

A형 간염 예방백신 CJ-50005의 일반약리작용

김영훈* · 최재복 · 정성학 · 정용주 · 이성희 · 김의경 · 김제학 · 박병훈
제일제당 종합기술원

General Pharmacology of CJ-50005 (Hepatitis A Vaccine)

Young Hoon KIM*, Jae Mook CHOI, Sung Hak JUNG, Yong Ju CHUNG, Sung Hee LEE,
Euikyung KIM, Je Hak KIM and Byung Hoon PARK

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

(Received March 10, 1999; accepted October 10, 1999)

Abstract—CJ-50005 is a hepatitis A vaccine which is prepared by formalin inactivation of the HM175 virus cultured in human diploid MRC-5 cells. The general pharmacological properties of CJ-50005 were evaluated in various animals and *in vitro* system. CJ-50005 at the doses of 0.025, 0.25 and 0.75 $\mu\text{g}/\text{kg}$, i.m. had no effect on general behavior in mice, chemo- and electro-convulsions in mice, writhing syndrome induced by acetic acid in mice, the barbital sleeping time in mice, body temperature in rats, charcoal meal propulsion in mice and urine and electrolytes excretion in rats. In anesthetized dogs, CJ-50005(0.25 and 0.75 $\mu\text{g}/\text{kg}$, i.v) did not alter the respiratory rate, blood pressure, heart rate, femoral blood flow and ECG. In *in vitro* experiment, CJ-50005 at the concentration up to 0.02 $\mu\text{g}/\text{ml}$ did not produce any changes in the contractions of the isolated ileum of guinea pigs caused by acetylcholine, histamine or BaCl_2 . Since these pharmacological effects of CJ-50005 were observed at dose much greater than those in clinical use (approximately 0.025 $\mu\text{g}/\text{kg}$, i.m.), it is likely that this vaccine may be relatively free of undesirable effects in clinical practice.

Keywords □ CJ-50005, Hepatitis A vaccine, General pharmacology

A형 간염은 A형 간염 바이러스(Hepatitis A virus, HAV)에 의해 오염된 물이나 음식으로 전염되는 수인성 질환으로 식욕부진, 구역질, 구토, 피로, 무력감, 두통, 관절통, 근육통, 설사, 무력감, 미열, 황달과 같은 증상을 나타낸다. 뿐만 아니라 지연성 간염, 재발성간염, 담즙 정체성간염, 전격적 간염 등의 합병증을 유발하기도 하며 그 치사율은 0.1~2.1%에 이른다. 한편 미국에서는 매년 발생하는 급성간염의 30%가 HAV에 의한 것으로 보고되어 있다 (Alter 등, 1990).

이러한 A형 간염 바이러스의 감염에 의한 급성간염의 발생을 예방하기 위한 백신으로 제일제당에서 개발한 CJ-50005는 약독화 HAV HM175 strain을 사람 이배체 세포인 MRC-5 세포에서 배양한 후 포르말린으로 불활성화하여 aluminum hydroxide에 흡착시킨 백신으로 마우스에서 높은 항체 생성율과 안전성이 확인되었다 (Kim 등, 1999).

본 연구에서는 CA-50005에 대한 안전성을 확인하기 위하여 예상 임상투여용량 (0.7 $\mu\text{g}/\text{man}/30 \text{ kg}$)의 1배 (0.025

$\mu\text{g}/\text{kg}$), 10배 (0.25 $\mu\text{g}/\text{kg}$), 30배 (0.75 $\mu\text{g}/\text{kg}$)의 용량으로 중추신경계, 호흡·순환기계, 평활근, 소화기계, 수분전해질 배설 등에 대한 약리작용을 각종 실험동물과 *in vitro* 시험계에서 검토하였다.

실험재료 및 방법

시험물질

제일제당에서 생산된 무색투명한 액상의 CJ-50005 (Lot CJHAV 9809)을 phosphate buffered saline에 현탁하여 사용하였다. 예상 CJ-50005의 한 dose 조성은 항원단백 0.7 μg , 0.25 mg $\text{Al}(\text{OH})_3$, 1.9 mg 2-phenoxyethanol이 0.5 ml의 phosphate buffered saline에 현탁되어 있는 상태이다. 따라서 시험물질은 항원단백과 면역보강제 (adjuvant)인 $\text{Al}(\text{OH})_3$ 가 조성비대로 함유되도록 제조하여 phosphate buffered saline로 희석하여 사용하였으며, 시험물질의 투여 용량은 사람에서의 예상임상투여량을 (0.7 $\mu\text{g}/\text{man}/30 \text{ kg}$) 감안하여, 실험동물에서는 예상임상투여량의 30배 (0.75 $\mu\text{g}/\text{kg}$)를 최대용량으로 하였다.

