

신증후출혈열 백신의 면역혈청학적 연구

아산생명과학연구소 바이러스연구실; 세계보건기구 *Hantavirus* 연구협력센터,
고려대학교 의과대학 미생물학교실¹

우영대* · 주용규 · 백락주¹ · 이호왕

=Abstract=

An Immunoserological Study of Vaccine Against Haemorrhagic Fever with Renal Syndrome

Young-Dae Woo*, Yong-Kyu Chu, Luck-Ju Baek¹ and Ho-Wang Lee

Department of Virology, Asan Institute for Life Sciences; WHO Collaborating Centre for Virus Reference and Research (Hantaviruses), Seoul 138-736, Korea, Department of Microbiology, College of Medicine, Korea University¹

Since HantavaxTM, formalin inactivated Hantaan virus vaccine (10,240 ELISA units/ml), has been developed in 1990 to prevent against haemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS) caused by Hantaan or Seoul virus, it has been commercially available in Korea.

Twenty-one healthy people were booster shot once and twice after primary basic vaccination with HantavaxTM. Seroconversion rates were measured by immunofluorescent antibody technique (IFAT), enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), high density composite particle agglutination (HDP), and plaque reduction neutralization test (PRNT).

Seroconversion rates of 21 vaccinees at one year after primary basic vaccination were 52.3%, 95.2%, 0.0%, 47.6%, and 28.6%, and 13 vaccinees at one month after 1st booster vaccination were 100%, 100%, 30.7%, 100% and 100% by IFAT, ELISA (IgG, IgM), HDP and PRNT, respectively.

Seroconversion rates declined slightly by twenty months, and they were 84.6%, 92.3%, 0.0%, 84.6% and 69.2% by IFAT, ELISA (IgG, IgM), HDP and PRNT, respectively.

Seroconversion rates of 9 vaccinees at three months after 2nd booster vaccination were 100%, 100%, 0.0%, 100%, and 88.9%, and 16 vaccinees at one year after the 2nd booster vaccination were 87.5%, 93.8%, 0.0%, 87.5% and 81.3% by IFAT, ELISA (IgG, IgM), HDP and PRNT, respectively.

Based on the above result HantavaxTM has proved a vigorous anamnestic response after the 1st and the 2nd booster vaccination and has persisted higher fluorescence, agglutination and neutralizing antibody titers in vaccinees.

Key Words: HFRS, Vaccine, HantavaxTM, Hantaan virus

접수 : 2000년 2월 22일, 논문게재확정 : 2000년 3월 21일

* 책임저자: 우영대, 서울시 송파구 풍납동 388-1, 아산생명과학연구소, 전화: (02) 2224-4189, FAX: (02) 2224-4182, e-mail: ydwoo@hanmail.net

서 론

신증후출혈열 (Haemorrhagic fever with renal syndrome, HFRS)은 *Bunyaviridae* 科의 한타바이러스屬인 *Hantavirus*에 속하는 바이러스에 의해 발병하는 급성 출혈성 질환이다 [22]. 신증후출혈열은 세포배양으로 바이러스의 증식을 확인하였고 [7], 면역형광항체법에 의한 혈청학적 진단이 가능하게 되어 한타바이러스들이 전세계에 분포하고 있는 설치류와 식충동물 (Insectivore)에 존재하고 있음이 알려지게 되었다 [26].

신증후출혈열을 일으키는 원인바이러스들은 혈청학, 전자현미경 [19,28] 및 분자생물학적 연구 [22]에 의해 *Bunyaviridae* 科의 RNA 바이러스로 확인되었고, 현재는 새로이 확립된 *Hantavirus*屬으로 분류되며, 이 속에는 적어도 8개 이상의 혈청학적으로 뚜렷이 구별되는 Hantaan (HTN), Seoul (SEO), Puumala (PUU), Prospect Hill (PH), Thailand (THAI), Thottapalayam (TPM) 및 Belgrade 또는 Dobrava (DOB) 그리고 Sin nombre (SN) virus 등이 포함되어 있다 [1,2,4,29]. 최근 아르헨티나에서는 사람에서 사람으로 전파되어 한타바이러스 폐증후군을 일으키는 안데스바이러스 (Andes virus)도 분자생물학적으로 증명되었다 [21].

