

CJ-50005(A형 간염백신)의 Rat 및 Dog에서의 단회투여독성

김중호* · 이성학 · 최재목 · 김달현 · 김현석 · 정용주
제일제당 종합기술원 제약연구소

Single Dose Toxicity Studies of CJ-50005 (Hepatitis A virus Vaccine) in Rats and Dogs

Jong Ho Kim*, Sung Hak Lee, Jae Mook Choi, Dal Hyun Kim, Hyun Seok Kim and Yong Ju Chung

R&D Center of Pharmaceuticals, Cheil Jedang Corp., 522-1 Dokpyung-Ri, Majang-Myon,
Ichon-Si, Kyonggi-Do 467-810, South Korea

(Received September 4, 2001)

(Accepted October 4, 2001)

ABSTRACT: The acute toxicity of CJ-50005, an inactivated whole virus vaccine derived from hepatitis A virus (HM175) grown in human MRC-5 diploid fibroblast culture, was tested in Sprague Dawley (SD) rats and beagle dogs. CJ-50005 was orally and intramuscularly administered up to the maximum dose of 81 µg/kg, as much as 3,000 times of the expected clinical dose, in SD rats and was intramuscularly administered up to 27 µg/kg, as much as 1,000 times of the expected clinical dose, in beagle dogs. In these experiments, there were no death and clinical changes which were related to CJ-50005 administration. In addition, there were no significant changes between control and treated groups in body weights and autopsy findings. In conclusion, the administration of CJ-50005 over 81 µg/kg in SD rats and over 27 µg/kg in beagle dogs was proved to be safe, and it is thought that CJ-50005 may not show any toxicity in its clinical use.

Key Words: Acute toxicity, Hepatitis A vaccine, CJ-50005, Rat, Dog

I. 서 론

A형 간염은 사람의 접촉이나 A형 간염 바이러스(Hepatitis A virus, HAV)에 의해 오염된 물이나 음식을 통해 주로 fecal-oral route로 전염되는 급성질환으로, 평균 28일(15~50일)의 잠복기를 가지며(Krugman *et al.*, 1970) 식욕부진, 구역질, 구토, 피로, 무력감, 두통, 관절통, 근육통, 설사, 미열, 황달과 같은 임상증상을 나타낸다(Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices, 1999). 또한 만성화되지는 않지만 지연성 간염, 재발성 간염, 담즙 정체성 간염, 전격성 간염 등의 합병증을 유발하기도 하며 그 치사율은 0.1~2.1%에 이른다. 미국의 경우 매년 발생하는 급성간염의 30%가 HAV에 의한 것으로 보고되고 있다(Alter *et al.*, 1990). 우리나라의 경우 경제성장과 함께 생활환경이 개선되어 A형간염이 급격히 줄고 있어 현재 20세 이하의 사람 중 90% 이상이 A형 간염에 대한 항체가 없다. 그런데 A형 간염의 증상은 연령에 따

라 차이가 있어 6살 이하의 어린 시기에 걸리면 별다른 증상 없이 가벼운 장염처럼 앓고 지나가지만(Hadler *et al.*, 1980), 6살 이상의 어린이와 어른이 감염되면 여러 가지 합병증이 생겨 문제가 커지게 된다(Lender *et al.*, 1985). 따라서 요즘은 A형 간염 예방접종이 권장되고 있으며 현재 SmithKline Beecham사의 HAVRIX(HM 175 strain, Inactivated)와 Merck사의 VAQTA®(CR326F strain, Inactivated)가 판매되고 있다. 이 외에도 현재 스웨덴에서만 등록이 되어 있는 Epaxal Berna emulsion(Istituto Sieroterapico Berna s.r.l., Italy)가 있다. 이 백신은 HAV strain RG-SB를 사람의 MRC-5 세포에서 배양, 정제한 후 포르말린으로 불활화시켜 얻은 virus particle을 IRIV(immunopotentiating reconstituted influenza virosome)이라는 synthetic virosome에 결합시켜 제조한 것이다.

