

## CJ-50002(비브리오백신)의 랫드에 대한 4주간 경구 반복투여 독성연구

윤병일 · 정수연 · 김달현\* · 이영수\* · 김대용  
서울대학교 수의과대학, \*제일제당 중앙연구소

### Four-Week Oral Toxicity Study of CJ-50002 (Vibrio Vaccine) in Rats

Byung-Il Yoon, So-Yun Jung, Dal-Hyun Kim\*, Young-Soo Lee\* and Dae-Yong Kim

College of Veterinary Medicine, Seoul National University, Suwon 441-744,  
Korea and CheilJedang Corporation, Dokpyung-Ri,  
Majang-Myon, Ichon-shi, 467-810\*  
(Received October 20, 1998)  
(Accepted December 15, 1998)

**ABSTRACT** : This study was performed to evaluate the subacute toxicity of CJ-50002 (Vibrio vaccine) in SPF Sprague-Dawley (SD) rats. Vibrio vaccine was administered orally at a dose level of high (167 mg/kg/day), medium (16.7 mg/kg/day), and low (1.67 mg/kg/day) once a day and repeated for 4 weeks. Ten males and female rats were assigned to each group. After 4 week administration, no significant dose-dependent changes in body weight, water and food consumption rate or organ weight were noted among 4 groups. Urinalysis, hematology, and serum chemistry, also fail to detect any dose-related change among 4 groups tested. During necropsy and histopathological examination, no specific toxicity related to treated material was found. The results of this study demonstrated that vibrio vaccine when administered orally for 4 weeks at a high dose of 167 mg/kg/day, no dose-related toxicity was found in treated male and female rats.

## I. 서 론

*Vibrio (V.) vulnificus*는 호염성의 그람 음성 간균으로서 바닷물이나 어패류에 서식하며 사람의 비브리오 패혈증의 주원인균으로 알려져 있다 (하와 박, 1988). 주된 감염경로로는 특히 여름철에 균에 오염된 어패류나 굴을 생식하는 경우와 기존의 상처부위가 균에 오염된 바닷물에 노출하여 발생하는 창상감염증이다 (하와 박, 1988; 주 등, 1989). 특히 간질환이나 당뇨병과 같이 질환을 앓고 있는 경우에는 더욱 쉽게 패혈증을 일으키며 치사율은 무려 60%에서 80%에 이른다 (하와 박, 1988). *V. vulnificus*는 또한 드물게는 수막염 (meningitis), 폐렴, 각막염 및 자궁내막염 등을 일으키는 것으로 알려져 있다. *V. vulnificus*는 여러가지 독소나 세포외효소를 생산하기 때문에 병의 진행속도가 매우 빠르며 일단 쇼크에 이르면 집중적인 항생제 치료를 해도 회복될 가능성이 매우 적다 (Kreger 등, 1984; Miyoshi 등, 1987; 이 등, 1987; 주 등, 1989; 고와 박, 1992; Lee 등, 1997). 특히 우리나라의 경우에는 어패

류나 해초류를 생식하는 식생활 습관 때문에 여름철에 *V. vulnificus*의 패혈증에 의한 사망율이 다른 나라에 비해 월등히 높다. 최근에 (주)제일제당에서는 *V. vulnificus*균의 세포외막 단백질을 주요항원으로 하는 경구용 비브리오 백신(CJ-50002)을 개발한 바 있다.

본 실험에서는 (주)제일제당 연구소에서 개발한 비브리오 백신에 대한 안전성 평가의 일환으로 시험물질인 비브리오백신을 4주간 랫드에 매일 1회 경구로 반복 투여하면서 시험기간 동안 임상증상을 관찰하고 시험종료 후에는 임상병리학적 검사와 부검을 포함한 병리조직학적 검사를 실시하여 시험물질의 안전성을 평가하였다.

## III. 재료 및 방법

### 1. 시험물질

Lot No. VIB705는 미황색 분발로 (주)제일제당 중앙 연구소에서 공급받아 시험에 사용하였다. 시험물질은 냉장에 보관하여 사용하였으며 각 투여군의 농도에 따

라 증류수에 현탁하여 사용하였다. 대조군은 증류수만을 투여하였다.

## 2. 시험동물 및 사육환경

시험동물로는 특정병원균 부재 Spraque-Dawley(SD)계 랫드 암·수 각각 50마리씩을 일본의 Charles River로부터 분양 받아 3주간 사육환경에 순화시키면서 그 기간 중 임상증상을 관찰하고 체중감소가 없는 건강한 동물만을 시험에 공시하였다. 순화 및 사육은 온도  $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ , 상대습도  $50\pm 5\%$ , 조명시간 12 hr 및 삼중 여과장치 가 갖추어진 환경제어기기(대중기기 상사)안에서 사육하였다. 시험동물은 랫드용 polycarbonate 케이지에 케이지 당 암수 분리하여 각각 5마리씩 사육하였다. 랫드형 고품사료(제일제당)를, 음수는 수돗물을 자유섭취시켰다.

## 3. 시험군의 구성 및 용량설정

동물은 암수 각 40마리를 무작위법으로 군분리를 실시하였다. 각 군간의 체중을 고르게하여 시험물질에 대한 3개의 투여군 및 대조군으로 군당 암수 10마리씩을 배정하였다. 각 군의 동물체중에 대한 군간의 차이는 ANOVA 검정을 실시하여 확인하였다. 투여용량은 대조군의 경우 주사용 증류수를, 투여군의 경우 저용량군으로 1.67 mg/kgBW, 중용량군으로 16.7 mg/kgBW, 그리고 고용량군으로 167 mg/kgBW을 설정하였다.

