

일본뇌염 백신 접종후 항 일본뇌염 항체의 생성율과 지속적인 면역반응에 대한 연구

조해월 · 남재환 · 이호동 · 고현철 · 김정제* · 김은정 · 이연승 · 유정자

국립보건원 바이러스 질환부 신경계 바이러스과, 인천직할시 강화군 보건소 강화읍*

〈한글 요약〉

목 적 : 국내에서 사용되고 일본뇌염 바이러스 백신에 대한 야외 실험을 실시하여 국내 백신 제조에 사용되는 Nakayama-NIH주의 국내 접종자에 대한 항체 생성율 및 중화 항체의 지속율을 조사하고, 일본뇌염 접종 스케줄의 재조정 및 국내 면역 집단의 민감도 조사 등을 통하여 방역 대책의 기초 자료로 활용하고자 하였다.

방 법 : 일본뇌염 백신의 면역효과 및 항체지속 기간을 알아보기로 1994년부터 계속 사업으로 강화군에 소재하고 있는 K 초등학교 학생들을 대상으로 조사를 실시하였다. 대상자들의 혈액을 시기에 따라 채혈하여 hemagglutination inhibition test (HI) 및 plaque reduction neutralization test (PRNT)를 실시하여 항체가를 조사하였다.

결 과 : 총 조사 대상자 213명은 이미 기초 접종이 끝난 자들로서 HI 항체가는 '95년 4월 백신 면역전에 이미 63.4%가 1:10 이상의 항체가를 가지고 있었으며 중화항체가는 전원이 1:20 이상의 항체가를 가지고 있었다. '95년 백신 접종 후 12개월이 지난 1996년 4월까지 HI 항체가 1:20 이상이 55.7%이며, 중화항체가는 전원이 1:20 이상을 보유하고 있었다. 이들에게 1996년 4월에 재접종 후 6개월째에는 HI 항체가가 1:10 이상이 69.7%로 증가하였고 G.M.T값은 1:11.6에서 1:13.2로, 중화 항체의 G.M.T는 1:275.7에서 1:348.1로 증가하였다.

결 론 : 위의 실험 결과에 따르면 현재 국내에서 사용중인 불활화 일본뇌염 백신은 자연계에서 일본뇌염 바이러스가 공격하는 10^5 LD₅₀를 막을 수 있는 중화항체가 1:20을 기본면역 1회로 1년 이상 유지하고 있었으며, 충분한 boosting 효과를 보이고 있었다.

따라서 일본뇌염 백신의 추가면역은 기본접종후 개인의 상태에 따라 2~3년 간격의 추가접종이 적절하다고 생각된다.

서 론

일본뇌염 바이러스(Japanese Encephalitis virus; JEV)는 아시아 지역에서 epidemic arboviral encephalitis의 가장 중요한 원인체로서 넓은 clinical spectrum을 가지고 있고, 30~70%의 사망률을 가지고 있으며 회복 시에도 영구적인 뇌손상을 불러오는 무서운 질환이다¹⁾. 그러나 이 질환에 대한 마우스 뇌내 유래 불활화 백신이 1968년부터 한국, 일본, 대만 등에서 면역되기 시작한 후에는

매년 환자의 발생이 급격히 줄어들고 있다. 국내에서도 1982년 약 천여 명의 환자가 발생한 이래 매년 수명의 환자만이 보고되고 있다²⁾. 그러나 이 질환의 발생 양상이 다변적이고 일본뇌염 바이러스가 +RNA 바이러스이며 자연적 돌연변이율이 0.03~2% genome/year정도로 높기 때문에 백신 접종을 통하여 항상 대비하여야 한다³⁾.

마우스 뇌내유래 불활화 일본뇌염 바이러스에 대한 potency 및 safety에 대한 연구는 Hoke 등(1988)과 Poland 등(1989), Ku 등(1994) 많은 연구자에 의해서 수행되어졌다^{4~6)}. 이들의 결과에 따

르면 Nakayama주와 Beijing주로 만든 불활화 백신을 3회 면역하였을 때 자연계에서 발생하는 일본뇌염바이러스의 공격을 충분히 저지할 수 있는 중화 항체(≥ 8)가 99%의 접종자에서 나타났으며 심각한 부작용 사례는 보고되지 않았다. 따라서 불활화 백신으로 만든 일본뇌염 백신이 미국 및 일본 등에서는 일반적으로 사용되고 있다. Ku (1994) 등은 불활화 백신 제조주로 Nakayama-NIH와 Beijing주중 Beijing주에서 더 높은 중화 항체 titer를 확인하였으며 Nakayama-NIH 주보다 더 넓은 반응 spectrum을 확인 할 수 있었다고 했다^{5, 7)}. 그러나 사람의 면역반응에서의 차이는 확인되지 않은 상태이기 때문에 여러 아시아 국가를 비롯하여 현재 국내에서 사용중인 일본뇌염 백신은 마우스 뇌내에서 유래한 불활화 백신으로 Nakayama-NIH주를 사용하여 제조되고 있다.

