

## 비글개에서 CJ-50002(비브리오패균)의 4주간 경구 반복투여 독성시험

이광훈 · 제정환 · 강병철 · 이원우 · 임종희 · 정지윤 · 김달현<sup>1</sup> · 이영수<sup>1</sup> · 이영순\*

서울대학교 수의과대학 공중보건학교실 <sup>1</sup>제일제당 종합연구소

### Four-Week Oral Toxicity Studies of CJ-50002 (Vibrio Vaccine) in Beagle Dogs

Guang-Xun Li, Jeong-Hwan Che, Byeong-Cheol Kang, Won-Woo Lee, Jong-Hee Ihm,  
Ji-Yun Jung, Dal-Hyun Kim<sup>1</sup>, Young-Soo Lee<sup>1</sup> and Yong-Soon Lee\*

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

<sup>2</sup>R & D Center, CHEILJEDANG Corp. Ichon 467-810, Korea

(Received October 29, 1998)

(Accepted January 11, 1999)

**ABSTRACT:** This study was carried out to investigate the four-week oral toxicity of the CJ-50002 (Vibrio vaccine) in beagle dogs. The beagle dogs were orally administered for 28 days, with dosage of 0.5, 5, 50 mg/kg/day, respectively. Animals treated with CJ-50002 (Vibrio vaccines) did not cause any death and show any clinical signs. They did not show any significant changes of body weight, feed uptake and water consumption. There were not significantly different from the control group in urinalysis, ocular examination, hematological, serum biochemical value and histopathological examination. Therefore, CJ-50002 (Vibrio vaccine) was not indicated to have any toxic effect in the beagle dogs, when it was orally administered below the dosage 50 mg/kg/day for four weeks.

**Key Words:** CJ-50002 (Vibrio vaccine), Beagle dogs, Four-week oral toxicity

## I. 서 론

*Vibrio vulnificus*는 호염성 그람양성 미생물로서 특징적으로 원발성 및 창상감염 후의 속발성 패혈증을 일으킨다고 알려져 있다(Kelly 등, 1981). *Vibrio vulnificus*균은 바닷물이나 간기가 있는 민물, 어패류에 서식하면서 다양한 어패류나 해초류를 생식하는 식생활 습관을 갖고 있는 한국인에서 그의 발생률과 사망률이 높다고 한다(Park 등, 1991). 현재 추정되는 본 균의 병원성인자로는 cytolysin, elastase, siderophores, 항식균성 표면항원인 capsular polysaccharide(CPS) 및 lipopolysaccharide(LPS) 등이 알려져 있으며(Kreger 등, 1984; Kothary와 Kreger, 1985), 이들 중 CPS와 LPS는 *V. vulnificus*에 의한 감염을 예방하기 위한 백신개발에 항원으로 사용되었다(Lee 등, 1997). 그러므로 *Vibrio vulnificus*의 발생률과 사망률을 감소시킴에 있어서의 효과적인 방법은 *Vibrio vulnificus* 백신을 개발하여 인

체의 면역력을 높여 사전에 감염발생을 예방하는 것이 경제적이다.

본 연구에서는 제일제당주식회사에서 개발한 CJ-50002(Vibrio vaccine)의 안전성시험 일환으로 beagle dog에서의 4주간 경구 반복투여 독성시험을 실시하였다.

## III. 재료 및 방법

### 1. 시험물질

제일제당(주)에서 제공한 CJ-50002(Vibrio vaccine) [Lot No.: VIB-705]을 시험에 사용하였다.

### 2. 실험동물

실험동물로는 3개월령 Beagle Dog 암·수 각각 15마리씩을 Marshall Farm USA, Inc에서 구입하여 약 1주간 순화시키면서 일반증상을 관찰하여 건강한 동물

\*To whom correspondence should be addressed

암·수 각각 12마리씩을 실험에 사용하였다. 실험기간 중 사육실 환경조건은 실내온도  $20\pm 3^{\circ}\text{C}$ , 상대습도  $50\pm 10\%$ , 환기회수 10~12회/hr로 하였으며, 조명시간은 오전 7시부터 오후 7시까지, 조도는 150~200 Lux로 하였다. 비글개는 철망케이지(64×42×53 cm, 명진기계제작)에서 사육하였다. 모든 동물은 공히 펠렛사료(개용 고품사료: PEDIGREE(주) PUPPY)와 음수를 자유급여 하였다.