## 4. 약물의 조제 및 투여방법

시험물질은 주사용 증류수를 용매로하여 조제하였으며, 시험물질의 투여는 랫드 경구 투여용 존데를 사용하여 1일 1회, 주 7회로 4주간 반복 투여하였다.

## 5. 관찰항목

### 1) 일반증상관찰

모든 실험동물에 대하여 매일 1회 일정한 시간에 일반증상의 변화와 폐사 및 빈사유무를 관찰하였다.

### 2) 체중, 사료섭취량 및 음수량 측정

시험기간 중 체중은 주 2회 측정하였으며, 사료와 음수량도 역시 주 2회 사육케이지 별로 측정하여 군별로 1일 소비량을 표시하였다.

### 3) 뇨검사

시험 마지막 주에 모든 실험동물에서 뇨를 채취하여 N-multistix 시험지를 이용하여 뇨의 잠혈, 뇨단백, 질소, 뇨담즙색소, 뇨빌리노젠, 케톤체, 당 및 뇨의 pH를 측정하였다.

### 4) 혈액학적 검사

혈액학적 검사를 위하여 랫드의 후대정맥으로부터 혈액을 채취하여 EDTA 항응고제가 처리된 CBC vial (녹십자 의료공업)에 1.5 ml씩 분주한 후 5분 동안 잘 교반하여  $4^{\circ}\text{C}$  냉장상태로 보관한 다음 자동혈구 측정기(Technicon사의 H1 system)를 이용하여 적혈구수(RBC), 백혈구수(WBC), 혈색소량(Hb), 적혈구용적(PCV), 평균적혈구혈색소농도(MCHC), 평균적혈구혈색소량(MCH), 평균적혈구용적(MCV), 혈소판수(platelet), 임파구(lymphocyte), 호중구(neutrophil), 호산구(eosinophil), 호염구(basophil) 및 단핵구(monocyte) 등의 수를 측정하였다.

### 5) 혈액응고시간의 측정

부검시 랫드의 후대정맥에서 채취한 혈액을 3.8% sodium citrate가 들어있는 용기에 9:1의 비율로 섞어 잘 교반시킨 후 얻은 혈장을 혈액응고시간측정기를 사용하여 prothrombin time(PT), activated partial thromboplastin(APTT) 및 thrombin time(TT)을 측정하였다.

### 6) 혈청생화학적 검사

혈청생화학검사를 위하여 에테르 마취 하에 후대정맥에서 채혈한 혈액을 실온에서 약 30분간 방치하여 응고시킨 다음 3,000 rpm으로 20분 동안 원심분리하여 혈청을 분리하였다. 분리한 혈청은 혈청생화학자동분석기(Technicon사의 RA-XT)를 이용하여 alanine aminotransferase(ALT), aspartate aminotransferase(AST), alkaline phosphatase(ALP), total bilirubin, albumin, lactate dehydrogenase(LDH), creatine kinase(CK), blood urea nitrogen(BUN), creatinine, glucose, cholesterol, triglyceride, total protein, inorganic phosphorus, calcium, sodium, potassium, chloride 및 A/G를 측정하였다.

### 7) 부검 및 장기중량 측정

시험종료 후 모든 동물을 부검 하루 전에 절식시킨 다음 부검직전에 체중을 측정하였다. 에테르 마취 후 방열 치사시킨 다음 모든 장기에 대하여 육안검사를 실시하였다. 전 실험동물에 대하여 뇌, 뇌하수체, 폐장, 간장, 비장, 신장(좌·우), 갑상선(좌·우), 부신(좌·

우), 심장, 흉선, 고환(좌·우) 또는 난소(좌·우)의 중량을 측정하였다.

8) 병리조직학적 검사

병리조직학적 검사를 위하여 뇌, 뇌하수체, 피부, 기관, 폐장, 심장, 흉선, 악하 및 장간막 임파절, 비장, 허, 타액선, 식도, 위, 소장, 대장, 간장, 신장, 부신, 갑상선, 방광, 췌장, 고환, 전립선, 정낭, 난소, 자궁, 질, 골격근, 골 및 골수 등을 10% 중성완충 포르말린에 7일간 충분히 고정시켰다. 대퇴골은 Planko-Rycho 용액으로 3일간 탈회시켰다. 고정된 모든 실질장기와 탈회된 골조직을 5 mm 정도로 절편한 후 일반적인 조직처리과정을 거쳐 파라핀 포매기(Reichert-Jung)를 이용하여 포매하였다. 포매된 조직을 마이크로톰으로 4 µm로 박절한 후 Hematoxylin & Eosin 염색을 실시하여 광학현미경하에서 병리조직학적 검사를 실시하였다.

9) 통계학적 분석

체중, 사료 및 음수량, 혈액학적 측정값, 혈액응고시간 측정값, 혈청생화학적 측정값, 장기중량값에 대하여 ANOVA test와 Dunnett's test를 실시하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 일반증상관찰

시험 전 기간에 걸쳐 대조군과 모든 처치군 암수 모두에서 특이할만한 임상증상을 관찰할 수 없었으며, 사망한 동물도 발견되지 않았다.

