

## 마우스, 랫트, 해명에서 집먼지 진드기 추출물의 일반 약리시험과 급성 및 아급성 독성에 관한 연구

노재열<sup>1,2</sup> · 김경환<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>연세대학교 의과대학 약리학과, <sup>2</sup>엘러지 연구소

## General Pharmacological and Acute/Subacute Toxicity Test of House Dust Mite Extract in Mice, Rats, and Guinea pigs

Jai Youl Ro<sup>1,2</sup> and Kyung Hwan Kim<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Pharmacology and <sup>2</sup>Institute of Allergy, College of Medicine,  
Yonsei University, Seoul 120-752, Korea

(Received February 23, 1998)

(Accepted March 27, 1998)

**ABSTRACT :** It has been reported that 50~70% of child asthma, bronchial asthma in adult, and allergic rhinitis are caused by house dust mite. The antigen extracted from house dust mite has been used for effective treatment against allergic diseases and for clinical test. This house dust mite antigen has been entirely imported from abroad. However, the composition and content of all the antigen imported vary from a brand to other brand. Thus, we need to standardize the composition and content of the antigen by developing it domestically. We proceeded pre-clinically general pharmacological test and toxicological test that are required for the eventual human use by utilizing the house dust mite cultured in Korea. In order to obtain information on general pharmacological tests such as its toxic signs in tissues or organs which are mainly affected, we examined the effect of house dust mite on the tensions of the isolated tissues and heart rates of cardiac muscle by recording with force displacement transducer of polygraph (Glass Model 7). We determined lethality of antigen extracted from house dust mite in mice and guinea pigs. We examined acute and subacute toxicity by administrating house dust mite extract of 500, 100, 20 times of the expected clinical dose. In male and female mice and guinea pigs, given a single intraperitoneal dose of antigen, LD<sub>50</sub> values were over 5.0 ml/kg, respectively. In animals administrated with house dust mite, there were no significant change of clinical symptom, body weight, food consumption, water consumption, eye examinations, urinalysis, blood biochemistry, and histopathological examinations in any animals tested. We found no toxic effect of this house dust mite. These results show that the house dust mite cultured by us could be used in the development of medicine against allergic diseases caused by the antigen of house dust mite.

**Key Word :** House dust mite, LD<sub>50</sub>, Acute toxicity, Subacute toxicity

### I. 서 론

집먼지 진드기는 우리나라 뿐만 아니라 전 세계적으로 알레르기 질환의 가장 중요한 발병 원인으로 간주되고 있다(Platt-Mills와 Weck, 1989). 집먼지 진드기에 노출됨으로 호흡기 알레르기 질환이 발생된다. 그러나 집먼지 진드기를 완전히 회피함으로써 증상을 호전시킬 수 있으며 또한 약물 사용량도 줄일 수 있으며 기관지

\*본 연구는 보건복지부 연구비(HMP-95-M-2-0013)로 이루어졌습니다.

천식의 주요 소견중 하나인 비특이적 기관지 과민성도 회복시킨다고 보고되고 있다(Platt-Mills와 Weck, 1982).

알레르기 질환의 원인규명은 알레르기 피부반응 검사, 혈청검사 등 각종 체내 및 실험실 검사를 통하여 실시하며, 소아천식은 약 90%(Lee와 Kim, 1988), 성인 호흡기 알레르기 질환 중 기관지 천식인 경우는 약 50%, 알레르기성 비염은 약 70%가 집먼지 진드기가 원인인 것으로 생각되고 있다(Cho 등, 1981; Ahu와 Kim, 1983; Kang 등, 1984; Cho 등, 1985; Rhee와 Oh, 1985; Yoon 등, 1989). 피부 알레르기 질환인 아토피

피부염도 약 60%의 환자가 집먼지 진드기에 감염되어 있으며 최근에는 아토피 피부염의 발병에도 집먼지 진드기가 직접적으로 관여함이 보고되고 있다(Sporik 등, 1990).

알레르기 질환 치료는 증상이 있을 때 대증 약물요법으로 치료하나 원인을 규명하여 치료하는 원인 회피법과 면역치료법이 있다. 면역 치료시 발생할 수 있는 사망의 위험성 때문에 영국에서는 중단하고 있으나 선별하여 시행하면 알레르기 질환 치료에 가장 이상적인 치료법이라고 지적받고 있다(Jacquemin 등, 1990; Machiels 등, 1990; Leroy 등, 1992; Loroy 등, 1993; Machiels 등, 1993; Middleton 등, 1993). 또한 최근에는 면역 치료법에 대하여 전통적인 방법에서 더욱 안전하고 치료효가가 좋은 것으로 나타난 항원-자가항체 면역 복합체를 만들어 집먼지 진드기에 의한 알레르기 질환 치료제로의 이용을 본 연구팀이 시도하고자 한다. 그러나 국내에서는 집먼지 진드기 항원이 현 시점에서 개발되어 있지 않으므로 집먼지 진드기 검사용 항원과 혈청 진단용 항원 및 치료용 항원을 모두 외국에서 구입하여 사용하고 있다. 이 외국산 항원의 구성성분 및 함량이 각 제조회사에 따라 다르기 때문에 연구 및 임상 시험시 상호 비교하는데 어려움이 있을 뿐만 아니라 외화 낭비도 된다. 그러므로 본 연구팀은 국내산 집먼지 진드기 항원개발 및 집먼지 진드기 항원-항체 복합체로 치료제 개발을 하고자 하며 또한 집먼지-진드기 항원의 동물 실험 모델을 개발하므로써 앞으로 알레르기 질환의 병태 생리연구와 면역조절 기전연구에서 매우 중요하며 호흡기 알레르기 치료 약물 개발에 있어 필수적인 실험모델로 이용하고자 집먼지 진드기 실험모델을 개발하고자 한다. 이런 여러가지 연구를 시행하기 위해서는 무엇보다 먼저 집먼지 진드기가 인체에 독성을 나타내지 않아야 하므로 임상전 시험을 위한 일반 약리시험 및 독성시험 중 급성 독성과 아급성 독성시험을 국립 보건안전연구원(1994. 4. 14.) 고시 제94-3호 “의약품 등의 독성시험기준”에 따라 행하였다(국립보건안전원, 1994).

