

*Vibrio vulnificus*에 대한 경구용백신 CJ-50002의 일반약리작용

김영훈* · 정성목 · 신재규 · 최재목 · 이나경 · 박완제 · 이윤하 · 이영수
제일제당 종합기술원

General Pharmacology of CJ-50002, an Oral Vaccine against *Vibrio vulnificus* Infection

Young Hoon KIM*, Seong Mok JEONG, Jae Kyu SHIN, Jae Mook CHOI,
Na-Gyong LEE, Wan Je PARK, Younha LEE and Young Soo LEE

Institute of Technology and Science, Cheil Jedang Corp., 522-1, Dokpyong-Ri,
Majang-Myon, Ichon-Si, Kyonggi-Do 467-810 Korea

(Received November 19, 1998; accepted February 1, 1999)

Abstract – CJ-50002 is an oral vaccine against *V. vulnificus* infection composed of whole cell lysate of *V. vulnificus*. The general pharmacological properties of CJ-50002 were evaluated in various animals and *in vitro* system. CJ-50002 at oral doses of 0.2, 2 and 20 mg/kg had no effect on general behavior in mice, chemo- and electro-convulsions in mice, writhing syndrome induced by acetic acid in mice, body temperature in rats, charcoal meal propulsion in mice and urine and electrolytes excretion in rats. However, oral administration of CJ-50002 at dose of 20 mg/kg prolonged the hexobarbital-induced sleeping inducing time in mice. In anesthetized dogs, CJ-50002 showed no effect on blood pressure, heart rate and ECG but decreased the respiratory rate and femoral blood flow at dose of 20 mg/kg, p.o. CJ-50002 had no effect on the contractile response of the isolated guinea pig ileum to various spasmogen at concentrations of 0.2, 2 and 20 µg/ml, respectively. Since these pharmacological effects of CJ-50002 were observed at dose much greater than those in clinical use (approximately 0.16 mg/kg, p.o.), it is likely that this vaccine may be relatively free of undesirable effects in clinical practice.

Keywords □ CJ-50002, Oral vaccine against *V. vulnificus*, General pharmacology

비브리오 패혈증은 호염성 그람음성 해양미생물인 *Vibrio vulnificus*의 감염에 의해 발생하며(Kelly, 1982) 해수 및 어패류를 통해 감염되어(Hlady와 Klontz, 1996; Rotz 등, 1996), 수막염, 폐렴, 근염, 각막염, 자궁내막염 등을 일으킨다. *Vibrio vulnificus*의 감염은 항생제로 치료한다 하더라도 영구적인 조직손상과 같은 심각한 후유증을 남기며(박석돈, 1996), 특히 알코올 중독이나 간염 등 만성간질환이나 당뇨병과 같은 기저질환이 있는 경우 쉽게 패혈증을 일으켜 치사율이 60% 이상에 이르는 질환이다(Tacket 등 1984; Wittman과 Griffin, 1993).

이러한 *V. vulnificus* 감염에 의한 패혈증 예방을 위한 경구용 백신으로 제일제당에서 개발한 CJ-50002는 *V. vulnificus*균의 세포외막단백질을 주요 항원으로 하는 *V. vulnificus* 용균물로, 실험동물에 경구로 투여했을 때에 혈중에

IgG항체 생성을 유도하였고, 이 항체는 *in vitro*와 *in vivo*에서 *V. vulnificus* 균의 감염을 예방하여 그 우수한 면역원성과 감염예방능력이 확인되었다(Lee 등, 1997; 박완제 등, 1998).

본 연구에서는 CJ-50002에 대한 안전성을 확인하기 위하여 예상 임상투여용량(10 mg/man, 0.16 mg/kg)의 1.2배(0.2 mg/kg), 12배(2 mg/kg), 120배(20 mg/kg)의 용량으로 중추신경계, 호흡·순환기계, 평활근, 소화기계, 수분 및 전해질 배설 등에 대한 약리작용을 각종 실험동물과 *in vitro* 시험계에서 검토하였다.

실험재료 및 방법

시험물질

제일제당에서 생산된 미황색분말의 CJ-50002(Lot VIB 705)을 vehicle(주사용 증류수)에 현탁하여 사용하였다. 시

* To whom correspondence should be addressed.

험물질의 투여용량은 사람에서의 예상 임상투여량(10 mg/man, 0.16 mg/kg) 감안하여, 실험동물에서는 예상임상투여량의 120배(20 mg/kg)를 최대용량으로 하였다.

양성대조물질로 사용한 atropine sulfate(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)와 chlorpromazine · HCl(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)은 주사용 증류수에 녹여서 사용하였으며, indomethacin(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)은 0.5 M NaHCO₃에 녹였고, pentobarbital sodium(한림제약, 한국)과 furosemide(한독약품, 한국)는 용액상태의 제품을 주사용 증류수로 희석하여 사용하였다. 시험물질의 투여시에는 마우스에는 10 ml/kg, 랫드에는 5 ml/kg 그리고 개에는 1 ml/kg의 용량으로 각각 sonde와 Forley tube를 이용하여 강제 경구투여하였다.

