

## 효모재조합 DNA B형 간염백신의 면역효과에 관한 연구

한림대학의학부

민창홍 · 김교명 · 이규만

=Abstract=

### A Study of Immunogenicity and Reactogenicity of Hepatitis B Vaccine Made by Recombinant DNA Techniques in Yeast

Chang-Hong Min, Kyo-Myung Kim<sup>1</sup> and Kyu-Man Lee<sup>2</sup>

Department of Microbiology, Department of Medicine<sup>1</sup> and Department of Clinical Pathology,<sup>2</sup>  
Faculty of Medicine, Hallym University

A study of the immunogenicity and reactogenicity of two doses of lot H (10, 20 mcg), two doses of lot L (20, 40 mcg) of the Smith Kline-RIT recombinant DNA yeast-derived hepatitis B vaccine and a 20-mcg dose of the Merck Sharp and Dohme plasma-derived hepatitis B vaccine was conducted in young adults under randomized, double-blind conditions. Immunization was carried out according to a 0-, 1-, and 6-month vaccination schedule.

Results indicated that the yeast-derived hepatitis B vaccine was well tolerated and immunogenic. Reactogenicity to both yeast- and plasma-derived vaccines was mild in severity and low in incidence with no significant differences appearing between the study groups. One month after the third dose, the yeast-derived vaccines induced a high degree of seroconversion ranging between 95.0% and 100%. The response was not lot- or dose-dependent. The administration of the plasma-derived vaccine resulted in anti-HBs geometric mean titres statistically significantly higher than those elicited by the different yeast-derived hepatitis B vaccines one month after the third dose of vaccine but the difference was not large enough to be of great clinical significance.

**Key Words:** Hepatitis B Vaccine, Immunogenicity, Recombinant DNA Techniques in yeast.

### 서 론

B형간염은 높은 이환율과 사망을 뿐아니라 난치성 만성질환으로 경제적 부담이 크다는 점으로 보건상 큰 문제로 되어 있다<sup>1, 10, 11, 12</sup>. 현재 세계적으로 약 2억명이 이환되어 있으며 그 중 78%가 아시아지역 주민이다. B형 간염은 만성보균자가 오염원이며, 개발도상국은 더욱 이환율이 높은 것으로 나타나고 있다. 아프리카지역이나 극동지역에서 간세포암으로 인한 사망이 중요 사망원인으로 되어 있으며, 중국에서는 매년 100만명의 신환이 발생한다는 보고도 있다. B형 간염에 대한 유효한 치료법이 개발될 때까지 예방대책만이 유일한 방법이며, 잠수성 대상자에 대한 예방접종이 가장 바람직한 방법이다.

과거 5년간 B형 간염백신은 만성보균자 혈청유래백신이 시판되고 있다. 이 백신은<sup>13</sup> 진장보균자 혈장중에서 비감염성 22nm 입자를 추출하여(B형간염 표면항원 HB<sub>s</sub>A<sub>1</sub>) 제조되며 이 입자는 생체내에서 B형 간염방어 항체(Anti-HB<sub>s</sub>)생산을 자극한다. 이 항원의 중요한 인자는 공통인자 "a"와 "d" 또는 "y"의 subtype으로 구성되어 있으며 현재 시판되고 있는 백신은 그 안전성과 면역성이 인정되고 있다. 그러나 이 백신은 만성보균자 혈장에서 제조되는 관계로 (1) 백신중의 B형 간염입자의 부정성을 위하여 고가의 동물을 사용하여 시간과 비용이 소요되며 (2) 원료인 HB<sub>s</sub>A<sub>1</sub> 함유 혈액확보에 곤란이 있고 (3) 각종 혈액유래질환 특히 AIDS 같은 병원체 잔존의 위험을 배제할 수 없으며 (4) 그 공급량이 제한되며 고가이다.