신증후출혈열의 혈청학적 진단법으로는 간접면역형광항체법 (indirect immunofluorescent antibody technique, IFAT) [17]이 가장 널리 이용되고 있으며, 그 외에 면역효소측정법 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) [8], 플라크감소 중화시험 (plaque reduction neutralization test, PRNT) [4], 혈구응집저지반응 (hemagglutination inhibition, HI) [23], 및 western blot analysis [18] 등이 있다. 최근 면역활성물질에 부착력이 뛰어난 고비중입자 (high density composite particle, HDP) [20]를 한타바이러스 항원에 부착하여 신속하게 응집반응 (high density composite particle agglutination, HDPA)을 시행하는 검사법이 개발되었다 [25]. 그 외에도 중합효소연쇄반응법 (polymerase chain reaction, PCR)을 통한 시험관내에서의 DNA 증폭으로 항원 양이 매우 적어도 정확하게 검출할 수 있게 되었다 [27].

신증후출혈열에 감염될 위험성이 높은 직업군은 주로 야외에서 활동하는 군인, 신증후출혈열 다발생 지역에서 농사를 짓는 농부, 실험용 흰쥐

를 사용하는 실험실 근무자 및 동물사육자, 지하에 매설된 전기나 통신시설을 유지 보수하는 근로자, 신증후출혈열 유행지역으로 야유회, 낚시, 사냥, 골프 및 등산을 자주 가는 사람들이다 [10].

신증후출혈열 감염시 발증하는 임상증상과 징후는 매우 다양하며, 주요 증상으로는 발열, 쇠약, 단백뇨, 출혈, 속 및 신부전 등이 있고, 잠복기는 평균 2~3주이나 4일부터 42일까지 다양하다 [6]. 신증후출혈열 환자의 임상경과는 병태생리학적 양상에 따라 발열기 (3~7일), 저혈압기 (2일), 핏뇨기 (3~7일), 이뇨기 (수일~수주) 및 회복기 (2~3개월) 등의 5기로 나눈다 [18].

신증후출혈열에 효과적인 항바이러스제나 치료 방법은 현재까지 개발되지 못한 상태이며, 주로 대증요법으로 치료를 하고 있는 실정이다. 따라서 우리나라와 같이 신증후출혈열이 매년 유행하는 지역에서는 무엇보다도 백신을 통한 예방사업이 중요하다.

본 연구에서는 아산생명과학연구소에 근무하는 직원 21명을 대상으로 신증후출혈열 예방백신인 한타박스 (Hantavax™)를 1) 기본 접종한 12개월 후와 1차 부스터 접종 1개월 후, 2) 약 20개월이 경과한 후 그리고 3) 2차 부스터 접종 3개월 후와 12개월 후의 백신 접종자에서의 면역지속기간을 IFAT, ELISA, HDPA 그리고 PRNT로 조사하였다.

재료 및 방법

1. 대상 및 접종 방법

피 접종자는 아산생명과학연구소에 근무하는 직원 21명을 대상으로 예방접종을 실시하였다. 접종 방법은 피 접종자의 상박부 외측에 한타바이러스 예방백신 (Hantavax™, (株)녹십자, Korea) 0.5 ml (10,240 ELISA units/ml)를 근육 또는 피하 주사한 한달 후 동량의 예방백신을 동일부위에 2차 접종하는 기본 예방접종을 실시하였다. 기본 예방접종 12개월 후 1차 부스터 접종을 실시하였고, 그 후 20개월이 경과한 후 2차 부스터 접종을 실시하였다.

2. 채혈

한타박스 예방접종자 중 기본 예방접종 12개월 후와 1차 부스터 접종 후 1개월, 그 후 20개월이 경과 후, 그리고 2차 부스터 접종 후 3개월과 12

개월 후에 채혈하였으며 채혈된 혈액은 원심분리 (2,000 rpm, 10 min)하여 혈청을 사용 전까지 -80℃에 보관하였다.

3. 간접면역형광항체법 (IFAT)

간접형광항체법은 Lee 등 [17]의 방법으로 실시하였다. 간략히 설명하면 한탄바이러스감염 A549 세포를 12~18시간 배양한 spot slide를 냉각 아세톤으로 10분간 고정한 후 다음 1차 반응은 각 well에 혈청을 20 µl씩 가한 후 moist chamber에 넣어 36.5℃에서 30분간 반응시켰다. 냉각된 인산완충식염수 (PBS; 0.01 M, pH 7.2)로 3회 잘 세척하고, 증류수로 1회 씻은 다음 실온에서 건조시켰다. 2차 반응은 FITC goat anti-human IgG (KPL, Maryland)를 8~16 unit로 적정하여 20 µl씩 가한 후 1차 반응과 동일한 방법으로 반응시킨 후 세척과 건조하여 mounting media를 가하고 유리덮개를 덮어 형광현미경 (Zeiss, Germany)으로 특이 형광반응을 관찰 (×400) 하였다.