## II. 재료 및 방법

### 1. 시험물질

본 대학 알레르기 연구팀이 계대 배양하여 순수 분리한 후 탈지방화한 집먼지 진드기(Dermatophagoides farinae) 2 g을 100 ml H<sub>2</sub>O로 72시간 동안 추출한다. 이 추출물을 PBS로 투석하여 멸균용 micro-filter로 여과

하여 원액으로 하였다. 이 원액을 적당량씩 희석하여 각 실험에 사용하였다.

### 2. 실험동물

ICR 마우스, 흰쥐(Sprague Dawley), 토끼(Japanese white rabbit) 및 해명(albino Hartley)을 구입하여 약 1주일간 순화시킨 후 그 기간중 일반증상을 관찰하여 건강한 동물을 각 실험에 사용하였다.

### 3. 일반 약리시험

#### 1) 일반적 행동 관찰

각 군을 다음과 같이 나누어 실험을 하였다.

	생리식염수 군	10배 희석액 군	원액 군
생쥐	2.5 ml/kg	2.5 ml/kg	2.5 ml/kg
흰쥐	2.5 ml/kg	5.0 ml/kg	2.5 ml/kg
	5.0 ml/kg	-	5.0 ml/kg
해명	2.5 ml/kg	5.0 ml/kg	2.5 ml/kg
	5.0 ml/kg	-	5.0 ml/kg

암수 ICR생쥐, 흰쥐, 해명을 8용량군(1군당 8마리)과 생리식염수군(5용량군)으로 나누어서 복강내 주사한 후 일반상태를 투여전, 투여 후 6시간까지는 매시간, 그 다음날은 매일 1회씩 14일까지 일반상태변화, 중독증상 및 사망동물의 유무를 관찰하였다.

#### 2) 체중변화

모든 동물에 대하여 투여직전과 투여후 7일과 14일에 3회 체중을 측정하였다.

#### 3) 해명 적출 회장에 대한 영향

해명 회장을 약 2 cm 적출하여 organ bath(100 ml)에 현수하였다. 이때 organ bath는 37°C의 Tyrode-용액으로 채워져 있으며 95% O<sub>2</sub>와 5% CO<sub>2</sub> 혼합 gas가 가해졌다. 1 g tension이 가해진 등장 수축력이 polygraph(Grass Model 7)에 의해 기록되었다. 집먼지 진드기의 농도는 예비 실험에 의해 결정하였으며(0.5 ml, 1.5 ml, 2.5 ml, 5.0 ml) resting tone과 epinephrine(10<sup>-7</sup> M), isoproterenol(10<sup>-7</sup> M), acetylcholine(10<sup>-7</sup> M), histamine(10<sup>-7</sup> M), barium chloride(5 × 10<sup>-4</sup> gM)에 의해 유도된 수축력 및 이완력에 대해 조사하였다.

#### 4) 토끼 적출 회장에 대한 영향

토끼 회장을 약 2 cm 길이로 적출하여 37°C organ

bath에 현수하여 해명 적출 회장에서와 같은 방법으로 집먼지 진드기 항원의 영향을 조사하였다(1 g tension).

#### 5) 해명 적출 기도에 대한 영향

해명의 기도를 적출하여 지방조직을 제거한 후 나선형으로 잘라서 37°C organ bath에 현수하여 해명 적출 회장에서와 같은 방법으로 조사하였다(2 g tension).

#### 6) 해명 적출 폐조직에 대한 영향

해명의 오른쪽 폐조직을 2×0.5 cm로 잘라서 해명 적출기도에서와 같은 방법으로 조사하였다(1 g tension).

#### 7) 해명 적출 우심방에 대한 영향

해명 우심방을 적출하여 37°C organ bath에 현수하여 해명 적출 회장에서와 같은 방법으로 수축력과 이완력을 조사하였으며 심장 박동수도 조사하였다.

### 4. 급성 독작용 시험

#### 1) LD<sub>50</sub> 측정

집먼지 진드기의 추출 정제된 원액을 적절한 배수로 희석하여 암수 마우스(ICR)와 암수 해명(Albino Hartley) 복강내로 주사하였다. 보통 사람에서 피부감작(skin test)에 사용되는 최고 집먼지 진드기 용량은 원액을 10배 희석(1 : 1000)하여 0.1 ml를 사용하므로써 본 연구에서는 임상예상용량의 10배 농축액(1 : 100)인 원액을 0.5 ml/kg, 1.5 ml/kg, 2.5 ml/kg과 10배 희석액(1 : 1000) 0.5 ml/kg, 1.5 ml/kg, 2.5 ml/kg 투여군인 6개 용량군으로 나누었으며, 1군당 8마리 동물의 개체 식별은 피모색소 marking법과 tag 표시법을 사용하였다(Kang과 Lee, 1991). 그러나 사망동물이 없었으므로 각 동물에서 원액으로 최대 용량인 5.0 ml/kg으로 증가하였다.

### 5. 아급성 독작용 측정

#### 1) 실험동물

암수 해명(Hartley guinea pig) 25마리를 4마리씩 상자에 넣어 1주일간 실험실 환경에 순화시킨 후 그 기간 중 일반증상을 관찰하여 건강한 동물을 선정하였다. 사육환경은 온도, 습도 범위를 해명에 최적상태로 유지하였다.