제일제당(주) 종합기술원에서는 A형 간염 바이러스 감염에 의한 급성간염을 예방할 수 있는 효과적인 백신을 국산화하기 위하여, HAV HM175 균주를 미국의 FDA에서 안전성을 인정한 사람 이배체 세포인 MRC-5 세포에서 배양, 정제한 후 포르말린으로 불활화하여 높은 면역원성과 안전성

*To whom correspondence should be addressed

Table 2. Mortality of SD rats after single intramuscular administration of CJ-50005

Sex	Dose (µg/kg)	Hours after treatment						Days after treatment							Final mortality	
		1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	7		
Male	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	0.81	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	8.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	81	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
Female	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	0.81	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	8.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	81	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5

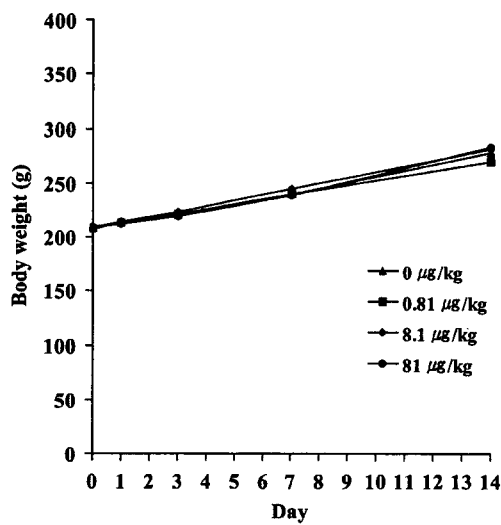


Fig. 1. Body weight changes of SD male rats (n = 5) after single oral administration of CJ-50005.

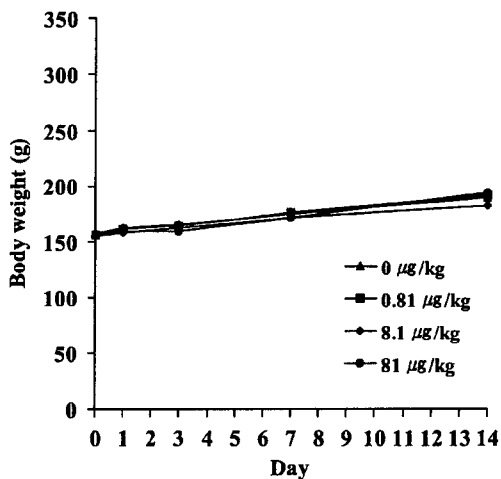


Fig. 2. Body weight changes of SD female rats (n = 5) after single oral administration of CJ-50005.

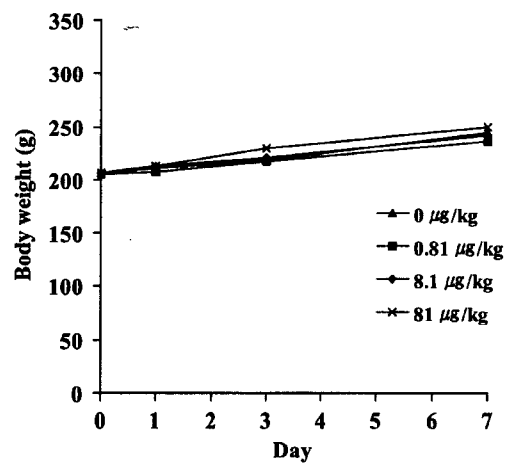


Fig. 3. Body weight changes of SD male rats (n = 5) after single intramuscular administration of CJ-50005.

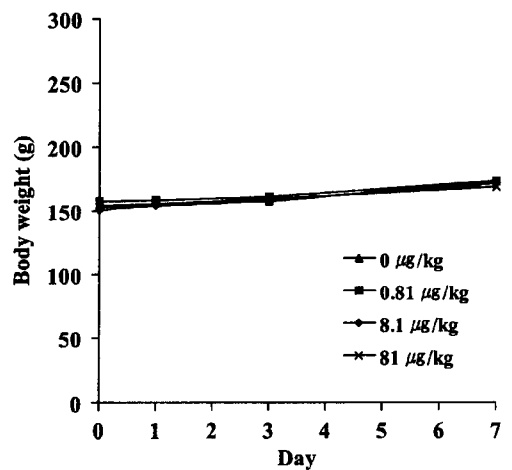


Fig. 4. Body weight changes of SD female rats (n = 5) after single intramuscular administration of CJ-50005.

