

## 신규 개인제독키트, SDK시제품(가칭)의 면역독성평가에 관한 고찰

강병철 · 이학모 · 제정환 · 남정석 · 이석만 · 양재만 · 박재학\* · 이영순\*\*  
서울대학교 수의과대학 공중보건학교실, \*실험동물의학교실

### Evaluation of Immunotoxicities of New Skin Decontamination Kit(SDK)

Byeong-Cheol Kang, Hak-Mo Lee, Jeong-Hwan Che, Jeong-Seok Nam,  
Suk-Man Lee, Jae-Man Yang, Jae-Hak Park\* and Yong-Soon Lee\*\*

Department of Public Health and \*Laboratory Animal medicine,  
College of Veterinary Medicine, Seoul National University

(Received February 5, 1998)

(Accepted April 14, 1998)

**ABSTRACT :** To evaluate immunotoxicity of skin decontamination kit(SDK) newly-developed in Agency for Defense Development(ADD), delayed contact hypersensitivity (maximization) test and passive cutaneous anaphylaxis(PCA) test of SDK were performed and the results were compared with those of M 291. In maximization test, sensitization reaction was induced by id injection (2.5 mg/0.1 ml/guinea pig or 2.5 mg+CFA/0.1 ml/guinea pig) and topical application (2.5 mg/ml/guinea pig) with SDK or M291 at an interval of 1 week, and 2 weeks later, challenged by topical application with 25 mg/ml/guinea pig. SDK and M291 did not induce any reactions, showing 0 point of sensitization score and 0% of sensitization rate. In conclusion, it is suggested that SDK and M291 do not induce delayed contact hypersensitivity. In PCA test, rats were administered id with mouse anti-SDK serum and challenged in with a mixture of antigen SDK and Evan's blue. SDK did not induce blue spots at the injection sites of both high (2.5 mg/mouse) and low (1.25 mg/mouse) dose-induced antisera. In contrast, BSA, positive control produced spots larger than 5 mm in diameter at the injection sites of BSA-induced antiserum up to 2<sup>2</sup>~2<sup>4</sup> dilution. In conclusion, it is suggested that SDK do not induce IgE production and is not a PCA-reaction inducer.

**Key Words :** Skin decontamination kit(SDK), Immunotoxicity, Delayed contact hypersensitivity, Maximization test, Passive cutaneous anaphylaxis(PCA).

## I. 서 론

독성물질로 오염된 피부의 제독제로는 분해형 액상 제독제로부터 흡착형 분말 제독제에 이르기까지 다양한 형태로 발전되어 왔으며, 각 나라마다 그들의 제독 개념에 맞는 여러 가지 제독제를 개발하여 사용하고 있으나 각기 장, 단점을 가지고 있다(Sawyer 등, 1991; Yang 등, 1992). 국내에서도 KM258A1과 KM13이 운용되고 있으나 KM258A1의 심한 독성(Hammond 등 1985; Hur 등, 1995) 및 KM13의 만족스럽지 못한 제독 효능(Hammond 등, 1985; Kim 등, 1995) 등에 따라 효능의 증대 및 안전성의 확보면에서 새로운 제독제의

개발이 요구되었다.

세계 각국의 다양한 피부 제독제 중 미군의 M291이 운용성, 제독효능 및 안전성면에서 우수한 것으로 평가되고 있는데(Hammond 등, 1985), 이는 다공성 탄화수지외 양이온 및 음이온 교환수지를 미세 분말화하여 혼합한 흡착/분해형 제독제이다(Neeley, 1981; Maroldo, 1989). 최근 국방과학연구소에서 개발된 M291 형태의 피부제독키트(SDK)는 흡착능이 뛰어나고 탈착율이 낮으며, 안전성면에서 우수한 것으로 나타났으며, 다양한 독성물질의 제독에 효과적인 것으로 평가된 바 있다(Hur 등, 1996; Kim 등, 1996a, 1996b). 이 SDK는 높은 흡착효율, 광범위한 대상 독성물질, 피부/장비 동시 제독, 높은 안전성, 사용 및 휴대 간편, 동계 운용성 증대, 그리고 2차오염 배제 등의 장점을 지닌 것으로 기대되

\*\*To whom correspondence should be addressed

는 바, 인체 적용시의 안전성 확보를 위한 전반적인 평가의 일환으로 본 키트의 독성시험을 수행하게 되었다.