#### 2) 시험군의 구성 및 투여 용량

한 군당 8마리 해명을 5군으로 나누었으며 임상예상

용량을 기준으로 하여 5 ml/kg(500배)를 최고 용량으로 하고 용량의 일정한 공비(0.2)로 3단계(5.0 ml/kg, 1.0 ml/kg, 0.2 ml/kg)를 설정하고 생리식염수를 대조군으로 하여 시험물질(집먼지 진드기)은 1일 1회 주 7회 3개월간 반복 피내주사하였다. 사람 혈청 알부민 1 mg/kg(임상 적용 용량의 10배) 반복 투여군을 양성 대조군으로 하였다.

#### 3) 일반증상 및 체중 측정

일반 임상증상으로 anorexia, salivation, diarrhea, vomiting, polyuria, anuria, fecal change와 그 정도 등을 시험기간 중 1일 1회 관찰하였으며 체중은 투여전 주 2회, 투여직전 1회와 투여후 주 1회 측정하였다.

#### 4) 사료 및 음수섭취량 측정

사육상자별로 급여 총량과 잔량을 시험 개시 후 3개월까지 주 1회 일일 사료 및 음수섭취량을 측정하였다.

#### 5) 안검사

3개월에 1회, 부검 바로 전에 시행하였다.

#### 6) 뇨검사

모든 동물은 metabolic cage를 이용하여 투여중 1회, 최종투여후 1회, 3개월에 모두 2회 채뇨한 후 뇨량, 색조, 혼탁도와 즉시 뇨검사용 시험지(Ames사의 N-multistix)를 사용하여 pH, protein, ketone, urobilinogen, bilirubin, glucose, nitrite 및 blood를 측정하였다(Moon 등, 1989).

#### 7) 혈액 생화학적 검사

i) 일반 혈액학적 검사: 해명에서 채혈을 하여 Coulter counter S-plus IV(Coulter)를 이용하여 WBC, RBC, Hct, Hb, platelet, neutrophil, lymphocyte, monocyte, eosinophil, basophil 등을 측정하였다.

ii) 생화학적 검사: 혈청을 얻어서 glutamic-oxaloacetic transaminase(GOT), glutamic-pyruvic transaminase(GPT), alkaline phosphatase, blood glucose, total protein, total bilirubin, 혈액 요소 질소(BUN), creatinine, Na, K, 및 Cl 등을 자동분석기를 이용하여 측정하였다.

#### 8) 부검 및 병리조직학적 검사

시험기간 중 사망동물이나 빈사동물 및 시험종료 후 전 동물에 대하여 치사시켜서 육안적으로 장기를 검사하였다.

i) 장기 중량 측정 : 전 실험동물에 대하여 간장, 신장(좌·우), 비장, 심장, 폐장, 부신(좌·우), 뇌, 갑상선, 난소(좌·우), 고환(좌·우), 췌장, 뇌하수체 등의 중량을 측정하여 체중에 대한 상대 장기 중량으로 산출하였다.

ii) 병리조직검사 : 모든 실험동물의 장기 중량 측정이 끝난 후 10% 중성 포르말린액에 고정하여 2주간 충분히 고정시킨후 모든 장기조직은 파라핀 포매기로 포매하여 microtome으로 4~5 μm 절편을 만들어 hematoxylin and eosin염색을 하여 현미경으로 관찰하였다.

9) 통계처리

측정결과가 연속 변수인 항목에 대해서 평균치와 표준편차를 구하였으며 대조군과 각투여군 사이의 유의성은 Anova 및 Dunnett's-t 검정으로 비교하였다.

III. 결 과

1. 일반 약리 시험

1) 일반적 행동 및 체중변화 관찰

생쥐, 흰쥐, 해명에 집먼지 진드기 희석액 및 원액 0.5 ml/kg, 1.5 ml/kg, 2.5 ml/kg을 복강내 투여한 각 군에서 투여후 6시간까지 매시간과 매일 1회 14일까지 일반상태 변화, 중독 및 사망동물을 관찰하였으나 대조군에 비해 다른 증상을 관찰할 수 없었으며 동물은 사망하지 않았다(data 제시하지 않음). 일반적 행동 관찰시 투여전과 투여후 7일과 14일에 체중을 측정하였으나 대조군에 비해 차이를 나타내지 않았다(data 제시하지 않음).

2) 해명 적출 회장에 대한 영향

해명 적출회장에 집먼지 진드기 원액을 0.5 ml, 1.5 ml, 2.5 ml, 5.0 ml을 가하였으나 회장의 tone에는 영향을 미치지 못하였으며 epinephrine(Ep, 10<sup>-7</sup> M), isoproterenol(Ip, 10<sup>-7</sup> M)에 의해 감소된 tone에 아무런 영향을 미치지 못하였다. 또한 acetylcholine(Ach, 10<sup>-7</sup> M), histamine(Hist, 10<sup>-7</sup> M), barium chloride(BaCl<sub>2</sub>, 5×10<sup>-4</sup> M)에 의해 유도된 수축력에도 집먼지 진드기의 각 농도(0.5 ml, 1.5 ml, 2.5 ml, 5.0 ml)는 아무런 영향을 미치지 않았다(data 제시하지 않음).

3) 토끼 적출 회장에 대한 영향

해명 적출 회장에서와 같은 방법으로 실험을 행하였

으나 집먼지 진드기는 토끼 적출 회장의 자발적 tone이나 약물에 의한 수축력 및 이완력에 아무런 영향을 미치지 않았다(data 제시하지 않음).

4) 해명 적출 기도 및 폐조직에 대한 영향

해명 적출기도 및 폐조직에 Ach(10<sup>-7</sup> M), Hist(10<sup>-7</sup> M), BaCl<sub>2</sub>(5×10<sup>-4</sup> M)를 가하여 유도된 수축력에 집먼지 진드기 원액 0.5 ml, 1.5 ml, 2.5 ml, 5.0 ml을 가하였으나 수축력에는 아무런 영향을 미치지 않았으며 Epi(10<sup>-7</sup> M), Ip(10<sup>-7</sup> M)를 가하여 유도된 조직 이완력에 각 집먼지 진드기 원액을 가하였으나 이완력에도 영향을 미치지 않았다.

