

## 기니픽, 마우스 그리고 랫드에서 Intralipidos의 항원성

이병희 · 제정환 · 이광훈 · 강병철 · 이원우 · 임종희 · 정시윤 · 이영순\*  
서울대학교 수의과대학 공중보건학교실

### Antigenicity of Intralipidos in Guinea Pigs, Mice and Rats

Beoung-Hi Yi, Jeong-Hwan Che, Guang-Xun Li, Byeong-Cheol Kang, Won-Woo Lee,  
Jong-Hee Ihm, Ji-Youn Jung and Yong-Soon Lee\*

Department of Veterinary Public Health, College of Veterinary Medicine, Seoul National University  
(Received)  
(Accepted)

**ABSTRACT** : The antigenicity of intralipidos was investigated in guinea pig, mice and rats. Antigenicity tests-active systemic anaphylaxis (ASA), passive systemic anaphylaxis (PSA), passive cutaneous anaphylaxis (PCA) of this materials were performed. The results were followed: 1. After sensitization with YPL, YPL+intralipidos, and intralipidos emulsified with complete Freund's adjuvant (CFA), guinea pigs didn't show any anaphylactic shock symptom in the ASA test, 2. These materials didn't show any anaphylactic shock symptom in the PSA test, 3. After sensitization with antisera of YPL, YPL+intralipidos, and intralipidos sensitized mice, blue spots were not observed on the hypodermis of back of rats in the PCA test. From the results of this investigation, the antigenicity of YPL, intralipidos was negative under the present experimental condition.

**Key words** : YPL, Intralipidos, ASA, PSA, PCA, Guinea pig, Mouse, Rats

## I. 서 론

환자의 경구영양섭취가 불가능한 경우 각종 영양소(단백질, 탄수화물, 지방, 비타민, 전해질 등)는 정맥을 통하여 투여하게 된다. 이제까지 탄수화물은 당으로서, 단백질은 아미노산으로서 공급되어 왔으나 지방은 지질대사에 이상이 생긴다는 우려 때문에 사용이 습관적으로 제한되어 왔다. 탄수화물, 단백질을 등장액으로 투여하자면 많은 양이 필요하고 농축액을 하면 혈전성 정맥염이 생길우려가 있다. 이러한 결점을 배제하기 위하여 최근 Wretling Schubert 박사 등의 연구로 소량의 주사로 다량의 칼로리를 얻을수 있으며 부작용이 없이 임상적으로 사용가능한 정주용 지방유제 Intralipidos가 완성되었다. 지방 유제는 창상성 또는 패혈증 환자에게 있어서 매우 유용한 에너지원이 되는 것이 보고되고 있다.

Intralipidos는 정제대두유를 난황레시틴으로 유화하여 미세화한 안정한 정맥주사용 지방유제로서 글리세린을 첨가하여 체액에 가까운 삼투압을 가지고 있어

말초정맥으로 뿐만 아니라 중심정맥으로도 안전하게 투여가능하고 소량으로도 높은 칼로리를 보급할수 있고 필수지방산의 보급에도 효과적이므로 수술 전후 및 각종 병중병후에 영양수액으로 광범위하게 사용할수 있는 정주용 지방유제로 연구되었다.

따라서, 본 실험에서는 Intralipidos 및 YPL의 안전성 평가 일환으로 기니픽, 마우스, 랫드를 이용하여 항원성 유무를 평가하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 시험물질

시험물질인 Intralipidos 및 YPL 포화용액 유백색의 액상물질로 (주)녹십자양행에서 공급받아 냉장보관하면서 사용하였다.

### 2. 실험동물

4주령의 수컷 마우스(C57BL/6)와 10주령의 수컷 랫

\*To whom correspondence should be addressed.