4. 효소면역측정법 (ELISA)

1) ELISA IgG

신증후출혈열 환자의 혈액에서 분리한 한탄바이러스 (ROK 84/105주) [11]를 감염시킨 Vero E6 세포를 7일간 배양 후 sonication하여 만든 항원을 사용하였다. 인산완충식염수 (PBS; 0.01 M, pH 7.2)로 1:1000으로 희석하여 100 µl를 96 well polyvinyl U plate (Dynatech LAB, Virginia)의 각 well에 넣어 도포한 후 4℃에서 12~24시간 동안 놓아두었다. 그후 0.1% Tween 20을 첨가한 인산완충식염수로 3회 세척한 후 검사 대상 혈청을 5% skim milk로 1:100부터 계단 희석하여 상기 well에 100 µl씩 분주하고 36.5℃에서 45~60분간 반응시켰다. 동일한 방법으로 세척하여 1:1,000으로 희석된 peroxidase conjugated anti-human serum (KPL, Maryland)을 100 µl씩 분주하여 반응시킨 후 세척하였고 ABTS 기질용액 (KPL, Maryland) 100 µl를 가하여 36.5℃에서 30분간 반응한 후 ELISA 광량계 (MCC/340, Finland)로 405 nm 광파장에서 OD값을 측정하였다.

2) ELISA IgM

한탄바이러스 ROK 84/105주를 suckling ICR mouse의 뇌에 접종하여 마비가 발생하는 6~8일경에 뇌를 무균적으로 조작하여 일본뇌염 바이러스 백신의 제조법 [30]에 따라 바이러스를 정제 불활화한 후 항원으로 사용하여 IgM-sandwich법 [14]

으로 시행하였다. 인산완충식염수 (PBS; 0.01 M, pH 7.2)로 1:500으로 희석된 Goat anti-human IgM (Tago, California) 100 µl를 96 well polyvinyl U plate (Dynatech LAB, Virginia)의 각 well에 넣어 도포한 후 4℃에서 12~24시간 동안 방치하고 0.1% Tween 20을 첨가한 인산완충식염수로 3회 세척한 후 검사 대상 혈청을 5% skim milk로 1:100부터 계단 희석하여 상기 well에 100 µl씩 분주하고 36.5℃에서 45~60분간 반응시켰다. 동일한 방법으로 세척한 후 8~16 unit의 항원을 각 well에 100 µl씩 분주하여 상기와 동일한 방법으로 반응시킨 후 세척하여 1:1,000으로 희석된 hamster anti-Hantaan serum을 각 well에 100 µl씩 분주하여 반응시킨 후 세척하였다. 1:1,000으로 희석한 peroxidase conjugated anti-hamster serum (KPL, Maryland)을 100 µl씩 분주하여 반응시킨 후 세척하였고 ABTS 기질용액 (KPL, Maryland) 100 µl를 가하여 36.5℃에서 30분간 반응한 후 ELISA 광량계 (MCC/340, Finland)로 405 nm 광파장에서 OD값을 측정하였다.

5. 고비중입자응집반응 (HDP)

신증후출혈열의 원인바이러스인 한탄바이러스의 항원을 불용성 담체입자 (HDP)에 감각시킨 항원과 검체내에서 존재하는 한탄바이러스 항체와의 항원-항체반응에 의한 응집현상을 관찰함으로써 검체내의 한탄바이러스에 대한 항체 유무를 판정 [25]하는 진단시약인 한타디아 (Hantadia™, (株)녹십자, Korea)를 사용하여 제조회사에서 설명한 방법에 따라 실시하였다.