실험동물

실험동물의 사육조건은 온도 23±3℃, 습도 50±10%, 환기횟수 12~13회/h, 조도 150~300 Lux의 환경에서 사료와 음수는 자유급식시켰다. 시험에 사용한 ICR계 마우스와 Sprague Dawley(SD)계 랫드는 SPF(Specific pathogen free) 동물을 대한실험동물(한국)에서 구입하여 사용하였으며, Hartley계 기니픽은 삼육실험동물(한국)에서 구입하여 사용하였고, Beagle 견은 Hazleton(Cumberland, VA, USA)에서 구입하여 사용하였다. 모든 실험동물은 검역과 1주일 이상의 순화기간을 거친 후에 정상인 동물만 사용하였다.

실험방법

일반행동에 미치는 영향

ICR계 마우스(웅성, 6주령, 30~35 g)를 군당 10 마리씩 사용하였다. Vehicle 또는 CJ-50002 0.2, 2, 20 mg/kg을 sonde를 이용하여 경구투여하고 30분, 60분, 120분, 240분 및 24시간 쯤에 나타나는 증상을 Irwin 다차원 관찰법(Irwin, 1968)에 준하여 인지력, 기분, 운동성, 중추흥분, 운동협조성, 근육긴장도, 반사 및 자율신경성 징후등에 대하여 관찰하였다.

중추신경계에 대한 작용

Hexobarbital 수면에 미치는 영향

ICR계 마우스(웅성, 6주령, 31~36 g)를 군당 10 마리씩 사용하였다. Vehicle 또는 CJ-50002 0.2, 2, 20 mg/kg 및 chlorpromazine · HCl 10 mg/kg을 sonde를 이용하여 경구투여하고 30분 후에 hexobarbital(TCI, Tokyo, Japan) 70 mg/kg을 복강내 투여하여 수면을 유도하였다. 정향반사 소실을 지표로하여 수면유도시간 및 수면시간을 측정하였다.

항경련작용

a. Pentetrazol 유발 경련에 미치는 영향

ICR계 마우스(웅성, 6주령, 27~30 g)를 군당 10 마리씩

사용하였다. Vehicle 또는 CJ-50002 0.2, 2, 20 mg/kg 및 phenobarbital sodium 100 mg/kg을 sonde를 이용하여 경구투여하고 경련의 발생유무를 관찰하였다. 시험약물투여 30분 후에 pentetrazol(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) 100 mg/kg을 복강내 주사하고 간대성경련과 강직성경련의 발현 및 사망 유무를 30분 동안 관찰하였다.

b. Strychnine 유발 경련에 미치는 영향

ICR계 마우스(웅성, 6주령, 26~28 g)를 군당 10 마리씩 사용하였다. Vehicle 또는 CJ-50002 0.2, 2, 20 mg/kg 및 phenobarbital sodium 100 mg/kg을 sonde를 이용하여 경구투여하고 경련의 발생유무를 관찰하였다. 시험약물투여 30분 후에 strychnine(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) 2 mg/kg을 복강내 주사하고 간대성 경련과 강직성 경련의 발현 및 사망 유무를 30분 동안 관찰하였다.

c. 전기자극(Maximal electric shock, MES)에 의한 경련에 미치는 영향

ICR계 마우스(웅성, 6 주령, 29~32 g)를 군당 9 마리씩 사용하였다. Vehicle 또는 CJ-50002 0.2, 2, 20 mg/kg 및 phenobarbital sodium 100 mg/kg을 sonde를 이용하여 경구투여하고 경련의 발생유무를 관찰하였다. 시험약물투여 30분 후에 마우스의 양쪽 컷바퀴에 전극을 장치하고 rodent shocker(Type 221, HSE, Freiburg, Germany)를 이용하여 50 mA, 60 Hz, 0.4 msec의 조건으로 0.7초간 전기자극을 하여 간대성 경련과 강직성 경련의 발현 및 사망 유무를 관찰하였다.

진통작용에 미치는 영향(초산 writhing 법)

ICR계 마우스(웅성, 6 주령, 30~34 g)를 군당 10 마리씩 사용하였다. Vehicle 또는 CJ-50002를 0.2, 2, 20 mg/kg 및 indomethacin 20 mg/kg을 sonde를 이용하여 경구투여하고 30분 후에 0.6% acetic acid(Merck, Darmstadt, Germany)를 0.1 ml/10 g BW씩 복강내 주사하였다. Acetic acid 투여 10분 후부터 10분 동안 일어나는 writhing 횟수를 측정하였다.

체온에 미치는 영향

SD계 랫드(웅성, 5주령, 170~200 g)를 군당 8 마리씩 사용하였다. Vehicle 또는 CJ-50002를 0.2, 2, 20 mg/kg 및 chlorpromazine · HCl 20 mg/kg을 sonde를 이용하여 경구투여하고 30분, 1, 2 및 4시간째에 digital pyrometer(PM 20700, Thermolyne, Dubuque, IA, USA)를 사용하여 직장온도를 측정하였다.