따라서 본 연구진은 1995년도와 1996년도 2년에 걸쳐 국내에서 판매되는 일본뇌염 백신에 대한 야외 실험을 실시하여 국내 백신 제조에 사용되는 Nakayama-NIH주가 국내의 접종자에 대한 항체 생성을 및 중화 항체의 지속율을 조사하여, 일본뇌염 접종 스케줄의 재조정 및 국내 면역 집단의 민감도 조사 등을 통하여 방역 대책의 기초 자료로 활용함으로써 국민보건 향상에 기여하고자 한다.

재료 및 방법

1. 조사대상

일본뇌염 백신 접종후 항체 생성율 및 지속성에

관한 조사는 1995년 3월부터 1996년 12월까지 인천광역시 강화군에 있는 초등학교 학생을 대상으로 했으며 1995년도에는 1, 2, 3학년 213명의 학생을, 1996년도에는 1995년도에 접종한 학생들과의 연속성을 위하여 2, 3, 4 학년 230명 (95년도에 접종하고 채혈이 안된 학생과 전학년 학생 포함)의 학생을 대상으로 하였다. 이들 학생들은 1차 채혈(1995년 4월) 전인 1994년도 4월경에 이미 단체로 일본뇌염 백신을 접종한 경력을 가지고 있었다. 이들 군을 group A로하고 1차 채혈 혈청중(1995년 4월) HI 항체 조사 결과 1:10 미만으로 나온 군을 group B로 하였다. 즉, group A는 실험 대상자 모두를 포함하고 있으나, group B는 group A 중 최초 채혈 혈청에 HI 항체가 1:10 미만인 group으로 선정되었다. 조사 혈청의 채혈시 학생의 건강 상태 및 채혈 거부 등의 이유로 채혈이 불가능한 경우가 일부 있어 혈청 실험의 연속성을 유지하지 못한 경우가 있었다.

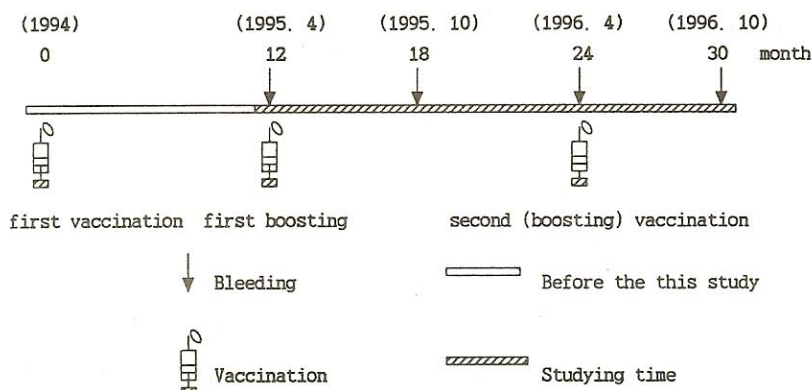
2. 백신 접종 스케줄

본 실험에서는 국내에서 생산되고 있는 마우스 뇌내 유래로 만들어진 불활화 일본뇌염백신(Nakayama-NIH)을 지속적으로 사용하여 실험의 연속성을 확보하였으며 면역 스케줄 및 채혈 스케줄은 아래에서 보여주고 있다.

3. 적혈구응집 억제시험(Hemagglutination Inhibition Test)

1) 검사 혈청

검사 혈청들은 혈청 내에 존재하는 비특이적 혈



구응집 억제물질(non-specific inhibitor)을 제거하기 위해서 혈청 0.02ml을 원심관에 넣고 4ml의 냉아세톤(cold acetone)을 가하여 진탕하고 1,500rpm으로 5분간 원심한 후 상층액을 제거하고 동일 과정을 1회 더 반복했다. 침전물을 건조시킨 다음 2.0 ml의 borate saline, (BS, pH9.0)을 가하여 건조 혈청을 용해시켰다. 이와 같이 아세톤으로 처리되고 10배 희석된 혈청을 얼음 상자 내에서 비특이적 응집소(non-specific agglutination)를 제거하기 위하여 생리 식염수로 세척한 거위혈구 0.05ml을 가해서 잘 혼합하고 15분간 방치 후에 3,000rpm으로 7분간 원심하여 상층액을 분리, 혈구응집 억제시험에 사용하였다.

2) 항 원

일본뇌염 바이러스 항원은 Nakayama-NIH주로 감염시킨 영아 마우스(suckling mouse)의 뇌를 무균적으로 채취하여 Clarke & Casals법(아세톤-에테르처리)으로 제조되어 -70℃에 보존하면서 사용하였다.

3) 적혈구 부유액

항응고제인 acid-citrate-dextrose액으로 거위 혈액을 채혈하여 생리식염수로 3회 세척후 4℃에 보관하였다가 사용 전에 virus adjusting diluent (VAD)로 혈구가 0.33%가 되도록 제조하여 실험에 사용하였다.

