

HRccine(HFRS-virus vaccine)의 토끼에서의 아급성독성

임동문 · 백영옥 · 조효진 · 최재목 · 김달현 · 박관하 · 조정식 · 이영순*

제일제당(주) 종합연구소, *서울대학교 수의과대학

Subacute Toxicity of HRccine (HFRS-virus vaccine) in Rabbits

Dong Moon Lim, Yeong Ok Baik, Hyo Jin Cho, Jae Mook Choi, Dal Hyun Kim,
Kwan Ha Park, Jung Sik Cho and Yong Soon Lee*

R & D Center, Cheil Foods and Chemicals, Inc. 522-1 Dokpyong-ri, Majang-myun,
Ichon-kun, Kyonggi-do 467-810

*College of Veterinary Medicine, Seoul National University

(Received June 1, 1995)

(Accepted June 8, 1995)

ABSTRACT : HRccine was administered subcutaneously for 4 weeks to rabbits at dose levels of 300, 60 and 12 times the expected clinical dose to evaluate the subacute toxicity. There were no effects in clinical signs, body weight changes, food consumption, water consumption, urinalysis and blood biochemistry in any animals tested. In hematological examinations, decrease of lymphocyte counts and increase of platelet counts were observed in the medium- and high-dose treated groups. Absolute weights of thymus were tending to decrease, but no pathological changes were observed in microscopic examinations. The no-effect dose in subacute toxicity study of rabbits was considered to be 300 times the expected clinical dose.

Key Words : HRccine, Rabbits, Subacute toxicity.

I. 서 론

신증후성 출혈열은 한탄 바이러스속의 바이러스에 감염되어 발병하는 질환으로서 현재 전세계적으로 발병하고 있으며, 본 질환에 대한 대책으로는 백신을 접종하여 감염 예방을 하는 것이 바람직한 것으로 알려져 있다 (Yamanishi 등, 1988). 본 시험은 신증후성 출혈열 예방을 위한 목적으로 제조된 HRccine의 안전성을 평가하기 위하여 토끼에 4주간 연속으로 피하 투여하였으며, 의약품 등의 독성시험기준(국립 보건 안전 연구원 예규 제 94-3호)에 따라 수행되었다.

II. 재료 및 방법

1. 시험 물질

시험물질인 HRccine은 제일제당에서 임상 예상용량(4096 EIA 역가/0.5 ml/60 kg)을 기준으로 제조(Lot No. CFC-HR 9405)하여 이 용액을 최고용량으로 사용하였

고 계속 5배씩 희석하여 중간용량, 최저용량으로 사용하였다.

2. 투여

급성독성시험 결과 임상예상용량의 1200배까지 투여해도 별다른 이상이 발견되지 않았으므로, 임상예상용량의 300배를 최고 용량으로 선정하고 이하 공비 0.2로 하여 임상예상용량의 60배를 중간 용량으로, 12배를 최저용량으로 선정하여 2.5 ml/kg/day의 투여액량으로 일주일에 7회 일회용 멸균 주사기를 이용하여 28일간 피하 투여하였다.

3. 실험 동물

삼육실험동물센타에서 3개월령의 Japanese white rabbit를 구입하여 7일간의 순화기간을 거친 후 발육이 정상이고 건강한 토끼 24마리를 시험에 사용하였다. 사육환경은 온도 23±3°C, 상대 습도 50±5%, 환기 횟수 10-

12회/hr, 형광등 명암 12hr cycle, 조도 150-300 Lux였으며, 실험 동물용 고품 사료 (제일제당) 와 수돗물을 자유롭게 섭취하게 하였다.

4. 일반 증상 관찰 및 체중 측정

체중은 시험기간중 주 2회 투여 직전에 측정하였으며, 투여 후 1시간 동안 일반 상태의 변화, 중독 증상 및 폐사유무를 관찰하였다.

5. 사료섭취량 및 음수량측정

1주일에 2회 사료섭취량과 음수량을 측정하였다.