이와 같은 단점을 개선하기 위한 시도가 있으나

**Table 1.** Sex and Age distribution of subjects in the 6 study groups

Vaccine		Dose(mcg)	Males		Femalss		Total	
Type	Lot		No	Mean Age(±SE)	No	Mean Age(±SE)	No	Mean Age(±SE)
Yeast-Derived	H	10	8	30.7 ± 4.0	26	25.3 ± 1.2	34	26.6 ± 1.5
Yeast-Derived	H	20	5	35.4 ± 5.6	27	25.4 ± 1.5	33*	27.1 ± 1.9
Plasma-Derived	NH0658	20	9	29.1 ± 2.6	27	23.7 ± 1.0	36	25.0 ± 1.2
Yeast-Derived	L	20	6	36.7 ± 11.9	27	24.7 ± 1.9	33	26.0 ± 3.0
Yeast-Derived	L	40	6	34.2 ± 7.9	26	26.8 ± 2.2	31	28.3 ± 2.5
Plasma-Derived	NH0658	20	5	37.2 ± 5.9	25	26.6 ± 1.5	30	28.3 ± 2.1

\*One subject of unknown sex.

**Table 2.** Anti-HBs responses at different time intervals according to vaccine type and vaccine dose immunization schedule: 0, 1 and 6 months

Vaccine		Dose (mcg)	Seroconversion rates(SC) and GMT's of Anti-HBs at							
Type	Lot		1 Month		2 Months		6 Months		7 Months	
			SC	GMT	SC	GMT	SC	GMT	SC	GMT
Yeast-Derived	H		9/30 30.0%	7.3	23/24 95.8%	40.5	19 / 19 100%	49.9	17/17 100%	1267
Yeast-Derived	H		18/33 54.5%	4.3	22/22 100%	59.8	20 / 20 100%	55.7	16/16 100%	745
Plasma-Derived	NH0658		21/35 60.0%	15.3	29/31 93.5%	204.7	25/ 27 92.6%	284.8	20/20 100%	1206.6
Yeast-Derived	L		11/27 40.7%	3.9	22/25 88.0%	18.2	19 / 20 95.0%	33.0	19/20 95.0%	590
Yeast-Derived	L		13/27 48.1%	4.8	25/25 100%	29.2	23 / 23 100%	61.3	23/23 100%	869
Plasma-Derived	NH0658		17/28 60.7%	17.0	23/25 92.0%	121.9	21 / 23 91.3%	198.8	23/23 100%	4141

\* Analysis of variance P=0.006 P<0.0001 P<0.0001 P<0.0001

\*\* Duncan test

그 중 가장 유명한 것이 유전자를 재조합, 각종 발현 벡터에 도입 대장균, 효모, 배양세포 등에서 항원발현을 시도하여 이것으로 백신을 제조하는 것이다<sup>1, 8, 11</sup>.

이번 연구에 사용한 백신은 Smith-Kline-RIT사에서 추출한 효모유래의 항원으로서 B형 간염 바이러스의 adw<sub>2</sub>혈청형의 HB<sub>s</sub>A<sub>1</sub>의 유전자를 효모에 재조합하여 제조된 것이며 효모의 추출물 중에서 HB<sub>s</sub>A<sub>1</sub> 유사물질은 면역학적, 물리화학적 성상이 in-vitro, in-vivo에서 혈장내 HB<sub>s</sub>A<sub>1</sub>와 극히 유사한 것이다. 효모배양에서 추출정제된 23K-HB<sub>s</sub> 항원펩타이드는 Aluminium Hydroxide에 흡착하여 백신으로 제조되었다. 이번 연구에서는 이 백신에 대한 항원성을 검토하고 그 부작용도 아울러 조사코자 시도하였다.

### 재료 및 방법

혈장유래백신의 접종간격은 0, 1, 6월 또는 0, 1, 2, 12월이나 본 실험에서는 0, 1, 6월로 하였으며 효모유래백신은 Smith-Kline-RIT의 2 Lot 즉 Lot H와 Lot L을 각각 10mcg, 20mcg, 40mcg 용량군으로 접종하였다.

접종대상인원은 의료종사자 400명 중 HB<sub>s</sub>Ag, Anti-HB<sub>c</sub>, ALT LEVEL 등 건강표지자 검사를 통하여 선발하였다. 여성대상자는 임신가능자, 피임제사용자는 제외하였다.