및 경구 모두 81 µg/kg까지 투여하여 실시하였으나 폐사 동물(Table 1, 2)은 물론 일반증상, 체중변화(Figs. 1, 2, 3,

4) 및 해부병리 소견에서도 시험물질 투여에 의한 것이라고 생각되는 변화는 발생하지 않았다. 따라서, CJ-50005는 SD 랫드에서 근육 및 경구로 81 µg/kg 이상 투여하여도 안전한 것으로 판단된다.

Table 3. Mortality of beagle dogs after single intramuscular administration of CJ-50005

Sex	Dose (µg/kg)	Hours after treatment						Days after treatment							Final mortality		
		1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	7			
Male	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/1
	27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/2
Female	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/1
	27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/2

2. 비글개에서의 단회투여독성

CJ-50005를 비글개에 27 µg/kg까지 근육에 투여하여 단회투여 독성시험을 실시한 결과 폐사동물(Table 3), 체중의 변화(Fig. 5), 임상증상, 혈액학적 parameter 및 혈액생화학적 parameter(Table 4)에서 대조군과 비교하여 특이한 이상이 발견되지 않았다. 따라서 모든 결과를 종합하여 볼 때 시험물질인 CJ-50005는 비글개에서 근육으로 투여했을

때 어떠한 독성도 나타내지 않았으므로 27 µg/kg 이상 투여해도 안전한 것으로 판단된다.

IV. 고 찰

A형 간염은 개발도상국에서 매우 높은 빈도로 발생하는 viral disease로서, 주로 어릴 때 감염되지만 대부분 증상이 없거나 경미하게 나타나게 된다. 주된 감염 경로는 fecal-oral route이며 간혹 전격성 감염 또는 사망의 원인이 되기도 한다(미국의 경우 매년 전격성 감염으로 인해 80명 정도가 사망한다).

현재 HAVRIX®(SmithKline Beecham Biologicals)와 VAQTA®(Merck & Co., Inc.) 두 종류의 A형 간염 백신이 승인을 받아 판매되고 있다. 두 백신 모두 포르말린으로 불활화한 inactivated vaccine이며, virus를 MRC-5 human diploid fibroblast에서 증식시켜 제조하였다. 본사에서 만든 A형 간염 백신인 CJ-50005도 이 MRC-5 세포를 이용해 HM 175 virus strain을 증식·정제한 후 포르말린으로 불활화시켜 제조한 것이다.

본 논문에서는 CJ-50005에 대한 안전성 시험의 일환으로서 랫드 및 비글개를 이용해 실시한 단회투여 독성시험의 결과를 나타내고 있다. CJ-50005에 대한 단회투여 독성시험을 SD 랫드에서 근육내 및 경구투여로 81 µg/kg까지 투여하고, 비글개에서는 근육내로 27 µg/kg까지 투여하

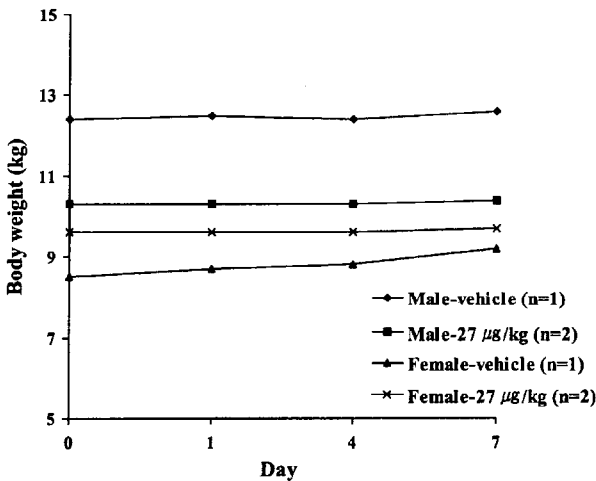


Fig. 5. Body weight changes of beagle dogs (n = 2) after single intramuscular administration of CJ-50005.