### 3. 시험군의 구성, 투여농도 및 용량

시험약물에 관한 기존자료, 임상용량 및 예비실험에 근거하여 beagle dog에서 0.5, 5, 50 mg/kg/day로 각각 저용량군, 중간용량군, 고용량군에 경구 투여하고, 음성대조군은 멸균중류수(주사용: 대한약품공업주식회사)만을 50 mg/kg/day로 경구 투여하였다.

### 4. 관찰 및 검사항목

#### 1) 일반증상 관찰

모든 실험동물에 대하여 시험기간 중 1일 1회 실시하였고, 일반 임상증상 항목으로서 anorexia, salivation, diarrhea, vomiting, polyuria, anuria, fecal change의 정도를 기록하였다.

#### 2) 체중측정

모든 실험동물에 대하여 시험개시일로부터 시험종료일까지 매주 2회 측정하였다.

#### 3) 사료섭취량 및 음수량 측정

사육상자별로 당일 급여 및 급수총량과 익일 잔량의 차를 시험개시 후 매주 2회 측정하여 일일 사료섭취량 및 음수섭취량으로 하였다.

#### 4) 뇨검사

모든 실험동물에 대하여 시험개시전과 시험기간 중 각각 1회 채뇨하였으며 채취한 뇨에 대하여 외관, 뇨량, 색을 관찰하고, 즉시 뇨검사용 시험지(N-multistix, Ames)를 사용하여 nitrite, urobilinogen, protein, pH, occult blood, gravity, ketone body, bilirubin, glucose 등을 측정하였다.

#### 5) 안과학적 검사

모든 실험동물에 대하여 시험개시 전 및 시험기간 중 육안 및 검안경(Welch Allyn, N.Y. U.S.A)을 이용한

안과학적 검사를 실시하였다.

#### 6) 혈액학적 및 혈청생화학적 검사

시험개시전 및 부검전 모든 실험동물에 대하여 채혈을 실시하였다. 일반 혈액학적 검사는 혈액자동분석기(Coulter S880과 H1, technicon, USA)를 이용하여 적혈구수(RBC), 총백혈구수(WBC), 헤모글로빈(hemoglobin), hematocrit, MCV, MCH, MCHC, platelet, 호산구(eosinophil), 호중구(neutrophil), 임파구(lymphocyte), 단핵구(monocyte), 호염구(basophil)수를 측정하였으며, 혈액응고시간[Prothrombin time(PT), Partial thromboplastin time(PTT)]은 APTT, PT reagent(國際試藥, Japan)를 이용하여 직접 검사하였다. 혈청생화학적 검사는 채취한 혈액의 일부를 실온에 30분간 방치하고 응고 후 원심분리(3,000 rpm, 30 min)하여 얻은 혈청에 대해서 혈청자동분석기(Express 550과 SPOCHEM™ SP-440, ARKRAY, Japan)를 이용하여 alanine transaminase(ALT), aspartate transaminase(AST), alkaline phosphatase(ALP), total cholesterol, blood glucose, total protein, total bilirubin, BUN(blood urea nitrogen), creatinine, albumin, triglyceride, chloride 및 Ca를 측정하였다.

#### 7) 장기중량 측정

모든 실험동물에 대하여 간장, 신장(좌·우), 폐장, 비장, 심장, 부신(좌·우), 흉선, 타액선(좌·우), 뇌, 뇌하수체, 난소(좌·우), 자궁, 고환(좌·우) 등의 체중에 대한 상대장기 중량을 측정하였다.

#### 8) 병리조직검사

전 실험동물에 대하여 Rompun으로 전마취시키고, ketamine으로 본 마취시킨 다음, 경동맥에 카테터를 삽입하여 충분한 방혈을 시켰다. 장기중량 측정이 끝난 모든 장기를 10% 중성 포르말린액에 고정시켰고 2주간 이상의 충분한 고정을 거친 모든 장기조직은 파라핀 포매기(SAKURA, Tissue-Tek® VIP)에 포매하여 마이크로톰(MICROM, Rotary Microtome, HM340E)으로 3 μm 절편을 만들어 Hematoxylin & Eosin 염색을 실시하여 조직을 관찰하였다. 대퇴골은 buffered formic acid를 이용하여 탈회시킨 다음 포매하여 절편을 만들고 염색하여 관찰하며, 관찰부위는 연골판 하부의 골수를 관찰하였다.