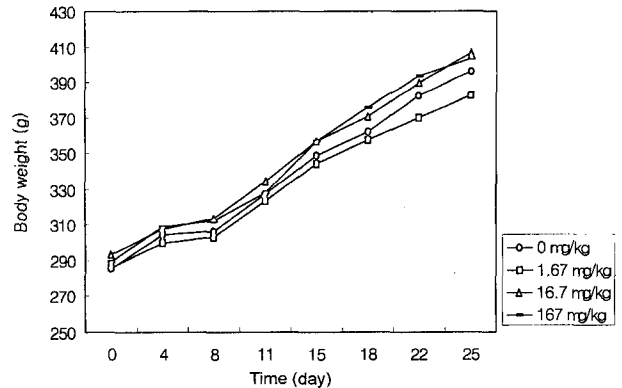


Fig. 1. Body weight change in male rats orally administered with VIB705 for 28 days. There were no significant differences between control and other treatment groups.

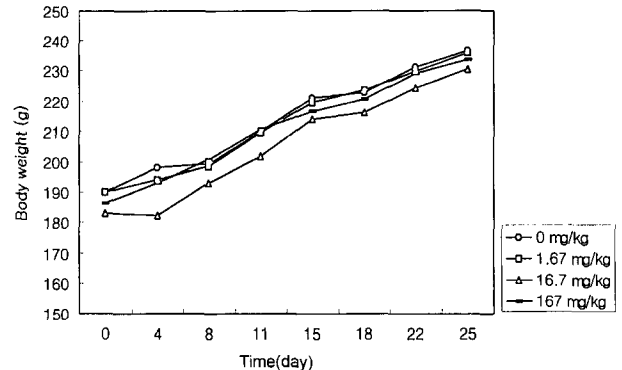


Fig. 2. Body weight change in female rats orally administered with VIB705 for 28 days. There were no significant differences between control and other treatment groups.

2. 체중, 사료섭취량 및 음수량의 변화

시험 전 기간동안의 체중증가율(Figs. 1, 2) 음수섭취량 및 사료섭취량(Tables 1, 2)에 있어서 암수 모두 대

Table 1. Daily mean food uptake in rats administered with VIB705 for 28 days (unit : g)

Sex	Day	Group Dose (mg/kg/day) No. of animal	Control	Low	Middle	High
			0 10	1.67 10	16.7 10	167 10
Male	0		25.0±1.41 <sup>a)</sup>	25.0±1.41	25.0±1.41	25.0±1.41
	4		23.0±0.00	20.5±2.12	21.0±4.24	23.5±0.71
	8		19.2±1.13	20.0±0.00	21.9±2.69	19.0±1.41
	11		20.1±1.41	20.0±0.00	20.7±0.92	17.0±4.24
	15		25.5±0.71	25.0±1.41	27.0±4.24	24.0±2.83
	18		24.0±0.00	22.5±0.99	18.5±4.95	23.5±0.71
	22		26.5±0.71	24.0±0.00	25.8±2.48	25.5±0.71
	25		21.5±0.71	24.0±0.00	24.5±0.71	24.0±2.83
Female	0		18.0 <sup>a)</sup> ±0.00	14.5±2.12	13.0±1.41	15.0±1.41
	4		13.5±0.71	13.7±0.99	9.0±1.41	13.0±0.00
	8		13.7±1.84	15.0±1.41	15.0±0.00	16.8±1.06
	11		13.0±0.00	13.0±0.00	13.5±0.71	18.5±9.19
	15		18.5±0.71	15.0±1.41	14.5±2.12	15.5±0.71
	18		15.2±1.13	15.0±0.00	14.0±0.00	14.3±2.48
	22		21.0±7.07	16.0±0.00	15.0±1.41	14.5±0.71
	25		16.0±0.00	18.0±2.83	16.0±1.41	22.0±2.83

<sup>a)</sup> Values were expressed as mean ± S.D.