6. 요검사

최종 투여 후 요도 catheter를 이용하여 실험 동물로부터 뇨를 채취하여 색조, 혼탁도 검사를 하였고, N-multistix (Ames)을 이용해서 pH, Protein, Glucose, Occult blood, Ketone, Bilirubin, Urobilinogen, Nitrite를 검사하였으며, 요침사에 대해서는 현미경으로 검사하였다.

7. 혈액학적 검사

부검 하루 전에 이동맥으로 부터 혈액을 채취한 후 일부 혈액을 EDTA를 첨가한 Microtainer에 담은 후 교반하여 WBC, RBC, HT, Hb, Plt, MCV, MCH 및 MCHC를 자동 혈구계산기 (Minos-Vet)로 측정하였고, 백혈구감별계산은 Wright 염색, 망상적혈구검사는 초생체 염색 후 현미경으로 검경하였다. 채취한 혈액 중 일부는 Sodium citrate를 첨가한 병에 담아 PT 및 PTT 측정에 사용하였다.

8. 혈액 생화학적 검사

채취한 혈액중 일부를 무처리 용기에 담아 1시간 후에 원심분리하여 얻은 혈청을 이용하여 생화학 자동 분석기 (Express 550)를 이용하여 AIP, ALT, BUN, Cholesterol, TG, TB, Albumin, TP, Cl을 측정하였다. 일부의 혈액은 Heparin이 들어있는 용기에 넣고 잘 교반한 후 즉시 원심분리하여 얻은 혈장으로 AST, Glucose, LDH, CK을 측정하였다.

9. 부검 및 병리 조직학적 검사

Pentobarbital 마취하에 방혈 치사시키고 육안적으로

모든 장기의 이상 여부를 관찰하여 기록하였고 신장, 폐장, 간장, 심장, 비장, 정소, 난소, 뇌, 부신, 흉선을 부검시에 적출하여 중량을 측정하여, 부검시의 체중으로부터 체중비 장기중량을 산출하였다.

중량을 측정한 장기와 전립선, 자궁, 췌장, 악하타액선, 소화관, 악하임파절, 정낭, 부고환, 갑상선, 기도, 식도를 10% 중성 Formalin 용액에 고정하였다. 조직은 Paraffin wax에 포매하고 H & E 염색을 한 후 현미경으로 관찰하였다.

10. 통계학적 방법

측정결과가 연속변수인 항목에 대해서 평균치와 표준편차를 구하였고 대조군과 각 투여군 사이의 유의성을 Anova 및 Dunnett-t 검정으로 비교하였다 (小坂 및 眞板, 1988).

III. 결 과

1. 임상증상

대조군과 투여군 암수 모두에서 시험 기간 동안 시험물질에 의한 폐사 동물은 없었으며 모든 투여군에서 별다른 임상증상은 관찰되지 않았다.

투여군의 암수 모두에서 대조군과 비교하여 유의성 있는 체중증가율의 변화는 관찰되지 않았다 (Fig. 1, 2).

2. 사료섭취량 및 물섭취량

암수 전투여군에서 대조군과 비교했을 때 사료섭취량 및 물섭취량에 있어서 시험물질에 의한 변화는 관찰되지 않았다 (Fig. 3, 4, 5, 6).

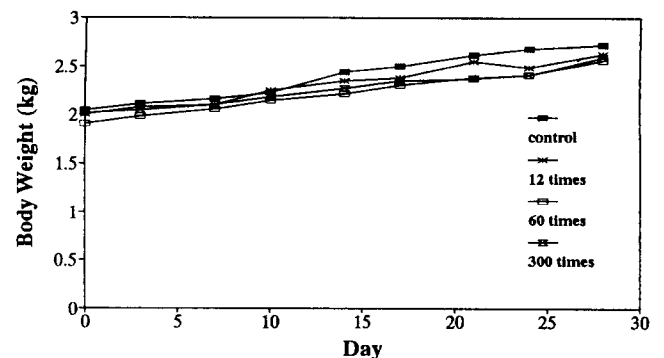


Fig. 1. Body weight changes of male rabbits treated subcutaneously with HRccine for 28 days.