호흡·순환기계에 대한 작용

Beagle견(웅성, 8~10 kg) 9마리를 사용하였다. 마취는 요측피정맥으로 pentobarbital sodium(40 mg/kg)을 투여함으로써 유도하여 동일한 마취제(3 mg/kg/h)로 유지하였다. 혈압은 좌측 대퇴동맥에 catheter를 삽입하고 blood pressure transducer(P23XL, Grass, Quincy, MA, USA)를 연결하여 측정하고, 심박수는 혈압의 맥파를 tachograph(7P44D, Grass,

Quincy, MA, USA)에 연결하여 측정하였다. 대퇴 혈류량은 우측 대퇴동맥에 electro magnetic blood flow transducer (MT4020, Micron Medical, Losangeles, USA)를 장치하고 전자혈류계(RC2000, Micron Medical, Losangeles, USA)로 측정하였다. 심전도는 제 II 유도에 의해 기록하였다. 혈압, 심박수, 대퇴혈류량 및 심전도는 모두 polygraph(Polygraph 7H, Grass, Quincy, MA, USA)를 이용하여 기록하였다. 호흡수는 흉강의 움직임을 육안으로 관찰하여 측정하였다. 마취가 안정된 후 vehicle, CJ-50002 2 mg/kg, 20 mg/kg을 Foley catheter (22F)를 이용하여 강제 경구투여하고 10분, 20분, 30분, 60분, 120분째에 위의 항목들을 측정하였다.

소화기계에 미치는 영향(장관수송능에 대한 작용)

18시간 이상 절식시킨 ICR계 마우스(웅성, 6주령, 26~31 g)를 군당 10 마리씩 사용하였다. Vehicle, CJ-50002를 0.2, 2, 20 mg/kg 및 atropine sulfate 20 mg/kg을 sonde를 이용하여 경구투여하고 30분 뒤에 10% arabia gum에 현탁한 5% activated charcoal을 0.1 ml씩 경구투여하였다. Charcoal 투여 15분 후에 경추탈골법으로 마우스를 희생시킨 후 장관을 적출하여 십이지장 기시부에서 회맹부까지의 길이와 charcoal이 이동한 거리를 측정하여 수송율(%)을 측정하였다.

수분 및 전해질 대사에 미치는 영향(노 및 전해질 배설에 대한 작용)

SD계 랫드(웅성, 5 주령, 170~200 g)를 군당 8 마리씩 사용하였다. Vehicle, CJ-50002를 0.2, 2, 20 mg/kg 및 furosemide 20 mg/kg의 투여용량으로 경구투여한 직후에 생리식염수를 25 ml/kg씩 경구투여하였다. 동물을 한마리씩 대사케이지에 넣고 5시간 동안의 뇨를 채취한 후 뇨량을 측정하고, 뇨중 전해질(Na⁺, K⁺, Cl⁻)은 전해질 분석기(644 Analyzer, Ciba Corning, Medfield, USA)를 이용하여 측정하였다.

평활근에 미치는 영향(Guinea pig의 적출회장 수축에 미치는 영향)

체중 300~350 g의 웅성 Hartley계 guinea pig을 사용하였다. 24시간 절식 시킨 guinea pig를 방혈 희생 시킨 후 회장을 적출하여 organ bath(Tyrode액, 20 ml, 32°C, 95% O₂ and 5% CO₂, 1 g 부하)에 현수하였다. 회장의 수축은 isotonic transducer(FT03, Grass, Quincy, MA, USA)의 계재하에 polygraph(Polygraph 7H, Grass, Quincy, MA, USA)를 이용하여 측정하였다. 회장이 현수된 organ bath 내에 수축유발 물질인 acetylcholine(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA, 1×10⁻⁷ M), histamine(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA, 1×10⁻⁷ M) 및 BaCl₂(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA, 1×10⁻³ M)를 각각 적용하여 회장의 최대 수축값을 구한 후, 군당 3~5 예씩 vehicle 및 미리 CJ-50002가 0.2, 2, 20 µg/ml이 포함되어도록 만들어진 medium 용액 전체를 바꾸어 20분간 적용한 다음 위의 수축유발물

질을 다시 적용한 뒤 최대 수축값에 대한 수축율을 구하여 적출회장의 수축에 미치는 영향을 검토하였다. BaCl₂에 의한 수축은 회장의 중주근만을 분리하여 사용하였다.

통계

모든 data는 mean±SD로 나타내었으며 대조군과 처치군을 ANOVA 및 Dunnett's t-test로 검증하여 p<0.05인 경우 통계학적 유의성이 있는 것으로 판정하였다. 경련에 대한 작용은 발생수/시험동물수로 표현하였으며 통계학적인 유의성은 Fisher's exact test에 의하여 p<0.05 수준에서 검증하였다.

실험결과

일반행동에 미치는 영향

CJ-50002 및 vehicle을 투여하고 30분, 60분, 120분, 240분 및 24시간 제에 나타나는 증상을 Irwin 다차원 관찰법(Irwin, 1968)에 준하여 인지력, 기분, 운동성, 중추흥분, 운동협조성, 근육긴장도, 반사 및 자율신경성 징후 등에 대하여 관찰 결과, 특이한 행동 및 증상의 변화를 관찰할 수 없었다.