따라서 본 연구에서는 신규 개인제독키트 SDK시제품(가칭)의 면역독성 평가의 일환으로 maximization test를 통해 접촉성 알러지 유발 가능성을 평가하였으며, passive cutaneous anaphylaxis(PCA) test를 통해 특이적인 IgE를 생성시킬 수 있는지 여부를 평가하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 시험물질

국방과학연구소에서 의뢰한 SDK시제품(가칭) 및 M291 흑색 고형 미세분말로 시험직전 멸균생리식염수(중의제약)에 일정 농도로 희석하여 사용하였다.

### 2. 실험동물

Maximization test를 위한 3개월령 수컷 Hartley 기니픽(체중 250~300 g)은 삼육실험동물연구센터에서, 항혈청 제조를 위한 4주령의 수컷 C57BL/6 마우스와 감작 및 반응 유도를 위한 10주령의 수컷 Sprague Dawley 랫드는 서울대학교 실험동물사육장에서 공급받아 약 1주일간 순화시키면서 건강한 동물만을 선택하여 실험에 사용하였다. 순화 및 실험기간중 사육실 환경 조건은 온도 23±3°C, 상대습도 50±10%, 환기 회수 10~12회/hr, 조명시간(오전 7시~오후 7시), 조도 150~200 Lux로 조절되었다. 사료는 실험동물용 고형 사료(삼양사료, 퓨리나사료)를, 음수는 상수도를 자유 섭취하도록 하였으며, 기니픽은 음수에 0.01% vitamin C(삼육실험동물센터)을 녹여 공급하였다.

### 3. Maximization test

#### 1) 감작 및 반응 유도(Fig. 1)

Bertil Magnusson과 Albert M. Kligman(1969)의 GPMT(guinea pig maximization test) 방법에 따라 실시하였으며, 신독성시험법 - 방법 및 평가 -(吐山豊秋 편저, 昭和 63년)를 참조하여 실시하였다.

반응 유도 농도는 일반적으로 1~5%로 사용하는 것을 기준으로 제 1군은 SDK시제품(가칭) 시료를, 제 2군은 M291 시료를 25 mg/ml의 농도로 saline으로 제조하였고, 음성대조군인 제 3군은 saline만을 사용하였다. 시험단계는 감작단계 (induction stage)와 반응유도 단계 (challenge stage)로 구성되었으며, 감작은 피내주

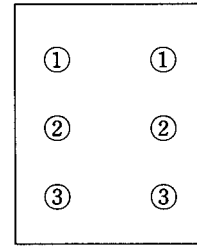


Fig. 1. Sites of intradermal injection. ① Complete Freund's adjuvant (CFA) alone (0.1 ml) in all groups; ② SDK (2.5 mg/0.1 ml/animal) in A groups, M291 (2.5 mg/0.1 ml/animal) in B groups, Saline (0.1 ml/animal) in control groups; ③ SDK (2.5 mg/0.05 ml/animal)+CFA (0.05 ml/animal) in A groups, M291 (2.5 mg/0.05 ml/animal)+CFA (0.05 ml/animal) in B groups, Saline (0.05 ml/animal)+CFA (0.05 ml/animal) in control groups.

사 (intradermal injection)와 국소도포 (topical application)의 2 단계로 시행하였다. 피내주사를 하기 위하여 4×6 cm의 면적으로 견갑 상부의 털을 제거한 후 가로 4 cm, 세로 2 cm 간격이 되도록 6부위에 표시를 하였다. 각 부위에 각각의 시료를 0.1 ml씩 피내주사하였다 (Fig. 1). 피내주사 1주일 후 동일 부위에 각각의 시험 물질을 1 ml씩 여과지에 발라 플라스틱 테이프로 붙여 국소도포한 후 48시간 동안 반창고로 고정시켜 두었다. 단 국소도포 전 피내주사 부위에 아무런 이상이 나타나지 않은 경우에는 10% SDS(sodium dodecyl sulfate)를 유리병으로 문질러 하루 동안 약간의 피부자극을 유발시켜 주었다.

반응 유도(challenge)는 국소도포 2주 후에 실시하였다. 동물의 요부 체측부를 5×5 cm 면적으로 털을 제거한 후 2×2 cm의 여과지에 각각의 시험물질을 25 mg/ml/animal로 도포하고 플라스틱 테이프와 반창고로 24시간 동안 고정시켜 두었다. 관찰 3시간 전에 시험부위에 남아 있는 시험물질을 에테르로 닦아 내고, 홍반 및 부종 여부 및 그 정도를 평가하였다.

