Pre-S2 영역의 9개의 아미노산을 함유한 간염백신(KD-HB)의 면역성 및 안전성에 관한 연구

한양대학교 의과대학 내과학교실

이민호, 이오영, 정진웅

= Abstract =

Studies on the Immunogenicity and Safety of Hepatitis B Vaccine (KD-HB) Containing Pre-S2 9 Amino Acids

Min Ho Lee, M.D., Oh Young Lee, M.D., Jin Woong Jeong, M.D.

Department of Internal Medicine, College of Medicine, Hanyang University, Seoul, Korea

Background : In order to evaluation the efficacy, safety of the Hepatitis B vaccine (KD-HB) containing pre-S2 9 amino acids.

Method : The efficacy and safety of the Hepatitis B vaccine (KD-HB) containing pre-S2 9 amino acids were studied in 94 healthy volunteers with all negative hepatitis B marker and 49 healthy volunteers with isolated anti-HBc. Three doses of AD-DB 0.5ml were given intramuscularly or subcutaneously in the deltoid muscle at 0, 1, 6 months, and anti-HBs was tested 1, 2, 6, 7 month after the first vaccination by EIA.

Results : The anti-HBc response rates in 94 healthy volunteers with all negative hepatitis B marker (Group I) were 62.96% at 1 month, 70.97% at 2 month, 88.30% at 6 month, 94.68% at 7 month after the first injection and the anti-HBc response rates in 49 healthy volunteer with isolated anti-HBc (Group II) were 94.44% at 1 month, 91.84% at 2 month, 93.88% at 6 month, 95.92% at 7 month after the first injection. The efficacy rates in Group I were 45.7% at 1 month, 54.8% at 2 month, 75.5% at 6 month, 92.6% at 7 month after the first injection and the anti-HBc response rates in Group I were 69.4% at 1 month, 77.6% at 2 month, 75.5% at 6 month, 85.7% at 7 month after the first injection. Anti-HBs titer over 100mIU/ml in Group I were 28.7% at 1 month, 42.6% at 2 month, 35.1% at 6 month, 70.2% at 7 month after the first injection and anti-HBs titer over 100mIU/ml in Group II were 36.7% at 1 month, 55.1% at 2 month, 46.9% at 6 month, 59.2% at 7 month after the first injection. There was no statistical difference in the efficacy rate according to the sex and age. There was no abnormal finding associated with vaccination in liver function test, urine analysis and blood cell count and also no considerable side effect.

Conclusion : The results suggest that the immunogenicity and safety of Hepatitis B vaccine (KD-HB) containing pre-S2 9 amino acids seem to be excellent.

KEY Words : Hepatitis B vaccine(KD-HB), pre-S2 9 amino acids.

서 론

B형 간염은 세계 전역에서 발생하는 질환으로 전세계 인구중 약 1억 7천만 정도가 HBsAg 보유자라고 알려져 있고 우리나라에서도 성인에서는 5~13%, 소아에서는 4~10%의 높은 보유율을 보이고 있다.

B형 간염은 적절한 치료법이 없기 때문에 매우 중요한 보건문제의 하나로 그 예방책이 모색되어 오던 중, 1971년 Krugman 등이 예방 및 퇴치를 위한 방법으로 HBsAg을 함유한 혈청을 가열처리후 인체에 능동면역을 시킨 결과 접종자의 60%에서 예방효과가 있었으며, 만성 HBV보유자도 감소시킬 수 있었다고 보고함으로써 전세계적으로 B형 간염백신의 제조에 많은 노력을 경주하게 되었고 1980년경부터는 임상에서 사용할 수 있는 혈장유래 백신제제가 시판되게 되었다.

최근 B형 간염 바이러스 genome 구조에 대한 지식이 점차 분명해짐에 따라 유전자를 세균이나 효모세포 등에 발효시켜 백신을 생산하는 방식이 개발되기 시작했다. 이렇게 유전자 재조합 기술을 이용하여 만들어진 재조합 백신은 안전성, 면역성이 혈장백신에 필적할 만하다.

한편, B형 간염바이러스의 DNA 내에는 “env”라는 유전자가 존재하여 이에 의하여 바이러스 외막(envelope)을 구성하는 단백질이 만들어지며, “env” 유전자는 S, pre-S1, pre-S2로 구성되어 있다.

Pre-S2에 의하여 만들어지는 아미노산들에는 항원 결정인자(antigenic determinant)가 있어 바이러스에 대한 항체 형성을 유도하여 S gene에 의한 것보다 400배 강력한 면역반응을 일으킨다고 한다. 또한, polymerized human serum albumin(pHSA)에 결합하는 부분을 갖고 있으며, 이 부위는 간세포에 바이러스가 붙는데 관여한다고 알려져 있다.

인체를 HBsAg의 pre-S로 면역시키면 바이러스가 간세포에 부착되는 것을 방해하는 항체를 생성시키는 것으로 생각되고 있다. 최근, 동물실험에서 조사한 결과 S단백과 pre-S 단백질의 면역반응은 서로 다른

gene에 의하여 조절된다는 것이 알려져 있으며 재미있는 점은 합성 pre-S 펩타이드로 먼저 예방접종을 하고 S단백과 pre-S를 포함한 HBsAg으로 예방을 하면 S단백에 대한 면역효과가 매우 촉진된다¹⁾는 것이다. 따라서 백신 무반응자(nonresponder)를 구제하는 하나의 수단으로 기대되는바 크다. 그러나 지금까지의 재조합 백신은 S gene만을 함유하여 총 226개의 아미노산으로 구성되어 있다.

이에 반하여 KD-HB는 기존 재조합 백신의 226개 아미노산의 N 말단측에 pre-S2에서 유래된 9개의 아미노산을 더 함유하고 있어 기존 간염백신 무반응자를 구제하는 수단으로 기대되고 있으며²⁾ 강력한 면역효과가 가능하다고 판단된다.