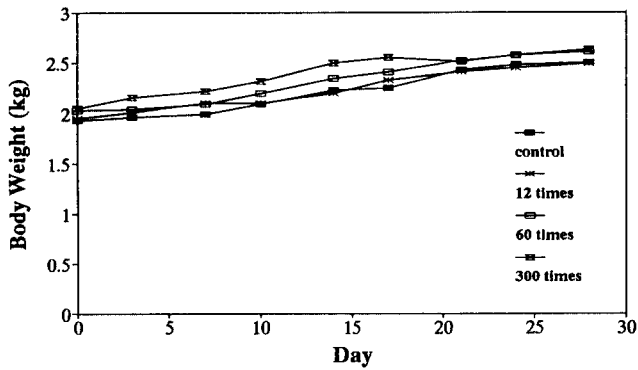


Fig. 2. Body weight changes of female rabbits treated subcutaneously with HRccine for 28 days.

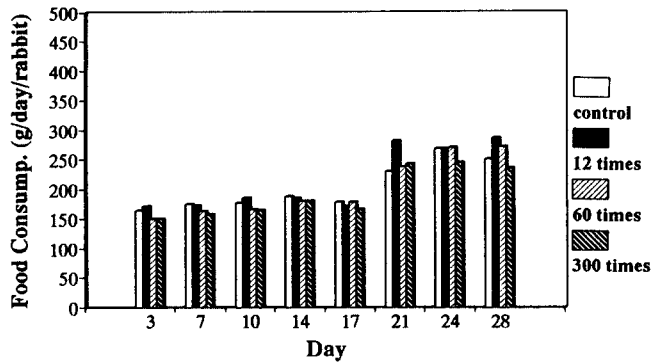


Fig. 3. Food consumption of male rabbits treated subcutaneously with HRccine for 28 days.

3. 뇨검사

암수 전투여군에서 대조군과 비교했을 때 뇨검사에서 시험물질에 의한 변화는 관찰되지 않았다 (Table 1, 2).

4. 혈액학적 검사

Lymphocyte의 유의성 있는 감소와 Platelet의 유의성 있는 증가가 음성 중간용량군과 최고용량군에서 관찰되었으나 모두 생리화적인 정상 범위에 속하였다 (Table 3, 4). 이외의 다른 유의성 있는 변화는 관찰할 수 없었으며, PT 및 PTT도 대조군과 투여군 사이에 유의성 있는 차이는 인정되지 않았다.

5. 혈액 생화학적 검사

자웅 전투여군에서 대조군과 비교했을 때 혈액 생화학적 검사에서 시험물질에 의한 변화는 관찰되지 않았

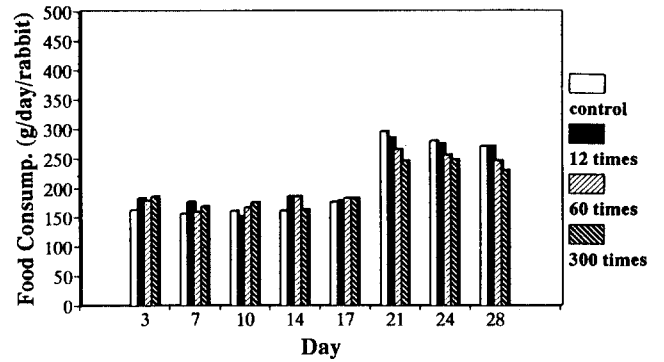


Fig. 4. Food consumption of female rabbits treated subcutaneously with HRccine for 28 days.

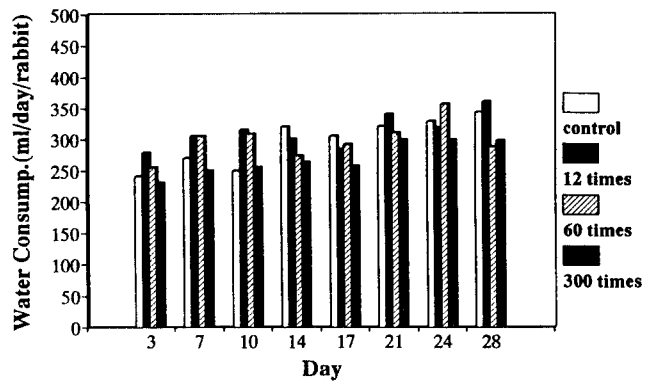


Fig. 5. Water consumption of male rabbits treated subcutaneously with HRccine for 28 days.