중추신경계에 대한 작용

Hexobarbital 수면에 미치는 영향

CJ-50002를 0.2 및 2 mg/kg의 용량으로 투여한 군은 vehicle을 투여한 군과 비교하여 마우스에 있어서 hexobarbital에 의한 수면유도시간과 수면시간에 있어서 유의성 있는 차이를 보이지 않았다. 20 mg/kg의 용량으로 투여한 군은 수면유도시간이 유의성 있게(p<0.05) 연장되었으나 수면시간은 차이가 없었다. 한편, 양성대조물질로 chlorpromazine·HCl (10 mg/kg)을 투여한 군에서는 유의성 있게(p<0.05) 수면시간이 연장되었다(Table I).

항경련작용

a. Pentetrazol 유발 경련에 미치는 영향

CJ-50002를 0.2, 2, 20 mg/kg의 용량으로 투여한 군은 vehicle을 투여한 군과 비교하여 pentetrazol에 의해 유발된 경련에 대하여 유의성 있는 항경련효과를 보이지 않았으

Table I. Effect of CJ-50002 on hexobarbital induced sleeping in ICR mice

Treatment	Dose (mg/kg, po)	Sleeping inducing time ^a (sec)	Sleeping time (sec)
Vehicle	-	232.0±51.2	757.1±423.51
CJ-50002	0.2	225.9±53.1	860.7±678.8
	2	312.3±140.7	1117.9±961.2
	20	352.1±98.1*	758.5±858.4
Chlorpromazine·HCl	10	195.1±64.1	6942.6±2762.1*

*Significantly different from vehicle treated group (p<0.05).

^aSleeping was induced by hexobarbital (70 mg/kg, ip).

Table II. Effect of CJ-50002 on pentetrazol-induced convulsion in ICR mice

Treatment	Dose (mg/kg, po)	No. of incidence ^a		
		Clonic seizure	Tonic seizure	Death
Vehicle	-	10/10	9/10	9/10
CJ-50002	0.2	10/10	10/10	7/10
	2	10/10	9/10	6/10
	20	10/10	8/10	8/10
Phenobarbital-Na	100	1/10*	0/10*	0/10*

*Significantly different from vehicle treated group ($p < 0.05$).

^aConvulsion was induced by pentetrazol (100 mg/kg, ip).

Table III. Effect of CJ-50002 on strychnine-induced convulsion in ICR mice

Treatment	Dose (mg/kg, po)	No. of incidence ^a		
		Clonic seizure	Tonic seizure	Death
Vehicle	-	10/10	10/10	10/10
CJ-50002	0.2	10/10	10/10	10/10
	2	10/10	10/10	9/10
	20	10/10	10/10	10/10
Phenobarbital-Na	100	10/10	5/10*	1/10*

*Significantly different from vehicle treated group ($p < 0.05$).

^aConvulsion was induced by strychnine (2 mg/kg, ip).

며, 양성대조물질로 phenobarbital sodium (100 mg/kg)을 투여한 군에서는 유의성 있게($p < 0.05$) 항경련효과를 나타내었다(Table II).

b. Strychnine 유발 경련에 미치는 영향

CJ-50002를 0.2, 2, 20 mg/kg의 용량으로 투여한 군은 vehicle을 투여한 군과 비교하여 strychnine에 의해 유발된 경련에 대하여 유의성 있는 항경련효과를 보이지 않았다. 양성대조물질로 phenobarbital sodium(100 mg/kg)을 투여한 군은 강직성 경련의 발현에 있어서 유의성 있는 항경련효과를 나타내었다(Table III).

c. 전기자극(Maximal electric shock, MES)에 의한 경련에 미치는 영향

CJ-50002를 0.2, 2, 20 mg/kg의 용량으로 투여한 군은 vehicle을 투여한 군과 비교하여 MES(maximal electric shock, 50 mA, 60 Hz, 0.4 msec, 0.7 sec)에 의해 유발된 경련에 대하여 유의성 있는 항경련효과를 보이지 않았으며, 양성대조물질로 phenobarbital sodium(100 mg/kg)을 투여한 군은 간대성 및 강직성 경련의 발현에 있어서 유의성 있는 항경련효과를 나타내었다(Table IV).

진통작용에 미치는 영향(초산 writhing 법)

CJ-50002를 0.2, 2, 20 mg/kg의 용량으로 투여한 군은 vehicle을 투여한 군과 비교하여 0.6% acetic acid의 복강투

Table IV. Effect of CJ-50002 on MES-induced convulsion in ICR mice

Treatment	Dose (mg/kg, po)	No. of incidence ^a		
		Clonic seizure	Tonic seizure	Death
Vehicle	-	9/10	10/10	1/10
CJ-50002	0.2	9/9	9/9	0/9
	2	9/9	9/9	0/9
	20	9/9	9/9	0/9
Phenobarbital-Na	100	3/9*	0/9*	0/9

*Significantly different from vehicle treated group ($p < 0.05$).

^aConvulsion was induced by MES (maximal electric shock, 50 mA, 50 Hz, 0.4 msec, 0.5 sec).

Table V. Effect of CJ-50002 on acetic acid-induced writhings in ICR mice

Treatment	Dose (mg/kg, po)	No. of writhings ^a (for 10 min)
Vehicle	-	15.4±2.5
CJ-50002	0.2	13.1±6.8
	2	12.1±4.7
	20	11.7±6.1
Indomethacin	20	0.3±0.9*

여에 의한 writhing 횟수에 유의성 있는 차이를 보이지 않았으며, 양성대조물질로 indomethacin(20 mg/kg)을 투여한 군에서는 유의성 있게($p < 0.05$) writhing 횟수가 감소하였다(Table V).