**Table 4.** Hematological values in rats administered with VIB705 for 28 days

\Sex	Male				Female			
	\Group \Dose (mg/kg/day) \No. of animal	Control 0 10	Low 1.67 10	Middle 16.7 10	High 167 10	Control 0 10	Low 1.67 10	Middle 16.7 10
WBC ( $10^3/\mu\text{l}$ )	16.14±4.632 <sup>a</sup>	13.51±3.687	14.11±4.923	12.08±3.626	6.21±3.494	8.19±1.830	7.54±2.087	10.20±2.807*
RBC ( $10^6/\mu\text{l}$ )	8.29±0.318	8.43±0.531	8.10±0.366	8.35±0.403	7.15±0.670	7.29±0.410	7.43±0.216	7.46±0.375
Hemoglobin (g/dl)	16.0±0.58	16.0±0.96	15.9±0.60	15.9±0.62	14.1±1.01	14.6±0.78	14.8±0.41	14.7±0.55
PCV (%)	49.4±2.46	49.5±2.52	48.5±1.82	49.3±1.93	42.0±3.54	43.1±2.50	43.8±1.26	43.5±1.47
MCV (fl)	59.7±2.65	58.8±3.26	59.9±1.69	59.0±1.36	58.8±1.59	59.2±1.45	58.9±1.77	58.4±1.54
MCH (pg)	19.4±0.43	19.1±1.56	19.6±0.73	19.0±0.45	19.7±0.59	20.1±0.46	19.9±0.75	19.8±0.62
MCHC (g/dl)	32.4±1.00	32.4±1.04	32.8±0.42	32.2±0.39	33.6±0.76	33.9±0.76	33.7±0.64	33.9±0.95
Platelet ( $10^3/\mu\text{l}$ )	823±99.2	921±74.4	969±155.7*	1025±100.2**	882±141.4	1188±108.2**	1045±169.8	1023±90.2
Neutrophil ( $10^3/\mu\text{l}$ )	1.70±0.489	1.28±0.254*	1.31±0.317*	1.15±0.148**	0.75±0.565	1.21±0.653	0.71±0.254	0.84±0.302
Lymphocyte ( $10^3/\mu\text{l}$ )	13.48±4.038	11.29±3.496	11.86±4.452	10.11±3.225	5.18±2.965	6.44±1.661	6.38±1.833	8.78±2.502*
Monocyte ( $10^3/\mu\text{l}$ )	0.47±0.244	0.44±0.189	0.42±0.203	0.36±0.153	0.12±0.051	0.25±0.103	0.23±0.097	0.27±0.143*
Eosinophil ( $10^3/\mu\text{l}$ )	0.14±0.051	0.20±0.048	0.19±0.109	0.18±0.113	0.08±0.034	0.13±0.050	0.09±0.031	0.12±0.044
Basophil ( $10^3/\mu\text{l}$ )	0.07±0.030	0.06±0.032	0.06±0.031	0.04±0.020	0.01±0.015	0.02±0.011	0.02±0.006	0.03±0.017*

<sup>a</sup>; Values were expressed as mean ± S.D.

\*: significant difference from G1 (P<0.05)

\*\* : significant difference from G1 (P<0.01)

러나, 용량상관성이 없고, 그 차이는 대조군의 소수 랫드에서의 낮은 백혈구 수와 고용량군의 일부 랫드의 높은 백혈구 수에 의한 차이에 기인한 것이어서 시험물질의 투여와 관련이 있을 것으로 생각되지 않는다. 또한, 고용량군의 백혈구 수가 비록 대조군에 비하여 유의차가 있었으나 정상 범위( $7.4\sim 12.5\times 10^3$ ) 안에 있었다(Jain, 1986). 이것은 암컷 고용량군에서의 임파구, 단핵구, 호염구의 증가에서도 모두 적용된다(Jain, 1986). 또, 수컷에서 백혈구 중 호중구의 비율이 대조군과 비교하여 처치군 모두에서 유의성 있는 감소를 나타내었다. 그러나, 호중구의 비율이 정상랫드의 범위 안에 있고(Jain, 1986) 전체 백혈구 수가 대조군에 비하여 처치군에서 아무런 차이가 없어 시험물질의 투여와 관련하여 큰 의미는 없는 것으로 판단된다. 혈소판의 수에 있어서는 수컷의 중용량군(P<0.05)과 고용량군(P<0.01)에서, 암컷의 저용량군(P<0.01)에서 대조군에 비하여 유의성 있게 증가하였다. 혈소판 수의 증가는 생리적으로 운동(exercise) 후의 혈소판의 이동성이 증가하여 나타나는 경우와 출혈, 상처, 골절, 수술 등이 있을 때 증가한다. 그러나, 정상 랫드의 혈소판 수는  $980,000\pm 187,000\sim 1,179,000\pm 257,000$  범위로 대조군과 처치군 모두 정상 범위에 포함되어있고(Jain,

1986), 소수 랫드의 혈소판 수의 높은 증가에 따른 차이에 기인한 것으로 부검 및 조직병리학적 검사에서도 혈소판 수의 증가를 일으킬 수 있는 어떤 병변도 관찰되지 않아 시험물질과 관련하여 큰 의미는 없는 것으로 사료된다(Table 9).

### 5. 혈액응고시간(Table 5)

Prothrombin(PT)의 경우 암컷과 수컷 모두에서 대조군과 비교하여 유의성 있는 차이는 관찰되지 않았다. Activated partial thromboplastin time(APTT)의 경우 수컷에서 중용량군(P<0.01)과 고용량군(P<0.01)에서 대조군과 비교하여 유의성 있는 증가를 나타내었다. Thrombin time(TT)의 경우는 수컷의 중용량군에서만 대조군과 비교하여 유의차 있는 증가가 관찰되었다(P<0.05). 그러나, 이러한 증가는 용량상관성이 없어 본 시험물질의 투여와는 관련성이 없는 것으로 판단된다.

### 6. 혈청생화학적 검사(Table 6)

AST, alkaline phosphatase, creatine kinase 값에 있

**Table 5.** Coagulation time (PT, APTT, TT) in rats administered with VIB705 for 28 days (unit : second)

Sex	\Group \Dose (ml/kg/day) \No. of animal	Control	Low	Middle	High
		0 10	1.67 10	16.7 10	167 0
Male	PT	15.8±0.37 <sup>a)</sup>	16.2±0.61	16.4±1.10	15.6±0.83
	APTT	32.6±5.89	37.5±7.35	51.6±9.69**	45.4±13.22**
	TT	24.3±1.86	25.9±2.55	27.8±2.02*	25.9±1.96
Female	PT	13.9±0.63	14.0±0.46	13.9±0.38	14.0±0.48
	APTT	37.8±4.93	39.0±7.26	34.3±4.82	31.8±3.98
	TT	27.7±1.70	26.7±2.14	28.0±1.20	29.5±0.98

<sup>a)</sup>; Values were expressed as mean ± S.D.