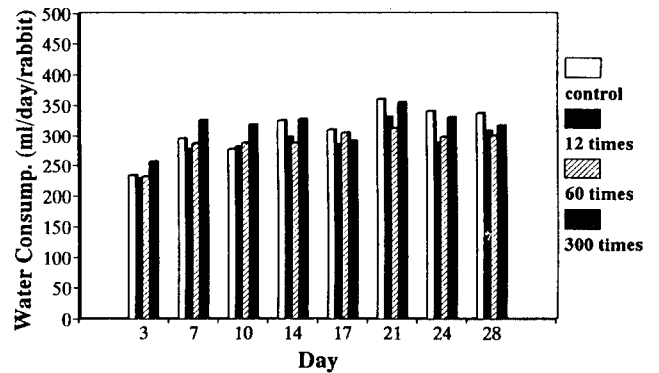


Fig. 6. Water consumption of female rabbits treated subcutaneously with HRccine for 28 days.

다 (Table 5, 6).

6. 부검 및 장기중량

신장의 회백색 경화소가 대조군 음성, 저용량군 음성 및 중간용량군 자성에서 관찰되었고, 간의 화농소가 저용량군 자성에서, 폐의 부종이 저용량군 자성 및 고용량군 자성에서 각각 1예씩 관찰되었다.

Table 1. Urinalysis data in male rabbits treated subcutaneously with HRccine for 28 days.

Group	Control	12 times	60 times	300 times
No. of Animal	3	2	3	3
pH	8.5±0.2	9.0±0.15	8.5±0.15	9.0±0.2
Specific gravity	1.01±0.02	1.02±0.01	1.02±0.00	1.01±0.01
Protein (mg/dL)	0	1	1	2
	30	1	1	1
	100	-	-	1
	300	1	-	-
Nitrite	Negative	3	2	3
	Positive	-	-	-
Occult blood	-	1	2	2
	+	-	-	-
	++	-	-	-
	+++	2	-	1
Ketone (mg/dL)	0	3	2	3
	5	-	-	-
	15	-	-	-
Urobilinogen (Ehrich 단 위/dL)	0	3	2	3
	0.1	-	-	-
	1	-	-	-
Bilirubin	-	3	2	3
	+	-	-	-
	++	-	-	-
Glucose (g/dL)	0	3	2	3
	0.1	-	-	-
	0.25	-	-	-
Epithelial cell*	+	-	-	-
	++	-	-	-
	+++	-	-	-
Crystals*	+	-	-	-
	++	-	-	-
	+++	-	-	-
Cast*	+	-	-	-
	++	-	-	-
	+++	-	-	-
WBC*	+	-	-	-
	++	-	-	-
	+++	-	-	-
RBC*	+	-	-	-
	++	-	-	-
	+++	-	-	-

* : +; Slight, ++; Moderate, +++; Severe

^{a)} one animal was killed by technical error

흉선의 절대 중량이 옹성의 중간용량군과 최고용량군에서 유의성 있게 감소하였다 (Table 7, 8).

7. 조직병리검사

대조군 옹성 3마리, 자성 3마리에서 나타난 병변은 폐

Table 2. Urinalysis data in female rabbit treated subcutaneously with HRccine for 28 days.

Group	Control	12 times	60 times	300 times
No. of Animal	3	3	3	3
pH	8.5±0.2	8.5±0.15	9.0±0.35	8.5±0.25
Specific gravity	1.01±0.01	1.02±0.02	1.02±0.01	1.01±0.01
Protein (mg/dL)	0	2	3	3
	30	-	-	-
	100	-	-	1
	300	1	-	-
Nitrite	Negative	2	3	3
	Positive	1	-	-
Occult blood	-	3	2	3
	+	-	-	-
	++	-	-	-
	+++	-	1	1
Ketone (mg/dL)	0	3	3	3
	5	-	-	-
	15	-	-	-
Urobilinogen (Ehrich 단 위/dL)	0	3	3	3
	0.1	-	-	-
	12	-	-	-
Bilirubin	-	3	3	3
	+	-	-	-
	++	-	-	-
Glucose (g/dL)	0	3	3	3
	0.1	-	-	-
	0.25	-	-	-
Epithelial cell*	+	-	-	-
	++	-	-	-
	+++	-	-	-
Crystals*	+	-	-	-
	++	-	-	-
	+++	-	-	-
Cast*	+	-	-	-
	++	-	-	-
	+++	-	-	-
WBC*	+	-	-	-
	++	-	-	-
	+++	-	-	-
RBC*	+	-	-	-
	++	-	-	-
	+++	-	-	-