체온에 미치는 영향

CJ-50002를 투여하고 1시간째에 vehicle을 투여한 군과 비교하여 CJ-50002 투여군에서 유의성 있는 체온의 변화가 관찰되었으며 투여 2시간째에 2 mg/kg 투여군에서, 그리고 4시간째에 20 mg/kg 투여군에서 유의성 있는 체온의 변화가 인정되었다. 양성대조물질로 chlorpromazine·HCl(10 mg/kg)을 투여한 군에서는 투여 30분 후부터 체온이 떨어지기 시작하여 투여 60분 후부터는 유의성 있는($p < 0.05$) 체온의 저하가 관찰되었다(Table VI).

호흡·순환기계에 대한 작용

CJ-50002를 beagle 견에 2 mg/kg의 용량으로 경구투여한 후 2시간까지 혈압, 심박수, 대퇴 혈류량, 호흡수 및 심전도는 투여전과 비교하여 유의성 있는 차이를 보이지 않았다(Fig. 1-5). 한편, 20 mg/kg 투여군에서는 유의성 있는 호흡수의 감소를 나타내었으며, 대퇴혈류량은 유의성은 없었으나($p = 0.063$) 감소하는 경향을 나타내었다.

소화기계에 미치는 영향(장관수송능에 대한 작용)

CJ-50002를 0.2, 2, 20 mg/kg의 용량으로 투여한 군은 vehicle을 투여한 군과 비교하여 charcoal의 이동률에 있어서 유의성 있는 차이를 보이지 않았으며, 양성대조물질로

Table VI. Effect of CJ-50002 on rectal temperature in SD rats

Treatment	Dose (mg/kg, po)	Rectal temperature (°C) after administration (h)				
		pre	0.5	1	2	4
Vehicle	-	37.1±0.3	37.7±0.6	38.0±0.7	37.6±0.6	37.3±0.3
CJ-50002	0.2	36.9±0.3	37.4±0.4	37.1±0.5*	37.1±0.5	37.1±0.4
	2	37.0±0.6	37.3±0.3	37.0±0.3*	36.9±0.2*	37.2±0.4
	20	36.9±0.6	37.2±0.5	37.2±0.5*	37.2±0.3	36.8±0.3*
Chlorpromazine · HCl	20	37.1±0.4	36.7±0.7*	35.9±0.9*	35.6±0.9*	35.3±1.8*

*Significantly different from vehicle treated group (p<0.05).

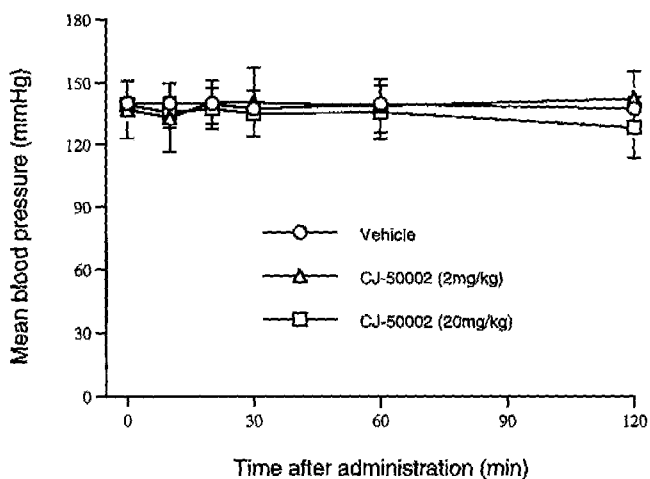


Fig. 1. Effect of CJ-50002 on mean blood pressure in anesthetized beagle dogs.

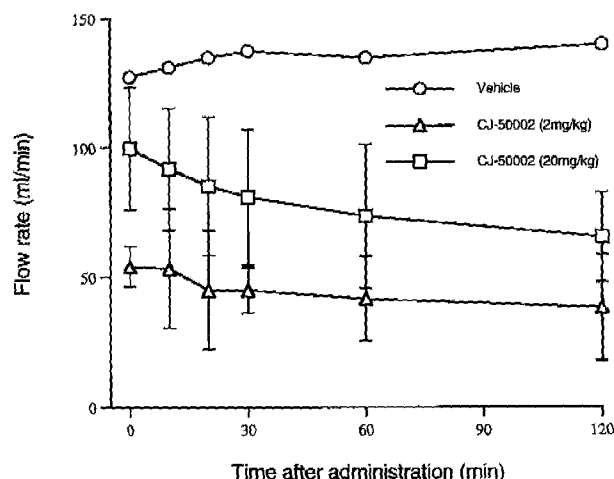


Fig. 3. Effect of CJ-50002 on femoral blood flow in anesthetized beagle dogs.