\*; significant different from control (p<0.05)

\*\*; significant different from control (p<0.01)

**Table 6.** Serum chemistry value in rats administered with VIB705 for 28 days

\Sex	Male				Female			
	\Group \Dose (mg/kg/day) \No. of animal	Control 0 10	Low 1.67 10	Middle 16.7 10	High 167 10	Control 0 10	Low 1.67 10	Middle 16.7 10
ALT (U/l)	30±5.3 <sup>a</sup>	27±4.9	25±5.7	28±3.8	28±4.3	24±3.8	23±6.7	22±4.7
AST (U/l)	87±15.3	95±9.5	113±26.7**	118±22.1**	107±26.2	125±91.4	103±25.3	88±9.9
ALP (U/l)	174±42.3	149±33.2	132±19.7**	132±24.1**	106±42.2	92±23.8	85±12.3	85±26.4
T. Bilirubin (mg/dl)	0.2±0.19	0.1±0.14	0.4±0.21*	0.3±0.16	0.2±0.19	0.3±0.25	0.2±0.22	0.0±0.05
LDH (U/l)	513±199.6	643±189.5	852±120.3	722±215.6	697±226.6	692±202.9	741±141.5	524±97.1
Albumin (g/dl)	3.9±0.31	3.7±0.18	3.7±0.18	3.7±0.14	4.1±0.31	4.1±0.24	4.0±0.21	3.8±0.27
CK (U/l)	318±125.0	391±101.8	726±223.5**	682±303.4**	474±191.2	533±354.2	409±89.2	326±59.3
BUN (mg/dl)	17±2.8	16±2.5	14±2.1	15±2.5	20±5.4	18±3.8	17±2.3	15±1.9**
Creatinine (mg/dl)	0.9±0.14	0.7±0.09*	0.7±0.08*	0.7±0.08*	0.9±0.13	0.9±0.11	0.9±0.10	0.9±0.10
Glucose (mg/dl)	142±12.9	119±22.2**	137±18.5	114±9.7**	92±9.3	99±19.1	97±8.0	112±20.8*
Cholesterol (mg/dl)	64±7.6	63±10.5	65±13.8	61±9.6	71±10.5	65±11.8	78±16.2	67±10.3
Triglyceride (mg/dl)	85±21.6	80±12.6	93±33.0	70±16.1	55±14.7	69±26.8	50±10.5	46±6.1
T. Protein (g/dl)	6.0±0.32	5.9±0.17	5.9±0.36	6.1±0.24	6.1±0.30	6.1±0.24	6.1±0.27	5.8±0.35*
I. Phosphorus (mg/dl)	9.5±1.57	9.2±1.18	8.7±0.79	8.6±1.14	8.0±0.68	7.2±0.55	7.4±0.78	7.0±1.15
Calcium (mg/dl)	7.6±0.48	7.3±0.49	7.3±0.27	7.3±0.24	8.2±0.39	8.1±0.28	8.0±0.43	7.5±0.32**
Sodium (mEq/l)	150.8±3.72	153.8±1.98	153.0±2.25	151.2±4.67	143.0±9.18	143.6±10.49	142.6±6.37	137.7±5.16
Potassium (mEq/l)	6.07±0.688	6.01±0.856	5.45±0.460*	5.21±0.438**	6.58±0.787	5.98±0.784	5.57±0.952**	4.87±0.254**
Chloride (mEq/l)	98±2.0	101±1.7**	101±1.5**	101±1.9**	102±2.9	102±3.2	104±3.0	101±2.1
A/G ratio	1.9±0.31	1.7±0.17*	1.7±0.13**	1.6±0.08**	2.1±0.24	2.0±0.19	1.9±0.17	2.0±0.14

<sup>a)</sup>; Values were expressed as mean ± S.D.

\*; significant difference from G1 (P<0.05)

\*\*; significant difference from G1 (P<0.01)

어 수컷의 경우 대조군과 비교하여 중용량군(P<0.01)과 고용량군(P<0.01)에서 유의차 있게 증가하였다. AST는 모든 장기에 분포하고 있어 장기 특이적인 항목은 아니나 일반적으로 심근을 포함한 근육의 손상이 있을 때 CK와 함께 증가한다(Coles, 1986). 본 시험의 경우 중용량군과 고용량군에서의 CK 값의 증가는 극소수(1~2마리)의 랫드에서의 높은 수치에 기인한 것이며, CK 값과 AST 값이 증가한 랫드에서 이 두 가지 항목의 상호 관련성을 찾지 못하였다. 또한, AST 값의 경우 대조군 및 처치군 모두가 정상의 범위 안에 있으며, 부검 및 병리조직학적 검사에서 이와 관련된 어떤 장기에서의 병변도 관찰되지 않았다. 따라서, AST와 CK의 증가는 약물의 투여와 관련이 없는 것으로 판단된다. 또, creatinine은 수컷에서 투여군 전체가 대조군에 비하여 유의성 있는 감소(P<0.05)를 나타내었으며, glucose에 있어서는 대조군과 비교하여