V형 96 well microplate (A&T Co, Tokyo)에 검사 대상 혈청을 1:20으로 희석하여 처음 두 well에서 각각 25 µl씩 분주하고 3번째 well부터 최종 well까지 계단 희석을 하였다. 한탄바이러스 항원으로 감각시키지 않은 대조 HDP액 25 µl씩을 처음 well에 각각 분주하고 한탄바이러스 항원감각 HDP액을 2번째 well부터 최종 well까지 25 µl씩 분주한 후 microplate를 microplate mixer를 사용하여 약 10초간 교반한 후 60분간 실온에 정치한 후 결과를 판독하였다.

6. 플라크감소중화시험 (PRNT)

중화항체의 존재와 그 역가를 측정하기 위하여 플라크감소 중화시험은 Chu 등 [4]의 방법으로 실시하였고, 백신 접종자 혈청의 최초 희석배수는 1:10 이었으며 다음 2배 계단 희석하여 최종 플라

크감소 중화시험을 실시하였다. 희석된 검체 100 µl에 200 plaque forming unit (PFU)의 한탄바이러스를 동량 혼합한 후 4°C 냉장고에서 16시간 중화시킨 다음, 미리 준비한 6-well plate (Linbro™, Virginia)에서 단층 배양한 Vero E6 세포에 시료를 100 µl씩을 접종하여 36.5°C, 5% CO₂ 배양기에서 60분간 흡착시켰다.

혼합액을 흡착 후 1차 한천 중첩배지를 2 ml 첨가하여 굳힌 다음 36.5°C, 5% CO₂ 배양기에서 7일간 배양하고, 5% neutral red를 함유한 2차 한천 중첩배지를 1 ml 첨가한 후 2~3일에 걸쳐 나타나는 한탄바이러스의 플라크의 수를 계산하여 중화항체를 결정하였다. 중화항체는 바이러스 플라크를 50% 이상 감소시키는 혈청 희석배수의 역수로써 표시하였다.

결 과

1. 기본 접종 12개월 후와 1차 부스터 접종 후 1개월 후의 면역반응 비교

한타박스 예방접종자 중 기본 접종 12개월 후와 1차 부스터 접종 1개월 후 각각 21명과 13명에서 채혈하여 한탄바이러스에 대한 항체 양성률과 평균 항체 역가를 조사하였다 (Table 1). 기본 접종

12개월 후의 IFAT, ELISA (IgG, IgM), HDPA 그리고 PRNT로 한탄바이러스에 대한 항체 양성률은 각각 52.3% (11/21), 95.2% (20/21), 0.0% (0/21), 47.6% (10/21) 그리고 28.6% (8/9)이었으며, 1차 부스터 접종 1개월 후에는 각각 100% (13/13), 100% (13/13), 30.7% (4/13), 100% (13/13) 그리고 100% (13/13)이었으며, 평균 항체 역가는 기본 접종 12개월 후는 각각 131, 1,161.9, 0, 120 그리고 49이었으며 1차 부스터 접종 1개월 후는 923, 18,985, 107.7, 784.6, 그리고 196.2이었다. 1차 부스터 접종 후 뚜렷한 항체 역가를 나타내는 양성한 기왕성면역반응이 관찰되었다 (Figure 1).

2. 1차 부스터 접종 후 20개월 후 면역반응

1차 부스터 접종 후 20개월 지난 13명에서 채혈하여 한탄바이러스에 대한 항체 양성률과 평균 항체 역가를 조사하였다 (Table 2). 한탄바이러스에 대한 항체 양성률과 평균 항체 역가는 각각 IFAT; 84.6% (11/13), 280.6, ELISA IgG; 92.3% (12/13), 6,546.2, ELISA IgM; 0.0% (0/13), 0, HDPA; 84.6% (11/13), 235.4 그리고 PRNT; 69.2% (9/13), 30.8이었다. 1차 부스터 접종 후 20개월 후의 한탄바이러스에 대한 항체 양성률은 비교적 높게 유지되고 있음을 관찰하였다.