*To whom correspondence should be addressed.

양성대조물질로 사용한 atropine sulfate (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)와 chlorpromazine · HCl (Sigma)은 주사용 증류수에 녹여서 사용하였으며, indomethacin (Sigma)은 0.5 M NaHCO₃에 녹였고, pentobarbital sodium (한림제약, 한국)과 furosemide (한독약품, 한국)는 용액상태의 제품을 주사용 증류수로 희석하여 사용하였다. 시험물질의 투여시에는 마우스에는 5 ml/kg, 랫드에는 1 ml/kg 용량으로 근육주사 하였고 개에는 0.1 ml/kg의 용량으로 정맥주사 하였다.

실험동물

실험동물의 사육조건은 온도 23±3°C, 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 삼육실험동물 (한국)에서 구입하여 사용하였으며, Hartley 계 기니피그는 삼육실험동물 (한국)에서 구입하여 사용하였고, Beagle 견은 Covance (USA)에서 구입하여 사용하였다. 모든 실험동물은 검역과 1주일 이상의 순화기간을 거친 후에 정상인 동물만 사용하였다.

실험방법

마우스 일반행동에 미치는 영향

ICR계 마우스 (웅성, 5주령, 25~30 g)를 군당 8 마리씩 사용하였다. 기재 또는 CJ-50005를 0.025, 0.25, 0.75 µg/kg의 용량으로 근육주사한 후 15, 30, 60, 90, 120, 240 째에 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, 29~35 g)를 군당 8 마리씩 사용하였다. 기재 또는 CJ-50005 0.025, 0.25, 0.75 µg/kg 및 chlorpromazine · HCl 10 mg/kg을 근육주사한 후 15분 후에 hexobarbital (TCL, 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, 28~36 g)를 군당 8마리씩 사용하였다. 기재 또는 CJ-50005 0.025, 0.25, 0.75 µg/kg 및 phenobarbital sodium 100 mg/kg을 근육주사한 후 경련의 발생유무를 관찰하였다. 시험약물투여 15분 후에 pentetrazol (Sigma) 100 mg/kg을 복강내 주사하고 간대성 경련과 강직성경련의 발현 및 사망 유무를 30분 동안 관찰하였다.

b. Strychnine 유발 경련에 미치는 영향

ICR계 마우스 (웅성, 6주령, 28~35 g)를 군당 8마리씩 사용하였다. 기재 또는 CJ-50005 0.025, 0.25, 0.75 /kg 및 phenobarbital sodium 100 mg/kg을 근육주사한 후 경련의 발생유무를 관찰하였다. 시험약물투여 15분 후에 strychnine (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) 2 mg/kg을 복강내 주사하고 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, 29~35 g)를 군당 8마리씩 사용하였다. 기재 또는 CJ-50005 0.025, 0.25, 0.75 µg/kg 및 phenobarbital sodium 100 mg/kg을 근육주사한 후 경련의 발생유무를 관찰하였다. 시험약물투여 15분 후에 마우스의 양쪽 뒷다리에 전극을 장치하고 rodent shocker (Type 221, HSE, Freiburg, Germany)를 이용하여 50 mA, 60 Hz, 0.4 msec의 조건으로 0.7 초간 전기자극을 하여 강직성 경련의 발현 및 사망 유무를 관찰하였다.

진통작용에 미치는 영향 (초산 법)

ICR계 마우스 (웅성, 6 주령, 30~34 g)를 군당 5 마리씩 사용하였다. 기재 또는 CJ-50005를 0.025, 0.25, 0.75 µg/kg 및 indomethacin 20 mg/kg을 근육주사하고 15분 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, 6주령, 160~200 g)를 군당 8마리씩 사용하였다. 기재 또는 CJ-50005를 0.025, 0.25, 0.75 µg/kg 및 chlorpromazine · HCl 20 mg/kg을 근육주사하고 약물 투여전, 투여후 15, 30, 60분째에 digital pyrometer (PM20700, Thermolyne, Dubuque, IA, USA)를 사용하여 직장온도를 측정하였다.