* : +; Slight, ++; Moderate, +++; Severe

에서 정도의 peribronchiolar lymphoid aggregation, 신장에서 정도의 interstitial nephritis 그리고 중추신경계에서 granulomatous inflammation with perivascular lymphoid cuffing과 leptomeningitis가 관찰되었다 (Table 9, 10). 위의 병변은 시험물질 투여군에서도 관찰되었으며 토끼의 감염에 의한 것으로 생각되어지며, 시험물질에 의한 것

Table 3. Hematology data in male rabbits treated subcutaneously with HRccine for 28 days.

Dose (times)	No. of Animal	Parameters														
		WBC							Reticulo-cyte							
		Total (10 ³ /mm ³)	Pseudo-eosinophil (%)	Lym-phocyte (%)	Monocyte (%)	Stab cell (%)	Eosinophil (%)	Basophil (%)	RBC (10 ⁶ /mm ³)	Hb (g/dL)	HT (%)	MCV (μ ³)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)	PLT (10 ³ /mm ³)	
0	3	9.6±0.78	14.0±9.5	83.3±9.9	1.3±1.2	0.0±0.0	1.3±1.5	0.0±0.0	2.2±0.9	5.9±0.5	11.9±1.2	38.5±3.44	64.7±1.15	19.9±0.9	30.9±0.9	113±48
12	2 ^{a)}	7.9±1.41	29.0±7.1	61.5±6.4	3.0±1.4	0.0±0.0	3.0±0.0	3.5±2.1	2.5±1.2	6.8±0.5	12.9±0.5	41.7±3.5	62.0±0.0	19.0±0.5	30.8±0.6	386±62.9
60	3	7.6±3.40	29.3±7.4	65.7±6.0*	3.3±1.5	0.0±0.0	0.3±0.6	1.3±0.6	1.4±1.4	5.7±0.2	11.6±0.7	37.2±2.9	64.7±3.5	20.1±0.9	31.2±0.6	470±79.0**
300	3	8.6±1.00	27.3±7.5	68.3±6.0*	2.3±0.6	0.0±0.0	1.7±0.6	0.3±0.6	1.3±1.4	5.6±0.4	10.9±0.7	35.3±2.4	62.7±0.6	19.3±0.1	30.9±0.3	531±110**

Each value represents mean±S.D.

Statistically significant against control, *P < 0.05, **P < 0.01.

^{a)}: One animal was killed by technical error.

Table 4. Hematology data in female rabbits treated subcutaneously with HRccine for 28 days.

Dose (times)	No. of Animal	Parameters														
		WBC							Reticulo-cyte							
		Total (10 ³ /mm ³)	Pseudo-eosinophil (%)	Lym-phocyte (%)	Monocyte (%)	Stab cell (%)	Eosinophil (%)	Basophil (%)	RBC (10 ⁶ /mm ³)	Hb (g/dL)	HT (%)	MCV (μ ³)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)	PLT (10 ³ /mm ³)	
0	3	8.8±1.0	22.3±4.9	73.7±4.0	3.0±1.0	0.0±0.0	0.7±0.6	0.3±0.6	1.9±1.1	5.4±0.4	11.4±0.7	36.1±2.4	67.7±0.6	21.2±0.1	31.4±0.3	295±110
12	3	7.5±1.6	40.7±16.0	50.0±18.3	4.3±2.1	0.0±0.0	0.7±1.2	4.7±2.1	3.4±2.1	5.5±0.7	10.9±1.4	34.3±3.1	64.7±3.8	19.8±0.5	30.7±1.2	461±152
60	3	6.4±2.4	40.0±12.7	51.0±12.7	3.5±2.2	0.0±0.0	2.0±0.0	3.5±2.1	1.7±1.1	5.7±0.9	11.5±1.1	36.1±3.6	64.0±4.6	20.3±1.3	31.9±0.5	280±209
300	3	9.7±3.9	32.3±13.7	56.3±16.8	4.0±3.5	0.0±0.0	4.3±1.5**	3.0±1.7	1.2±1.1	6.0±0.6	11.4±1.2	36.6±3.0	61.3±2.3	19.1±1.0	31.2±0.8	495±142

Each value represents mean±S.D.