#### 9) 통계학적 방법

본 실험에서 얻은 측정치의 통계학적 분석은 통계처

리 computer program인 SAS(Statistical Analysis System)를 이용하여 등분산 검정후 one-way ANOVA에서 유의한 F값이 관찰되는 항목에 대하여 대조군과 각 용량군 사이에 유의수준  $p < 0.05$ 로 Dunnett's t-test를 이용하여 비교하였고, 비모수인 경우는 분산에 대하여 Kruskal-Wallis nonparametric analysis 후 유의한 경우 Wilcoxon-Mann-Whitney rank-sum test, Nemenye-Kruskal-Wallis multiple comparisons를 실시하였다. 또한, 병리 조직학적으로 관찰된 병변의 발생빈도는  $\chi^2$ (Chi-square) 검정을 하였다.

### III. 결과 및 고찰

#### 1. 임상증상

Beagle dog에서의 반복 투여 독성시험에서 저용량(0.5 mg/kg/day), 중간용량(5 mg/kg/day), 고용량(50 mg/kg/day) 및 대조군투여에서 시험물질 투여로 인한 임상증상은 관찰되지 않았다.

#### 2. 폐사율

Beagle dog에서의 반복 투여독성시험에서 저용량(0.5 mg/kg/day), 중간용량(5 mg/kg/day), 고용량(50 mg/kg/day) 및 대조군에서 시험기간중 사망동물은 관찰되지 않았다.

#### 3. 체중변화

4주간 반복 투여 독성시험의 beagle dog에서 전 기간 동안 대조군 및 투여군 모두에서 시험물질에 의한 유의할 만한 체중 변화는 관찰되지 않았다(Fig. 1).

#### 4. 사료 및 음수섭취량 변화

Beagle dog의 대조군 및 투여군 모두에서 유의할 만한 사료 및 음수섭취량 변화는 관찰되지 않았다.

#### 5. 뇨검사 소견

Beagle dog의 대조군 및 투여군 모두에서 유의할 만한 이상을 나타내지 않았다(Tables 1 and 2).

#### 6. 안과학적 검사소견

Beagle dog의 대조군 및 투여군 모두에서 유의할 만한 이상을 나타내지 않았다.

#### 7. 혈액학적 및 혈청생화학적 검사소견

부검시의 혈액학적 검사에 있어서 약물투여군은 대조군에 비하여 유의성 있는 변화를 나타내지 않았다(Tables 3 and 4).

부검시의 혈청생화학적 검사에 있어서 약물투여군은 대조군에 비하여 유의성 있는 변화를 나타내지 않았다(Tables 5 and 6).

Prothrombin time(PT) 및 partial thromboplastin time

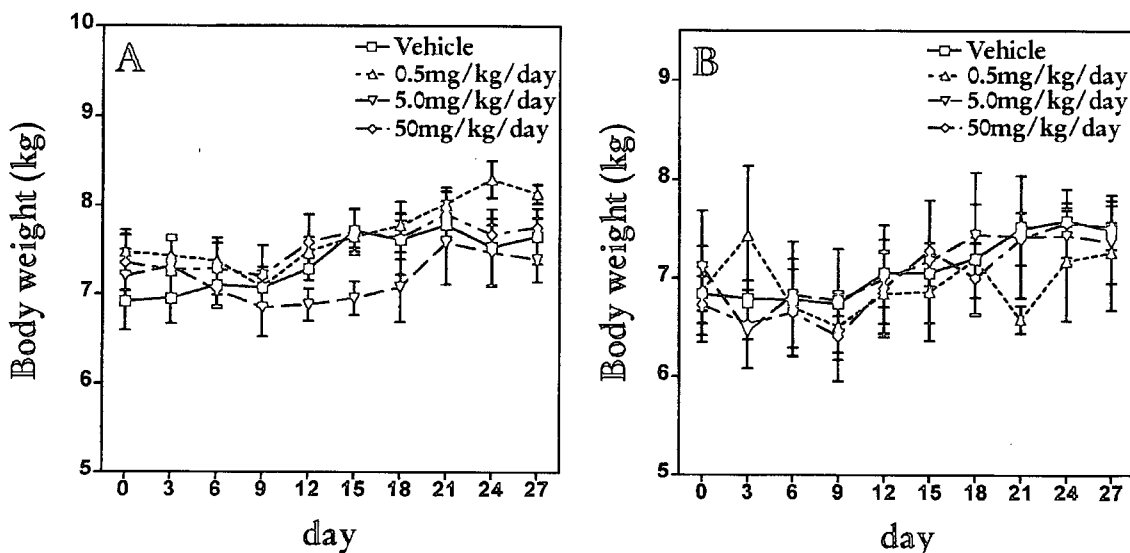


Fig. 1. Body weight changes of male (A) and female (B) beagle dogs orally treated with CJ-50002 (Vibrio Vaccine).