호흡 · 순환기계에 대한 작용

Beagle견 (웅성, 11.5~14.5 kg) 6마리를 사용하였다. 마취는 요측피정맥으로 pentobarbital sodium (40 mg/kg)을 투여함으로써 유도하여 동일한 마취제 (3~5mg/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, 대퇴혈류

량 및 심전도는 모두 polygraph (Polygraph 7H, Grass, Quincy, MA, USA)를 이용하여 기록하였다. 호흡수는 흉강의 움직임에 육안으로 관찰하여 측정하였다. 마취가 안정된 후 기재 또는 CJ-50005 0.25 µg/kg, 0.75 µg/kg을 각각 30분 간격으로 연속하여 요측피정맥으로 1분간 투여하고 3분, 5분, 10분, 20분, 30분째에 위의 항목들을 측정하였다. 시험 종료후에 동물의 반응성을 확인하기 위하여 acetylcholine 10 µg/kg을 정맥투여하고 혈압과 심박수를 기록하였다.

소화기계에 미치는 영향 (장관수송능에 대한 작용)

18시간 이상 절식시킨 ICR계 마우스 (웅성, 5주령, 23~27g)를 군당 8마리씩 사용하였다. 기재, CJ-50005를 0.025, 0.25, 0.75 µg/kg 및 atropine sulfate 20 mg/kg을 근육주사한 후 15분 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 (뇨 및 전해질 배설에 대한 작용)

SD계 랫드 (웅성, 6 주령, 160~180 g)를 군당 8마리씩 사용하였다. 기재, CJ-50005를 0.025, 0.25, 0.75 µg/kg 및 furosemide 10 mg/kg의 투여용량으로 근육주사 직후에 생리식염수를 20 mg/kg씩 경구투여하였다. 랫드를 한마리씩 대사케이지에 넣고 5 시간 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 pig를 사용하였다. 24시간 절식시킨 guinea pig를 방혈 희생시킨 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)의 게재하에 polygraph (Polygraph 7H, Grass, Quincy, MA, USA)를 이용하여 측정하였다. 회장이 현수된 organ bath 내에 수축유발물질인 acetylcholine (Sigma, 1×10⁻⁷ M), histamine (Sigma, 1×10⁻⁷ M) 및 BaCl₂ (Sigma, 1×10⁻³ M)를 각각 적용하여 회장의 최대수축값을 구한 후, 기재 및 CJ-50005 0.002, 0.006, 0.022 µg/ml을 100 µl씩 5 분간 적용한 다음 위의 수축유발물질을 다시 적용한 뒤 최대 수축값에 대한 수축율을 구하여 적출회장의 수축에 미치는 영향을 검토하였다. BaCl₂에 의한 수축은 회장의 중주근만을 분리하여 사용하였다.

통계처리

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.

실험 결과

마우스 일반행동에 미치는 영향

CJ-50005 및 기재를 근육 주사하고 15분, 30분, 60분, 90분, 120분, 240분째에 나타나는 증상을 Irwin 다차원 관찰법 (Irwin, 1968)에 준하여 인지력, 기분, 운동성, 중추흥분, 운동협조성, 근육긴장도, 반사 및 자율신경성 징후등에 대하여 관찰한 결과, 투여 15분후에 활동성의 감소가 관찰되었으나 투여 30분 이후에는 모두 정상으로 회복되었다.

중추신경계에 대한 작용

Hexobarbital 수면에 미치는 영향

기재를 투여한 군과 비교하여 CJ-50005를 0.025, 0.25, 0.75 µg/kg의 용량으로 투여한 군은 마우스에 있어서 hexobarbital에 의한 수면유도시간과 수면시간에 유의성 있는 차이를 보이지 않았다. 한편, 양성대조물질로 chlorpromazine·HCl (10 mg/kg)을 투여한 군에서는 수면유도시간의 단축 및 수면시간의 연장이(p<0.01) 관찰되었다 (Table I).

항경련작용

a. Pentylentetrazol 유발 경련에 미치는 영향

CJ-50005는 0.025, 0.25, 0.75 µg/kg의 용량에서 pentylentetrazol에 의해 유발된 강직성 및 간대성 경련 및 폐사에 영향을 미치지 않았다. 한편, phenobarbital sodium (10 mg/kg)은 유의성 있게 (p<0.05) 항경련효과를 나타내었다 (Table II).