**Table 1.** Experimental Design in ASA Test with Guinea pigs

Test	Group	Sex	No	Serial No.	Sensitization	Challenge
ASA	1	M	5	ASAM 1-5	YPL+CFA (sc)	YPL (iv)
	2	M	5	ASAM 6-10	YPL+Intralipidos+CFA (sc)	YPL+Intralipidos (iv)
	3	M	5	ASAM 11-15	Intralipidos+CFA (sc)	Intralipidos (iv)
	4	M	5	ASAM 16-20	BSA+CFA (sc)	BSA (iv)
	5	M	5	ASAM 21-25	Saline+CFA (sc)	Saline (iv)

YPL (3 ml/animal); YPL+Intralipidos (3 ml/animal); Intralipidos (3 ml/animal); BSA, Bovine Serum Albumin (18 mg/3 ml/animal); Saline, 0.9% (w/v) saline (3 ml/animal); CFA, Complete Freund's Adjuvant; sc, subcutaneous injection; iv, intravenous injection.

드(Sprague Dawley)는 서울대학교 실험동물사육장에서, 3개월령의 기니픽(Hartley)은 삼육실험동물연구센터에서 구입하여 실험에 사용하였다. 모든 동물은 약 1주간 순화시키면서 건강한 동물만을 선택하여 실험에 사용하였다. 실험기간중 사육실 환경조건은 온도  $23 \pm 3^\circ\text{C}$ , 상대습도  $50 \pm 10\%$ , 환기 회수 10~12회/hr, 조명 시간(오전 7시~오후 7시), 조도 150~200 Lux로 설정된 서울대학교 수의과대학 동물사육장 동물실험실 5호실에서 실시하였다. 모든 동물에서 사료와 음수는 자유급여하였으며, 기니픽은 음수에 0.01% vitamin C(삼육실험동물센터)을 녹여 공급하였다.

### 3. 시험군의 구성, 투여농도 및 용량

#### 1) ASA (active systemic anaphylaxis test) (Table 1)

시험군의 구성은 YPL 포화용액 투여군(제 1군), YPL+intralipidos(1 : 1) 혼합투여군(제 2군), intralipidos 투여군(제 3군), BSA(제 4군), saline(제 5군)을 두었고, 실험 제 0, 4일에 각 시험물질과 complete Freund's adjuvant와 같은 양 섞어 피하로 감작투여하였고, 제 14일과 제 24일에 정맥 내 주사로 유발투여하여 anaphylactic shock를 관찰하였다.

#### 2) C57BL/6 마우스를 이용한 항혈청생산, PSA test 및 PCA test(Tables 2, 3 and 4)

C57BL/6 마우스를 각군당 6마리씩 5개군으로 나누어 CFA를 동량혼합하여 2주 간격으로 총 3회 피하감작시켰다. 최종감작 투여후 10일 후에 부검하여 배대정맥에서 채혈하여 실온에서 3시간 응고시킨후 원심분리하여 항혈청을 얻었다. 분리한 항혈청은  $-20^\circ\text{C}$ 에서 보관하여 두었다가 PSA 및 PCA test에 사용하였다.

PSA test는 C57BL/6 마우스를 이용하여 생산된 항혈청을 기니픽에 정맥주사한 후 18시간 경과하였을 때 각 시험물질을 정맥내 주사하여 anaphylactic shock를 관찰하였다.

PCA test는 IgE 항체의 생산능력을 관찰하기 위한 실험으로 C57BL/6 마우스를 항원감작시켜 얻은 항혈청을 0.9% saline으로 계단희석하여 피내로 주사하고 24시간 후에 각 항원과 Evan's blue 혼합액(1 : 1)을 각각 꼬리정맥내로 주사한 다음 30분경과 후에 피부를 박리하여 주사부위에 생성된 청색반점을 확인하였다.

**Table 2.** Experimental Design in Producing Antisera with Mice

Group	Sex	No.	Serial No.	Dose
1	M	6	M1-6	YPL+CFA (sc)
2	M	6	M7-12	YPL+Intralipidos+CFA (sc)
3	M	6	M13-18	Intralipidos+CFA (sc)
4	M	6	M19-24	BSA+CFA (sc)
5	M	6	M25-30	Saline+CFA (sc)

YPL (0.3 ml/animal); YPL+Intralipidos (0.3 ml/animal); Intralipidos (0.3 ml/animal); BSA, Bovine Serum Albumin (18 mg/0.3 ml/animal); Saline, 0.9% (w/v) saline (0.3 ml/animal); CFA, Complete Freund's Adjuvant; sc, subcutaneous injection; iv, intravenous injection.