대상인원은 무작위로 6군으로 구분하고 남·녀도 균등하게 배정하였다. 이 6군은 효모유래백신 Lot H 10mcg군 20mg, 혈장유래 20mcg과 효모유래백신 Lot L 20mcg군, 40mcg군, 혈장유래 20mcg군으로 하였다. 각군의 인원, 백신의 용량, 성별배분 등은 전군을 일련번호화하고 각자 부여된 번호백신을 3회 동일하게 접종되도록 하여 모든 실험 종료후 평가 때까지 알지 못하도록 하였다.

**Table 3.** Percentage of seroconversion at months 1, 2, 6 and 7 according to vaccine type and vaccine dose: immunization schedule: 0, 1 and 6 months

Vaccins		Dose (mcg)	Seroconversion rates(SC) and GMT's of Anti-HBs at							
Type	Lot		1 Month		2 Months		6 Months		7 Months	
			Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Yeast-Derived	H	10	0/7 0%	0/23 39.1%	3/3 100%	20/21 95.2%	2/2 100%	17/17 100%	1/1 100%	16/16 100%
		GMT	—	7.3	6.8	53.1	14.7	57.7	—	1559.6
Yeast-Derived	H	20	2/5 40.0%	15/24 62.5%	2/2 100%	17/17 100%	2/2 100%	14/14 100%	3/22 100%	11/11 100%
		GMT	1.7	5.2	73.1	83.0	87.1	78.5	851.1	1396.4
Plasma-Derived	NH0658	20	3/8 37.5%	18/26 69.2%	3/5 60.0%	25/25 100%	3/5 60.0%	22/22 100%	2/2 100%	18/18 100%
		GMT	3.8	19.2	67.8	289.1	69.7	345.1	889.2	13458.6
Yeast-Derived	L	20	1/4 25.0%	10/22 45.5%	2/43 66.7%	19/21 90.5%	1/2 50.0%	18/18 100%	2/3 66.7%	17/17 100%
		GMT	—	4.3	3.2	21.1	—	35.1	155.2	690.2
Yeast-Derived	L	40	4/4 100%	9/21 42.0%	4/4 100%	19/19 100%	4/4 100%	17/17 100%	3/3 100%	1818 100%
		GMT	10.0	3.4	17.4	31.8	57.4	67.8	493.2	1011.6
Plasma-Derived	NH0658	20	1/5 20.0%	16/22 72.7%	4/4 100%	19/21 90.5%	4/4 100%	17/19 89.5%	4/4 100%	19/19 100%
		GMT	—	17.0	16.2	186.2	17.7	350.8	1142.9	5432.5

피접종대상자는 매회 접종 1개월후인 제 1개월, 2개월, 7개월 때와 6개월 4회 접종 직전에 채혈하여 혈중 Anti-HB<sub>s</sub>를 Radioimmuno-assay (Ausab-Abbott)에 의하여 추적조사하였다. Anti-HB<sub>s</sub>의 역가는 International unit/ml(mIU/ml)로 표시하였다.

백신의 반응성(부작용)을 평가하기 위하여 국소, 전신반응을 그 빈도, 종류 및 정도를 관찰하였으며 매 접종후 마다 기록하였다.

### 성 적

접종지원자 240명을 사전검사를 통하여 선정 하여 접종 대상으로 하였으나, 그중 18명에서 재검사 결과 Anti-HB<sub>s</sub> 양성인자로 판명되었으며 처음부터 지원을 포기한 자를 제외하여 총 197명을 대상으로 하였다. Table 1에서 보는 바와같이 각군을 구분 하였으며 각군간의 평균 연령, 성별비율은 유의한 차이를 볼 수 없었다.

이들 연령분포는 19세~55세이었다.

#### 1. 면역원성(항원성)

각군 백신접종자의 Anti-HB<sub>s</sub>의 양전율 및 항체 역가의 평균치(GMT)를 접종 1개월, 2개월, 6개월, 7개월로 추적조사한 결과는 Table 2와 같다.