Table I. Effect of CJ-50005 on hexobarbital-induced sleep in ICR mice

Treatment	No. of Animals	Dose (µg/kg, im)	Sleeping inducin time ^{a)} (min)	Sleeping time (min)
Vehicle	8	-	2.3±0.4	41.0±16.6
CJ-50005	8	0.025	2.4±0.4	33.1± 4.0
	8	0.25	2.4±0.3	34.4±10.6
	8	0.75	2.6±0.5	30.6±10.8
Chlorpromazine	8	10 mg/kg	1.9±0.1**	206.4±48.0**

**Significantly different from vehicle treated group (p<0.01).

a) Sleeping was induced by hexobarbital (70 mg/kg, ip).

Table II. Effect of CJ-50005 on pentylenetetrazol-induced convulsion in ICR mice

Treatment	Dose (µg/kg, im)	No. of incidence ^{a)}		
		Clonic seizure	Tonic seizure	Death
Vehicle	-	8/8	8/8	8/8
CJ-50005	0.025	8/8	8/8	8/8
	0.25	8/8	6/8	6/8
	0.75	8/8	8/8	8/8
Phenobarbital-Na	100 mg/kg	0/8**	0/8**	0/8**

**Significantly different from vehicle treated group (p<0.01).
a) Convulsion was induced by pentylenetetrazol (100 mg/kg, ip)

Table III. Effect of CJ-50005 on strychnine-induced convulsion in ICR mice

Treatment	Dose (µg/kg, im)	No. of incidence ^{a)}	
		Tonic convulsion	Death
Vehicle	-	8/8	8/8
CJ-50005	0.025	8/8	8/8
	0.25	8/8	7/8
	0.75	8/8	8/8
Phenobarbital-Na	100 mg/kg	3/8**	0/8**

**Significantly different from vehicle treated group (p<0.01).
a) Convulsion was induced by strychnine (2 mg/kg, ip)

b. Strychnine 유발 경련에 미치는 영향

CJ-50005를 0.025, 0.25, 0.75 µg/kg의 용량으로 투여한 군은 기재를 투여한 군과 비교하여 strychnine에 의해 유발된 경련에 대하여 유의성 있는 항경련효과를 보이지 않았다. 양성대조물질로 phenobarbital sodium (100 mg/kg)을 투여한 군은 강직성 경련의 발현이 8예중 5예에서 억제되었고 폐사는 전혀 발생하지 않아 유의성 (p<0.01) 있는 항경련효과를 나타내었다 (Table III).

c. 전기자극 (MES)에 의한 경련에 미치는 영향

CJ-50005를 0.025, 0.25, 0.75 µg/kg의 용량으로 투여한 군은 기재를 투여한 군과 비교하여 MES (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 강직성 경련의 발현이 8예중 5예에서 억제되었고 폐사는 전혀 발생하지 않아 유의성 (p<0.01) 있는 항경련효과를 나타내었다 (Table IV).

진통작용에 미치는 영향 (초산 writhing 법)

CJ-50005를 0.025, 0.25, 0.75 µg/kg의 용량으로 투여한 군은 기재를 투여한 군과 비교하여 0.6% acetic acid의 복

Table IV. Effect of CJ-50005 on MES-induced convulsion in ICR mice

Treatment	Dose (µg/kg, im)	No. of incidence ^{a)}	
		Tonic convulsion	Death
Vehicle	-	8/8	4/8
	0.025	8/8	2/8
	0.25	8/8	4/8
Phenobarbital-Na	0.75	8/8	2/8
	100 mg/kg	3/8**	0/8*

*p<0.05, **p<0.01: Significantly different from vehicle treated group.

a) Convulsion was induced by MES (maximal electric shock, 50 mA, 60 Hz, 0.7 sec).

Table V. Effect of CJ-50005 on acetic acid-induced writhings in ICR mice

Treatment	No. of Animals	Dose (µg/kg, im)	No. of writhings ^{a)} (for 10 min)
Vehicle	5	-	13.2 ± 7.2
CJ-50005	5	0.025	11.2 ± 8.6
	5	0.25	10.6 ± 4.0
	5	0.75	16.6 ± 4.2
	5	20 mg/kg	2.0 ± 1.4**

**Significantly different from vehicle treated group (p<0.01)
a) Writhing was induced by 0.6 % acetic acid (0.1 ml/10g BW, ip)

강투여에 의한 writhing 횟수에 유의성 있는 차이를 보이지 않았으며, 양성대조물질로 indomethacin (20 mg/kg)을 투여한 군에서는 유의성 있게 (p<0.01) writhing 횟수가 감소하였다 (Table V).