Statistically significant against control, **P < 0.01.

Table 5. Blood biochemistry data in male rabbits treated subcutaneously with HRccine for 28 days.

Dose (times)	No. of Animal	Parameters											
		Albumin (g/dL)	AIP (U/L)	ALT (U/L)	AST (U/L)	Total Bilirubin (mg/dL)	BUN (mg/dL)	Chloride (meq/dL)	Cholesterol (mg/dL)	Glucose (mg/dL)	LDH (U/L)	Total protein (g/dL)	Triglyceride (mg/dL)
0	3	3.9±0.21	128±29.7	21.0±3.30	14.1±4.50	0.03±0.06	13.1±2.02	98±3.79	39.0±4.51	575±109	160±45.6	5.4±0.21	90±18.5
12	2 ^{a)}	3.3±0.99	120±12	18.0±9.12	14.3±3.89	0.05±0.07	11.1±0.42	98±10.60	40.5±3.54	592±61	155±17.7	6.0±0.21	87±30.4
60	3	3.2±0.62	114±11	19.7±5.58	16.3±2.74	0.03±0.06	10.8±1.50	88.0±23.00	41.0±15.90	603±195	151±9.9	5.5±0.50	90±20.4
300	3	3.0±1.57	102±49	21.9±10.00	12.1±0.95	0.03±0.06	12.5±1.82	102±15.30	52.0±15.40	524±32	150±12.7	6.2±0.46	95±42.1

Each value represents mean±S.D.

^{a)}: One animal was killed by technical error.

Table 6. Blood biochemistry data in female rabbits treated subcutaneously with HRccine for 28 days.

Dose (times)	No. of Animal	Parameters												
		Albumin (g/dL)	AIP (U/L)	ALT (U/L)	AST (U/L)	Total Bilirubin (mg/dL)	BUN (mg/dL)	Chloride (meq/dL)	Cholesterol (mg/dL)	Glucose (mg/dL)	LDH (U/L)	Total protein (g/dL)	Triglyceride (mg/dL)	
0	3	4.0±0.81	95±31.1	12.9±10.30	10.0±3.67	0.03±0.06	14.6±4.74	95.7±24.9	44±10.0	477±84	130±25.2	6.53±0.61	58±8.5	
12	3	4.2±0.50	99±1.5	15.1±1.85	14.2±7.81	0.03±0.06	16.4±4.67	105±16.8	50±27.0	583±401	145±59.8	5.50±20.1	48±25.9	
60	3	4.1±0.36	91±23.2	16.7±3.76	13.3±9.82	0.07±0.12	17.1±3.50	103±16.2	59±9.5	561±280	140±26.0	6.67±0.67	66±21.9	
300	3	3.8±0.67	91±30.0	15.2±3.60	10.1±4.30	0.03±0.06	11.4±3.44	92.3±47.1	43±35.6	461±201	126±16.6	6.27±0.51	70±11.0	

Each value represents mean±S.D.

Table 7. Organ weight data in male rabbits treated subcutaneously with HRccine for 28 days.