**Table 3.** Hematological values of beagle dogs before oral administration of CJ-50002 (*Vibrio* vaccine)

Parameter	\Sex \Group \Dose (mg/kg/day)	Male			
		Control 0	Low 0.5	Middle 5	High 50
Neutrophil (%)		67.00±11.00	68.33±10.79	69.67±18.04	53.67±8.51
Lymphocyte (%)		28.67±8.51	26.33±13.65	27.33±17.90	24.67±8.96
Monocyte (%)		4.33±2.52	4.33±5.13	0.67±0.58	1.33±1.53
Eosinophil (%)		0.00±0.00	0.67±1.16	2.00±2.00	0.33±0.58
Basophil (%)		0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
WBC ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )		17.87±12.86	14.40±2.88	15.90±2.59	13.33±5.08
RBC ( $\times 10^6/\mu\text{l}$ )		5.51±0.99	5.44±0.38	5.51±0.32	5.55±0.70
HGB (g/dl)		13.40±1.84	13.40±0.99	13.37±0.76	13.47±1.61
HCT (%)		39.00±6.25	38.67±2.31	39.33±2.52	40.00±5.20
MCV (fL)		71.67±2.52	70.67±0.58	72.00±1.00	72.33±0.58
MCH (pg)		24.00±1.00	24.00±1.00	24.00±0.00	24.00±0.00
MCHC (g/dl)		33.67±0.58	34.33±0.58	33.00±0.00	33.00±1.00
PLT ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )		223.33±92.43	235.00±37.36	292.67±45.55	282.33±66.89
Parameter	\Sex \Group \Dose (mg/kg/day)	Female			
		Control 0	Low 0.5	Middle 5	High 50
Neutrophil (%)		58.00±18.52	57.00±7.00	64.33±12.34	58.33±6.03
Lymphocyte (%)		40.67±18.01	42.33±6.66	31.67±13.65	37.33±5.69
Monocyte (%)		1.33±1.53	0.33±0.58	1.67±0.58	2.00±2.00
Eosinophil (%)		0.00±0.00	0.33±0.58	1.33±1.53	1.33±0.58
Basophil (%)		0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
WBC ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )		15.77±5.18	14.13±4.30	16.90±4.17	14.47±3.86
RBC ( $\times 10^6/\mu\text{l}$ )		5.14±0.45	5.12±0.25	5.32±0.33	5.47±0.27
HGB (g/dl)		12.83±0.87	12.70±0.70	13.60±0.27	12.93±0.50
HCT (%)		36.67±4.04	35.00±2.00	37.33±2.52	37.33±3.06
MCV (fL)		71.67±2.08	69.00±1.00	71.00±0.00	69.00±6.25
MCH (pg)		24.33±0.58	24.67±0.58	25.00±1.00	23.33±1.53
MCHC (g/dl)		34.33±1.53	35.00±0.00	35.67±1.53	34.00±1.00
PLT ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )		137.33±102.50	268.33±102.67	306.33±144.54	268.67±65.86

Each value was expressed as mean ± S.D. of 3 beagle dogs.

WBC, white blood cell; RBC, red blood cell; HGB, hemoglobin; HCT, hematocrit; MCV, mean corpuscular volume; MCH, mean corpuscular hemoglobin; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration; PLT, platelet.