체온에 미치는 영향

CJ-50005를 0.025, 0.25, 0.75 µg/kg의 용량으로 투여한 군은 기재를 투여한 군과 비교하여 유의성 있는 체온의 변화가 없었으며, 양성대조물질로 chlorpromazine · HCl (10 mg/kg)을 투여한 군에서는 유의성 있는 (p<0.01) 체온의 저하가 관찰되었다 (Table VI).

호흡 · 순환기계에 대한 작용

CJ-50005를 beagle 견에 0.25 및 0.75 µg/kg의 용량으로 정맥주사 후 30분까지 혈압, 심박수, 대퇴 혈류량, 호흡수 및 심전도는 투여전과 비교하여 유의성 있는 차이를 보이지 않았다 (Fig. 1, 2, 3, 4, 5). 한편, 시험종료후 acetylcholine (10 µg/kg) 투여시 평균혈압은 145.6±17.3 mmHg에서 79.0±18.8 mmHg로 급격한 강하가 나타났으며 심박수의 경우 146.7±15.1에서 176.0±14.4로 증가되어 동물의 약물에 대한 반응성은 양호했음을 확인 할 수 있었다.

Table VI. Effect of CJ-50005 on rectal temperature in SD rats

Treatment	Dose ($\mu\text{g}/\text{kg}$, im)	Rectal temperature ($^{\circ}\text{C}$) after administration (min)			
		pre	15 min	30 min	60 min
Vehicle	--	37.0 \pm 0.2	37.5 \pm 0.5	37.4 \pm 0.3	37.6 \pm 0.4
CJ-50005	0.025	37.1 \pm 0.4	37.7 \pm 0.4	37.6 \pm 0.4	37.4 \pm 0.4
	0.25	37.1 \pm 0.2	37.4 \pm 0.6	37.2 \pm 0.3	37.3 \pm 0.3
	0.75	36.8 \pm 0.2	37.7 \pm 0.2	37.6 \pm 0.4	37.4 \pm 0.3
Chlorpromazine	10 mg/kg	37.0 \pm 0.2	36.8 \pm 0.3**	35.9 \pm 0.5**	35.8 \pm 0.5**

**Significantly different from vehicle treated group ($p < 0.01$)

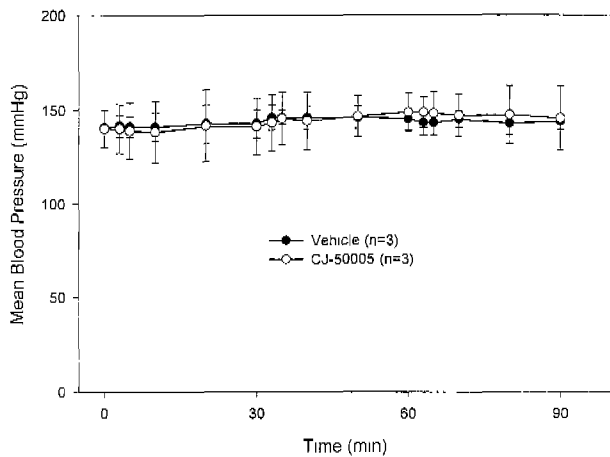


Fig. 1. Effect of CJ-50005 on blood pressure in anesthetized beagle dogs. 0 min: vehicle, 0.1 ml/kg 30 min, vehicle or CJ-50005 0.25 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 60 min: vehicle or CJ-50005 0.75 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

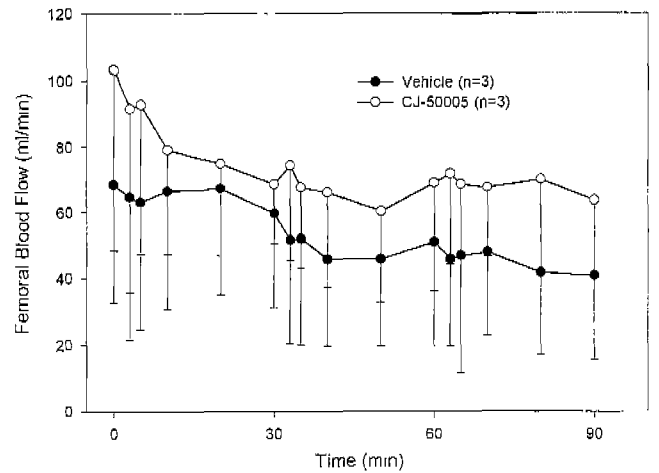


Fig. 3. Effect of CJ-50005 on femoral blood flow in anesthetized beagle dogs. 0 min: vehicle 0.1 ml/kg, 30 min: vehicle or CJ-50005 0.25 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 60 min: vehicle or CJ-50005 0.75 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