Table 4. Hematological and biochemical values of beagle dogs before and after single intramuscular administration of CJ-50005

Parameters	Group	Male				Female			
		Control (n = 1)		27 µg/kg (n = 2)		Control (n = 1)		27 µg/kg (n = 2)	
		Before	After	Before	After	Before	After	Before	After
WBC (10 ³ /mm ³)		9.8	9.0	11.7	12.6	14.7	15.6	14.2	11.0
RBC (10 ⁶ /mm ³)		8.2	8.5	9.0	9.9	8.9	9.6	15.0	9.8
Hb (g/dl)		16.4	17.0	19.3	21.4	18.0	19.6	21.8	20.3
Ht (%)		45.4	49.0	52.4	60.4	50.4	56.2	63.7	57.4
MCV (fl)		55.0	57.0	58.5	61.0	57.0	59.0	55.0	58.5
MCH (pg)		19.9	19.9	21.5	21.6	20.3	20.5	15.5	20.6
MCHC (g/dl)		36.1	34.6	36.8	35.4	35.7	34.8	36.1	35.2
PLT (10 ³ /mm ³)		286.0	194.0	215.0	110.5	256.0	190.0	304.5	162.5
ALT (U/l)		27.1	28.0	30.9	42.7	33.3	33.6	26.2	35.8
BUN (mg/dl)		26.9	27.4	17.4	22.0	35.2	34.0	15.0	23.7

Each vaule represents the mean±S.D.

여 실시한 결과 모든 동물 및 어떠한 투여 경로에서도 임상증상, 체중변화, 혈액학적 parameter 및 혈액생화학적 parameter에서 시험물질의 투여에 의한 것이라고 생각되는 변화는 발견되지 않았다.

HAVRIX®의 경우 약 5만명을 대상으로 한 임상시험에서 심각한 부작용을 유발하지 않았으며, VAQTA®의 경우에도 약 1만명에서 백신 투여와 관련된 부작용을 나타내지 않았다. 두 가지 백신 모두에서 가장 흔하게 보이는 부작용은 주사부위의 통증, 두통, 피로와 식욕부진 등이었지만 접종 후 1~2일 정도에는 사라지는 것으로 보고되어 있다.

이상의 모든 결과를 종합하여 볼 때 시험물질인 CJ-50005는 SD 래트에서 근육내 및 경구로 임상예상용량의 3,000배인 81 µg/kg 이상을, 비글개에서는 근육내로 임상예상용량의 1,000배인 27 µg/kg 이상 투여해도 안전한 것으로 생각되며, 임상적으로 사용될 때 독성 및 부작용의 측면에서 기존에 접종되고 있는 HAVRIX®와 VAQTA® 만큼 안전할 것으로 사료된다.

참고문헌

- Alter, M.J., Hadler, S.C. and Judson, F.N. (1990): Risk factors for acute non-A, non-B hepatitis in the United States and association with hepatitis C. *JAMA*, **264**, 2231-2235.
- Kim, D.-H., Cho, H., Kang, K.-K., Ahn, B.-O. and Kim, W.-B. (1999): Acute toxicity study on recombinant human basic fibroblast growth factor in rats and dogs. *J Toxicol Pub Health*, **15**, 211-214.
- Lim, D.-M., Kang, J.-K., Kim, D.-H., Chung, Y.-J., Kim, S.-O. and Lee, Y.-S. (1999): Acute toxicity of CJ-50003 (Japanese encephalitis vaccine) in rats and dogs. *J Toxicol Pub Health*, **15**, 243-246.
- Hadler, S.C., Webster, H.M., Erben, J.J., Swanson, J.E. and Maynard, J.E. (1980): Hepatitis A in day-care centers; a community wide assessment. *N ENG J. Med.*, **302**, 1222-1227.
- Krugman, S. and Giles, J.P. (1970): Viral hepatitis; new light on an old disease. *JAMA*, **212**, 1019-1029.
- Lender, W.M., Lemon, S.M., Kirkpatrick, J.W., Redfield, R.R., Fields, M.L. and Kelley, P.W. (1985): Frequency of illness associated with epidemic hepatitis A virus infection in adults. *Am. J. Epidemiol.*, **122**, 226-233.
- Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (1999): Prevention of hepatitis A through active or passive immunization. *MMWR*, 48 (No. RR-12), pp. 1-37.
- Lee, S.-H., Lim, D.-M., Kim, D.-H., Jung, S.-B., Park, W.-J. and Lee, Y.-S. (1999): Single dose toxicity of CJ-50002 (Vibrio vaccine) in rats and dogs. *J. Toxicol. Pub. Health*, **15**, 255-258.
- 식품의약품안전청 (1998): 의약품 등의 독성시험 기준, 식품의약품안전청 고시 제 1998-56호.