과거의 기존 간염백신에 대한 연구는 거의 대부분이 HBV markers가 모두 음성인 경우에 실시되었었다. 더욱이 현재 실제 실시되고 있는 백신 접종대상자의 선정도 혈청학적 검사로 Anti-HBc의 유무에 대한 검사는 없이 HBsAg과 Anti-HBs만 시행하고 있다.

그러나 HBV markers중 Anti-HBc만 단독양성자인 경우는 HBV에 노출되었지만 아직 Anti-HBs는 생성되지 않은 상태이므로 이런 사람들은 간염백신에 대해 무반응자로 나타날 가능성이 있을 뿐 아니라 실제와는 반대로 B형간염에 전혀 이완되지 않은 건강인으로 착각되어 후일 큰 문제를 유발시킬 위험도 있다.

본백신(KD-HB)은 기존백신에 비해 pre-S antigenic region을 더 함유하고 더 강력한 면역효과를 기대하고 있으므로 HBV markers가 모두 음성인 사람뿐만 아니라 Anti-HBc만 단독 양성인 사람을 대상으로 그 면역효과와 안전성을 검토하고자 한다.

대상 및 방법

1. 연구대상

본 임상시험은 대조군없이 실시되는 제 3상 단독임상으로 1996년 4월 30일 부터 1997년 3월 29일

까지 한양대학병원에 내원한 환자로, HBsAg, HBsAb, HCV Ab 양성자, 임신중인 산모나 수유부, Anti-HBc 양성자중 HBV DNA 양성인 자, 접촉일 기준으로 1년 이내에 경련을 일으킨 적이 있는 자, AIDS 환자나 면역기능이 손상되었거나 면역조절제를 복용하고 있는 자, 정신적인 질환을 앓고 있는 환자, 발열이 있는 자 또는 현저한 영양장애자, 심장혈관계 질환, 신장질환이 급성기 또는 활동기에 있는 자, 알레르기 또는 약물과민증의 기왕력이 있는 자, 20세 미만 또는 50세이상인 자가 아닌 자로서 기존 간염백신을 투여받은 적이 없는 HBV markers 음성인 자, 즉 EIA 법으로 혈청 HBsAg, Anti-HBs, Anti-HBc 및 HCV Ab가 모두 음성이며 혈청 SGOT, SGPT가 정상범위내에 있는 성인남녀로 본 연구에 서면으로 동의한 94명(I군)과 HBV markers중 Anti-HBc만 양성이고 HCV Ab도 음성인 자, 즉 EIA 법으로 혈청 HBsAg, Anti-HBs가 음성이고 Anti-HBc는 양성, HCV Ab는 음성이며 혈청 SGOT, SGPT가 정상범위에 있는 성인남녀로 본 연구에 서면으로 동의한 49명(II군)을 대상으로 KD-HB (Biken-HB, BR-HB)백신을 0.5ml을 총 3회 근육 주사 또는 피하 주사 하였다.

2. 연구방법

임상시험에 참여하는 모든 환자 및 보호자들에게 사전에 연구의 성격, 예상되는 결과 등에 대해 쉽게 이해할 수 있도록 설명을 하였으며, 서면동의를 취득하였다. 접종 스케줄은 초회접종, 초회접종 4주후, 초회접종 20~24주후로 총 3회 실시 하였다. 관찰방법으로 피험자의 배경, 경력, 성별, 연령, 기왕력 등을 증례기록용지에 기록하였고, 임상검사는 백신접종전, 접종후 4주, 접종후 8주후, 접종후 24주후, 접종후 28주후에 검사하였고, HBsAg, Anti-HBs, Anti-HBc, HBV DNA 등 HBV관련 항원항체 (단, Anti-HBc는 I 군의 경우 접종 전에만 실시하였고 II 군의 경우 접종전과 초회접종 28주후에 실시 하였고, HBV DNA 검사는 Anti-HBc가 양성자에 한해

실시하였다.), WBC, RBC, Hb, Hematocrit, Platelet, 백혈구분획등 혈액학적검사, 총빌리루빈, 총단백, 알부민, ALT, AST 등 혈액생화학적검사, 당, 백질, 당, Urobilinogen, 백혈구, 적혈구등 뇨검사를 시행하였다. B형 간염 표면항체 역가검사는 B형 간염의 표면항체 역가측정을 위하여 채혈한 피는 즉시 혈청을 분리하여 -70℃ 냉동실에 보관시킨후 나중 한꺼번에 모든 대상자들에 대한 항체검사를 EIA법으로 실시하였다. 과민성 유무를 알아보기 위한 피내반응으로 백신접종시 총접종량의 1/5를 먼저 피내투여하여 피부반응을 본 후 나머지를 투여하였다. 자각적 및 타각적 부작용은 주사부위의 동통, 종창 및 발적, 열감, 두통, 오한, 권태감, 담마진, 관절통, 오심, 근육통 등을 조사하기 위하여 건강조사일지를 만들어 접종 이틀후까지 건강조사일지에 대상자가 직접 기입하도록 하고 그 기록은 담당의사가 취합한 후 부작용난에 기입하도록 하였으며 건강기록일지를 취합하지 못한 경우는 전화로 일일이 부작용여부를 체크하였다. 부작용이 발현한 경우에는 부작용의 종류, 발현시기, 정도, 지속일수, 시험약과의 관련성을 조사하고, 시험약의 중지, 처치후의 경과를 상세히 기록하였다. 자각적으로 느끼는 부작용은 투약 3일후까지 추적조사하였다. 접종시 피험자 자신이 요구할 경우, 시험약물을 1회이상 투여하지 않은 환자, 부작용이나 질환악화에 의해 약물투여 중지가 환자에게 유익하다고 생각될 경우, 과민성 유무를 알기위한 피내반응에서 양성이 나타난 경우에는 피험자를 중도탈락하도록 하였으며, 중도탈락시 중도탈락된 이유를 증례기록서와 환자진료차트에 상세하게 기록 하도록 하였다. 가능한한 임상시험계획서에 따라 시험을 완료하지 못한 환자들도 최종검사를 실시 하였으나 환자들이 내원하지 않아 투약이 중단된 경우 최종검사를 실시하지 못하였다.