**Table 4.** Hematological values of beagle dogs after oral administration of CJ-50002 (*Vibrio* vaccine)

Parameter	\Sex \Group \Dose (mg/kg/day)	Male			
		Control 0	Low 0.5	Middle 5	High 50
Neutrophil (%)		67.33±8.08	63.33±4.16	61.33±2.31	65.67±0.58
Lymphocyte (%)		30.00±8.19	31.67±2.31	37.00±2.00	28.67±3.79
Monocyte (%)		1.33±1.53	1.67±1.53	1.67±1.16	2.33±2.52
Eosinophil (%)		1.33±2.31	3.33±0.58	0.67±1.16	3.00±1.73
Basophil (%)		0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
WBC ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )		13.93±2.50	13.90±1.80	13.07±2.83	15.13±3.38
RBC ( $\times 10^6/\mu\text{l}$ )		6.40±0.20	5.69±0.56	5.53±0.38	5.76±0.54
HGB (g/dl)		14.53±1.44	13.60±1.15	13.30±0.53	13.77±0.93
HCT (%)		45.00±2.00	41.00±4.00	38.33±3.51	41.67±2.89
MCV (fL)		71.00±1.00	72.33±0.58	69.33±1.53	72.33±1.53
MCH (pg)		24.33±0.58	23.67±0.58	23.00±0.00	23.67±0.58
MCHC (g/dl)		34.33±0.58	32.33±0.58	33.00±0.00	32.33±0.58
PLT ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )		219.00±49.57	215.00±36.10	218.67±48.39	169.00±50.86

**Table 4.** Continued

Parameter	\Sex \Group \Dose (mg/kg/day)	Female			
		Control 0	Low 0.5	Middle 5	High 50
Neutrophil (%)		55.00±5.57	74.00±11.00	60.00±4.36	59.33±18.15
Lymphocyte (%)		41.00±6.25	24.33±11.59	37.33±5.51	39.67±16.56
Monocyte (%)		0.33±0.58	0.00±0.00	0.67±1.16	0.33±0.58
Eosinophil (%)		3.67±0.58	1.67±1.53	1.67±2.08	0.67±1.16
Basophil (%)		0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
WBC ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )		10.43±0.68	16.53±5.63	13.10±3.35	10.90±0.27
RBC ( $\times 10^6/\mu\text{l}$ )		5.82±0.21	6.07±0.36	5.88±0.28	6.07±0.18
HGB (g/dl)		13.73±0.25	14.47±0.49	13.77±0.59	14.07±0.60
HCT (%)		41.00±1.00	42.67±2.52	40.67±2.31	41.33±1.53
MCV (fL)		70.67±1.53	70.67±0.58	70.00±1.00	68.33±4.04
MCH (pg)		23.33±0.58	23.67±0.58	23.00±0.00	22.67±1.53
MCHC (g/dl)		32.33±0.58	33.33±1.16	32.67±0.58	33.33±0.58
PLT ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )		208.00±55.56	255.67±82.37	181.67±81.51	272.00±32.91

Each value was expressed as mean±S.D. of 3 beagle dogs.

WBC, white blood cell; RBC, red blood cell; HGB, hemoglobin; HCT, hematocrit; MCV, mean corpuscular volume; MCH, mean corpuscular hemoglobin; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration; PLT, platelet.

**Table 5.** Serum biochemical values of beagle dogs before oral administration of CJ-50002 (Vibrio vaccine)

Parameter	\Sex \Group \Dose (mg/kg/day)	Male			
		Control 0	Low 0.5	Middle 5	High 50
ALT (IU/L)		42.67±11.59	49.00±2.65	42.67±6.11	48.67±12.50
AST (IU/L)		27.33±6.11	30.67±5.13	33.67±4.51	29.00±4.58
CHOL (mg/dl)		287.33±138.93	171.00±26.96	164.33±25.58	163.33±23.80
GLU (mg/dl)		59.33±26.31	64.67±18.72	72.33±6.03	76.33±5.77
TB (mg/dl)		0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.03±0.06
TP (g/dl)		5.83±0.59	5.10±0.00	5.20±0.27	5.37±0.51
TG (mg/dl)		82.00±40.15	63.00±16.46	77.67±24.58	61.00±14.18
ALP (IU/L)		409.33±105.00	637.67±300.44	497.00±58.03	444.67±95.21
CREAT (mg/dl)		0.50±0.20	0.50±0.17	0.53±0.15	0.60±0.17
BUN (mg/dl)		17.73±11.11	17.40±2.76	19.00±6.55	21.87±7.26
Ca (mg/dl)		11.00±0.79	10.23±0.12	10.53±0.70	11.23±0.25
Albumin (g/dl)		2.93±0.31	3.00±0.00	3.03±0.15	3.13±0.21