5) 해명 적출 우심방에 대한 영향

해명 적출 우심방에 집먼지 진드기 원액 0.5 ml, 1.5 ml, 2.5 ml, 5.0 ml를 가하였을 때 심방수 및 심방 수축력에는 영향을 미치지 않았다(data 제시 않함).

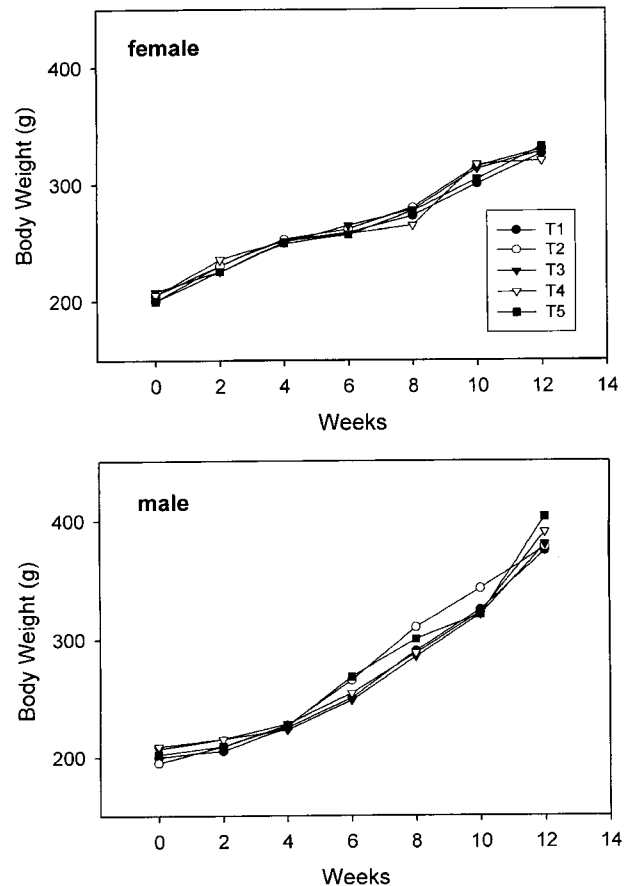


Fig. 1. Body weight changes of female and male guinea pigs treated intradermally with house dust mite extract for 3 months. Each values represented the mean of 8 guinea pigs. T1, control; T2, 1 mg/kg human serum albumin; T3, 0.2 ml/kg/day, T4, 1.0 ml/kg/day; 5.0 ml/kg/day house dust mite.

2. LD<sub>50</sub>치

집먼지 진드기 10배 희석액과 원액 0.5 ml/kg, 1.5 ml/kg, 2.5 ml/kg, 5.0 ml/kg를 생쥐 및 해명 복강내 투여시 동물은 사망하지 않았다. 그러므로 생쥐 및 해명에서 집먼지 진드기의 LD<sub>50</sub>은 원액 5.0 ml/kg 이상일 것으로 추정되나 정확한 LD<sub>50</sub>치는 산정할 수 없었다. 집먼지 진드기 추출물 1 : 1000 희석액 0.1 ml이 사람에게 사용되므로 이 희석 배수의 10배 농축된 1 : 100 희석배수(원액)의 집먼지 진드기를 5.0 ml/kg으로 해명 복강내 투여하였으나 동물은 사망하지 않는다.

3. 아급성 독작용 측정

1) 일반증상 관찰 및 체중 측정

일반증상은 투여 직전과 시험기간중 주 2회 여러 임

상증상(실험방법 항을 참조)을 측정하였으나 시험기간 동안 집먼지 진드기에 의한 동물 사망은 없었으며 모든 투여군에서 별다른 임상증상은 관찰되지 않았다.

투여군의 암수 해명 모두에서 대조군에 비교하여 유의성 있는 체중 증가 현상은 관찰되지 않았다(Fig. 1).

2) 사료섭취량 및 물섭취량

암수 해명에 집먼지 진드기 투여군에서 대조군과 비교하였을 때 사료섭취량 및 물섭취량의 변화를 관찰할 수 없었다. 단 사료 및 물섭취량에는 동물 개체간의 변화가 심하였다. 양성대조군에서도 대조군에 비교하여 변화를 관찰할 수 없었다(Fig. 2, 3).

3) 뇨검사

암수 해명에 집먼지 진드기를 투여한 군에서 뇨량,

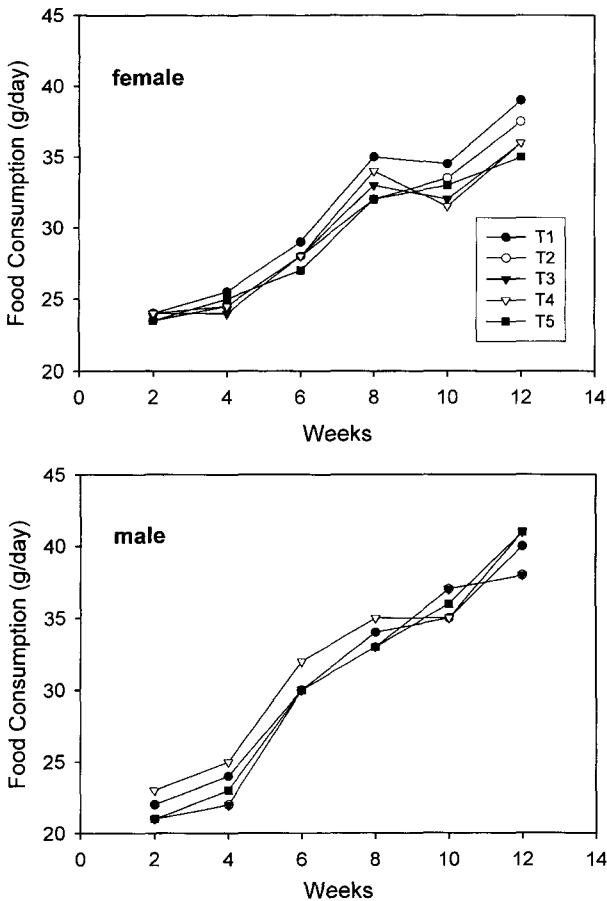


Fig. 2. Food consumption of female and male guinea pigs treated intradermally with house dust mite extract for 3 months. Each values represented the mean of 8 guinea pigs. T1, control; T2, 1 mg/kg human serum albumin; T3, 0.2 ml/kg/day, T4, 1.0 ml/kg/day; 5.0 ml/kg/day house dust mite.