3. 항체가 측정 및 유효성/안정성 평가

유효성 평가기준은 본 시험에서는 김 등³⁾의 방법에 따라 anti-HBs 역가 10mIU/ml를 유효의 기준으로 10mIU/ml인 경우 유효 하다고 하였고, 유효성은 3

Table 1. Summery of clinical evaluation of Hepatitis B vaccine (KD-HB)

Items	Duration	After first injection				
		Pre-test (D ₀)	4week (D _{4W})	8week (D _{8W})	24week (D _{24W})	28week (D _{28W})
Patient carrier		○				
Anti-HBs/HBsAg		○	○	○	○	○
Anti-HBc	I Group	○				
	II Group	○				○
HBV DNA (II Group only)		○				
Transaminases		○	○	○	○	○
HIV Ab		○				
HCV Ab		○				
Hematologic Exam.		○	○	○	○	○
Urine analysis		○	○	○	○	○
Side effect			○		○	○
Intradermal test		○	○		○	

Table 2. Antibody conversion rate

	I Group	II Group
4Week	51/81(62.96%)	34/36(94.44%)
8Week	66/93(70.97%)	45/49(91.84%)
24Week	83/94(88.30%)	46/49(93.88%)
28Week	89/94(94.68%)	47/49(95.92%)

회투여한 뒤 1개월 후에 10cc씩 채혈하여 혈청을 분리한 후 -70℃에 보관하였다가 EIA법으로 HBs항체를 측정 하여 평가 하였다. 통계처리는 SAS 6.08을 이용하였다. 안전성을 평가하기 위하여 특히 자각적 부작용은 단 1회라도 임상시험용 의약품 투약 받은 사람은 모두 평가대상에 포함시켰다.

결 과

1. 대상자의 성별 및 연령 분포

본 연구에 동의한 참여자는 총 187명이었고 그중

임상시험을 완료하여 유효성 분석이 가능한 사람은 1군 94명, 2군 49명이었다. 34명이 선정기준 위반으로 탈락했으며 투약도중 총 10명이 탈락되었는데 이중 9명은 본인의사에 따라 탈락하였고 그중 1명은 사망으로 탈락되었는데 이는 백신과 무관한 사고사망이었다. 총 3회의 투약과 5회의 검사를 완료하여 분석이 가능한 총 143명을 대상으로 유효성을 평가하였다. 이중 I 군이 94명, II 군이 49명 이었다. 남녀 성별은 I군 94명중 남자가 37명(39.4%), 여자가 57명(60.6%) 이었고, II 군 49명중 남자가 18명(36.7%), 여자가 31명(63.3%) 이었다. 평균연령(Mean±S.D)은 I 군이 33.13±8.85세 였고, II 군이 36.71±8.56세였다. 연령분포는 I군이 20대가 42명, 30대가 29명, 40대가 23명, II 군은 20대가 12명, 30대가 13명, 40대가 23명이었다.

2. 항체생성률

초회접종후 4주, 8주, 24주, 28주에 각각 항체가

Table 3. Antibody conversion rate between groups according to time

	I Group	II Group
4Week	37/81(45.7%)	25/36(69.4%)
8Week	51/93(54.8%)	38/49(77.6%)
24Week	71/94(75.5%)	37/49(75.5%)
28Week	87/94(92.6%)	42/49(85.7%)

를 측정하고 항체가 10mIU/ml 미만이지만 항체의 생성이 확인된 경우(항체가 2.1mIU/ml 이상)에 대하여 항체생성율을 계산하였다. 백신의 항체생성율은 I 군, II 군이 각각 초회접종후 4주째에 62.96%, 94.44%, 초회접종후 8주째에는 각각 70.97%, 91.84%, 초회접종후 24주째는 88.30%, 93.88%, 초회접종후 28주째는 94.68%, 95.92% 였다.(Table 3) Chi-Square test 결과 I 군의 경우 접종회차에 따라 항체생성율이 통계학적으로 유의한 차이를 보였으나($P < 0.0001$), II 군의 경우 접종회차에 따른 항체생성율은 통계학적으로 유의한 차이가 없었다($P = 0.864$).

3. 유효율

초회접종후 4주, 8주, 24주, 28주에 각각 항체를 측정하고 유효율(항체가 10mIU/ml 이상)을 계산하였다. 유효율 평가는 3회의 접종을 완료하고 접종완료 1개월후 실시하는 최종검사까지 실시한 사람을 대상으로 하였다. 백신의 유효율은 I 군, II 군이 각각 초회접종후 4주째에 45.7%, 69.4%, 초회접종후 8주째에 각각 54.8%, 77.6%, 초회접종후 24주째에 75.5%, 75.5%, 초회접종후 28주째에 92.6%, 85.7% 였다.(Table 2) Chi-Square test 결과 I 군의 경우 접종후 기간에 따라 유효율이 통계학적으로 유의한 차이를 보였으나($P < 0.0001$), II 군의 경우 접종회차에 따른 유효율은 통계학적으로 유의한 차이가 없었다($P = 0.340$).