#### 2) 관찰자료의 해석 및 평가(Tables 1 and 2)

접촉성 알러지 시험의 평가는 반응의 양상(maximization score)과 반응의 등급(maximization grade)를 평가표(Magnusson, B. and Kligman, A.M., 1969)에 따라 평가하였다. 지연형 반응 여부를 알아보기 위해 24시간 후 한 번 더 관찰하였으며, 결과가 명확하지 않을 때는 3~4일 내에 다시 반응을 유도(challenge)해 보았다.

Table 1. The maximization score

Sensitization score	Reaction state
0	No reaction
1	Scattered mild redness
2	Moderate and diffuse redness
3	Intense redness and swelling

**Table 2.** The maximization grade

Sensitization rate (%) (positive/total animal × 100)	Grade	Classification
0~8	I	Weak
9~28	II	Mild
29~64	III	Moderate
65~80	IV	Strong
81~100	V	Extreme

**4. PCA(passive cutaneous anaphylaxis) test**

1) 항혈청의 제조

C57BL/6 수컷 마우스를 각 군당 6수씩 무작위로 4개 군으로 나누어 제 1군은 SDK시제품(가칭) 저용량 (25 mg/ml) 시료를, 제 2군은 SDK시제품(가칭) 고용량 (50 mg/ml) 시료를, 제 3군은 양성대조군인 bovine serum albumin(BSA)을 240 mg/ml으로 실험직전 saline에 희석하여 조제하였으며, 제 4군은 음성대조군으로 saline만을 사용하였다. 이들 시료는 complete Freund's adjuvant(CFA)와 동량으로 3-way valve 내에서 점도가 높아질 때까지 수십분간 잘 혼합하여 0.1 ml/mouse의 양으로 2주 간격으로 3회 피하로 투여하였다. 최종 투여 10일 후에 복대정맥(abdominal vena cava)으로부터 채혈하여 실온에서 2시간 응고시킨 후 원심분리하여 혈청을 얻었다. 분리한 혈청은 사용시까지 -20°C에 보관하였다.

2) 감작 및 반응 유도

이 실험은 IgE항체의 생산능력을 관찰하기 위한 실험으로 C57BL/6 마우스를 항원감작시켜 얻은 각 시료의 항혈청을 saline으로 2배수로 8단계희석하여 랫드에 0.1 ml/site의 양으로 피내주사한 후, 24시간에 같은 양의 각 항원 시료와 Evan's blue(10 mg/ml) 혼합액 (1 : 1)을 랫드의 꼬리정맥내로 1 ml/rat의 양으로 정맥내 주사한 다음 30분경과 후에 피부를 박리하여 항혈청 주사부위에 생성된 청색반점의 생성 여부를 관찰하였고, 반점의 직경 [(장경+단경)/2]이 5 mm 이상일 때 Anaphylaxis와 관련있는 IgE가 생성된 것으로 판정하였다.

**III. 결 과**

1) Maximization test(Table 3, 4, 5 and 6)

SDK시제품(가칭) 및 M291의 maximization test 결과 2.5 mg/0.1 ml/guinea pig 또는 2.5 mg+CFA/0.1 ml/guinea pig로 피내주사 및 25 mg/ml/guinea pig로 피부도포하여 감작시킨 후 25 mg/ml/guinea pig로 피부도포

**Table 3.** Sensitization score of guinea pigs applied with SDK or M291

Animal	Sensitization score		
	SDK (25 mg/ml)	M291 (25 mg/ml)	saline (1 ml)
1	0	0	0
2	0	0	0
3	0	0	0
4	0	0	0
5	0	0	0
6	0	0	0
Mean score	0	0	0

**Table 4.** Sensitization rate of guinea pigs applied with SDK or M291

Animal	Sensitization rate		
	SDK (25 mg/ml)	M291 (25 mg/ml)	saline (1 ml)
1	0	0	0
2	0	0	0
3	0	0	0
4	0	0	0
5	0	0	0
6	0	0	0
Grade	I	I	I