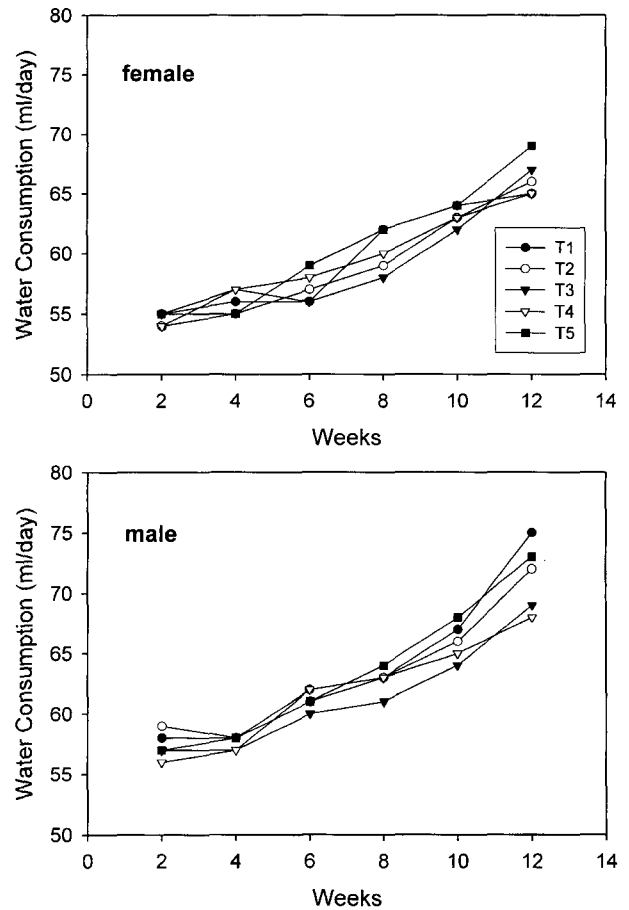


Fig. 3. Water consumption of female and male guinea pigs treated intradermally with house dust mite extract for 3 months. Each values represented the mean of 8 guinea pigs. T1, control; T2, 1 mg/kg human serum albumin; T3, 0.2 ml/kg/day, T4, 1.0 ml/kg/day; 5.0 ml/kg/day house dust mite.

**Table 1.** Urinalysis data in female guinea pig treated intradermally with house dust mite for 3 months

Parameters	Detection level	0 <sup>c</sup>	HSA <sup>a</sup>		HDM <sup>b</sup> (ml/kg)	
			1.0	0.2	1.0	5.0
Urobilinogen (Ehrlich unit/dl)	0.1	8 <sup>d</sup>	8	8	8	8
	1.0					
	2.0					
	4.0					
	8.0					
Protein (mg/dl)	-	7	7	7	8	7
	±	1	1	1		1
	+30					
	++100					
	+++300					
pH	7.0					
	7.5					
	8.0					
	8.5	8	8	8	8	8
	Blood	-	8	8	8	8
Ketone body (mg/dl)	±(no hemolysis)					
	±(hemolysis)					
	+					
	++					
	+++					
Bilirubin	0	8	8	8	8	8
	±5					
	+15					
	++40					
	+++80					
Glucose (g/dl)	++++160					
	-	8	7	8	8	8
	+		1			
	++					
	+++					
Nitrite	-	8	8	8	8	8
	±0.1					
	+0.25					
Nitrite	++0.5					
	Negative	8	8	8	8	8
	Positive					

<sup>a</sup>Human seum albumin(mg/kg); <sup>b</sup>House dust mite; <sup>c</sup>Control(saline); <sup>d</sup>Number of animals.

색조, 혼탁도 및 뇨검사용 여러 요소들을 관찰한 결과 대조군에 비교하여 유의성 있는 변화를 관찰할 수 없었다(Table 1, 2). 양성대조군에서도 대조군에 비교하여 차이를 나타내지 않았다.

#### 4) 혈액학적 검사

모든 혈액학적 검사의 결과 대조군에 비해 집먼지 진드기 투여군 및 양성 대조군에서 유의성 있는 차이가 인정되지 않았다(Table 3).

#### 5) 혈액 생화학적 검사

집먼지 진드기 각 투여군과 대조군을 비교하였을

**Table 2.** Urinalysis data in male guinea pig treated intradermally with house dust mite for 3 months

Parameters	Detection level	0 <sup>c</sup>	HSA <sup>a</sup>		HDM <sup>b</sup> (ml/kg)	
			1.0	0.2	1.0	5.0
Urobilinogen (Ehrlich unit/dl)	0.1	8 <sup>a</sup>	8	8	8	8
	1.0					
	2.0					
	4.0					
	8.0					
Protein (mg/dl)	-	8	7	8	8	8
	±		1			
	+30					
	++100					
	+++300					
pH	7.0					
	7.5					
	8.0					
	8.5	8	8	8	8	8
	Blood	-	8	8	8	8
Ketone body (mg/dl)	±(no hemolysis)					
	±(hemolysis)					
	+					
	++					
	+++					
Bilirubin	0	8	8	8	8	8
	±5					
	+15					
	++40					
	+++80					
Glucose (g/dl)	++++160					
	-	8	7	8	8	8
	+		1			
	++					
	+++					
Nitrite	-	8	8	8	8	8
	±0.1					
	+0.25					
Nitrite	++0.5					
	Negative	8	8	8	8	8
	Positive					

<sup>a</sup>Human seum albumin(mg/kg); <sup>b</sup>House dust mite; <sup>c</sup>Control(saline); <sup>d</sup>Number of animals.