수컷의 경우 저용량군(P<0.01)과 고용량군(P<0.01)에서, 암컷의 경우 고용량군(P<0.05)에서 유의차 있게 낮게 나타났다. 또, 총 단백질양(T. protein)과 BUN 값은 고용량의 암컷에서 대조군에 비하여 유의성 있게 감소하였다(P<0.05). 칼슘농도에 있어서는 암컷의 고용도군에서 대조군과 비교하여 유의차 있게 낮았다. A/G ratio 값에 있어서는 수컷의 저용량군(P<0.05), 중용량군(P<0.01), 고용량군(P<0.01)에서 모두 대조군과 비교하여 유의성 있는 감소를 나타내었다. 그러나, 암컷에서의 BUN 값, 총 단백질양, 칼슘농도 및 수컷에서의 A/G ratio 값에 있어서는 대조군과 처치군간의 차이가 매우 미약하였으며, glucose에 있어서는 용량 상관성이 인정되지 않았다. 또한, 이상의 모든 값들은 대조군과의 차이에도 불구하고 모두 정상의 범위 안에 있어 시험물질과 관련하여 큰 의미는 없을 것으로 판단된다. 다만, 칼륨(potassium)의 경우 암컷과 수컷 모

두에서 대조군과 비교하여 중용량군과 고용량군에서 용량상관성 있게 감소하여 시험물질의 투여와 관련이 있을 것으로 사료되었다. 수컷의 경우 chloride 값에 있어서 대조군에 비하여 미약하지만 처치군 모두에서 유의성 있는 증가를 나타내었는데, 칼륨의 감소와 chloride의 증가는 임상적으로 부신피질의 기능항진과 관련이 있는 것으로 알려져 있다(한 등, 1991). 그러나, 본 시험의 경우 조직병리학적 검사에서 이를 뒷받침하는 어떠한 소견도 관찰할 수 없었다(Table 9).

### 7. 부검소견

부검시 암수의 대조군과 모든 처치군에 있어서 별다른 육안적 이상소견은 관찰되지 않았다.

### 8. 장기중량의 변화(Tables 7, 8)

절대 장기중량 값에 있어서는 간장을 제외한 모든 장기중량에서 대조군과 처치군 사이에 유의할 만한 차이점은 관찰되지 않았다. 간장의 경우 수컷의 저용량군에서 대조군에 비해 절대 및 상대중량값이 유의차있게 낮았으나( $P<0.05$ ), 그 차이가 적고, 용량상관성이 없으며, 측정된 혈청생화학적 검사, 부검 및 병리조직학적 검사에서도 아무런 이상소견이 관찰되지 않아 큰 의미는 없는 것으로 판단된다. 또, 수컷의 고용량군의 경우 우측 부신의 상대중량값이 대조군에 비해 유의차 있게 컸으나, 역시 용량상관성이 없고, 병리조직학적 검사에서 이와 관련된 소견이 관찰되지 않았다. 그밖의 장기에 대한 상대중량에 있어서는 암수 모두 대조군과 모든 처치군간에 있어 유의차가 인정되지 않았다.

**Table 7.** Absolute organ weight in rats administered with VIB705 for 28 days (Unit: g)

Sex	Group/dose (mg/kg/day)	Brain	Pituitary	Thyroid (L)	Thyroid (R)	Thymus	Heart	Lung	Liver
Male	Control 0	1.96* ±0.061	0.0131 ±0.00166	0.0096 ±0.00272	0.0094 ±0.00272	0.487 ±0.0994	1.30 ±0.079	1.33 ±0.104	10.3 ±0.78
	Low 1.67	1.99 ±0.090	0.0132 ±0.00169	0.0100 ±0.00183	0.0098 ±0.00193	0.411 ±0.1324	1.24 ±0.083	1.33 ±0.116	9.2* ±0.77
	Middle 16.7	1.97 ±0.046	0.0146 ±0.00097	0.0098 ±0.00290	0.0104 ±0.00267	0.403 ±0.0864	1.24 ±0.123	1.41 ±0.149	10.2 ±1.19
	High 167	2.01 ±0.071	0.0137 ±0.00116	0.0100 ±0.00283	0.0104 ±0.00190	0.471 ±0.1087	1.30 ±0.077	1.36 ±0.114	9.99 ±0.84
Female	Control 0	1.87 ±0.068	0.0143 ±0.00347	0.0082 ±0.00162	0.0089 ±0.00208	0.426 ±0.0953	0.81 ±0.079	0.99 ±0.099	6.2 ±0.68
	Low 1.67	1.85 ±0.069	0.0156 ±0.00184	0.0089 ±0.00223	0.0091 ±0.00213	0.447 ±0.1040	0.77 ±0.064	1.02 ±0.064	5.9 ±0.56
	Middle 16.7	1.75 ±0.365	0.0149 ±0.00179	0.0086 ±0.00217	0.0084 ±0.00151	0.426 ±0.1044	0.77 ±0.060	1.10 ±0.097	5.8 ±0.45
	High 167	1.86 ±0.067	0.0156 ±0.00158	0.0094 ±0.00246	0.0095 ±0.00350	0.393 ±0.0397	0.80 ±0.034	1.08 ±0.114	5.8 ±0.30
Sex	Group/dose (mg/kg/day)	Spleen	Kidney (L)	Kidney (R)	Adrenal (L)	Adrenal (R)	Testis (L) Ovary (L)	Testis (R) Ovary (R)	
Male	Control 0	0.69 ±0.099	1.216 ±0.0849	1.227 ±0.0772	0.0302 ±0.00257	0.027 ±0.0047	1.63 ±0.0910	1.597 ±0.0843	
	Low 1.67	0.67 ±0.084	1.233 ±0.1104	1.232 ±0.1289	0.0289 ±0.00238	0.029 ±0.0032	1.624 ±0.1443	1.622 ±0.1350	
	Middle 16.7	0.64 ±0.123	1.335 ±0.1422	1.338 ±0.1563	0.0303 ±0.0044	0.027 ±0.0033	1.53 ±0.0833	1.557 ±0.0670	
	High 167	0.72 ±0.105	1.312 ±0.1355	1.338 ±0.1114	0.0328 ±0.0036	0.032* ±0.0039	1.602 ±0.0767	1.603 ±0.0773	
Female	Control 0	0.50 ±0.083	0.757 ±0.0562	0.766 ±0.0553	0.0342 ±0.00286	0.0312 ±0.00308	0.0559 ±0.01049	0.0561 ±0.00551	
	Low 1.67	0.48 ±0.051	0.750 ±0.0445	0.749 ±0.0387	0.0356 ±0.00369	0.0333 ±0.00397	0.0538 ±0.00661	0.0513 ±0.00577	
	Middle 16.7	0.46 ±0.076	0.721 ±0.0498	0.734 ±0.0350	0.0334 ±0.00395	0.0318 ±0.00539	0.048 ±0.00917	0.0544 ±0.00698	
	High 167	0.49 ±0.056	0.747 ±0.0377	0.769 ±0.0491	0.0337 ±0.00183	0.0332 ±0.00253	0.0557 ±0.00450	0.0548 ±0.00684	