Parameter	\Sex \Group \Dose (mg/kg/day)	Female			
		Control 0	Low 0.5	Middle 5	High 50
ALT (IU/L)		47.33±8.62	71.33±48.27	62.67±22.94	45.00±4.36
AST (IU/L)		33.33±7.02	30.33±2.08	31.67±0.58	28.00±2.65
CHOL (mg/dl)		166.00±32.05	169.33±24.44	191.67±44.47	201.67±14.01
GLU (mg/dl)		80.33±9.61	73.33±17.24	49.00±15.72	64.33±16.56
TB (mg/dl)		0.03±0.06	0.13±0.23	0.03±0.06	0.00±0.00
TP (g/dl)		5.47±0.21	5.97±1.07	5.80±0.78	5.47±0.25
TG (mg/dl)		58.33±35.23	97.33±27.23	88.67±34.99	81.33±21.55
ALP (IU/L)		303.33±73.12	348.67±199.32	397.00±36.00	351.67±43.10
CREAT (mg/dl)		0.67±0.15	0.77±0.06	0.73±0.15	0.63±0.06
BUN (mg/dl)		19.30±3.12	24.17±4.05	26.13±5.86	22.53±6.73
Ca (mg/dl)		11.17±0.15	11.17±0.21	11.30±0.46	9.37±2.87
Albumin (g/dl)		3.03±0.21	3.33±0.40	3.23±0.35	3.03±0.12

Each value was expressed as mean±S.D. of 3 beagle dogs.

ALT, alanine transaminase; AST, aspartate transaminase; CHOL, Total cholesterol; GLU, glucose; TB, total bilirubin; TP, total protein; TG, triglyceride; ALP, alkaline phosphatase; CREAT, creatinine; BUN, blood urea nitrogen.

(PTT) 검사소견에서는 약물투여군은 대조군에 비하여 유의할 만한 이상을 나타내지 않았다(Tables 7 and 8).

비하여 유의성 있는 차이를 나타내지 않았다(Table 9).

### 8. 체중에 대한 각 장기의 상대중량비

상대장기 중량비에 있어서 약물투여군은 대조군에

### 9. 병리조직검사 소견

Beagle dog의 4주 반복 투여독성시험에서 약물투여로 인지되는 그 어떠한 조직병리학적인 변화는 관찰되

**Table 6.** Serum biochemical values of beagle dogs after oral administration of CJ-50002 (Vibrio vaccine)

Parameter	\Sex \Group \Dose (mg/kg/day)	Male			
		Control 0	Low 0.5	Middle 5	High 50
ALT (IU/L)		11.33±5.77	15.67±8.96	16.00±6.56	12.00±3.47
AST (IU/L)		16.00±10.39	12.33±2.08	15.00±6.25	15.33±4.73
CHOL (mg/dl)		253.33±50.33	195.67±58.88	194.33±60.80	263.00±93.79
GLU (mg/dl)		80.00±7.94	67.33±11.59	77.00±23.30	80.67±9.29
TB (mg/dl)		0.60±0.36	0.23±0.06	0.40±0.35	0.40±0.17
TP (g/dl)		6.70±1.76	4.73±0.61	5.53±1.16	5.93±0.70
TG (mg/dl)		84.00±31.80	83.33±5.77	86.67±12.42	94.33±10.41
ALP (IU/L)		157.67±186.48	229.00±92.07	208.67±59.62	237.67±49.32
CREAT (mg/dl)		1.03±0.64	0.60±0.10	0.83±0.21	0.90±0.17
BUN (mg/dl)		19.33±1.53	17.67±1.53	17.67±3.79	18.33±1.53
Ca (mg/dl)		19.97±0.06	18.43±6.02	19.43±7.78	21.10±4.18
Albumin (g/dl)		2.80±0.89	2.10±0.17	2.57±0.61	2.77±0.51