Dose (times)	No. of Animal	Absolute weight (g)												
		Brain	Heart	Lung	Thymus	Liver	R	L	Kidneys	Spleen	Adrenals	Testes		
0	3	8.91±0.65	7.13±1.00	12.84±4.14	6.29±0.52	78.90±7.13	8.76±1.49	8.78±1.45	2.13±0.41	0.18±0.04	2.36±0.32			
12	2 ^a	8.66±0.92	6.49±0.31	10.67±1.07	5.65±0.40	74.48±1.21	8.76±0.36	9.35±0.34	1.77±0.66	0.27±0.06	1.41±0.77			
60	3	8.01±1.59	6.05±1.14	10.07±0.74	3.65±0.63**	66.87±14.87	7.41±1.11	7.34±1.08	1.65±0.38	0.19±0.06	2.24±0.10			
300	3	8.34±1.25	6.14±0.66	9.43±0.25	3.62±1.28**	70.82±14.40	7.91±0.28	7.66±0.33	1.86±0.43	0.17±0.01	2.10±0.12			

Dose (times)	No. of Animal	B.W. (kg)	Relative weight (mg %)									
			Brain	Heart	Lungs	Thymus	Liver	R	L	Kidneys	Spleen	Adrenals
0	3	2.48±14	361±43	290±55	524±195	255±35	3191±381	355±74	357±75	87±21	8±2	96±15
12	2 ^a	2.32±31	375±60	281±29	462±71	243±40	3216±229	379±35	404±37	77±33	12±2	59±11
60	3	2.57±11	313±69	236±53	393±46	143±31**	2619±705	290±56	287±55	65±17	7±2	87±1
300	3	2.58±22	327±72	239±21	368±35	140±45**	2733±316	310±40	299±29	76±11	7±1	82±11

Each value represents mean±S.D.

Statistically significant against control, **P<0.01

^a: One animal was killed by technical error.

Table 8. Organ weight data in female rabbits treated subcutaneously with HRccine for 28 days.

Dose (times)	No. of Animal	Absolute weight (g)									
		Brain	Heart	Lungs	Thymus	Liver	Kidneys		Spleen	Adrenals	Ovaries
							R	L			
0	3	8.66±0.39	7.91±1.77	10.96±0.80	5.24±1.71	73.38±3.60	9.43±2.26	9.33±2.33	2.19±0.61	0.18±0.02	0.22±0.12
12	3	8.95±0.63	6.31±0.11	10.52±0.33	3.54±0.77	78.42±15.29	7.94±1.17	7.78±0.88	1.68±0.41	0.14±0.06	0.24±0.06
60	3	8.62±1.08	7.16±1.09	10.28±2.31	4.32±1.25	70.14±15.50	8.12±0.97	7.91±0.72	1.59±0.74	0.23±0.03	0.21±0.09
300	3	8.96±0.55	7.01±0.62	15.86±8.28	3.70±0.95	73.75±8.02	8.79±0.96	8.42±0.80	2.06±0.67	0.21±0.10	0.28±0.11

Dose (times)	No. of Animal	B.W. (kg)	Relative weight (mg %)									
			Brain	Heart	Lungs	Thymus	Liver	Kidneys		Spleen	Adrenals	Ovaries
							R	L				
0	3	2.68±20	325±27	300±90	411±50	196±62	2745±75	351±67	374±67	81±17	7±1	8±5
12	3	2.49±37	365±62	257±37	429±57	143±25	3265±1135	320±25	315±31	67±12	6±3	10±4
60	3	2.41±24	363±79	302±74	436±30	184±69	2952±795	341±65	333±58	67±34	10±2	9±5
300	3	2.41±31	376±40	293±19	658±343	152±22	3071±92	366±11	351±13	85±19	9±3	12±6

Each value represents mean ± S.D.

Table 9. Histopathological findings of male Japanese white rabbits treated with HRccine for 28 days

Group Dose(x clinical dose) Number of animal	Control 0 3	Low 12 2 ^{a)}	Med. 60 3	High 300 3
Liver				
focal necrosis of hepatocyte	1	1	0	1
lymphocytes increased in Glisson's sheath (mild)	2	1	1	2
Kupffer cell hyperplasia(mild)	0	0	1	1
mild atrophy of hepatocyte	0	0	1	1
Spleen				
hemosiderosis	2	2	2	3
extramedullary hematopoiesis	2	2	1	3
mild increase of granulocytes in red pulp	0	0	0	1
Salivary gland	0	0	0	0
Trachea	0	0	0	0
Esophagus	0	0	0	0
Urinary bladder	0	0	0	0
Heart	0	0	0	0
Testes				
aspermato genesis	1	0	1	0
Epididymis	0	0	0	0
Pancreas	0	0	0	0
Thymus	0	0	0	0
GI tract				
neutrophilic migration in mucosal layer	1	0	1	0
Stomach				
lymphocyte aggregation in submucosa	1	1	0	0
Cerebrum				
granulomatous inflammation: perivascular	3	3	0	3
lymphoid cuffing				
leptomeningitis	3	2	3	3
Cerebellum	0	0	0	0
Kidneys				
focal interstitial nephritis	1	1	1	1
Lungs				
peribronchiolar lymphoid cell aggregation	2	1	2	2