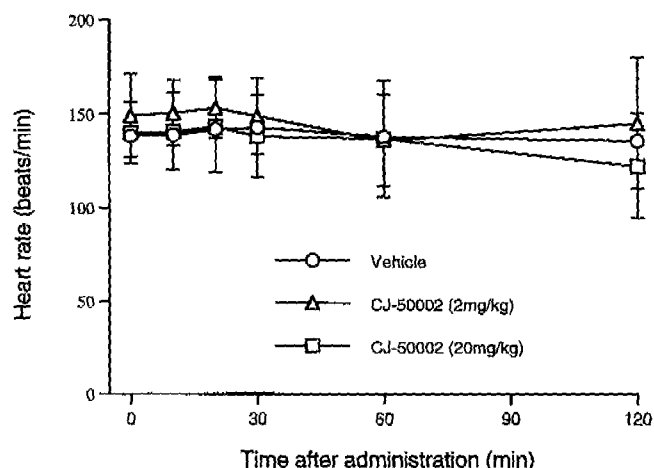


Fig. 2. Effect of CJ-50002 on heart rate in anesthetized beagle dogs.

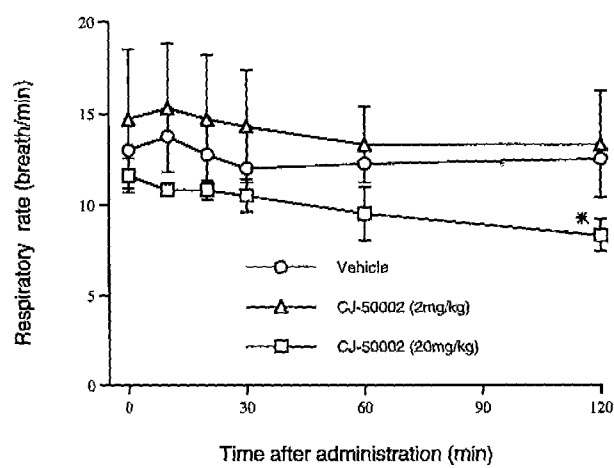


Fig. 4. Effect of CJ-50002 on respiratory rate in anesthetized beagle dogs.

atropine sulfate(20 mg/kg)를 투여한 군에서는 유의성 있게 (p<0.05) charcoal의 이동이 억제되었다(Table VII).
수분 및 전해질 대사에 미치는 영향(노 및 전해질 배설에 대한 작용)

CJ-50002를 0.2, 2, 20 mg/kg의 용량으로 투여한 군은 vehicle을 투여한 군과 비교하여 뇨량, Na⁺, K⁺ 및 Cl⁻의 배

설량에 유의성 있는 변화가 없었으며, 양성대조물질로 furosemide(10 mg/kg)를 투여한 군에서는 모든 항목이 유의성 있게(p<0.01) 증가하였다(Table VIII).
평활근에 미치는 영향(Guinea pig의 적출회장 수축에 미치는 영향)

CJ-50002은 0.2, 2, 20 µg/ml의 농도에서 acetylcholine

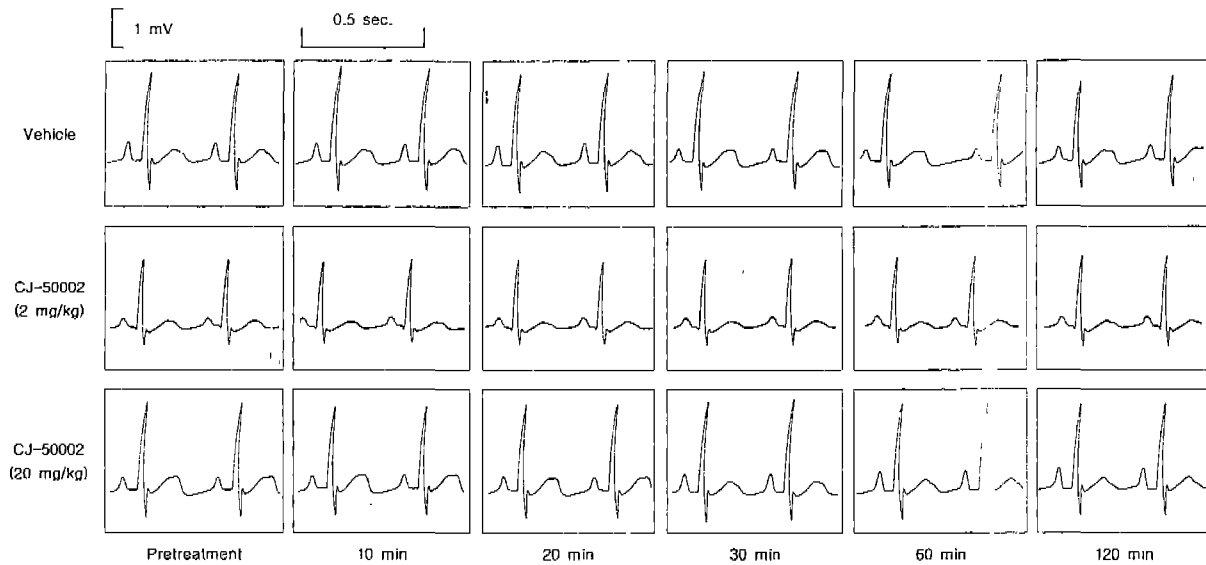


Fig. 5. Effect of CJ-50002 on electrocardiogram (lead II) in anesthetized beagle dogs. *significantly different from 0 min ($p < 0.05$).