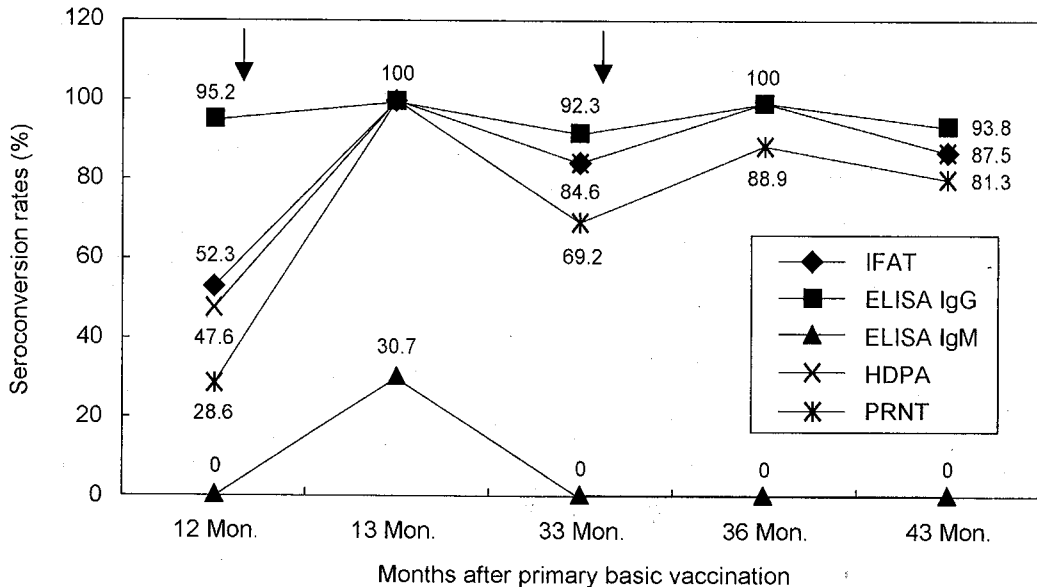


Figure 1. Changes of seroconversion rates after 1st and 2nd booster vaccination with Hantavax™ by IFAT, ELISA IgG, IgM, HDPA and PRNT (Arrows indicates 1st and 2nd booster vaccination).

Table 1. Comparison of immune responses of vaccinees with Hantavax™ on pre and post 1st booster vaccination against Hantaan virus

One year after primary basic vaccination					One month after 1st booster vaccination				
IFAT	ELISA IgG	ELISA IgM	HDPa	PRNT	IFAT	ELISA IgG	ELISA IgM	HDPa	PRNT
^a 11/21	20/21	0/21	10/21	6/21	13/13	13/13	4/13	13/13	13/13
^b (52.3%)	(95.2%)	(0.0%)	(47.6%)	(28.6%)	(100%)	(100%)	(30.7%)	(100%)	(100%)
^c 131.0	1,161.9	0.0	120.0	49.0	923.0	18,985	107.7	784.6	196.2

a: Total no. of positive/ total no. of tested, b: Seroconversion rates, c: Geometric mean titer

Table 2. Immune responses of vaccinees with Hantavax™ on twenty months after 1st booster vaccination against Hantaan virus

Immune responses on twenty months after 1st booster vaccination by				
IFAT	ELISA IgG	ELISA IgM	HDPa	PRNT
^a 11/13	12/13	0/13	11/13	9/13
^b (84.6%)	(92.3%)	(0.0%)	(84.6%)	(69.2%)
^c 280.6	6,546.2	0.0	235.4	30.8

a: Total no. of positive/ total no. of tested, b: Seroconversion rates, c: Geometric mean titer

Table 3. Comparison of immune responses of vaccinees with Hantavax™ on after 2nd booster vaccination against Hantaan virus

Three months after 2nd booster vaccination					One year after 2nd booster vaccination				
IFAT	ELISA IgG	ELISA IgM	HDPa	PRNT	IFAT	ELISA IgG	ELISA IgM	HDPa	PRNT
^a 9/9	9/9	0/9	9/9	8/9	14/16	15/16	0/16	14/16	13/16
^b (100%)	(100%)	(0.0%)	(100%)	(88.9%)	(87.5%)	(93.8%)	(0.0%)	(87.5%)	(81.3%)
^c 654.2	13,356	0.0	568.9	45.5	348	6,650	0.0	345	46.3

a: Total no. of positive/ total no. of tested, b: Seroconversion rates, c: Geometric mean titer

3. 2차 부스터 접종 후 3개월 후와 12개월 후의 면역반응 비교

한타박스 예방접종자 중 2차 부스터 접종을 한 3개월 후 9명에서와 12개월 후에 16명에서 채혈하여 한타바이러스에 대한 항체 양성률을 조사하였다 (Table 3). 3개월 후의 IFAT, ELISA (IgG, IgM), HDPa 그리고 PRNT로 한타바이러스에 대한 항체 양성률은 각각 100% (9/9), 100% (9/9), 0.0% (0/9), 100% (9/9) 그리고 88.9% (8/9)이었으며, 12개월 후에는 각각 87.5% (14/16), 93.8% (15/