때 혈액 생화학적 검사의 변화는 관찰되지 않았다 (Table 4).

#### 6) 부검 및 장기중량

부검 후 각 장기중량은 집먼지 진드기 각 투여군에서 대조군과 비교하였을 때 유의성 있는 차이를 나타내지 않았다(Table 5, 6).

#### 7) 조직병리 검사

각 장기의 조직 검사는 집먼지 진드기를 투여한 각 군에서 대조군과 비교해서 뚜렷한 병변을 관찰할 수 없었다.

**Table 3.** Hematological values in guinea pigs treated intradermally with house dust mite for 3 months

Parameter	Control	HSA <sup>a</sup>		HDM <sup>b</sup> (ml/kg)	
		1.0	0.2	1.0	5.0
WBC (10 <sup>3</sup> /μl)	4.740±0.999	4.125±0.465	4.770±0.950	4.980±0.795	4.680±0.570
RBC (10 <sup>6</sup> /μl)	4.950±0.360	4.970±0.270	5.030±0.330	4.970±0.580	4.398±0.400
Hb (g/dL)	12.95±1.040	13.30±1.450	13.45±0.580	13.62±1.540	13.50±1.360
HCT (%)	40.03±2.650	40.10±1.680	40.60±2.510	40.74±4.770	39.68±3.460
MCV (fL)	81.00±1.230	80.70±1.530	80.78±1.670	81.98±1.150	79.63±2.420
MCH (pg)	26.20±1.500	26.83±3.190	26.82±1.400	27.42±0.710	27.10±0.720
MCHC (%)	32.35±1.580	33.20±3.570	33.18±1.540	33.42±0.840	34.03±1.080
PLT (10 <sup>3</sup> /μl)	500.8±90.48	519.5±55.42	513.3±96.55	516.4±76.16	531.0±49.07
Segment	47.50±15.77	51.50±14.55	44.50±16.10	45.20±16.84	44.25±19.20
Lymphocyte (10 <sup>3</sup> /μl)	47.83±15.72	45.50±15.63	53.17±8.590	47.60±15.96	50.25±6.400
Monocyte (10 <sup>3</sup> /μl)	2.670±0.820	2.750±0.500	2.630±1.600	2.690±1.340	2.750±0.960
Eosinophil (10 <sup>3</sup> /μl)	0.670±0.130	0.650±0.910	0.710±0.160	0.800±0.130	0.680±0.189
Basophil (10 <sup>3</sup> /μl)	0.340±0.060	0.350±0.070	0.370±0.080	0.330±0.050	0.340±0.040
Neutrophil (10 <sup>3</sup> /μl)	9.510±0.670	9.110±0.312	10.63±0.671	9.520±0.319	10.05±0.758

<sup>a</sup>Human serum albumin (mg/kg).<sup>b</sup>House dust mite.

Data were presented as mean±S.D. of 8 guinea pigs.

WBC, white blood cell; RBC, red blood cell; Hb, hemoglobin; HCT, hematocrit; MCV, mean corpuscular volume; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration; PLT, platelet.

**Table 4.** Serum biochemical values in guinea pigs treated intradermally with house dust mite for 3 months

Parameter	Control	HSA <sup>a</sup>		HDM <sup>b</sup> (ml/kg)	
		1.0	0.2	1.0	5.0
Total protein (g/dL)	4.900±0.380	5.100±0.320	4.880±0.370	5.100±0.820	5.070±0.470
BUN (mg/dL)	22.20±5.170	19.80±3.420	21.17±4.620	24.20±9.040	23.17±4.880
CRTN (g/dL)	0.460±0.060	0.580±0.190	0.530±0.190	0.520±0.080	0.470±0.080
Glu (mg/dL)	164.8±26.55	179.4±27.76	168.3±14.73	165.8±60.47	161.5±35.40
Total bilirubin (mg/dL)	0.840±0.340	0.680±0.110	0.800±0.170	0.710±0.340	0.750±0.790
GOT (IU/L)	81.20±20.51	78.00±23.33	84.83±19.48	81.80±39.54	78.83±36.72
GPT (IU/L)	54.80±11.52	61.80±13.99	64.00±19.66	64.00±32.89	62.67±26.29
ALP (U/L)	621.2±100.6	694.0±207.5	719.5±361.8	734.2±120.4	725.5±180.0
Na (mEq/L)	135.8±2.170	136.8±2.590	138.3±3.450	134.0±6.400	137.2±4.260
K (mEq/L)	5.420±1.530	5.720±1.820	5.200±1.160	6.980±3.530	5.970±1.020
Cl (mEq/L)	100.6±4.040	102.4±3.650	103.5±3.620	100.4±4.340	101.3±4.270

<sup>a</sup>Human serum albumin (mg/kg).<sup>b</sup>House dust mite.

Data were presented as mean±S.D. of 8 guinea pigs.

BUN, blood urea nitrogen, CRTN, creatine; Glu, glucose; GOT, glutamic-oxaloacetic transaminase; GPT, glutamic pyruvic transaminase; ALP, alkaline phosphatase; Na, sodium; K, potassium; Cl, chloride.

#### IV. 고 찰

집먼지 진드기에 대한 일반 약리시험과 생쥐, 흰쥐 및 해명을 이용하여 국립 안전연구원 고시 제94-3호 (1994. 4. 14) "의약품 등의 독성시험기준"에 준한 급성과 아급성 독작용 시험을 행하였다.