**Table 3.** Experimental Design in PSA Test with Guinea pigs

Test	Group	Sex	No.	Serial No.	Sensitization	Challenge
PSA	1	M	2	PSAM1-2	Mouse anti-YPL (0.2 ml, iv)	YPL (3 ml, iv)
	2	M	2	PSAM3-4	Mouse anti-YPL+Intralipidos (0.2 ml, iv)	YPL+Intralipidos (3 ml, iv)
	3	M	2	PSAM5-6	Mouse anti-Intralipidos (0.2 ml, iv)	Intralipidos (3 ml, iv)

YPL (3 ml/animal); YPL+Intralipidos (3 ml/animal); Intralipidos (3 ml/animal); sc, subcutaneous injection; iv, intravenous injection.

**Table 4.** Experimental Design in PCA Test with rats

Test	Group	Sex	No	Serial No.	Sensitization	Challenge
PCA	1	F	3	PCAF 1-3	Mouse anti-YPL (0.1 ml, id)	YPL+EB (3 ml, iv)
	2	F	3	PCAF 4-6	Mouse anti-YPL+Intralipidos (0.1 ml, id)	YPL+Intralipidos+EB (3 ml, iv)
	3	F	3	PCAF 7-9	Mouse anti-Intralipidos (0.1 ml, id)	Intralipidos+EB (3 ml, iv)
	4	F	3	PCAF 10-12	Mouse anti-BSA (0.1 ml, id)	BSA+EB (3 ml, iv)
	5	F	3	PCAF 13-15	Mouse anti-saline (0.1 ml, id)	Saline+EB (3 ml, iv)

YPL (3 ml/animal); YPL+Intralipidos (3 ml/animal); Intralipidos (3 ml/animal); BSA, Bovine Serum Albumin (18 mg/3 ml/animal); Saline, 0.9% (w/v) saline (3 ml/animal); EB, Evan's blue (10 mg/ml); id, intradermal injection; iv, intravenous injection.

#### 4. 관찰자료의 해석 및 평가

##### 1) Active systemic anaphylaxis (ASA), Passive systemic anaphylaxis (PSA)

Anaphylaxis의 유무를 불안, 기모, 진전, 코를 문지르거나 핥음, 재채기, 기침, 호흡촉진, 배뇨, 배변, 유루, 호흡곤란, 짹짹거리는 소리, 청색증, 보행불안, 도약, 혈떡거리고 몸부림침, 경련, 황와, Cheyne-Stokes 호흡, 사망 등을 관찰하여 종합적으로 shock 정도에 따라 음성(0)은 아무런 임상증상이 관찰되지 않을 때, 경증(A)은 불안, 전신떨림, 코비비기, 재채기 등이 나타날 때, 중등도(B)는 배뇨, 호흡곤란, 도약 및 돌진 등이 관찰될 때, 중증(C)은 비틀기, 경련, 사망이 관찰된 경우로

판정하였다.

##### 2) Passive cutaneous anaphylaxis (PCA)

주사부위에 관찰되는 청색반점의 생성여부를 관찰하여 청색반점의 직경((장경+단경)/2)이 5 mm 이상의 크기일 때 Anaphylaxis와 관련이 있는 IgE가 생성되었으므로 판정하였다.