16), 0.0% (0/16), 87.5% (14/16) 그리고 81.3% (13/16)이었으며, 평균 항체 역가는 3개월 후는 각각 654.2, 13,356, 0, 568.9 그리고 45.5이었으며 12개월 후는 348, 6,650, 0, 345 그리고 46.3이었다. 항체 양성률에 있어 형광항체는 12.5%, ELISA IgG는 6.2%, 응집항체는 12.5%, 중화항체는 7.6% 감소하였으며 ELISA IgM은 모두 음성으로 나타났다 (Figure 1). 또한 평균 항체 역가에서 형광항체, ELISA IgG와 응집항체는 50% 감소하였고, 중화항체는 유지되고 있었다.

고 찰

신증후출혈열의 병원체인 한탄바이러스가 Lee와 Lee [15]에 의하여 1976년 등줄쥐의 폐장조직에서 처음 발견된 이후 한탄바이러스와 신증후출혈열의 역학적 관계, 한탄바이러스의 생물학적, 분자생물학적 연구가 진전되었으며 [22], 이 질병은 한국에서는 제 2종 법정전염병으로 지정되어 국가에서 관리하고 있으나 아직까지 효과적인 치료약이나 치료법은 개발되지 못한 상태이며 [9], 1989년에는 병원에 입원한 중증의 신증후출혈열 환자 혈액으로부터 분리한 한탄바이러스 ROK 84~105주를 suckling mouse 뇌내에서 다량으로 증식시킨 다음 바이러스를 순수하게 분리 정제한 후 0.05% 포르말린으로 불활화시킨 예방백신 (10,240 ELISA units/ml)이 개발되었다 [11].

신증후출혈열을 예방하기 위한 한탄바이러스 예방백신인 한타박스 (Hantavax™)가 생산되어 임상에 적용된 이래 한타박스의 예방효과 및 백신의 안전성이 임상시험을 통하여 보고되었지만 [13,24] 학자들 사이에서 부스터 접종 의 필요성과 시기, 백신의 유효성 특히 야외 임상시험에 대하여 오랫동안 논란이 되어왔다. 그러나 최근 신증후출혈열 유행지역인 유고슬라비아 학자들에 의한 한타박스의 야외 임상시험 결과 한타박스 접종군 1,900에서는 단 한명의 환자도 발생하지 않은 반면 대조군 2,000에서는 20명의 환자가 발생하여 한타박스의 효능이 보고된 바 있다 [3].

지금까지의 연구보고에 의하면 [12,24] 한탄바이러스 백신을 1개월 간격으로 2회 기본 예방접종 1개월 후의 한탄바이러스에 대한 형광항체 양성률은 96.1~97%로 백신의 면역원성이 매우 효과적인 것으로 나타났다. 또한 기본 예방접종한 6개월 후에는 항체 양성률이 78%로 감소되기 시작하여, 13개월 후에는 33%의 양성률을 나타내어 지속적으로 감소되는 것으로 나타났다.

본 연구에서는 연구업무에 종사하며 연구업무의 특성상 실험용 동물을 많이 다루는 아산생명과학연구소 연구원 및 연구소 직원들의 한탄바이러스 감염위험으로부터 보호하기 위하여 한타박스로 예방접종을 실시하고 항체반응을 검사하는 과정에서 얻은 검체들을 본 실험에 사용하였다. 최초 한탄바이러스 예방접종을 실시한지 약 4년여가 경과한 현재까지 건강한 성인이 예방접종을

받았다. 결과에 나타난 바와 같이 2회에 걸쳐 한타박스를 기본접종 한 후의 형광항체 양성률 및 평균 항체가와 일년이 경과한 후의 결과들은 이미 발표된 연구결과 [5,12,24]들과 유사한 것을 알 수 있었다. 기본접종 후 12개월 후와 1차 부스터 접종 후 1개월 그리고 20개월이 경과한 후의 형광항체 양성률은 각각 52.3%, 100%, 84.6%이었고 2차 부스터 접종 후 3개월 후와 12개월 후의 형광항체 양성률은 각각 100%, 87.5%로 12.5% 감소되어 유지되고 있는 것을 관찰하였다. 또한 백신 접종자에서의 중화항체 양성률 및 중화항체 역가를 조사하였고, 한달 간격으로 2회에 걸쳐 기본접종 후 12개월 후와 1차 부스터 접종을 한 1개월 후의 항체 양성률은 각각 28.6%, 100%이었고 약 20개월이 경과한 후에 채혈한 백신 접종자에서의 중화항체 양성률은 69.2%로 하향 추세를 보였으며 1차 부스터 접종 후 20개월이 지나 2차 부스터 접종을 시행한 후 3개월 후와 12개월에서의 중화항체 양성률은 각각 100%, 81.3%로 지속되고 있음을 관찰하였다.