4. 항체가

초회접종후 4주, 8주, 24주, 28주에 각각 항체를 측정하고, 2mIU/ml 미만, 2~9.9mIU/ml, 10~

Table 4. Distribution of antibody titer according to time after first injection

	Antibody titer (mIU/ml)	4Week	8Week	24Week	28Week
I 군	<2	30	27	11	5
	2~9.9	14	14	12	2
	10~49.9	7	9	27	13
	50~99.9	3	3	11	8
	100~999.9	21	31	28	55
	>100	6	9	5	11
	Total	81	93	94	94
II 군	<2	2	4	3	2
	2~9.9	9	7	9	7
	10~49.9	7	8	9	9
	50~99.9	0	3	5	2
	100~999.9	14	20	19	22
	>100	4	7	4	7
	Total	36	49	49	49

Table 5. Comparison of antibody conversion rate according to sex

	I Group		II Group	
	Male	Female	Male	Female
Efficacy rate	34/37(91.9%)	53/57(93.0%)	15/18(83.3%)	27/31(87.1%)

Table 6. Comparison of antibody conversion rate according to age

	3rd decade	4th decade	5th decade
I Group	41/42(97.62%)	25/29(84%)	21/23(91.30%)
II Group	9/12(75.00%)	13/13(100%)	20/24(83.33%)

49.9mIU/ml, 50~99.9mIU/ml, 100~1000mIU/ml, 1000mIU/ml 이상의 6군으로 분류하였다. 100mIU/ml 이상의 고역가를 나타낸 경우는 I 군, II 군이 각각 백신의 초회접종후 4주째에 28.7%, 36.7% 초회접종후 8주째에 각각 42.6%, 55.1% 초회접종후 24주째에 35.1%, 46.9% 그리고 초회접종후 28주째에 각각 70.2%, 59.2% 였다. (Table 4)

5. 성별에 따른 유효율의 비교

I 군과 II 군 각각의 성별에 따른 유효율은 I 군에서 남자는 91.9% (34/37), 여자는 93.0% (53/57) 였고, II 군에서 남자는 83.3% (15/18), 여자는 87.1% (27/31) 였다. (Table 5) Fisher's Exact test* 결과 성별에 따른 유효율은 I, II 군 모두 통계학적으로 유의한 차이가 없었다. (I 군: $P=0.729$, II 군: $P=0.717$)

6. 나이에 따른 유효율의 비교

I 군과 II 군 각각의 나이에 따른 유효율은 I 군에서 20대가 97.6% (41/42), 30대가 84% (25/29), 40대가 91.3% (21/23) 이었고, II 군에서 20대가 75.0% (9/12), 30대가 100% (13/13), 40대가 83.3% (20/24) 이었다. (Table 6) Fisher's Exact test 결과 나이에 따른 유효율은 통계학적으로 유의한 차이가

없었다. (I 군: $P>0.05$, II 군: $P>0.05$)

7. 부작용

1) 자각적 부작용

인과관계가 있는 것으로 판명된 부작용 중 가장 많이 호소한 증상은 주사부위의 동통으로 총 투여회수 (521회)의 3.45%에서 나타났으며, 이외에 발적(1.73%), 두통(1.92%), 열감(1.34%), 권태감(1.34%), 근육통(1.15%), 발열(0.76%), 종창(0.38%), 설사(0.38%)의 순이었고 오한, 담마진, 관절통, 오심·구토 등이 한건씩 보고되었다. 예외적으로 복통을 호소한 경우가 있었으나 백신과의 인과관계는 없는 것으로 판정되었다. 임상적으로 문제가 될만한 심각한 부작용은 한 건도 없었으며 모두 1~3일 내에 별도의 치료없이 소실되었다.

2) 혈액학적 검사, 혈액생화학적 검사, 뇨검사

간염백신을 투여 함으로서 혈액학적 검사, 혈액생화학적 검사, 뇨검사에 미치는 영향을 살펴보고자 백신 접종전, 4주후, 8주후, 24주후, 28주후에 각각 측정 한 결과 임상적으로 의의가 있는 수치의 변화는 없었다.

고 찰

전세계적으로 보면 약 3억의 인구가 B형간염 바이

리스 보균자이며 우리나라의 보균자수는 대략 250만 명 정도로 추정되고 있다. 우리나라 HBsAg 양성율은 조사자 및 조사방법에 따라 약간의 차이가 있지만 성인에서는 4~12.3%, 소아에서는 2.8~5.5%로 보고되고 있다. 우리나라 대만 등 아시아지역에서는 B형 간염 바이러스의 수직전파가 간염역학의 가장 중요한 역할을 하고 있으며 일부 지역에서 만성보균자의 약 반수정도는 수직전파에 의해 생겼다고 추측되고 있다. 따라서 효과적인 주산기 B형 간염의 예방대책은 우리나라 B형 간염 바이러스 감염 퇴치의 초석이라 할 수 있으며 만성 보균자를 줄임으로서 간경변 및 원발성 간암의 발생률도 따라서 감소 될 수 있을 것으로 사료 된다. 특히 B형 간염의 유병률이 높은 우리나라에서는 간염 바이러스가 침투되기 전에 효과적인 백신의 사용으로 이를 예방하는 것이 중요하다 하겠다. 장기적으로 예방학적인 측면에서는 우리나라에서 B형 간염을 퇴치 하기 위해서는 항체가 없는 전국민 모두에게 백신을 투여하는 것이 바람직하며 이로써 우리나라 간염, 간경변, 간암 환자를 줄일 수 있을 뿐 아니라 경제적인 측면에서도 수많은 간염 환자의 치료에 드는 막대한 치료 경비를 줄임으로서 결국은 보험재정에 많은 도움을 주게 될 것이다. 1971년 Krugman 등⁴⁾이 HBsAg를 함유한 혈장으로부터 열처리법으로 B형 간염백신을 제조하여 인체에 능동면역 시킨 결과 HBV감염에 대한 예방효과 뿐 아니라 만성보유자의 발생도 감소시킴을 보고한 이래 이에 대한 많은 연구가 진행되어 1980년을 전후하여 실제로 임상에서 사용할 수 있는 백신이 개발되어 사용되고 있다. 현재 국내에서는 2종의 혈장백신이 사용되고 있으며, 외국기술의 제휴로 1종의 유전공학 백신이 시판중에 있다. 만성 B형 간염 보균자의 혈장에서 추출한 HBsAg로 만든 혈장 백신은 현재 널리 쓰이고 있는 제 1세대 백신으로 미국에서 1982년 처음 임상에서 실용화하기 시작하여 이 백신의 안전성과 효과가 확인 되었다. 최근에는 혈장 백신에 비해 생산 가격의 저렴화와 더 높은 안전성을 보장해 줄 수 있는 유전자 재조합 플라스미드백신, 유전자 재조합 바이러스 백신, Pre-S 백신,