임상에서 집먼지 진드기 추출액을 피부 감각시험 및 면역 치료제 개발에 이용시 조직 장기에 독성을 나타낼 수 있으므로 먼저 일반약리 시험을 행하였다. 사람의 알레르기 질환 병태생리 및 증상과 매우 유사한 증상을 유발하는 동물로 알려진 해명을 주로 사용하였으

며 일반약리 시험으로 해명 및 토끼의 회장, 해명 우심방, 기도 및 폐조직 절편의 자발운동에 집먼지 진드기 추출액이 어떤 영향을 미치는지를 연구한 결과 이들 여러 조직 장기에 어떠한 영향도 미치지 않았다. 또한 여러 효현제(agonist)에 의한 수축력과 이완력에도 집먼지 진드기는 아무런 영향을 미치지 않았다. 그러므로 집먼지 진드기 추출액 그 자체가 어떤 조직 장기에 영향을 미치지 않는 것으로 생각된다.

급성 독성시험에서 집먼지 진드기 추출원액 최고용량인 5.0 ml/kg에서도 동물이 사망하지 않았으므로 LD<sub>50</sub>를 측정할 수 없었다. 더 많은 용량의 집먼지 진드

**Table 5.** Relative organ weights (%) of female guinea pigs treated intradermally with house dust mite for 3 months

Group organ	Control	HSA <sup>a</sup>		HDM <sup>b</sup> (ml/kg)	
		1.0	0.2	1.0	5.0
Liver	2.892±0.185	3.492±0.404	2.833±0.694	3.168±0.683	2.990±0.716
Spleen	0.113±0.025	0.124±0.030	0.112±0.003	0.110±0.006	0.106±0.023
Pancreas	0.336±0.053	0.380±0.041	0.387±0.084	0.424±0.131	0.357±0.103
Kidney left	0.369±0.050	0.443±0.180	0.443±0.151	0.413±0.088	0.421±0.126
Kidney right	0.387±0.077	0.450±0.005	0.420±0.149	0.411±0.095	0.429±0.112
Adrenal left	0.026±0.012	0.022±0.006	0.017±0.007	0.032±0.011	0.027±0.014
Adrenal right	0.022±0.011	0.025±0.001	0.018±0.011	0.026±0.006	0.024±0.010
Ovary left	0.052±0.029	0.076±0.058	0.046±0.006	0.027±0.017	0.045±0.004
Ovary right	0.057±0.012	0.079±0.018	0.041±0.008	0.050±0.010	0.052±0.007
Heart	0.323±0.038	0.336±0.015	0.322±0.058	0.328±0.056	0.290±0.066
Lung	0.511±0.020	0.601±0.091	0.566±0.045	0.604±0.031	0.561±0.048
Tyroid gland	0.025±0.004	0.022±0.003	0.019±0.001	0.020±0.005	0.019±0.006
Brain	0.956±0.041	0.986±0.057	0.930±0.024	1.000±0.090	0.937±0.065
Pituitary gland	0.883±0.157	0.840±0.123	1.074±0.143	0.844±0.231	0.924±0.221

<sup>a</sup>Human serum albumin (mg/kg).

<sup>b</sup>House dust mite.

Relative organ weight (%): (organ weight/body weight)×100.

Values are expressed as mean±S.D. of 8 guinea pigs.

**Table 6.** Relative organ weights (%) of male guinea pigs treated intradermally with house dust mite for 3 months

Group organ	Control	HSA <sup>a</sup>		HDM <sup>b</sup> (ml/kg)	
		1.0	0.2	1.0	5.0
Liver	3.626±0.810	3.579±0.451	3.540±0.198	3.395±0.110	3.411±0.524
Spleen	0.130±0.035	0.121±0.014	0.171±0.019	0.154±0.043	0.163±0.034
Pancreas	0.366±0.052	0.421±0.112	0.396±0.099	0.395±0.009	0.455±0.082
Kidney left	0.487±0.107	0.447±0.066	0.452±0.069	0.447±0.052	0.527±0.082
Kidney right	0.483±0.114	0.444±0.075	0.448±0.053	0.434±0.055	0.500±0.080
Adrenal left	0.024±0.014	0.025±0.012	0.021±0.013	0.024±0.001	0.017±0.005
Adrenal right	0.021±0.013	0.033±0.028	0.018±0.006	0.018±0.001	0.019±0.009
Testis left	0.082±0.004	0.092±0.116	0.086±0.047	0.078±0.000	0.088±0.013
Testis right	0.095±0.036	0.099±0.118	0.088±0.042	0.085±0.006	0.089±0.018
Heart	0.357±0.108	0.339±0.023	0.344±0.082	0.324±0.010	0.361±0.085
Lung	0.650±0.095	0.601±0.047	0.703±0.135	0.676±0.146	0.731±0.179
Tyroid gland	0.020±0.005	0.022±0.004	0.020±0.003	0.018±0.001	0.018±0.001
Brain	1.027±0.170	0.959±0.107	1.048±0.231	0.987±0.264	1.050±0.167
Pituitary gland	0.686±0.143	0.750±0.125	0.666±0.095	0.705±0.069	0.765±0.389

<sup>a</sup>Human serum albumin (mg/kg).

<sup>b</sup>House dust mite.

Relative organ weight (%): (organ weight/body weight)×100.

Values are expressed as mean±S.D. of 8 guinea pigs.

기 추출액을 사용하고자 하였으나 각 동물에 투여 용량의 부피가 너무 많아서 사용할 수 없었다. 이 최고용량은 알레르기 질환의 피부감작 시험에 이용되는 임상 예상용량의 500배 이상 높은 양이므로 안전성이 매우 커서 급성 독작용은 나타나지 않을 것으로 추정된다.