한편 또 다른 혈청학적 방법에서는 기본접종 후 12개월 후와 1차 부스터 접종 후 1개월 그리고 20개월이 경과한 후의 ELISA IgG의 양성률은 각각 95.2%, 100%, 92.3%이었고, HDPA의 양성률은 각각 47.6%, 100%, 84.6%이었으며 2차 부스터 접종 후 3개월과 12개월 후의 각각 100%와 93.8% 그리고 100%와 87.5%로 6.2%와 12.5% 감소되어 유지되고 있음을 관찰하였다.

따라서 2차 부스터 접종 후 또한 1차 부스터 접종시와 같이 현저한 형광과 중화항체 역가의 증가를 볼 수 있어 백신에 의한 기왕성면역반응을 확인할 수 있었으며 2차 부스터 접종 후 12개월 후에도 높은 양성률이 유지되는 것을 관찰할 수 있었다.

한탄바이러스 백신이 일정한 부스터 접종에 의한 장기간 면역효과가 유지되는지, 또한 중화항체도 지속적으로 유지되는지를 관찰하고 있으며 B형 간염 백신의 경우 0, 1, 6개월의 3회 기본 예방접종 후 5년째에 부스터 접종을 하는 것과 같이 한탄바이러스 예방백신도 장기간의 연구가 있어야 할 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- 1) Avsic-Zupanc CT, Toney A, Anderson K, Chu