폴리펩타이드 백신 등이 개발되어 쓰이고 있다. 따라서 이렇듯 많은 백신중 매우 효과적이고 부작용이 적은 백신의 선택이 중요하겠다. 지금까지의 재조합 백신은 S gene만을 함유하여 총 226개의 아미노산으로 구성되어 있는 반면 본 백신 KD-HB는 기존 재조합 백신의 226개의 아미노산이 N말단측에 Pre-S2 에서 유래된 9개의 아미노산을 더 함유 하고 있어 기존 간염 백신의 무반응자를 구제 하는 수단으로 기대되고 있으며 강력한 면역효과가 기대 된다. 본 실험에 사용된 백신의 독성시험결과 마우스, 래트, 비글개에서 모두 LD50 2400 μ g/kg을 보였으며 이는 임상투여 예정량의 12,000배에 해당한다⁵⁾. 국소독성 시험결과는 생리식염수 보다 약간 강했으나 1.7% 초산용액 보다는 현저하게 약한것으로 나타났으며⁶⁾ 세균을 이용한 돌연변이 원성과 사람 림프구를 이용한 염색체이상 유발성은 없다고 판명되었다^{2, 7)}.

한편, 본 백신내에 함유될 가능성이 있는 효모유래 항원성물질의 검출을 목적으로 mouse-rat계 PCA 반응을 실시하여 인체투여량의 400배량에서 감작한 마우스 10마리중 1마리에서 효모유래 항원성 물질에 대해 항체가 검출되었지만, 본 백신내에 효모유래 항원성 물질의 혼입은 1% 이하라고 확인되었다⁸⁾. 임상 시험결과 0.5ml(소아는 0.25ml)를 3회 접종함으로써 91.2~98.5%의 항체양전율을 나타냈고 부작용은 권태감, 경질, 국소동통 등으로 경미하고 일과성이었다.^{9, 11, 12)}

따라서 저자들은 본 백신(KD-HB)이 기존 백신에 비해 더 강력한 면역 효과가 기대되고 있으므로 HBV 표지자가 모두 음성인자와 anti-HBc만 단독 양성인 사람을 대상으로 그 면역 효과와 안정성을 검토 하고자 임상 시험을 시행하였다.

일반적으로 간염백신 접종후 anti-HBs의 양전율은 면역기능이 저하된 환자나 노인을 제외한 정상인에서 1차 접종후 18~71%, 2차접종후 66~92%, 3차접종후 85~100%로 백신의 종류, 접종방법 및 접종대상자에 따라서 보고자마다 차이가 있다. 또한 백신을 접종한 후에 약 5%에서는 항체가 형성되지 않는다고

한다^{12~18)}. 우리나라에는 이 등이 Hepavax를 사용한 후 B형 간염표지자가 모두 음성인 35명에서 초회접종후 60.0%, 2회접종후 74.3%, 3회접종후 94.3%였고, anti-HBc 단독양성인 13명에서는 1, 2, 3개월에 Anti-HBs가 모두 양성이었다¹⁹⁾. 강 등²⁰⁾에 의하면 혈장제 백신인 Hepavax-B를 사용한 경우와 유전자 재조합 백신인 유박스-B를 사용한 후 anti-HBs의 양전율은 Hepavax-B를 사용한 경우 83.3%, 유전자 재조합 백신인 유박스-B를 사용한 경우 82.6%로 유의한 차이가 없었다고 보고하고 있다. 본 연구에서는 항체의 역가가 10mIU/ml이상인 경우를 유효된 것으로 정의할 때 HBsAg, anti-HBs, anti-HBc가 모두 음성인 I 군의 유효율은 초회접종후 4주째 45.7%, 초회접종후 8주째 54.8%, 초회접종후 24주째 75.5%이었고, 초회접종후 28주째 92.6%였다. anti-HBc만 양성인 II 군은 초회접종후 4주째 69.4%, 초회접종후 8주째 77.6%, 초회접종후 24주째 75.5%이었고, 초회접종후 28주째에 85.7%였다. 또한 이 등^{21~32)}의 방법에 따라 항체의 역가가 2.1mIU/ml미만일 경우를 non-responder, 2.1~9.9mIU/ml을 poor responder, 10mIU/ml 이상을 responder로 분류하고 poor responder까지 포함한 항체생성율을 구하면 I 군의 경우 초회접종후 4주째 63.0%, 초회접종후 8주째 71.0%, 초회접종후 24주째 88.3%이었고, 초회접종후 28주째 94.7%였다. anti-HBc만 양성인 II 군은 초회접종후 4주째 94.4%, 초회접종후 8주째 91.8%, 초회접종후 24주째 93.9%이었고, 초회접종후 28주째에 95.9%였다. 연령에 따른 B형 간염 백신의 효과의 차이를 연구한 보고에 의하면 39세 미만의 성인에서는 항체가 98% 이상에서 생겼으나 40~59세 성인에서는 91%, 60~79세 성인에서는 85%로 40세이상의 성인에서는 항체의 형성이 감소 한다고 한다^{24~29)}. 일반적으로 성인에서는 노인이 되면 항체 생성이 느리고 항체역가가 낮고, 소아 연령에서 항체의 생성율은 매우 높다고 알려져 있다. 본 연구에서 대상자의 연령에 따른 항체 양전율은 I 군이 20대가 42명중 41명(97.6%), 30

