	0.15 ± 0.06	2.71 ± 1.06	0.34 ± 0.12	0.33 ± 0.13	0.29 ± 0.10	0.03 ± 0.01	0.04 ± 0.02

Each value represents mean ± S.D.

Statistically significant against control, \* p&lt;0.05, \*\*p&lt;0.01.

<sup>a</sup> One animal was killed by technical error.

**Table 9.** Histopathological findings of male Sprague-Dawley rats treated with HRccine for 28 days.

Group Dose(x clinical dose) Number of Animal	Control 0 10	Low 12 10	Medium 60 10	High 300 10
Liver				
focal necrosis of hepatocyte	1	0	1	0
perilobular fatty accumulation(mild)	0	1	0	2
Spleen				
hemosiderosis	2	1	2	3
extramedullary hematopoiesis	2	2	1	4
Salivary gland	0	0	0	0
Trachea	0	0	0	0
Esophagus	0	0	0	0
Urinary bladder	0	0	0	0
Heart	0	0	0	0
Testes	0	0	0	0
Epididymia	0	0	0	0
pancreas	0	0	0	0
Thymus	0	0	0	0
GI tract				
neutrophilic migration in mucosal layer	1	0	1	0
Stomach	0	0	0	0
Cerebellum	0	0	0	0
Cerebrum	0	0	0	0
Kidneys				
focal interstitial nephritis	1	0	1	0
Lungs				
peribronchiolar lymphoid cell aggregation	2	2	1	2

Numbers indicate the number of animals showing abnormal changes.

대조군에서 보인 병변외에 간에서 소엽주변부의 정도로 지방구의 축적이 대조군보다 증가한 것이 관찰되었다. 소엽주변부 간세포에 지방적의 정도 침윤은 대조군에서도 관찰되었으나 고용량군에서는 지방적의 크기가 증가하였고 수적으로도 증가하였다. 그러나 증가의 정도는 경미하여 지방변성(fatty degeneration)으로 판단하기는 어렵고 생리적 변동치 수준으로 생각된다(Table 10).

#### IV. 고찰 및 결론

HRccine의 rat에 대한 아급성 독성을 평가하기 위하여 임상예상용량의 300배, 60배, 12배의 농도를 28일 동안 연속으로 피하 투여 하였다. 그 결과 시험물질에 의한 실험동물의 폐사 및 특이적인 임상증상은 관찰되지 않았으

**Table 10.** Histopathological findings of female Sprague-Dawley rats treated with HRccine for 28 days.

Group Dose(x clinical dose) Number of Animal	Control 0 9 <sup>a)</sup>	Low 12 10	Medium 60 10	High 300 9 <sup>a)</sup>
Liver				
focal necrosis of hepatocyte	1	1	0	0
perilobular fatty accumulation(mild)	0	0	0	7
hyaline degeneration of small vessel	0	0	0	2
Spleen				
congestion(mild)	1	0	1	1
erythroblast increased	2	1	1	2
hemosiderosis	1	2	1	3
extramedullary hematopoiesis	2	3	2	2
hyaline degeneration of arterioles	0	1	0	1
Salivary gland	0	0	0	0
Trachea	0	0	0	0
Esophagus	0	0	0	0
Urinary bladder	0	0	0	0
Heart				
focal myocardial necrosis	1	0	0	0
Pancreas	0	0	0	0
Thymus	0	0	0	0
GI tract				
neutrophilic migration in mucosal layer	1	0	1	0
Stomach	0	0	0	0
Kidneys				
focal interstitial nephritis	0	0	0	0
Lungs				
peribronchiolar lymphoid cell aggregation	2	3	1	2
Uterus				
neutrophilic migration in mucosa	1	1	1	2

<sup>a)</sup>one animal was killed by technical error

Numbers indicate the number of animals showing abnormal changes.

며, 체중변화, 사료섭취량, 물섭취량, 뇨검사, 혈액생화학 적 검사에서도 대조군에 비해 유의성있는 변화가 관찰되지 않았다.

혈액학적 검사에서는 Hemoglobin의 농도 및 Hematocrit치의 저하가 자용 모두 최고용량 투여군에서 유의성 있게 관찰되었으며, MCH와 MCHC의 저하 및 Platelet의 증가가 웅성 최고 농도 투여군에서 유의성 있게 관찰되었다. 그러나 이러한 변화는 그 정도가 미약하였으며, 이에 상응하는 병리학적 변화를 관찰할 수 없어 시험물질의 투여와 무관한 것으로 사료된다. 백혈구의 수치도 최고농도 투여군에서 유의성 있게 증가하였으나 생리학 적 정상 범위에 속하므로 독성이라고 보기가 어렵다. 장기무게에서는 비장의 무게가 유의성있게 증가하였으며, 이러한 변화는 적혈구의 변화와 관련이 있는것으로 사료되나 병리



조직학적 검사에서 특이한 변화가 관찰되지 않아 시험물질에 의한 독성이 아니라고 판단된다. 병리학적 검사에서 여러 장기에 다양한 변화가 관찰되었으나 이는 세균감염 및 영양학적인 요인에 의한 변화라고 사료되며 시험물질과 무관한것으로 사료된다. 이상의 결과는 Hantabax의 아급성독성 결과(Moon 등, 1989)와 유사한 것으로 사료되며, 본 시험조건에서 HRccine의 28일 피하 투여에 의한 무영향량은 임상예상용량의 300배 이상으로 추정한다.

### 참고문헌

- Moon, Chang Giu *et al.* (1989): Subacute toxicity of Hantabax in rats. *Korean J. Toxicol.* **5**, 123-133.
- Yamanishi, Koichi *et al.* (1988): Development of inactivated vaccine against virus causing hemorrhagic fever with renal syndrome. *Vaccine*, **6**, 278-282.
- 小坂 忠司と眞板 敬三 (1988): 成績の推計學的 評價, 新毒性試驗法(白須 泰顔と吐山 豊秋編, Realize Inc., pp. 175-182.
- 국립보건안전연구원 (1994): 의약품등의 독성 시험 기준. 국립보건안전연구원 고시 제 94-3호