<sup>a</sup>; Values were expressed as mean ± S.D.

\*: significantly different from control group ( $p<0.05$ )

**Table 8.** Relative organ weight in rats administered with VIB705 for 28 days (Unit: %)

Sex	Group/dose (mg/kg/day)	Brain	Pituitary	Thyroid (L)	Thyroid (R)	Thymus	Heart	Lung	Liver
Male	Control 0	0.511 <sup>a</sup> ±0.0453	0.0034 ±0.00054	0.0025 ±0.00084	0.0025 ±0.00081	0.126 ±0.0209	0.340 ±0.0349	0.347 ±0.0420	2.699 ±0.2708
	Low 1.67	0.532 ±0.0290	0.0035 ±0.00049	0.0027 ±0.00057	0.0026 ±0.00054	0.110 ±0.0361	0.332 ±0.0187	0.356 ±0.0301	2.449* ±0.1710
	Middle 16.7	0.505 ±0.0452	0.0037 ±0.00032	0.0025 ±0.00079	0.0027 ±0.00071	0.103 ±0.0189	0.316 ±0.0242	0.362 ±0.0413	2.602 ±0.1141
	High 167	0.514 ±0.0347	0.0035 ±0.00037	0.0025 ±0.00063	0.0026 ±0.00039	0.120 ±0.0255	0.333 ±0.0190	0.346 ±0.0177	2.550 ±0.1155
Female	Control 0	0.822 ±0.0673	0.0063 ±0.00146	0.0037 ±0.00087	0.0039 ±0.00091	0.187 ±0.0489	0.358 ±0.0226	0.436 ±0.0397	2.703 ±0.1451
	Low 1.67	0.827 ±0.0683	0.0070 ±0.00115	0.0040 ±0.00106	0.0041 ±0.00095	0.199 ±0.0434	0.344 ±0.0242	0.457 ±0.0263	2.623 ±0.1414
	Middle 16.7	0.803 ±0.1746	0.0068 ±0.00079	0.0039 ±0.00095	0.0039 ±0.00073	0.195 ±0.0458	0.351 ±0.0238	0.503 ±0.0372	2.677 ±0.1394
	High 167	0.8411 ±0.0362	0.0070 ±0.00063	0.0043 ±0.00117	0.0043 ±0.00161	0.177 ±0.0180	0.360 ±0.0141	0.488 ±0.0492	2.599 ±0.1268
Sex	Group/dose (mg/kg/day)	Spleen	Kidney (L)	Kidney (R)	Adrenal (L)	Adrenal (R)	Testis (L) Ovary (L)	Testis (R) Ovary (R)	
Male	Control 0	0.178 ±0.0193	0.318 ±0.0301	0.320 ±0.0270	0.0079 ±0.00104	0.0070 ±0.00096	0.418 ±0.318	0.417 ±0.0349	
	Low 1.67	0.180 ±0.0228	0.337 ±0.0156	0.329 ±0.0339	0.0077 ±0.00069	0.0078 ±0.00091	0.434 ±0.0426	0.434 ±0.0427	
	Middle 16.7	0.165 ±0.0309	0.341 ±0.0261	0.342 ±0.0309	0.0078 ±0.00147	0.0070 ±0.00089	0.393 ±0.0350	0.399 ±0.0295	
	High 167	0.183 ±0.0223	0.335 ±0.0242	0.342 ±0.0222	0.0084 ±0.00078	0.0081* ±0.00067	0.411 ±0.0338	0.411 ±0.0345	
Female	Control 0	0.220 ±0.0272	0.334 ±0.0240	0.338 ±0.0237	0.0151 ±0.00143	0.0138 ±0.00134	0.0248 ±0.00514	0.0247 ±0.00232	
	Low 1.67	0.212 ±0.0144	0.335 ±0.0154	0.335 ±0.0156	0.0160 ±0.00217	0.0149 ±0.00212	0.0241 ±0.00347	0.0230 ±0.00316	
	Middle 16.7	0.211 ±0.0331	0.331 ±0.0189	0.337 ±0.0141	0.0153 ±0.00194	0.0146 ±0.00241	0.0219 ±0.00360	0.0250 ±0.00312	
	High 167	0.223 ±0.0245	0.337 ±0.0230	0.347 ±0.0273	0.0152 ±0.00085	0.0150 ±0.00120	0.0251 ±0.00166	0.0247 ±0.00308	

<sup>a</sup>; Values were expressed as mean ± S.D.