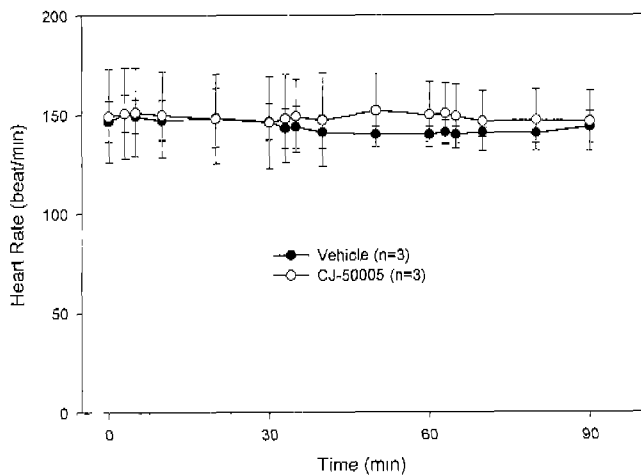


Fig. 2. Effect of CJ-50005 on heart rate in anesthetized beagle dogs. 0 min: vehicle, 0.1 ml/kg 30 min, vehicle or CJ-50005 0.25 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 60 min: vehicle or CJ-50005 0.75 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

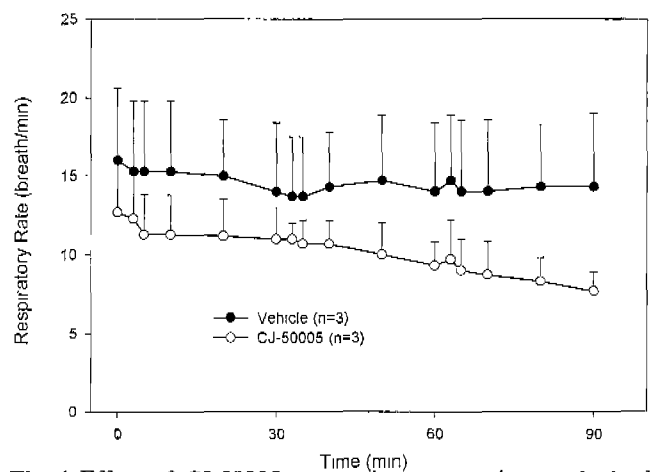


Fig. 4. Effect of CJ-50005 on respiratory rate in anesthetized beagle dogs. 0 min: vehicle 0.1 ml/kg, 30 min: vehicle or CJ-50005 0.25 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 60 min: vehicle or CJ-50005 0.75 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

소화기계에 미치는 영향 (장관수송능에 대한 작용)

CJ-50005를 0.025, 0.25, 0.75 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 용량으로 투여한 군과 기재를 투여한 군에서의 charcoal meal의 장관내 이

동율은 60%~66%로 투여군간에 차이가 없었다. 한편 소화기의 운동성을 억제하는 atropine sulfate (20 mg/kg)를 투여한 군에서는 유의성 있게 ($p < 0.01$) charcoal meal의