대가 25명중 21명(84.0%), 40대가 23명중 21명(91.3%)였고, II 군은 20대가 12명중 9명(75.0%), 30대가 13명중 13명(100%), 40대가 24명중 20명(83.3%)로 통계학적으로 유의한 차이가 없었다. 성별에 따른 anti-HBs 양전율은 여자에서 더 높다는 보고도 있으나¹⁸⁾ 최근에는 성별에 따른 차이가 없는 것으로 보고 되고있다^{19, 20)}. 본 연구에서도 남녀 성별에 따른 양전율은 차이가 없는 것으로 나타났다. 백신이 접종시키는 대개 0, 1, 2개월 혹은 0, 1, 6개월의 방법이 있는데 이들 두 방법사이에 anti-HBs 양전율의 차이는 없다고 한다^{30~31)}. 본 연구에서는 0, 1, 6개월 방법을 사용하였다.

백신의 대상자는 HBsAg, anti-HBs, anti-HBc 모두 음성인 건강한 자로 하고 있으나 일반적으로 임상자들은 HBsAg이나 anti-HBs가 없이 anti-HBc가 혈청내에 단독으로 검출되는 자는 그 대상에 포함시키지않고 있다. 혈청내 anti-HBc는 B형간염 바이러스 감염후에 B형간염의 회복과 관계없이 나타나며 HBsAg와 함께 검출시는 진행성 감염이 있음을 의미하고 anti-HBs와 함께 검출시는 B형 간염으로부터 회복되었음을 의미 한다. 즉 anti-HBc가 혈청내에 단독으로 검출되는 자는 만성 보균상태 이거나 면역상태를 의미하며 임상적으로 이들의 감별이 중요하다²⁾. 이들에 대한 면역 효과는 HBV감염상태에 따라 다를수 있어서 만성 보균자에 의한 경우는 anti-HBs가 생기지 않으며, B형 간염의 과거력을 의미하는 경우에는 기억반응에 의해 접종후 2~4주에 항체가 높은 역가로 나타난다고 한다^{33~35)}. Draelos 등³⁴⁾은 B형 간염 백신 접종후 만성 보균 상태에서는 항체가 형성되지 않으며 면역 상태에서는 높은 역가의 항체가 빨리 나타날 수 있으며 B형 간염백신에 의한 면역 반응으로 anti-HBc 단독 양성의 상태를 파악 할수 있다고 하였다. 본 연구에서보면 anti-HBs 양전율은 anti-HBc 단독 양성인 II 군에서 초회접종후 4주후 69.4%, 8주후에는 77.6%로 I군에 비해 의의 있게 항체 발현율이 높았으나 24주후에는 I 군과 비슷하게 나타났고, 28주후에는 I군 보다 약간 낮게 나타났

으나 양군사이에 유의한 차이가 없어 다른보고와 비슷한 결과를 나타내었다. 따라서 anti-HBc 단독 양성인자의 대부분이 B형 간염의 과거력을 갖은 기억 반응에 의해 접종후 1개월후에 높은 항체역가가 나타난 것으로 사료된다. 그렇다면 과연 이들 anti-HBc의 단독 양성인자에게 백신을 투여 할 것인가에 대한 문제이다. Maupes 등³³⁾은 anti-HBc 단독 양성자에게 백신을 투여한 경우 접종한 군에서는 거의 100%에서 anti-HBs가 생성되고 HBsAg은 한 예도 나타나지 않고 백신을 접종하지 않은 군에서는 HBsAg이 46명중 9명에서 나타났다고 한다. 따라서 HBV 감염의 위험이 높은지역에서는 anti-HBc 단독양성자에게도 백신 접종이 필요하다고 주장하고 있다.

백신은 항체 획득뿐 아니라 항체의 지속 또한 중요하다. Hadler 등³⁶⁾은 접종자의 항체 소실율이 5년후에 15%였고, 50IU 미만에서는 70%가 소실된 반면 100IU 이상은 7%만이 소실되었다고 보고 하여 일단 획득된 항체의 역가는 항체의 지속 시간과 비례 하는 경향을 보인다고 한다³⁷⁾. 본 연구에서는 최종 항체역가가 100mIU/ml 이상인자 I 군이 70.2%, II 군이 59.2%로 타 연구결과¹⁹⁾에 비해서 매우 많아 그 지속 면에서도 좋을 것으로 사료된다. 본 연구에서 항체가 생기지 않은 환자를 보면 I 군에서 7명중 3명이 과거력상 혹은 현재 피부 질환자였고, II 군에서는 7명중 2명이 과거력상 혹은 현재 피부 질환이 있었던 자였다. 피부 질환의 형태는 지루성 피부염 2예, 원인불명의 두드러기가 3예 있었다. 따라서 피부 질환의 존재가 백신주사후 항체형성에 영향을 미치고 있지않나 추정해 볼수 있겠다. Anti-HBc 단독 양성자의 anti-HBs의 양전율은 각종 B형 간염표지자가 모두 음성인 군의 양전율보다는 높고, anti-HBs의 역가가 낮은 경우 보다는 낮은 것으로 알려져 있다. 하지만 본 연구에서는 anti-HBc의 단독양성자 49명중 42명(85.7%)에서 항체가 형성 되어 anti-HBc단독 양성자의 anti-HBs의 양전율이 각종 B형 간염표지자가 모두 음성인 군의 양전율 92.6%보다 오히려 약간 낮