**Table 5.** Sensitization score of guinea pigs applied with SDK or M291 after 24 hr

Animal	Sensitization score		
	SDK (25 mg/ml)	M291 (25 mg/ml)	saline (1 ml)
1	0	0	0
2	0	0	0
3	0	0	0
4	0	0	0
5	0	0	0
6	0	0	0
Mean score	0	0	0

**Table 6.** Sensitization rate of guinea pigs applied with SDK or M291 after 24 hr

Animal	Sensitization rate		
	SDK (25 mg/ml)	M291 (25 mg/ml)	saline (1 ml)
1	0	0	0
2	0	0	0
3	0	0	0
4	0	0	0
5	0	0	0
6	0	0	0
Grade	I	I	I

하여 반응을 유도했을 때 각각 6수의 동물에서 모두 아무런 반응을 보이지 않음으로써 sensitization score가 0이었으며(Table 3), sensitization rate 역시 0%로 나타났다(Table 4). 지연형 반응 유무를 알아보기 위하여 24시간 후에 관찰했을 때도 두 항목에 대하여 모두 0%의 결과를 보여 주었다(Tables 5 & 6). 음성 대조군 saline 역시 아무런 영향이 없었다.

**Table 7.** Passive cutaneous anaphylaxis reaction in rats with antisera of sensitized mice

Sensitized Antigen (0.1 ml, id)	Challenged Antigen (1 ml, iv)	Animals		Dilution of antisera from sensitized mice								
		Mouse	Rat	×2	×4	×8	×16	×32	×64	×128	×256	saline
Mouse Anti-SDK (L)	SDK (L) + EB	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		3	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		4	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		5	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mouse Anti-SDK (H)	SDK (H) + EB	6	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		7	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		8	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		9	9	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mouse Anti-BSA	BSA + EB	10	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		11	11	+	+	-	-	-	-	-	-	-
		12	12	+	+	+	-	-	-	-	-	-
		13	13	+	+	+	+	-	-	-	-	-
		14	14	+	+	-	-	-	-	-	-	-
15	15	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	
Mouse Anti-Saline	saline + EB	16	16	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		17	17	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		18	18	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		19	19	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		20	20	-	-	-	-	-	-	-	-	-

[-]: less than 5 mm of PCA reaction.

[±]: approximately 5 mm of PCA reaction.

[+]: more than 5 mm of PCA reaction. L, SDK low dose (1.25 mg/ml/animal).

H, SDK high dose (2.5 mg/ml/animal). BSA, bovine serum albumin (12 mg/ml/animal).

Saline, 0.9% (w/v) NaCl (ml/animal). EB, Evan's blue (10 mg/ml). id, intradermal injection. iv, intravenous injection.

## 2) Passive Cutaneous Anaphylaxis (Table 7)

SDK시제품(가칭)에 의해 Anaphylaxis와 관련 있는 IgE가 생성되는지를 판정하기 위한 PCA test 결과, 저용량 (1.25 mg/0.1 ml/mouse) 및 고용량(2.5 mg/0.1 ml/mouse)의 SDK시제품(가칭) 투여에 의해 얻어진 항혈청이 iv로 반응 유도된 항원에 대해 최소 희석배수인 2<sup>1</sup>배까지 아무런 반응을 나타내지 않았다. 마찬가지로 음성대조물질인 saline도 최고 농도까지 아무런 영향을 미치지 않았다. 반면 양성대조물질인 BSA는 개체에 따라 2<sup>2</sup>~2<sup>4</sup>까지 양성 반응을 나타내었다.

## IV. 고 찰

최근 국방과학연구소에서 개발된 신규 개인제독 키트 SDK시제품의 면역독성 평가의 일환으로 기니픽을 이용한 접촉성 알러지 시험을 통하여 피부과민반응 유도 가능성을 검사하였고, 마우스와 랫드를 이용한 수동피부아나필락시스반응을 실시하였다.