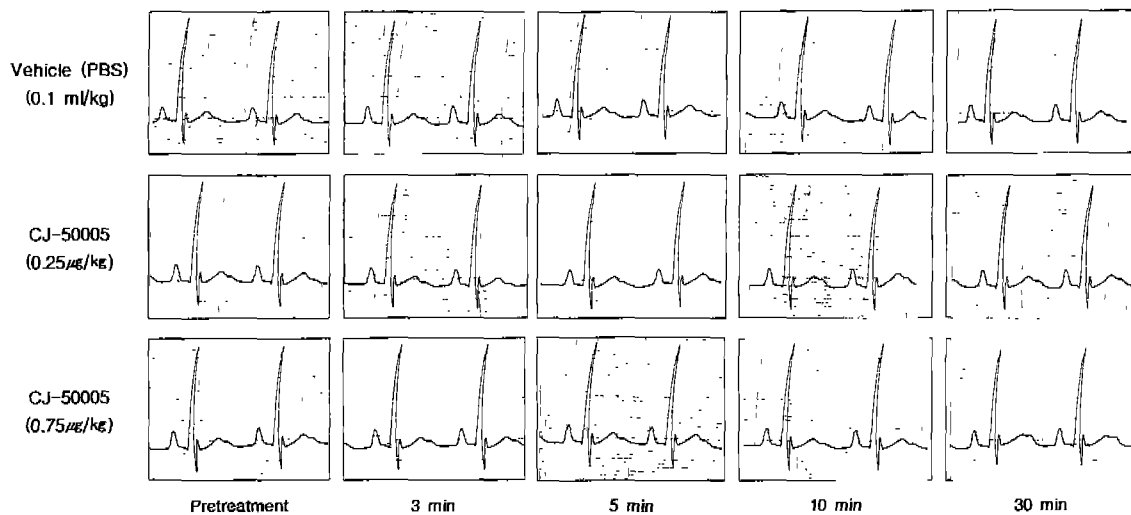


Fig. 5. Effect of CJ-50005 on electrocardiogram (lead II) in an-esthetized beagle dogs. 0 min: vehicle 0.1 ml/kg, 30 min: vehicle or CJ-50005 0.25 µg/kg, 60 min: vehicle or CJ-50005 0.75 µg/kg.

Table VII. Effect of CJ-50005 on intestinal charcoal meal propulsion in ICR mice

Treatment	No. of Animals	Dose (µg/kg, im)	Passage rate (%)
Vehicle	8	-	59.3±10.9
CJ-50005	8	0.025	59.8±10.0
	8	0.25	66.8± 8.5
	8	0.75	66.6± 7.4
Atropine sulfate	8	20 mg/kg	39.8± 9.5**

**Significantly different from vehicle treated group (p<0.01).

장관내 이동율이 (40%) 억제되었다 (Table VII).
수분 및 전해질 대사에 미치는 영향 (노 및 전해질 배설에 대한 작용)

CJ-50005를 0.025, 0.25, 0.75 µg/kg의 용량으로 투여한 군은 기재를 투여한 군과 비교하여 뇨량, 요중 Na⁺, K⁺ 및 Cl⁻ 이온 농도에 유의성 있는 변화가 없었으며, 양성대조물질로 furosemide (10 mg/kg)를 투여한 군에서는 모든 항목이 유의성있게 (p<0.01) 증가하였다 (Table VIII).

Table VIII. Effect of CJ-50005 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	-	0.63± 0.36	0.078± 0.033	0.114± 0.050	0.201± 0.086
CJ-50005	0.025	0.53± 0.28	0.071± 0.045	0.117± 0.048	0.213± 0.104
	0.25	0.60± 0.28	0.084± 0.045	0.108± 0.041	0.208± 0.079
	0.75	0.49± 0.28	0.053± 0.046	0.090± 0.046	0.159± 0.083
Furosemide	10	4.36± 0.63**	0.634± 0.109**	0.227± 0.042**	0.680± 0.073**

**Significantly different from vehicle treated group (p<0.01).

평활근에 미치는 영향 (Guinea pig의 적출회장 수축에 미치는 영향)

CJ-50005는 0.002, 0.006, 0.02 µg/ml의 농도에서 acetylcholine (1×10⁻⁷ M), histamine (1×10⁻⁷ M) 및 BaCl₂ (1×10⁻³ M)에 의한 기니피크 적출회장의 수축반응에 영향을 주지 않았다 (Table IX).

고 찰

제일제당에서 개발한 A형 간염 예방백신 CJ-50005의 안

Table IX. Effects of CJ-50005 on acetylcholine-, histamine- and BaCl₂-induced contraction of guineapig ileum

Treatment	Final concentration (µg/ml)	% change in amplitude of contraction induced by		
		acetylcholine	histamine	BaCl ₂
Vehicle	-	17.6± 24.4	-6.2± 15.2	8.1± 6.1
CJ-50005	0.002	12.9± 16.1	-10.5± 11.7	2.2± 16.1
	0.006	-5.1± 12.1	13.7± 7.0	13.5± 18.4
	0.02	-4.3± 3.8	0.2± 14.6	2.3± 8.3

전성을 평가하기 위하여 각종 실험동물과 *in vitro* 시험계에서 일반약리시험을 수행하였다.

시험물질은 항원단백과 면역보강제 (adjuvant)인 Al(OH)₃를 일정비율로 PBS에 현탁한 것을 사용하였으며 투여경로는 임상투여경로에 따라 근육주사로 하였다. 단, beagle 견에서의 호흡·순환기에 미치는 영향에 관한 시험시에는 전신작용을 관찰하기에 용이한 정맥주사를 하였으며 이 때 Al(OH)₃가 호흡순환기에 영향을 줄 수 있기 때문에 항원단백만을 포함한 시험물질을 사용하였다.