게 나타났고, 이 등¹⁹⁾이 anti-HBc만 단독 양성인 군에서 항체가 100%로 나타났다고 보고 한 것에 비해 낮게 나타났는데, 이는 Werner 등³⁸⁾ 및 Tong 등³⁹⁾에 의하면 anti-HBc 양성자중 anti-HBc 역가가 낮은 경우 백신 접종후 2-4주후에 항체가 형성 되지 않으면 HBV감염과 관계없는 비특이적 반응에 의해 anti-HBc가 양성으로 나타 날수 있어 anti-HBc의 역가가 중요하다 하였고, Bonio 등³⁵⁾은 anti-HBc 단독 양성자중 백신에 의해 항체가 생기지 않으면 anti-HBc 위양성으로 간주 하였기에 II 군에서 항체가 형성 되지 않은 경우는 아마도 HBV와 관계없는 비특이적 반응인 경우와, 위양성인 경우가 포함되어 있지 않나 추정 해볼수 있겠다. 이 등의 연구에 포함된 anti-HBc만 단독 양성인 군은 13명으로 그 대상 예가 적어 HBV와 관계없는 비특이적 반응인 경우와, 위양성인 경우는 포함되지 않았던 것으로 추정 해볼수 있겠다. 본 연구에서는 anti-HBc만 양성인 군에서 관찰기간중 HBsAg이 양전 되었거나 anti-HBc가 음전된 예는 한예도 없었고 HBsAg 및 anti-HBc음성군에는 HBsAg 및 anti-HBc가 양전된 예는 한예도 없었다. 부작용으로는 기존 연구에서 보고된 바와 같이 주사부위의 동통, 발적, 두통, 열감, 권태감, 근육통, 발열 등의 부작용으로 매우 경미하고 일시적이었다^{25~27)}.

본 연구의 결과를 종합 하면 KD-HB 간염백신은 면역성이 우수하고 안전한 백신으로 사료 된다.

요 약

연구배경 :

기존 재조합 백신의 226개 아미노산의 N 말단측에 pre-S2 에서 유래된 9개의 아미노산을 더 함유하고 있어 기존백신에 비해 더 강력한 면역효과가 기대되는 KD-HB를 투여 하여 유효성 및 안정성에 대해 알아 보았다.

방 법 :

1996년 4월 30일 부터 1997년 3월 29일 까지

한양대학병원에 내원한 환자로, 기존 간염백신을 투여 받은 적이 없는 HBV markers 음성인 자, 즉 EIA법으로 혈청 HBsAg, Anti-HBs, Anti-HBc 및 HCV Ab가 모두 음성이며 혈청 SGOT, SGPT가 정상범위내에 있는 성인남녀로 본 연구에 서면으로 동의한 94명(I군)과 HBV markers중 Anti-HBc만 양성이고 HCV Ab도 음성이자, 즉 EIA법으로 혈청 HBsAg, Anti-HBs가 음성이고 Anti-HBc는 양성, HCV Ab는 음성이며 혈청 SGOT, SGPT가 정상범위에 있는 성인남녀로 본 연구에 서면으로 동의한 49명(II군)을 대상으로 KD-HB(Biken-HB, BR-HB)백신을 0.5ml을 총 3회 근육주사 또는 피하 주사하여 유효성 및 안정성에 대해 알아보았다.

결 과 :

백신의 항체생성율은 I 군, II 군이 각각 초회접종후 4주째에 62.96%, 94.44%, 초회접종후 8주째에는 각각 70.97%, 91.84%, 초회접종후 24주째는 88.30%, 93.88%, 초회접종후 28주째는 94.68%, 95.92% 였다. 백신의 유효율은 I 군, II 군이 각각 초회접종후 4주째에 45.7%, 69.4%, 초회접종후 8주째에 각각 54.8%, 77.6%, 초회접종후 24주째에 75.5%, 75.5%, 초회접종후 28주째에 92.6%, 85.7% 였다. 항체가 측정시 100mIU/ml 이상의 고역가를 나타낸 경우는 I 군, II 군이 각각 백신의 초회접종후 4주째에 28.7%, 36.7% 초회접종후 8주째에 각각 42.6%, 55.1% 초회접종후 24주째에 35.1%, 46.9% 그리고 초회접종후 28주째에 각각 70.2%, 59.2% 였다. 성별에 따른 유효율 I, II 군 모두 통계학적으로 유의한 차이가 없었다. 나이에 따른 유효율은 통계학적으로 유의한 차이가 없었다. 임상적으로 문제가 될만한 심각한 부작용은 한 예도 없었으며 혈액학적 검사, 혈액생화학적 검사, 뇨검사에서도 임상적으로 의의가 있는 수치의 변화는 없었다.