Table 1과 Table 2에서 인원변동은 그 시점 에서 채혈불용자 전직 등의 이유로 탈락자로 인한 각군 모집단수의 감소를 보였으나 Anti-HB<sub>s</sub>양전율 (Seroconversion Rate) 및 GMT를 대조한 혈청 유래백신과 비교할 때 1개월때 30.0%~54.5%, 2개월때 88.0%~100%, 6개월 때 95.0%~100%, 7개월때 95.0%~100%로 양전되었으며, 대조군은 1개월때 60.0%~60.7%, 2개월 때 92.0%~93.5%, 6개월 때 91.3%~92.6%, 7개월 때 100%이었다. Anti-HB<sub>s</sub>의 GMT는 효모유래백신은 1개월 때 3.9~7.3mIU/ml, 2개월 때 8.2~59.8mIU/ml, 6개월 때 33.0~61.3mIU/ml, 7개월 때 590~1267mIU/ml이었으며, 혈장유래백신은 1개월 때 15.3~17.0 mIU/ml, 2개월 때 121.9~204.7mIU/ml, 6개월 때 198.8~284.8 mIU/ml, 7개월 때 4141~10266 mIU/ml이었다. 성별양전율과 GMT는 Table 3에서 보는 바와 같다.

접종군별 항체가 수준을 10mIU/ml, 100 mIU/ml, 1000 mIU/ml별로 시기적으로 관찰한 결과는 Table 4와 같다.

#### 2. 반응성(부작용)

백신접종에 따른 부작용을 국소반응, 전신반응으로 구분하고 1회 접종후, 2회 접종후, 3회 접종후의 것을 종합한 결과는 Table 5와 같다. 부작용

Table 4. Distribution of antibody levels in seroconverters at different time intervals

Vaccine Type	Lot	Dose (mcg)	Percentage with anti-HBs above a													
			10mIU/ml				100mIU/ml				1000mIU/ml					
			1 MTH	2 MTHS	6 MTHS	7 MTHS	1 MTH	2 MTHS	3 MTHS	7 MTHS	1 MTH	2 MTHS	6 MTHS	7 MTHS	7 MTHS	
Yeast-Derived	H	10 %	3/9	18/23	17/19	17/17	1/9	7/23	6/19	16/17	0/9	0/23	0/19	8/17		
			33.3	78.3	89.5	100	11.1	30.4	31.6	94.1	0	0	0	47.1		
Yeast-Derived	H	20 %	3/18	19/22	17/21	15/16	1/18	10/22	6/20	14/16	0/18	0/22	0/20	8/16		
			16.7	86.4	85.0	93.8	5.6	45.5	30.0	87.5	0	0	0	50.0		
Plasma-Derived NH0658		20 %	14/21	27/29	25/25	20/20	4/21	17/29	18/25	20/20	0/21	6/29	4/25	15/20		
			66.7	93.1	100	100	19.0	58.6	72.0	100	0	20.7	16.0	75.0		
Yeast-Derived	L	20 %	4/11	16/22	15/19	19/19	0/11	3/22	4/19	17/19	0/11	0/22	0/19	6/19		
			36.4	72.7	78.9	100	0	13.6	21.1	89.5	0	0	0	31.6		
Yeast-Derived	L	20 %	2/13	19/25	20/23	23/23	1/13	7/25	10/23	19/23	0/13	0/25	0/23	13/23		
			15.4	76.0	87.0	100	7.7	28.0	43.5	82.6	0	0	0	56.5		
Plasma-Derived NH0658		20 %	11/17	20/23	20/21	22/23	2/17	16/23	15/21	21/23	0/17	3/23	3/21	18/23		
			64.7	87.0	95.2	95.7	11.8	69.6	71.4	91.3	0	13.0	14.3	78.3		