Table VII. Effect of CJ-50002 on intestinal charcoal meal propulsion in ICR mice

Treatment	Dose (mg/kg, po)	Passage rate ^a (%)
Vehicle	-	56.0 ± 7.3
CJ-50002	0.2	60.1 ± 5.4
	2	56.6 ± 7.2
	20	60.4 ± 5.3
Atropine sulfate	20	25.8 ± 17.7*

*Significantly different from vehicle treated group ($p < 0.05$).

$$^a \text{Passage rate (\%)} = \frac{\text{Length of charcoal passage}}{\text{Length of small intestine}} \times 100$$

(1×10^{-7} M), histamine(1×10^{-7} M) 및 BaCl_2 (1×10^{-3} M)에 의한 기니피 적출회장의 수축에 유의성 있는 영향을 주지 않았다(Fig. 6-8).

고 찰

제일제당에서 개발한 경구용 비브리오 패혈증 예방백신

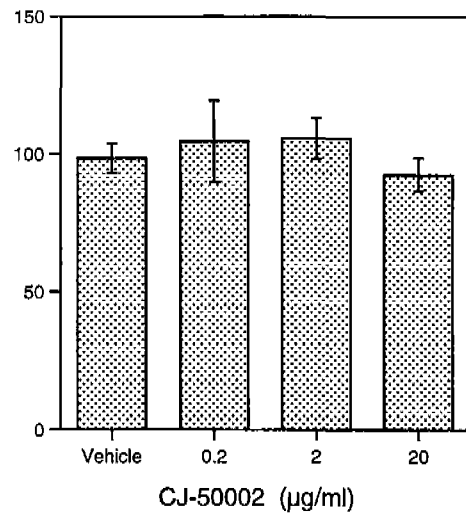


Fig. 6. Effect of CJ-50002 on acetylcholine-induced contraction in isolated guinea pig ileum.

CJ-50002의 안전성을 평가하기 위하여 각종 실험동물과 *in vitro* 시험계에서 일반약리시험을 수행하였다.

Table VIII. Effect of CJ-50002 on urinary volume and electrolytes secretion in SD rats

Treatment	Dose (mg/kg, po)	Urinary volume (ml/5 h/100 g)	Na ⁺ (mEq/5 h/100 g)	K ⁺ (mEq/5 h/100 g)	Cl ⁻ (mEq/5 h/100 g)
Vehicle	-	1.47 ± 0.43	0.144 ± 0.043	0.087 ± 0.021	0.067 ± 0.049
CJ-50002	0.2	1.09 ± 0.39	0.130 ± 0.064	0.076 ± 0.054	0.057 ± 0.063
	2	1.35 ± 0.23	0.153 ± 0.037	0.068 ± 0.022	0.047 ± 0.037
	20	1.29 ± 0.41	0.131 ± 0.052	0.068 ± 0.024	0.101 ± 0.061
Furosemide	10	5.49 ± 0.52*	0.879 ± 0.073*	0.152 ± 0.022	0.607 ± 0.040*

*Significantly different from vehicle treated group ($p < 0.05$).

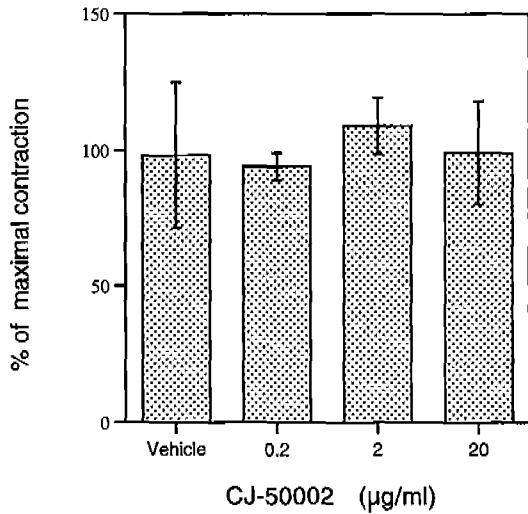


Fig. 7. Effect of CJ-50002 on histamine-induced contraction in isolated guinea pig ileum.

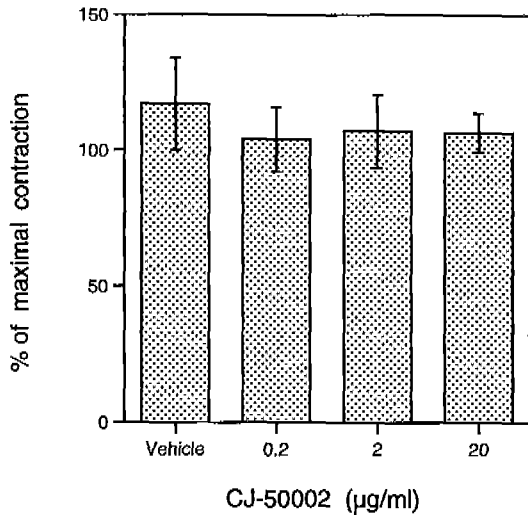


Fig. 8. Effect of CJ-50002 on BaCl₂-induced contraction in isolated guinea pig ileum.