### III. 결과 및 고찰

#### 1. Active Systemic Anaphylaxis (Tables 5 and 6)

Anaphylaxis의 유무를 평가하기 위해 각군의 기니

**Table 5.** Active systemic anaphylaxis symptoms of each groups of male guinea pigs after first challenge with test chemical

Group	YPL		YPL+Intralipidos		Intralipidos		BSA		Saline	
	No. of animal		5		5		5		5	
Symptoms	±	+	±	+	±	+	±	+	±	+
Restlessness	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0
Piloerection	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Tremor	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Rubbing or licking nose	0	0	0	0	0	0	1	4	0	0
Sneezing	0	0	0	0	0	0	3	2	0	0
Coughing	0	0	0	0	0	0	1	4	0	0
Hyperpnea	0	0	0	0	0	0	1	4	0	0
Urination	0	0	0	0	0	0	4	1	0	0
Evacuation	0	0	0	0	0	0	1	4	0	0
Lacrimation	0	0	0	0	0	0	4	1	0	0
Dyspnea	0	0	0	0	0	0	4	1	0	0
Rhonchus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Cyanosis	0	0	0	0	0	0	4	1	0	0
Staggering gait	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Jumping	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Gasping and writhing	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Convulsion	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Side position	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Cheyne-Stokes respiration	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Death	0		0		0		1		0	
Evaluation of the intensity	0		0		0		C		0	

YPL (3 ml/animal); YPL+Intralipidos (3 ml/animal); Intralipidos (3 ml/animal); BSA, Bovine Serum Albumin (18 mg/3 ml/animal); Saline, 0.9% (w/v) saline (3 ml/animal); sc, subcutaneous injection; iv, intravenous injection. 0, normal; A, weak; B, moderate; C, severe.

**Table 6.** Active systemic anaphylaxis symptoms of each groups of male guinea pigs after second challenge with test chemical

Group No. of animal	YPL		YPL+Intralipidos		Intralipidos		BSA		Saline	
	5		5		5		4		5	
Symptoms	±	+	±	+	±	+	±	+	±	+
Restlessness	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0
Piloerection	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Tremor	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
Rubbing or licking nose	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0
Sneezing	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0
Coughing	0	0	0	0	0	0	1	3	0	0
Hyperpnea	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0
Urination	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0
Evacuation	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0
Lacrimation	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0
Dyspnea	0	0	0	0	0	0	1	3	0	0
Rhonchus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Cyanosis	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0
Staggering gait	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0
Jumping	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
Gasping and writhing	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0
Convulsion	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0
Side position	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0
Cheyne-Stokes respiration	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0
Death	0		0		0		1		0	
Evaluation of the intensity	0		0		0		C		0	

YPL (3 ml/animal); YPL+Intralipidos (3 ml/animal); Intralipidos (3 ml/animal); BSA, Bovine Serum Albumin (18 mg/3 ml/animal); Saline, 0.9% (w/v) saline (3 ml/animal); sc, subcutaneous injection; iv, intravenous injection. 0, normal; A, weak; B, moderate; C, severe.

픽을 0일과 4일에 2회 감작시키고 14일, 24일 2회에 걸쳐 뒷발목 정맥(tarsal vein)으로 유발투여를 하였다.

BSA 투여군에서는 첫번째 정맥 유발 투여시 불안, 진전, 코를 문지르거나 핏몸, 재채기, 기침, 청색증, 보행불안, 유루, 경련, 황와, Cheyne-Stokes 호흡 등 보통의 anaphylatic shock를 보이다가 1마리가 폐사하였으

**Table 7.** Experimental results of Passive systemic anaphylaxis test

Group	Antiserum	Antigen	Results
1	Mouse anti-YPL	YPL	Normal
2	Mouse anti-YPL +Intralipidos	YPL+Intralipidos	Normal
3	Mouse anti-Intralipidos	Intralipidos	Normal

YPL (3 ml/animal); YPL+Intralipidos (3 ml/animal); Intralipidos (3 ml/animal); sc, subcutaneous injection; iv, intravenous injection.