CJ-50005를 마우스에 근육주사 후 나타나는 일반증상을 관찰한 결과, 투여초기에 활동성의 감소가 관찰되었으나 30분 이내에 모두 정상 상태로 회복되었다. 이러한 현상은 대퇴부에 근육주사로 인한 통증등과 같은 스트레스에 기인한 것으로 보이며 CJ-50005의 직접적인 영향에 의한 것은 아닌 것으로 판단된다. 또한 CJ-50005는 hexobarbital에 의한 수면작용, 진통작용 (초산 writhing 법), pentetrazol, strychnine 및 전기자극 (MES)에 의한 경련, 체온의 변화 등의 중추신경계와 관련된 작용에 예상 임상투여량의 30배 (0.75 µg/kg)까지의 용량에서도 영향을 미치지 않았다.

Beagle 견에서의 호흡·순환기계에 대한 작용을 관찰한 실험에서 기재 투여군과 CJ-50005 투여군 모두에서 마취 유도 후 시간이 경과함에 따라 대퇴혈류량과 호흡수의 감소가 관찰되었으나 이는 마취상태에 따른 변화로 보이며, CJ-50005는 예상임상투여량의 30배 (0.75 µg/kg) 용량에서도 호흡수, 혈압, 심박 수, 대퇴혈류량, 심전도에 영향을 미치지 않았다. 따라서 CJ-50005의 beagle 견에서 호흡·순환기계에 영향을 미치지 않는 용량은 예상 임상투여용량의 30배 용량인 0.75 µg/kg 이상으로 추정된다.

한편, 자율신경계와 관련된 guinea pig 적출회장의 수축 반응에 CJ-50005는 영향을 미치지 않았으며, 소화기계와 관련된 장관수축, 뇨 및 전해질 배설 등에 미치는 영향도 없었다.

현재 세계적으로 출시되어 있는 A형 간염 예방백신인 SmithKline Beecham사의 HAVRIX와 Merk사의 VAQTA

의 경우 발열, 근육통, 두통등의 경미한 부작용이 약 0.007%에서 보고되어 그 안전성이 이미 입증되어 있다 (Nui 등, 1998). 또한 CJ-50005를 제조하는데 이용한 HM175 strain은 약독화된 virus로 그 뛰어난 안전성이 입증되어 있으며 배양에 사용한 MRC-5 세포는 이미 수두백신 제조에 이용된 바 있고 미국의 FDA 및 KFDA에서도 그 안전성을 인정한 세포주이다.

따라서 CJ-50005는 본 연구에서 예상 임상투여량 (0.025 µg/kg, i.m)의 30배 용량에서도 약리학적인 작용을 나타내지 않았으며, 그 제조 방법에 있어서도 안전성이 입증된 기존의 백신 (HAVRIX)과 큰 차이가 없으므로 안전한 백신일 것으로 사료된다.

참고문헌

- 의약품 등의 일반약리시험 지침 (식품의약품안전청 고시 제 98-62호, '98. 5. 29 개정).
- Alter, M. J., S. C. Hadler and F. N. Judson (1990). Risk factors for acute non-A, non-B hepatitis in the United States and association with hepatitis C. *JAMA* **264**, 2231-2235.
- Irwin, S. (1968). Comprehensive observational assessment : A systemic, quantitative procedure for assessing the behavioral and physiologic state of the mouse. *Psychopharmacologica* **13**, 222-257.
- Kim, H. S., Chung, Y. J., Jeon Y. J. and Lee, S. H. (1999). Large-scale culture of hepatitis A virus in human diploid MRC-5 cells and partial purification of the viral antigen for use as a vaccine. *Microbiology and Biotechnology* **9**(4), 386-392.
- Nui, M. T., Salive M., Krueger C. and Ellenberg, S. S. (1998). Two-year review of hepatitis A vaccine safety: data from the vaccine adverse event reporting system (VAERS). *Clin. infect. Dis.* **26**(6), 1475-1476.
- 白須泰顔, 吐山豊秋編 (1988). 新毒性試験法 (方法と評價). Realize Inc. pp. 420-440.
- 日本製藥工業協會 醫藥品評價委員會 (1993). 一般藥理評價法 pp. 1-36.