집먼지 진드기를 각 용량별로 투여하여 생체내 독작용을 검색하고자 하였다. 저농도, 중간농도, 고농도 투여군의 경우 사료 및 음수 섭취량, 체중, 뇨검사, 일반 혈액학적 검사, 생화학적 검사, 부검 후 각 장기 중량, 병리조직 소견 등에서 대조군에 비해 유의한 차이를

나타내지 않았으며 또한 양성대조군에서도 대조군과 비교하였을 때 큰 차이를 보이지 않았다. 이는 본 독성 시험에 사용된 용량의 집먼지 진드기는 흡수, 분포 및 대사되어 생체내 어떤 독작용을 나타내지 않을 것으로 사료된다.

이상의 일반약리 시험 결과 집먼지 진드기 추출액으로 인한 특이한 일반약리 증상을 관찰할 수 없었으며 급성 및 아급성 시험의 결과로부터 집먼지 진드기 추출액의 무해용량은 임상 예상용량의 500배 이상으로 추정된다.



## 참고문헌

- Ahu, S.D. and Kim, H.G. (1983): Skin test and specific desensitising therapy in allergic rhinitis and asthma, *Kor. J. Allergy*, **3**, 159-167.
- Cho, H.S., Lee, G.H., Choi, Y.J., Cho, D.K. and Kim, N.S. (1985): Results of allergen skin tests in Type I hypersensitivity, *Kor. J. Allergy*, **5**, 14-22.
- Cho, S.S., Lee, H.R., Sur, J.W. and Shon, G.C. (1981): A results of skin test on pediatric allergic patients, *Kor. J. Allergy*, **1**, 83-87.
- Jacquemin, M.G., Machiels, J.J., Bebrun, P.M. and Saint-Remy, J.-M.R. (1990): Successful treatment of atopic dermatitis with complexes of allergen and specific antibodies, *Lancet*, **335**, 1468-1469.
- Kang, K.S. and Lee, Y.S. (1991): Acute toxicity of bovine somatotrophin sustained release (BST-SR) in rats and mice, *Kor. J. Food Hygiene*, **6**, 185-189.
- Kang, S.Y., Choi, B.H., Moon, H.B., Min, K.Y. and Kim, Y Y. (1984): The prevalence of immediate skin reactions in patients with respiratory allergies, *Kor. J. Allergy*, **4**, 49-56.
- Lee, K.Y. and Kim, K.E. (1988): A study on the method of exclusion on unnecessary allergens from the vaccines for immunology, *Kor. J. Allergy*, **8**, 150-164.
- Leroy, B.P., Boden, G., Lachapelle, J.-M., Jacquemin, M.C. and Saint-Remy, J.-M.R. (1993): A novel therapy for atopic dermatitis with allergen-antibody complexes: A double-blind placebo-controlled study, *J. Am. Acad. Dermatol.*, **28**, 22-239.
- Leroy, B.P., Lachapelle, J.-M., Jacquemin, M. and Saint-Remy, J.-M. (1992): Treatment of atopic dermatitis by allergen-antibody complexes: Long-term clinical results and evolution of IgE antibodies, *Dermatology*, **184**, 271-274.
- Machiels, J.J., Lebrun, P.M., Hacquemin, M.G. and Saint-Remy, J.-M.R. (1993): Significant reduction of nonspecific bronchial reactivity in patients with Dermatophagoides pteronyssinus-sensitive allergic asthma under therapy with allerge-antibody complexes, *Am. Rev. Respir. Dis.*, **147**, 1407-1412.
- Machiels, J.J., Somville, M.A., Lebrun, P.M., Lebecque, S.J., Jacquemin, M.G. and Saint-Remy, J.-M.R. (1990): Allergic bronchial asthma due to Dermatophagoides pteronyssinus hypersensitivity can be efficiently treated by inoculation of allergen-antibody complex, *J. Clin. Invest.*, **85**, 1024-1035.
- Middleton, E. Jr., Reed, C.E., Ellis, E.F., Adkinson, N. F. Jr., Yunginger, J.W. and Busse, W.W. (1993): Editors. Allergy, Principles and Practice, 4th Ed. Mosby, St. Louis, 1993.
- Moon, C.K., Park, K.S., Hwang, G.S., Mock, M.S., Kim, S.G., Jung, M.K., Won, H.S., Kim, J.Y., Lee, Y.S., Jeong, J.Y., Hur, G.H. and Kang, K.S. (1989): Subacute toxicity of Hantzbox(HFRC-vaccine) in rats, *Kor. J. Toxicol.*, **5**, 123-133.
- Platt-Mills, T.A.E. and de Weck, A.L. (1989): Dust mite Allergens and Asthma-A worldwide problem, *J. Allergy Clin. Immunol.*, **83**, 416-427.
- Platts-Mills, T.A.E., Tovey, E.R., Mitchell, E.B., Moszoro, H., Nock, P. and Wilkins, S.R. (1982): Reduction of bronchial hyperreactivity during prolonged allergen avoidance, *Lancet*, **2**, 675-677.
- Rhee, Y.G. and Oh, Y.L. (1985): Results of skin test, peripheral eosinophil count, total and specific IgE in allergic patients in Chonbuk area, *Kor. J. Allergy*, **5**, 147-155.
- Sporik, R., Holgate, S.T., Platts-Mills, T.A.E. and Gogswell, J.J. (1990): Exposure to house-dust mite allergen (Der p1) and the development of asthma in childhood. A prospective study, *N. Engl. J. Med.*, **323**, 502-507.
- Yoon, Y.W, Lee, M.K., Park, H.S., Park, S.S. and Hong, C.S. (1989): The skin test reactivity and the level of the total IgE in the allergic patients, *Kor. J. Allergy*, **9**, 385-398.
- 국립보건안전연구원 (1994): 의약품 등의 독성시험 기준(국립보건안전연구원 고시 제94-3호).