^{a)} one animal was killed by technical error
Numbers indicate the number of animals showing abnormal changes.

은 아닌 것으로 판단된다, 고용량투여군에서는 대조군에서 보인 기초 병변외에 특별한 병변이 관찰되지 않았다.

IV. 고찰 및 결론

HRccine의 토끼에 대한 아급성 독성을 평가하기 위하여 임상예상용량의 300배, 60배, 12배의 농도를 28일 동안 연속으로 피하에 투여하였다. 그 결과 시험물질에 의

Table 10. Histopathological findings of male Japanese white rabbits treated with HRccine for 28 days

Group Dose(x clinical dose) Number of animal	Control 0 3	Low 12 3	Med. 60 3	High 300 3
Liver				
solitary necrosis of hepatocyte	1	1	0	0
focal infiltration of lymphocytes	0	0	1	0
lymphocytes increase in Glisson's sheath	2	1	2	2
Spleen	0	0	0	0
Salivary gland	0	0	0	0
Trachea	0	0	0	0
Esophagus	0	0	0	0
Urinary bladder	0	0	0	0
Heart				
granulomatous changes	1	0	0	0
Pancreas	0	0	0	0
Thymus	0	0	0	0
GI tract				
neutrophilic migration in mucosal layer	1	0	1	0
Stomach	0	1	0	0
Kidneys				
focal dilatation of collecting tubules	2	0	1	0
mild interstitial nephritis	1	2	1	2
Cerebrum				
granulomatous inflammation: perivascular	3	0	0	3
lymphoid cuffing				
leptomeningitis	3	0	0	3
Cerebellum	0	0	0	0
Lungs				
peribronchiolar lymphoid cell aggregation	2	2	2	2
Uterus				
neutrophilic migration in mucosa	0	0	0	0

Numbers indicate the number of animals showing abnormal changes.

한 실험동물의 폐사 및 특이적인 임상증상은 관찰되지 않았으며, 체중변화, 사료섭취량, 물섭취량, 뇨검사, 혈액 생화학적 검사에서도 대조군에 비해 유의성 있는 변화가 관찰되지 않았다.

혈액학적 검사에서는 Lymphocyte의 유의성 있는 감소와 Platelet의 유의성 있는 증가가 음성 중간용량군과 최고용량군에서 관찰되었으나 모두 생리학적인 정상 범위에 속하므로 시험물질 투여와 무관한 것으로 사료된다. 신장의 회백색 경화소, 간의 화농소 및 폐의 부종이 관찰되었으나, 이는 대조군에서도 관찰되었으며 용량 상관성도 없어 시험물질에 의한 변화라기 보다는 세균 감염에 의한 것으로 사료된다. 흉선의 절대 중량의 유의

성 있는 감소가 관찰되었으나 이는 조직검사에서 병변이 관찰되지 않아 독성 변화로 보기에는 어렵다.

이상의 결과로부터 본 시험조건에서 HRccine의 28일 피하 투여에 의한 무영향량은 임상예상용량의 300배 이상으로 추정한다.

tivated vaccine against virus causing hemorrhagic fever with renal syndrome. *Vaccine*, 6, 278-282.

小坂 忠司と眞板 敬三 (1988): 成績の推計學的 評價, 新毒性試驗法 (白須 泰顔と吐山 豊秋編, Realize Inc., pp. 175-182.

국립보건안전연구원 (1994): 의약품등의 독성 시험 기준, 국립보건안전연구원 고시 제 94-3호.

참고문헌

Yamanishi, Koichi *et al* (1988): Development of inac-