마우스 일반행동에 미치는 영향을 알아보기 위하여 CJ-50002를 경구 투여한 뒤에 나타나는 증상을 Irwin 다차원 관찰법에 준하여 관찰한 결과, 특이한 행동 및 증상의 변화를 관찰할 수 없었다. 중추신경계에 대한 영향을 관찰하기 위하여 hexobarbital에 의한 수면에 미치는 영향, 진통작용에 미치는 영향(초산 writhing 법), pentetazol, strychnine 및 전기자극(MES)에 의해 유발된 경련에 대한 항경련작용등을 관찰한 결과, 수면유도시간을 제외한 모든 항목에서 예상 임상투여량의 120 배(20 mg/kg)까지의 용량에서도 영향을 미치지 않았다. 한편, 체온의 경우, vehicle 투여군과 CJ-50002 투여군에서 체온의 변화를 경시적으로(투여후 해당 시간대 별로) 비교하였을 때 체온의 변화가 관찰되었으나, 이는 vehicle 투여군의 상대적으로 높은 체온에 기인한 것

으로 보이며 rat의 정상체온 범위내에서의 변화로 임상적으로 유의한 변화라고 볼 수 없을 것으로 사료된다. 또한, CJ-50002 투여군에 있어서 투여하기 전의 체온과 투여후의 체온에 대하여 통계적인 유의성 검정을 하였을 때 차이가 나타나지 않았으므로 본 시험에서 나타난 체온의 변화는 CJ-50002의 직접적인 영향에 의한 것이 아닌 것으로 보인다. Beagle 견에서의 호흡 및 순환기계에 대한 작용을 관찰한 실험은 CJ-50002의 불용성 때문에 정맥투여 대신 경구투여를 하였으며, CJ-50002는 예상임상투여량의 12배(2 mg/kg) 용량에서 모든 관찰 항목에 영향이 없었으며, 120배 용량(20 mg/kg) 투여군에서 유의성 있는 호흡수의 감소와 유의성(p=0.063)은 없었으나 대퇴혈류량의 감소 경향을 나타냈을 뿐 다른 항목에는 변화가 없었다. 따라서 CJ-50002의 beagle 견에서 호흡순환기에 영향을 미치지 않는 용량은 예상 임상투여용량의 12배 용량인 2 mg/kg 이상으로 추정된다.

자율신경계에 미치는 영향을 검색하기 위하여 guinea pig 적출회장수축 시험을 실시한 결과 CJ-50002는 영향을 미치지 않았으며, 장관수송능에 대한 영향, 뇨 및 전해질 배설에 미치는 영향도 없었다.

본 연구에 있어서 beagle 견에서의 호흡순환기계에 미치는 영향을 관찰하기 위한 시험에서는 2 및 20 mg/kg의 용량으로 투여하였고 이를 제외한 모든 동물실험에 적용한 CJ-50002의 투여량은 0.2, 2, 20 mg/kg이었다. 이용량은 사람에서의 예상 임상투여량(10 mg/man, 0.16 mg/kg)을 감안한다면 상당히 높은 용량으로 이러한 높은 용량으로 실험을 실시하였음에도 약리학적인 영향을 거의 미치지 않은 CJ-50002는 안전한 제제일 것으로 사료된다.

참고문헌

박석돈. (1996). 비브리오 불니피쿠스 감염증. 고려의학. 이나경, 정상보, 안보영, 김영지, 이윤하, 전영중, 박완제. (1998). 경구 투여한 *V. vulnificus* 백신의 면역원성 및 감염 방어효능. 응용약물학회지. 6, 191-198. 의약품 등의 일반약리시험 지침 (식품의약품안전청 고시 제98-62호, '98. 5. 29 개정)
 Gary R. Bolton. (1975). Handbook of canine electrocardiography. W. B., Saunders Co. Philadelphia. USA. pp. 19-91.
 Hlady, W. G. and Klontz, V. (1996). The epidemiology of *Vibrio* infections in Florida, 1981-1993. *J. Infect. Dis.* **173**, 1176-1183.
 Irwin, S. (1968). Comprehensive observational assessment: A systemic, quantitative procedure for assessing the behavioral and physiologic state of the mouse. *Psychopharmacologica* **13**, 222-257.
 Kelly, M. T. (1982). Effect of temperature and salinity on *Vibrio (Benechea) vulnificus* occurrence in a Gulf coast environment. *Appl. Environ. Microbiol.* **44**, 820-824.
 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. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 7, 423-428.
- Rotz, L. D., Buckley, D. P. and Fine, D. P. (1996). Overwhelming sepsis with *Vibrio vulnificus*: a coastal pathogen in Oklahoma. *J. Okla. State Med. Assoc.* 89, 349-352.
- Tacket, C. O., Brenner, F. and Blake, P. A. (1984). Clinical features and epidemiological study of *Vibrio vulnificus* infections. *J. Infect. Dis.* 149, 558-561.
- Wittman, C. M. and Griffin, P. M. (1993). Preventing *Vibrio vulnificus* infection in the high risk patient. *Infect. Dis. Clin. Pract.* 2, 275-276.
- 白須 泰顔, 吐山 豊秋 編 (1988). 新毒性試験法 (方法と評価). Realize Inc. pp. 420-440.
- 日本製薬工業協会 醫藥品評価委員会 (1993). 一般薬理評価法 pp. 1-36.