Parameter	\Sex \Group \Dose (mg/kg/day)	Female			
		Control 0	Low 0.5	Middle 5	High 50
ALT (IU/L)		12.33±4.04	13.33±5.77	18.67±11.71	15.67±5.51
AST (IU/L)		26.67±15.28	26.00±7.81	39.00±16.64	37.33±23.69
CHOL (mg/dl)		276.00±19.67	316.00±29.55	296.67±15.28	273.67±45.17
GLU (mg/dl)		70.33±22.94	63.00±13.12	95.00±9.54	84.67±2.52
TB (mg/dl)		0.40±0.27	0.77±0.49	0.93±0.32	0.77±0.40
TP (g/dl)		4.83±0.57	8.33±2.81	5.90±0.66	6.77±1.26
TG (mg/dl)		82.00±9.54	92.67±7.64	100.33±28.57	94.33±19.01
ALP (IU/L)		134.67±8.08	206.67±179.16	179.67±224.59	229.67±155.78
CREAT (mg/dl)		0.67±0.06	0.73±0.51	1.37±0.12	1.07±0.71
BUN (mg/dl)		16.67±2.08	19.00±5.29	19.67±2.08	24.67±5.51
Ca (mg/dl)		11.60±0.63	16.80±5.54	14.33±9.82	16.67±5.77
Albumin (g/dl)		2.90±0.63	3.40±1.37	4.33±0.67	3.67±2.33

Each value was expressed as mean±S.D. of 3 beagle dogs.

ALT, alanine transaminase; AST, aspartate transaminase; CHOL, Total cholesterol; GLU, glucose; TB, total bilirubin; TP, total protein; TG, triglyceride; ALP, alkaline phosphatase; CREAT, creatinine; BUN, blood urea nitrogen.

**Table 7.** Prothrombin time and thromboplastin time of beagle dogs before oral administration of CJ-50002 (Vibrio vaccine) (unit: second)

Sex	\Group \Dose (mg/kg/day)		Control 0	Low 0.5	Middle 5	High 50
Male	PT	Mean	11.67	11.00	10.67	10.33
		S.D.	±1.53	±1.00	±1.53	±2.08
	PTT	Mean	22.33	22.67	24.33	21.67
		S.D.	±1.53	±2.08	±5.13	±1.53
Female	PT	Mean	10.67	10.00	10.00	10.00
		S.D.	±1.53	±1.00	±1.00	±1.00
	PTT	Mean	25.33	25.67	24.33	22.67
		S.D.	±1.53	±1.53	±4.04	±1.16

Each value was expressed as mean±S.D. of 3 beagle dogs.

PT, Prothrombin time; PTT, Partial thromboplastin time.

**Table 8.** Prothrombin time and thromboplastin time of beagle dogs after oral administration of CJ-50002 (Vibrio vaccine) (unit: second)

Sex	\Group \Dose (mg/kg/day)		Control 0	Low 0.5	Middle 5	High 50
Male	PT	Mean	11.33	11.00	9.67	8.67
		S.D.	±2.08	±1.73	±2.08	±2.08
	PTT	Mean	23.33	22.33	22.67	21.33
		S.D.	±0.58	±4.51	±6.03	±2.08
Female	PT	Mean	11.00	11.33	10.67	8.67
		S.D.	±1.00	±0.58	±1.16	±2.08
	PTT	Mean	27.33	25.67	23.67	26.67
		S.D.	±3.06	±2.08	±5.03	±3.22

Each value was expressed as mean ± S.D. of 3 beagle dogs.

PT, Prothrombin time; PTT, Partial thromboplastin time.