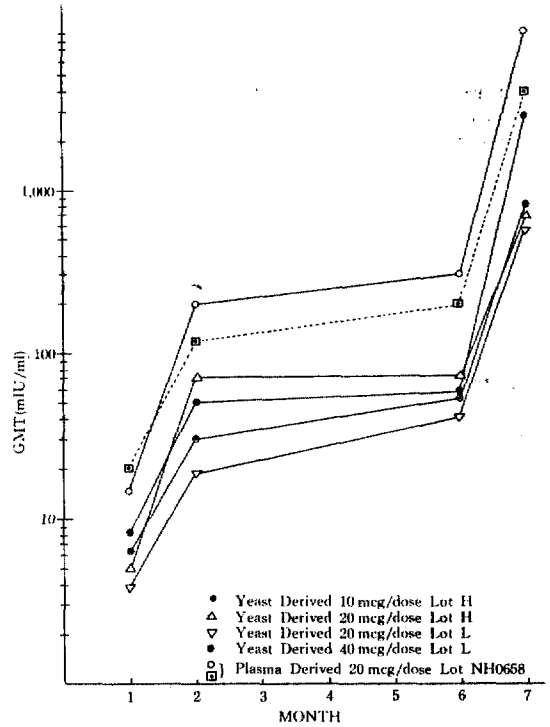


Fig. 1. Anti-HBs response at different time.

의 내용은 국소반응으로 Soreness, Redness Swelling, Induration 순이었으며, 전신반응으로는 Dizziness, Fatigue, Headach, Fiver 순이었다. 이와 같은 부작용 발생빈도는 2회, 3회 접종후에는 감소하였고 일반적으로 경미하여 심각한 정도는 아니었다. 부작용으로 연구를 중단할 정도는 아니었다. 접종후 부작용 무증상은 초회 접종 때 효모유래백신 군에서 35.5%~54.5% 혈장유래백신군에서 33.3%~46.4%이었으나, 2회 접종후는 효모유래백신군은 48.4%~65.5%, 혈장유래백신군은 48.1%~58.8%, 제 3회 접종후는 효모유래백신군 53.7%~72.7%, 혈장유래백신군 54.2%~57.7%로 나타났다.

### 고 찰

B형 간염예방에 적극적 대책으로써 B형 간염백신은 항원물질인 HB<sub>s</sub> Antigen을 오로지 건강 만성 간염보균자에서만 얻을 수 있다는 단점이 있다. 이 백신은 Kragman<sup>1)</sup>에 의하여 개발되고, 동등면역부여 뿐아니라 만성보균자의 발생도 감소시킬 수 있다고 하였다. 이 백신은 제조상의 여러 곤란점 뿐아니라 안전성, 생산비등 대량보급에도 많은 문제점을 제기하고 있다<sup>2), 3)</sup>. 이와 같은 당면문제를 해결하고 안전하며 대량생산이 가능한 B형 간염의

**Table 5.** Percentages of vaccinees with or without zymptoms  
After the first injection

Group	Vaccine lot	Vaccine dose(mcg)	N	Number of subjects with symptoms						Subjects without symptoms	
				Local only	%	General only	%	Local and general	%	Number	%
1	H	10	31	6	19.4	4	12.9	10	32.3	11	35.5
2	H	20	31	7	22.6	3	9.7	8	25.8	13	41.9
3	NH0658	20	36	10	27.8	5	13.9	9	25.0	12	33.3
4	L	20	30	7	23.3	4	13.3	7	23.3	12	40.0
5	L	40	33	5	15.2	2	6.1	8	24.2	18	54.5
6	NH0658	20	28	6	21.4	1	3.6	8	28.6	13	46.4

After the second injection

Group	Vaccine lot	Vaccine dose(mcg)	N	Number of subjects with symptoms						Subjects without symptoms	
				Local only	%	General only	%	Local and General	%	Number	%
1	H	10	28	5	17.9	2	7.1	5	17.9	16	57.1
2	H	20	31	5	16.1	3	9.7	8	25.8	15	48.4
3	NH0658	20	34	7	20.6	2	5.9	5	14.7	20	58.8
4	L	20	29	4	13.8	1	3.0	5	15.2	19	65.5
5	L	40	30	6	20.0	0	0	5	16.7	19	63.3
6	NH0658	20	27	6	22.22	2	7.4	6	22.2	13	48.1