\*: significantly different from control group (p&lt;0.05)

**Table 9.** Histopathological findings of rats administered with VIB705 for 28 days

Organ and Histopathology	\Group \Dose	Male		Female	
		Control 0 mg/kg	High 167 mg/kg	Control 0 mg/kg	High 167 mg/kg
No specific lesion		7/10 <sup>a</sup> (70 <sup>b</sup> )	6/10 (60)	8/10 (80)	8/10 (80)
Heart					
myocarditis, focal subacute		0/10 (0) 0	1/10 (10) 1	0/10 (0) 0	0/10 (0) 0
Lung					
alveolar septal thickening mild		2/10 (20) 2	1/10 (10) 1	1/10 (10) 0	1/10 (10) 0
aspiration pneumonia, focal lymphoid hyperplasia peribronchial		0/10 (0)	1/10 (10)	0/10 (0)	0/10 (0)
Liver					
mononuclear cell infiltration, focal		1/10 (10)	0/10 (0)	1/10 (10)	1/10 (10)
Kidney					
nephritis, interstitial mild		0/10 (0) 0	1/10 (10) 1	0/10 (0) 0	0/10 (0) 0

<sup>a</sup>; No. of animal having lesion/total No. of animal examined.<sup>b</sup>; %.



## 9. 조직병리학적 소견(Table 9)

대조군과 고농도군(167 mg/kg)에 대한 조직병리학적 검사에서 시험물질의 투여와 직접적으로 관련된 어떠한 이상소견을 관찰할 수 없었다. 일부 동물에서 폐장의 폐포벽의 비후 등이 관찰되기는 하였으나, 그 정도가 매우 미약하였으며, 대조군과의 발생정도에 있어 차이가 없었다.

## IV. 결 론

본 실험에서는 (주)제일제당 연구소에서 개발한 비브리오 백신에 대한 안전성 평가의 목적으로 시험물질인 비브리오백신을 저용량군(1.67 mg/kgBW), 중용량군(16.7 mg/kgBW) 및 고용량군(167 mg/kgBW)으로 나누어 4주간 랫드에 매일 1회, 주 7회 경구로 반복 투여하면서 시험기간 동안 임상증상을 관찰하고 시험종료 후에는 임상병리학적 검사와 부검을 포함한 병리조직학적 검사를 실시한 결과 시험물질의 투여와 관련하여 어떠한 독성변화도 관찰할 수 없었다. 따라서, 본 시험물질은 랫드에서 실시한 본 시험의 최고농도인 167 mg/kgBW까지에서 독성이 없는 것으로 판단된다.

## 참고문헌

Coles, E.H. (1986): Veterinary clinical pathology (4th edition), W.B. SAUNDERS COMPANY, Philadelphia, pp. 291-301.

Jain, N.C. (1986): Schalm's veterinary hematology (4th edition), Lea & Febiger, Philadelphia, pp. 288-298.

Kreger, A.S., Gray, L.D. and Testa, J. (1984): Protection of mice against *Vibrio vulnificus* disease by vaccination with surface antigen preparations and anti-surface antigen antisera. Infection and immunity, **45**, 537-543.

Lee, N.G., Jung, S.B., Ahn, B.Y., Kim, Y.G., Kim, J. H., Lee, Y.H., Park, W.J. and Kim, H.S. (1997): Preparation of a *Vibrio vulnificus* vaccine with immunogenicity and protective efficacy. J. Microbiol. and Biotechnol., **7**, 423-428.

Miyoshi, N., Shimizu, C., Miyoshi, S. and Shinoda, S. (1987): Purification and characterization of *Vibrio vulnificus* protease. Microbiol. Immunol., **31**, 13-25.

고명옥, 박석돈(1992): *Vibrio vulnificus*의 혈청형 : *Vibrio vulnificus* 균의 신속한 동정 방법으로서의 이용과 예측적 가치. 대한피부과학회지, **30**, 787-793.

이준행, 조순흠, 정선식(1987): Osmotic Shock에 의한 *Vibrio vulnificus* 사멸에 관한 연구. 대한미생물학회지, **22**, 109-114.

주진우, 김극찬, 조운복, 이연태, 이미현, 주성아(1989): *Vibrio vulnificus*의 사균백신과 정제 IgG의 면역효과. 대한미생물학회지, **24**, 369-380.

하대유, 박영민(1988): 한국 연안해수 및 어류에 있어서의 *Vibrio vulnificus* 분포와 분리균의 생물학적 성상. 대한미생물학회지, **23**, 27-34.

한홍율, 이정길, 이창우(1991): 수의임상병리(5판), 기전연구소, 서울, pp. 313-319.

한국식품의약품안전청(1998): 의약품 등의 독성시험 기준, 한국식품의약품안전청 고시 제 98-56호.