지연형 피부과민반응(delayed contact hypersensitivity)을 검사하기 위한 접촉성 알러지 시험인 maximization test에서는 2.5 mg/0.1 ml/guinea pig 또는 2.5 mg+CFA/0.1 ml/guinea pig의 SDK시제품 또는 M291을 피내주사하고 1주일 후 10% SDS로 약한 자극을 일

으킨 다음, 시료 25 mg/ml/guinea pig로 피부도포하고 48시간 동안 유지하여 감작(induction)시킨 후 2주일 후에 요부체측에 25 mg/ml/guinea pig로 피부도포하여 반응을 유도(challenge)하였다. 그 결과 모든 동물에서 아무런 반응을 보이지 않아 sensitization score 및 sensitization rate가 각각 0점 및 0%로 나타났다. 또한 지연형 반응 유무를 알아보기 위하여 24시간 후에 재검사하였을 때도 모두 0%의 결과를 보여 주었다. 이상의 결과로 추정해 볼 때 SDK시제품(가칭) 및 M291은 기니픽 피부에서 지연형 접촉성 과민반응을 유발하지 않는 것으로 여겨진다.

수동피부아나필락시스반응(passive cutaneous anaphylaxis test, PCA) 시험에서 마우스에서 SDK시제품 고용량과 저용량으로 감작시켜 얻은 SDK 항혈청을 랫드에 단계희석하여 각각 피내감작한 후 항원과 Evan's blue 혼합액을 정맥내 주사한 결과, 양성 대조물질인 bovine serum albumin(BSA, 12 mg/0.1 ml/mouse) 항혈청의 경우 2<sup>3</sup>배 희석배율까지 직경 5 mm 이상의 청색 반점을 유발한 반면, SDK는 고용량(2.5 mg/0.1 ml/mouse) 및 저용량(1.25 mg/0.1 ml/mouse) 모두 전혀 반점을 유발시키지 않았다. 따라서 SDK시제품은 특이적인 IgE 생성을 유도함으로써 나타나는 수동피부과민반응 유도 효과가 없는 것으로 사료된다.

## 참고문헌

- Hammond, P.S., Forster, J., Michie, M., Langenmayr, E.J., Steigerwalt, R.B., Jacobs, W.B. and Joiner, R.L. (1985): Evaluation of polymeric resins for decontamination/prophylactic applications: Recent developments and directions in *Proceedings of the 1985 Medical Defense Bioscience Review* (U.S. Army MRICD, Ed), (U.S. Army MRDC, Baltimore), p. 359-385.
- Hur, G.-H., Kim, Y.-B. and Yeon, G.-B. (1995): Primary skin and eye irritation, cumulative skin irritation tests of decontamination kits, ADD Res. Report GWSD-406-950524.
- Hur, G.-H., Kim, Y.-B., Han, B.-G., Yeon, G.-B. and Cho, Y. (1996): Comparative evaluation of potencies and primary eye irritation of new decontamination kit, ADD Res. Report GWSD-406-960022.
- Kim, Y.-B., Hur, G.-H. and Yeon, G.-B. (1995): Comparative evaluation of potencies of skin decontamination kits, ADD Res. Report GWSD-406-950525.
- Kim, Y.-B., Han, B.-G., Yeon, G.-B., Cho, Y. and Park, H.-B. (1996a): Efficacy evaluation of new skin decontamination kit, ADD Res. Report GWSD-407-961382.
- Kim, Y.-B., Hur, G.-H., Yeon, G.-B., Seo, W.-J. and Seo, B.-I. (1996b): Evaluation of acute, inhalation and primary skin toxicities of new skin decontamination kit, ADD Res. Report GWSD-407-961383.
- Magnusson, B. and Kligman, A.M. (1969): The identification of contact allergens by animal assay. The guinea pig maximization test, *J. Invest Dermatol.*, 52(3), 268-276.
- Maroldo, S.G. (1989): Carbonaceous resins - Sorbents for chemical protection in *Proceedings of the 3rd International Symposium on Protection against Chemical Warfare Agents* (Bloom, G., et al. Eds), (Swedish Defence Research Establishment, Umea), p. 71-78.
- Neeley, J.W. (1981): Characterization of polymer carbons derived from porous sulfonated polystyrene, *Carbon*, 19, 27-36.
- Sawyer, T.W., Paeker, D., Thomas, N., Weiss, M.T. and Bide, R.W. (1991): Efficacy of an oximate-based skin decontaminant against organophosphate nerve agents determined in vivo and in vitro, *Toxicology*, 67, 267-277.
- Yang, Y.-C., Baker, J.A. and Ward, J.R. (1992): Decontamination of warfare agents, *Chem Rev.*, 92, 1729-1743.
- 白須 泰彦, 吐山 豊秋 등. (昭和 63年): 新毒性試験法 -方法と評価-, Realize Inc., 342-343.