After the third injection

Group	Vaccine lot	Vaccing dose(mcg)	N	Number of subjects with symptoms						Subject without symptoms	
				Local only	%	General only	%	Local and general	%	Number	%
1	H	10	17	3	17.6	0	0	1	5.9	13	76.5
2	H	20	15	3	20.0	0	0	4	26.7	8	53.3
3	NH0658	20	26	6	23.1	1	3.8	4	15.4	15	57.7
4		20	22	1	4.5	0	0	5	22.7	16	72.7
5		40	23	4	17.4	2	8.7	2	8.7	15	65.2
6	NH0658	20	24	5	20.8	0	0	6	25.0	13	54.2

방어항체인 Anti-HB<sub>s</sub>를 생산자극할 수 있는 항원을 유전공학기법으로 대장균, 효모, 세포배양등 세포에 HB<sub>s</sub>항원의 DNA배열을 삽입하여 재조합을 시도하고, 이 세포에서 HB<sub>s</sub>항원의 폴리펩타이드 추출을 시도하였다. 그 결과, 효모 (*Saccharomyces cerevisiae*)에서 사람 혈장중의 HB<sub>s</sub>항원과 비슷한 23nm의 펩타이드입자를 얻을 수 있다. 효모에서 HB<sub>s</sub>항원은 사람혈장 중의 그것이 22nm와 크기는 비슷하나, 효모의 것은 당쇄 (glycosylation)가 결여되었다. HB<sub>s</sub>항원의 당쇄는 그 면역학적 활성과는

무관하고, 천연 HB<sub>s</sub>항원에서 이를 절제하여도 HB<sub>s</sub>항원으로서의 활성에는 변함이 없다<sup>2,7,8</sup>.

DNA 재조합 효모에서 생산된 B형 간염백신은 여러 보고자에 의해 그 유용성이 보고 되고 있는바 Jilg<sup>9</sup> 등에 의하면 30명의 집종대상자에서 접종 1개월 후에 Anti-HB<sub>s</sub>는 혈장백신과 비교시 그 양전율이 22% 대 44%, 2개월후에는 70%, 6개월후에는 93% 대 95%이었다고 보고하였다. 항체생성률도 비슷하다고 하였으며 다른 보고자 Dienstag 등<sup>10</sup>는 접종후 1개월 때 양전율이 41%, 2개월 때 83

%, 6개월 때 94%, 또 다른 보고자 Davison 등<sup>11)</sup>은 1개월 때 43%, 2개월 때 94%, 6개월 때 98%로 보고하였고, Papavangelor<sup>12)</sup>는 1개월 때 67%, 3개월 때 100%, 6개월 때 100% 등으로 보고하여 항체양전물이 약간씩 차이는 있으나 유사한 성적이었다. 항체역가는 Jilg<sup>13)</sup>도 대동소이한 결과를 보고하고 있다. 본 연구에서는 양전율은 1개월 때 30.0~54.5%, 2개월 때 88.0~100%, 6개월 때 95.0~100%이었다. 평균항체역가의 집중에 따른 변동도 1개월 10mIU/ml이 대상자 15.4%~36.4%에서, 100mIU/ml이 대상자 0~11.1%에서 2개월 때 10mIU/ml 72.7%~86.4%, 100mIU/ml 13.6~45.5%, 6개월 때 10mIU/ml 78.9%~89.5%, 100mIU/ml 21.1~43.5%, 2개월 때 10mIU/ml 93.8%~100%, 100mIU/ml 82.6%~94.1%이었다. 이와같은 항체역가 상승시기의 차이나 항체가의 변동추세는 확실한 설명을 할수 없으나 면역이 완성되는 3회 접종시기에는 대체로 유효방어 항체역가에 도달함을 알 수 있었다. Hollinger<sup>14)</sup> 등은 항원량을 5mcg/dose, 10mcg/dose, 20mcg/dose 등으로 접종하여 조사한 바 5mcg/dose일 때 1개월 때 8.6%, 6개월 때 62.9%, 10mcg/dose 20mcg/dore에서는 1개월 28.6%, 6개월 94.3%라고 하였다. 본 연구에서는 10mcg/dose 군이 1개월 30%, 2개월 95.8%, 6개월 100%, 7개월 100%의 양전율을 보였으며 20mcg/dose는 3군에서 1개월 40.7%와 54.4%, 2개월에서 88.0%와 100%, 6개월 95.0%와 100%, 7개월 100%의 성적을 얻을 수 있었다.