**Table 9.** Relative organ weights of beagle dogs after oral administration of CJ-50002 (Vibrio vaccine) (unit: %)

Variable	\Sex \Group \Dose (mg/kg/day)	Male			
		Control 0	Low 0.5	Middle 5	High 50
Heart		0.79±0.03	0.77±0.07	0.77±0.09	0.74±0.02
Liver		2.85±0.02	3.03±0.33	2.77±0.31	2.72±0.22
Spleen		0.29±0.02	0.30±0.03	0.28±0.05	0.33±0.08
Brain		0.88±0.03	0.99±0.02	0.95±0.10	0.95±0.06
Adrenal gland	Left	0.008±0.0005	0.008±0.0003	0.008±0.0004	0.009±0.001
	Right	0.008±0.0004	0.008±0.0003	0.008±0.002	0.008±0.0003
Thymus gland		0.17±0.03	0.19±0.05	0.18±0.03	0.17±0.03
Salivary gland	Left	0.06±0.004	0.06±0.006	0.06±0.01	0.05±0.01
	Right	0.05±0.01	0.06±0.01	0.06±0.01	0.05±0.01
Lung		0.82±0.10	0.95±0.09	0.78±0.11	0.79±0.05
Kidney	Left	0.22±0.02	0.22±0.01	0.24±0.01	0.24±0.01
	Right	0.22±0.03	0.22±0.01	0.24±0.01	0.23±0.02
Testis	Left	0.04±0.01	0.04±0.01	0.03±0.004	0.03±0.01
	Right	0.04±0.01	0.04±0.01	0.03±0.001	0.03±0.01
Pituitary gland (mg%)		0.85±0.18	0.81±0.15	0.97±0.05	0.93±0.05
Variable	\Sex \Group \Dose (mg/kg/day)	Female			
		Control 0	Low 0.5	Middle 5	High 50
Heart		0.79±0.03	0.76±0.04	0.73±0.10	0.75±0.06
Liver		3.00±0.13	3.04±0.27	2.72±0.15	3.00±0.15
Spleen		0.35±0.07	0.30±0.08	0.29±0.04	0.30±0.01
Brain		0.76±1.01	0.91±0.13	0.85±0.10	0.89±0.06
Adrenal gland	Left	0.008±0.01	0.009±0.0004	0.008±0.001	0.009±0.001
	Right	0.008±0.01	0.009±0.001	0.008±0.001	0.009±0.001
Thymus gland		0.17±0.18	0.17±0.004	0.17±0.03	0.17±0.06
Salivary gland	Left	0.06±0.06	0.06±0.004	0.06±0.01	0.05±0.01
	Right	0.05±0.06	0.06±0.01	0.06±0.01	0.05±0.01
Lung		0.65±1.31	0.93±0.35	0.91±0.24	0.73±0.09
Kidney	Left	0.25±0.28	0.26±0.02	0.25±0.03	0.23±0.03
	Right	0.24±0.26	0.25±0.01	0.23±0.04	0.22±0.04
Ovary	Left	0.005±0.005	0.004±0.0003	0.005±0.002	0.005±0.004
	Right	0.004±0.004	0.004±0.0003	0.005±0.001	0.004±0.001
Pituitary gland (mg%)		0.68±0.02	0.70±0.18	0.73±0.15	0.74±0.05

Each value was expressed as mean ± S.D. of 3 beagle dogs.

지 않았다.

이상의 결과에서 보면, 임상용량을 고려하여 0.5, 5, 50 mg/kg/day 용량으로 1일 1회, 주 7회, 4주간 경구로

반복 투여한 결과 beagle dog에서 전시험기간 중 사망 동물 및 특이한 임상증상을 보이지 않았으며, 체중, 사료, 음수섭취량, 뇨검사, 안검사결과 약물투여군에서



특이할 만한 유의적인 변화는 관찰되지 않았다. 혈액학적 검사 및 혈청생화학적 검사결과 그 어떠한 통계학적인 유의성 있는 변화는 관찰되지 않았다. 체중에 대한 상대장기중량비에 있어서 약물투여군은 대조군에 비하여 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 그리고, 병리조직학적 검사결과 약물투여군 및 대조군 모두에서 약물에 의한 변화라고 인지되는 그 어떠한 변화도 관찰되지 않았다.

따라서, beagle dog에 대한 4주간 CJ-50002(Vibrio vaccine)의 경구 반복투여 독성시험에서는 최고용량 50 mg/kg/day까지 독성을 나타내지 않는 것으로 사료되었다.

### 감사의 말씀

본 논문은 서울대학교 수의과대학 수의과학연구소의 연구지원에 의하여 수행되었습니다.

### 참고문헌

Kelly, M.T. and McCormick, W.F. (1981): Acute

bacterial myositis caused by *Vibrio vulnificus*, *J. Am. Med. Assoc.*, **246**, 72.

Kothary, M.H. and Kreger, A.S. (1985): Production and partial characterization of an elastolytic protease of *Vibrio vulnificus*, *Infect. Immun.*, **50**, 534-540.

Kreger A.S., Gray L.D. and Jacqueline T. (1984): Protection of mice against *vibrio vulnificus* disease by vaccination with surface antigen preparations and anti-surface antigen antisera, *Infect. Immun.*, **45**(3), 537-543.

Lee N.G., Jung S.B., Ahn B., Kim Y., Kim J.H., Lee Y., Park W.J. and Kim H. (1997): Preparation of *Vibrio vulnificus* vaccine with immunogenicity and protective efficacy, *J. Microbiol. Biotech.*, **7**(6), 423-428.

Park, S.D., Shon, H.S. and Joh, N.J. (1991): *Vibrio vulnificus* septicemia in Korea: Clinical and epidemiologic findings in seventy patients, *J. Am. Acad. Dermatol.*, **24**, 397-403.