**Table 8.** Passive cutaneous anaphylaxis test in rats with sera of sensitized mice

Sensitized Antigen (0.1 ml, id)	Challenged Antigen (3 ml, iv)	No. of animal		Dilution of antisera in sensitized mice									
		Mouse	Rat	×2	×4	×8	×16	×32	×64	×128	×256	saline	
Mouse Anti-YPL	YPL+Evan's blue	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		3	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mouse Anti-YPL +Intralipidos	YPL+Intralipidos +Evan's blue	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		5	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		6	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mouse Anti-Intralipidos	Intralipidos +Evan's blue	7	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		8	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		9	9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mouse Anti-Bovine Serum Albumin	Bovine Serum Albumin +Evan's blue	10	10	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
		11	11	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
		12	12	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Mouse Anti-Saline	Saline +Evan's blue	13	13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		14	14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		15	15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

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

[±]: approximately equal 5 mm of PCA titer.

[+]: more 5 mm of PCA titer.

YPL (3 ml/animal); YPL+Intralipidos (3 ml/animal); Intralipidos (3 ml/animal); BSA, Bovine Serum Albumin (18 mg/3 ml/animal); Saline, 0.9% (w/v) saline (3 ml/animal), EB, Evan's blue (10 mg/ml); id, intradermal injection; iv, intravenous injection.

며, 두번째 정맥주사시에도 심한 anaphylactic shock를 보이다가 1마리가 폐사하였다. YPL 투여군, YPL+ Intralipidos 투여군, 그리고 Intralipidos 투여군에서는 14일째의 첫번째 유발투여시와 24일째의 두번째 유발투여시 anaphylaxis shock로 보여지는 증상을 나타내지 않았다.

### 2. Passive Systemic Anaphylaxis (Table 7)

PSA 실험결과, 모든 군에서 sensitized antiserum에 대한 anaphylaxis는 관찰할 수 없었다.

### 3. Passive Cutaneous Anaphylaxis (Table 8)

Anaphylaxis와 관련있는 IgE가 생성되는지를 판정하기 위해 PCA 시험을 하였다. 각 항혈청을 희석하여 피내주사하고 항원과 Evan's Blue 혼합용액을 정맥주사한 결과는 Table 8와 같다.

BSA 투여군(18 mg/3 ml/animal)에의 경우 24배 희석배율까지 5 mm 이상크기의 청색반점을 나타내었으나, YPL 투여군, YPL+Intralipidos 투여군, 그리고 Intralipidos 투여군의 경우에서 유의할 만한 청색반점을 관찰할 수 없었다.

따라서, Intralipidos 및 YPL 포화용액은 ASA, PSA test에서 시험물질 및 항혈청에 대한 anaphylactic shock를 유발하지 않으며, PCA test에서도 특이한 IgE를 형성하지 않는 것으로 사료된다.

## 감사의 글

본 연구는 서울대학교 수의과대학 수의과학연구소의 지원에 의해 수행되었음.

## 참고문헌

- Douglas, W., Wilmore. (1973): Clinical Evaluation of 10% Intravenous Fat Emulsion for Parenteral Nutrition in Thermally Injured Patients. *Ann. Surg.* 503-511.
- English Wolford, S.T., Schroer, R.A., Gohs, F.X., Gallo, P.P., Brodeck, M., Falk, H.B. and Ruhren, R. (1986): Reference range data base for serum chemistry and hematology values in laboratory animals, *J. Toxicol. Environm. Health*, **18**, 161-188.
- Jorgen nordenstrom. (1982): Metabolic utilization of intravenous fat emulsion during total parenteral nutrition. *Ann. Surg.* 221-231.
- Madeleine J Ball (1991): Hematological and biochemical effects of parenteral nutrition with medium-chain triglycerides, comparison with long-chain triglyceride. *Am J Clin Nutr*, **53**, 916-922.
- Richard, J., Deckbaum. (1990): Medium-chain versus Long-chain Triacylglycerol Emulsion Hydrolysis by Lipoprotein Lipase and Hepatic Lipase: Implications for the Mechanisms of Lipase Action. *Biochemistry*, **29**, 1136-1142.
- 식품의약품안전본부(1996): 의약품 등의 독성시험 기준, 식품의약품안전본부 고시 제 96-8호.