본 연구를 통하여 혈장백신을 대조로 비교하였는바, 혈장백신의 양전률이나 항체역가는 효모백신보다 높게 나타났다. 이와 같은 결과 관찰은 Hollinger<sup>14)</sup>, Purcell<sup>15)</sup>, McAllen<sup>16)</sup> 등의 관찰과 유사한 결과이다. 이는 아마도 혈장백신항원과 효모백신 항원간의 Glycosylation의 차이라고 보고있다.

부작용은 대체적으로 경미한 것이었으며, 접종후 국소반응으로 일시적 동통, 종창 등이 관찰되었고, 전신반응은 체온상승, 두통 등이 관찰되었으나 일상생활에 지장을 주는 정도는 아니었다. 효모백신의 항원량에 따른 생체반응차는 통계학적으로 유의한 차이를 발견할 수 없었으며, 항체지속기간 등의 검토가 필요할 것으로 사료되나, 대체적으로 효모백신은 아전한 것으로 사료된다.

## 결 론

B형 간염에 감염되지 않았던 건강한 청·장년 남·녀를 대상으로 효모유래 B형 간염백신 10mcg/

dose, 20mcg/dose, 40mcg/dose를 접종하여 그 항원성, 부작용을 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻어 이에 보고하는 바이다.

1. 효모유래 B형 간염백신은 임상적으로 사용할 수 있으며 그 면역효과를 인정할 수 있다.
2. 부작용 발생빈도는 낮고 경미하며, 이는 항원 불결농도나 Lot 간에는 관계가 없다.
3. 효모유래 B형 간염백신은 혈장유래 백신과 비교하여 항체양전률이나 혈청역가에서 통계학적으로 유의한 차이를 볼 수 없었다.
4. 혈장유래 B형 간염백신의 항체역가 상승은 효모유래백신보다 빠른 시기에 높게 나타났으나, 면역 완료시기인 6개월 이후에는 그 차이를 볼 수 없었다.
5. 일반적으로 여성은 남성보다 항체상승이 양호하였으나, 통계적으로 유의한 차이는 아니었다.

## 참 고 문 헌

- 1) Davidson M et al: Immunogenicity of recombinant Yeast hepatitis B. Vaccine: *LANCET* 11: 108, 1985.
- 2) Dienstag JL et al: Recombinant Yeast hepatitis B Vaccine: Immunogenicity and Safety: *Hepatology* 4: 1077, 1985.
- 3) Far East Health: New type hepatitis identified in south America: Jan, 1985.
- 4) Hollinger FB et al: Anti-HBs responses to vaccination with a human hepatitis B Vaccine made by recombinant DNA. technology in Yeast: *J. INF. Dis.* 153: 156, 1986.
- 5) Jilg W et al: Clinical evaluation of a recombinant Hepatitis B vaccine: *Lancet* 11, 1774, 1984.
- 6) Krugman J. et al: Viral hepatitis type B (MS-2 strain) Studies on active immunization: *JAMA* 217: 41, 1971.
- 7) McAllen WJ et al: Human hepatitis B vaccine from recombinant Yeast: *Nature* 307: 178, 1984.
- 8) Papaevangelou G et al: Immunogenicity of recombinant hepatitis B Vaccine: *Lancet* 11: 45, 1985.
- 9) Purcell RH et al: Prospects for second and third generation hepatitis B vaccine: *Hepatology* 5: 159, 1985.
- 10) Redecker AG: Viral Hepatitis, clinical aspect: *Am. J. Med. Sci* 270: 9, 1975.

- 11) Schaff DM et al: Hepatitis B vaccine in a hospital: *Annals of med.* **101**: 720, 1984.
- 12) Stevens CE et al: Safety of the hepatitis B vaccine: *New Engl. J. Med.* **312**: 375, 1985.
- 13) Szmuness W: Recent advance in the study of epidemiology of hepatitis B: *Am. J. Pathol.* **81**: 629, 1975.