결 론 :

본 연구의 결과를 종합하면 KD-HB간염 백신은 면역성이 우수하고 안전한 백신으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. 서정기 : 예방접종 B형 간염백신. 대한의학협회지 1991;34(3):257-269
2. 尾崎隆男他 : 當院職員のHBV抗原抗體およびHBワクチン接種のフォローアップ成績. *Clinical virology*, 1995;23(2), s66
3. 김형원의 : B형 간염백신의 면역성에 관한 3년간 추적 관찰, 대한 내과학회잡지, 1990;39(2):195-203
4. Krugman S et al. : *Viral hepatitis, type B studies on active immunization JAMA* 1971;217:41
5. 山口一喜他 : 組換え沈降B型肝炎ワクチンBR-HBのラット・マウス・ビーグル犬における 單回投與毒性試験 基礎と臨床, 1992;26(1):129-139
6. 鈴木登志郎他 : 組換え沈降B型肝炎ワクチンBR-HBの局所障害性試験 基礎と臨床, 1992;26(1):155-166
7. 坂本京子他 : 組換え沈降B型肝炎ワクチンBR-HBの細菌を用いる復歸變異試験. 基礎と臨床, 1992;26(1):145-148
8. 山影康次他 : 換え沈降B型肝炎ワクチンBR-HBのヒト・リンパ球を用いる染色體異常試験. 基礎と臨床, 1992;26(1):149-154
9. 鈴木登志郎他 : 組換え沈降B型肝炎ワクチンBR-HBの酵母由來不純物檢出のための抗原性試験. 基礎と臨床, 1992;26(1):140-144
10. 長島秀夫他 : 組換え沈降B型肝炎ワクチン(酵母由來, BR-HB)第 I 相, 第 II 相 臨床試驗成績. 基礎と臨床, 1989;23(3):145-154
11. 長島秀夫他 : 組換え沈降B型肝炎ワクチン (酵母由來, BR-HB)第 III 相 臨床試驗成績. 基礎と臨床, 1989;23(3):155-164
12. Dienstag JL et al. : *Hepatitis vaccine in health care personnel Safety, immunogenicity and*

- indicators of efficacy, Ann Inter Med* 1984; 101:34
13. Crosnier J et al. : *Randomised placebo controlled trial of hepatitis B surface antigen vaccine in French Hemodialysis Units: II Hemodialysis patients. Lancet*, 1981; 797
 14. 정한국 외 : 가열비활성화한 B형 간염 vaccine의 안전성과 면역성에 대한 임상적 관찰 (제1보), 대한의학협회지, 1985; 28:675
 15. 김순호 외 : B형 간염 백신의 임상효과에 관한 연구. 대한 소화기병학회지 1985; 17:3
 16. 강진경 외 : 효모로부터 생산된 B형 간염백신의 면역성 및 안전성. 대한내과학회지 1986; 31:318
 17. Szmunes W, et al. : *Demonstration of efficacy in a controlled clinical trial in a high-risk population in the United States. N Engl J Med* 1980; 303:833
 18. 이창홍 외 : B형 간염 백신의 효과-접종 부위에 따른 면역성의 차이. 대한내과학회잡지 1987; 32:466
 19. 이상인 외 : ntHBC 단독양성자에 대한 B형 간염백신의 면역효과. 대한내과학회잡지 1988; 35(6):759-765
 20. 김영식 : 국산 유전전자 재조합 B형 간염백신 (유박스-B)의 면역효과. 임상약리학회지 1993; 1:2
 21. 이창홍 외 : B형 간염백신의 효과-접종부위에 따른 면역성의 차이 대한내과학회잡지 1987; 32:466-473
 22. 강지혜 외 : B형 간염 예방접종후 항체가 변화에 관한 연구. 소아과 1990; 33:598-604
 23. Goudeau A, coursaget P et al. : *Prevention of hepatitis B by active and passive immunization; In szmunes W, Alter HJ, Maynard JE (Eds). Viral hepatitis 1981 international symposium, Philadelphia, Franklin Institute Press, 1982; 509-525*
 24. Clements ML, Miskovsky E, Davidson M, et al. : *Effect of age on the immunogenicity of yeast recombinant hepatitis B vaccines containing surface antigen(s) or PreS2+S antigens. J Infect Dis* 1994; 170:510-6
 25. Wood RC et al. : *Risk factors for lack of detectable antibody following hepatitis B vaccination of Minnesota health care workers. JAMA* 1993; 270:2935-9.
 26. Collier AC et al. : *Antibody to human immunodeficiency virus(HIV) and suboptimal response to hepatitis B vaccination. Ann Intern Med* 1988; 109:101-5
 27. Weber DJ et al. : *Obesity as a predictor of poor antibody response to hepatitis B plasma vaccine. JAMA* 1985; 254:3187-9
 28. Shaw FE Jr, Guess HA, Roets JM, et al. : *Effect of anatomic injection site, age and smoking on the immune response to hepatitis B vaccination. Vaccine* 1989; 7:425-30
 29. Winter AP et al. : *Influence of smoking on immunological responses to hepatitis B vaccine. Vaccine* 1994; 12:771-2
 30. 김세종 외 : B형 간염백신의 면역성 및 안정성에 관한 연구. 대한내과학회잡지 1987; 33:96
 31. 양용석 : B형 간염백신의 면역반응에 관한 연구. *Medical Postgraduates* 1986; 6:255
 32. Hoofnagel J. : *Serologic markers of hepatitis B virus infection. Annu Rev Med* 1981; 32:1
 33. Maupas P et al. : *Efficacy of hepatitis B vaccine in prevention of early HBsAg carrier state in children. Lancet i*:1981; 289
 34. Draelos M. et al. : *Significance of isolated antibody to hepatitis B core antigen determined by immune response to hepatitis B vaccination. JAMA* 1987; 258:1193

35. Bonino F. et al. : *Immune response to hepatitis B vaccine of individuals with serum anti-HBc. Hepatology* 1984;4:1041
36. Hadler SC, et al. : *Long-term immunogenecity and efficacy of hepatitis B vaccine in homosexual men. N Engl J Med* 1986;315:209
37. Jilg W, et al. : *Hepatitis B vaccination. How long dose protection last? Lancet ii*:1984; 458
38. Werner BG, et al. : *Isolated antibody to hepatitis B surface antigen and response to hepatitis B vaccination. Ann Intern Med* 1986; 103:210
39. Tong MJ, et al. : *A hepatitis B vaccination program in a community teachng hospital. Infect Control* 1987;8:102