- YK, Schmaljohn C:** Genetic antigenic properties of Dobrava virus: a unique member of the genus *Hantavirus* family *Bunyaviridae*. *J Gen Virol* **76** (11): 2801-2808, 1995.
- 2) **Chizhikov VE, Spiropoulou CF, Morzunov SP, Monroe MC, Peters CJ, Nichol ST:** Complete genetic characterization and analysis of isolation of Sin Nombre Virus. *J Virol* **69**: 8132-8136, 1995.
- 3) **Chu YK, Gligic A, Tomanovic S, Bozovjc B, Obradovic M, Woo YD, Ahn CN, Kim H, Ji-ang YS, Park SC, Kim MJ, Lee EI, Lee HW:** A field efficacy trial of inactivated Hantaan virus vaccine (Hantavax™) against HFRS in the endemic areas of Yugoslavia from 1996 to 1998. *J Kor Soc virol* **29**(2): 55-64, 1999.
- 4) **Chu YK, Rossi C, LeDuc JW, Lee HW, Schmaljohn CS, Dalrymple JM:** Serological relationships among viruses in the *Hantavirus* Genus, Family *Bunyaviridae*. *Virol* **198**: 196-204, 1994.
- 5) **Chu YK, Woo YD, Lee HW:** Immune response and antibody persistence against Hantaan virus of vaccinees with Hantavax™. *Kor J Infec Disease* **30**(4): 317-324, 1998.
- 6) **Earle DP:** Symposium on epidemic haemorrhagic fever. *Am J Med* **16**: 617-709, 1954.
- 7) **French GR, Foulke RS, Brand OA:** Korean haemorrhagic fever propagation of the etiologic agent in a cell line of human origin. *Science* **211**: 1046-1048, 1981.
- 8) **Goldgaber D, Gibbs Jr. CJ, Gajdusek DC, Svedmyr A:** Definition of three serotypes of *Hantaviruses* by a double sandwich ELISA with biotin avidin amplification system. *J Gen Virol* **66**: 1733-1740, 1985.
- 9) **Lee HW:** Global distribution and molecular biological characteristics of *Hantavirus*. *J Kor Soc Virol* **16**: 1-5, 1986.
- 10) **Lee HW:** Vaccination of haemorrhagic fever with renal syndrome. *J Kor Acad Med vol 13. No. 11.* s32-38, 1992.
- 11) **Lee HW, Ahn CN:** Development of vaccine against haemorrhagic fever with renal syndrome. *J Kor Soc Virol* **18**: 143-148, 1988.
- 12) **Lee HW, Ahn CN, Song JW, Baek LJ, Seo TJ, Park SC:** Field trial of an inactivated vaccine against haemorrhagic fever with renal syndrome in humans. *Arch Virol (Suppl 1)*: 35-47, 1990.
- 13) **Lee HW, Back LJ, Woo YD:** The persistence of immunity against Haemorrhagic fever with renal syndrome among Hantaan virus vaccinees. *J Kor Soc Micro* **27**(1): 73-77, 1992.
- 14) **Lee HW, Dalrymple JM:** Manual of haemorrhagic fever with renal syndrome. WHO Collaborating Centre for Virus Reference and Research (HFRS). Institute for viral disease: 83-87, 1989.
- 15) **Lee HW, Lee PW:** Korean haemorrhagic fever I. Demonstration of causative antigen and antibodies. *Kor J Internal Med* **19**: 371-383, 1976.
- 16) **Lee HW, Lee MC, Cho KS:** Management of Korean haemorrhagic fever. *Med Prog* **2**: 15-21, 1980.
- 17) **Lee HW, Lee PW, Johnson KM:** Isolation of the etiologic agent of Korean haemorrhagic fever. *J Infect Dis* **137**: 298-308, 1978.
- 18) **Lee PW, Lee HW:** Use of Western blotting for detection of anti *Hantavirus* antibodies and differential diagnosis of haemorrhagic fever with renal syndrome. *J Kor Soc Virol* **19**: 91-99, 1989.
- 19) **McCormick JB, Sasso DR, Palmer EL, Kiley MP:** Morphological identification of the agent of Korean haemorrhagic fever (Hantaan virus) as a member of the *Bunyaviridae*. *Lancet* **i**: 765-768, 1984.
- 20) **Mitani K:** 新素材を用いた免疫學的凝集反應. *化學と生物* **27**: 216-217, 1989.
- 21) **Padula PJ, Edelstein A, Miguel SDL, Lopez NM, Rossi CM, Rabinovich RD:** Hantavirus Pulmonary Syndrome outbreak in Argentina: Molecular evidence for person-to-person transmission of Andes virus. *Virol* **241**: 323-330, 1998.
- 22) **Schmaljohn CS, Dalrymple JM:** Analysis of Hantaan virus RNA: Evidence for a new genus of *Bunyaviridae*. *Virol* **131**: 482-491, 1983.
- 23) **Seong IW, Song KJ, Park DW, Lee HW:** Serologic differential diagnosis of haemorrhagic fever with renal syndrome caused by Hantaan and Seoul viruses by hemagglutination inhibition test. *J Kor Soc Virol* **16**: 121-129, 1986.

- 24) **Suh DJ, Lee MS, Woo YD, Lee HW:** A study of immunogenicity of an inactivated vaccine against hemorrhagic fever with renal syndrome. *J Kor Soc Virol* **22(2)**: 245-248, 1992.
- 25) **Tomiyama T, Lee HW:** Rapid serodiagnosis of *Hantavirus* infections using high density particle agglutination. *Arch Virol (suppl 1)*: 29-33, 1990.
- 26) **van der Groen JB, Leirs H, Verhagen R:** Polyhostal nature of Hantaan virus. 197-207, Proc. Second. Symp. Reent. Advances in rodent Control, Kuwait. 1988.
- 27) **White BA:** PCR protocol, current methods and application, *Methods in molecular biology*. vol. **15**. Humana press. Totowa. New Jersey. USA. 1993.
- 28) **White JD, Shirey FG, French GR, Huggins JW, Brand OM, Lee HW:** Hantaan virus, aetiologic agent of Korean haemorrhagic fever, has *Bunyaviridae* like morphology. *Lancet* **i**: 768-771, 1982.
- 29) **Xiao SY, Chu YK, Schmaljohn CS:** Phylogenetic analyses of virus isolates in the genus *Hantavirus*, Family *Bunyaviridae*. *Virol* **198**: 205-217, 1994.
- 30) **Yanagizawa G:** Preparation of Japanese encephalitis vaccine. 80-85. 2nd ed. National Institute of Preventive Medicine and Hygiene. Tokyo, 1976.