4) 혈구응집 시험(항원가 측정)

96-well microplate를 사용하며 2배 계단 희석된 항원 0.05ml을 가하여 37℃ 배양기에서 1시간동안 반응시킨 후 혈구응집 반응을 나타내는 최고 희석 배수 종말점을 HA titer로 하고 동시에 가장 높은 응집가를 보인 VAD의 pH를 측정해서 같은 pH의 VAD에 부유시킨 혈구를 사용했다.

5) 혈구응집 억제시험

비특이적 반응물질들을 제거하고 2배 계단 희석된 검사혈청 0.025ml에 16 HA unit의 항원 0.025 ml을 가하여 microplate mixer로 잘 혼합한 후 실온에서 1시간 동안 방치한 다음 0.33% 적혈구 부유액을 0.05ml 가하고 37℃ 배양기에서 1시간 반응시킨 후 혈구응집에 의해 억제되는 최대 혈청 희석배수의 역수를 혈구응집 억제(HI) 항체가로 판정

하였다.

4. 플라크감소 중화시험(Plaque Reduction Neutralization Test, PRNT)

1) 계태아세포 배양 및 바이러스 항원 역가측정

조직배양에 사용된 세포는 유정란을 약 9일간 37℃에서 부화시킨 다음 계태아를 무균적으로 취하여 머리, 다리 및 내장을 제거하고 인산완충액(phosphate buffered saline, PBS, pH7.2)으로 세척 후 조직을 분쇄하여 0.25% trypsin용액으로 37℃에서 5분간 소화시켰다. 소화된 조직을 1,400rpm으로 약 10분간 원심시킨 후 상층액을 버리고 침전된 조직을 세포 배양액으로 혼합하여 세포들이 잘 유리되게 한 다음 세포수가 $3 \sim 3.5 \times 10^6$ /ml되도록 희석하여 6-well culture plate에서 24시간 배양 후 인산완충액으로 1회 세척하고 측정하려는 바이러스 항원을 10배 계단 희석하여 각 well에 흡착시키고 0.9% agar가 포함된 EMEM배지로 37℃ CO₂배양기에서 2일간 배양 후 2.5% neutral red(1:300)가 포함된 2차 중층배지를 가하고 1~2일 더 배양한 후 플라크 수를 관찰하여 적정 바이러스 희석배수를 결정하였다.

2) 플라크감소 중화시험법

검사할 혈청을 56℃에서 30분간 비동화시킨 후 1:10으로 부터 2단계 희석하고 200PFU로 조절한 일본뇌염 바이러스와 동량 혼합한 다음 37℃에서 90분간 중화시킨다. 그리고 6-well culture plate에서 1차 배양된 계태아세포에 바이러스 혈청 혼합액을 well당 0.3ml씩 접종하여 37℃ CO₂ 배양기에서 90분간 흡착시킨 후 0.9% agar가 포함된 EMEM배지로 37℃ CO₂배양기에서 2일간 배양 후 2.5% neutral red(1:300)가 포함된 2차 중층배지를 가하고 1~2일 더 배양하고 플라크를 관찰, 계산하였다. 중화 항체가는 바이러스 플라크 수를 80%이상 감소시키는 최대 혈청 희석배수의 역수로 결정하였다. 혈청을 처리한 상태와 처리하지 않은 상태의 일반적인 플라크 발생 양상은 Fig. 1에서 보여주고 있다.

3) 백신 접종후 부작용 사례 조사

일본뇌염 백신을 접종하기 전에 전문의의 문진

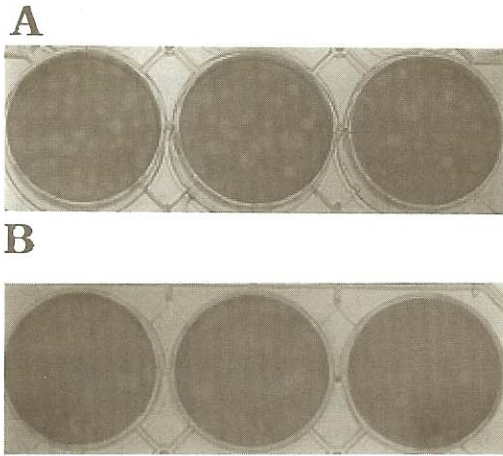


Fig. 1. Plaque reduction neutralization test (PRNT) for Japanese encephalitis virus antibodies. JEV Nakayama-NIH strain was mixed with human antibodies after immunized by inactivated JE vaccine.
A : Virus Control (10^{-9})
B : Test serum from an immunized human.

을 통하여 접종자의 상태를 확인하였으며, 백신을 접종한 후 3일간 부작용 사례를 설문지를 이용하여 조사하였다. 일반적으로 불활화 백신에 의해서 나타나는 부작용 사례를 예시하여 증세를 설명하고 조사하였다.

성 적

1. 조사대상자 선별 및 연령별 분포

1995년도와 1996년도에 계속되어진 본 연구의 대상자는 강화군의 한 초등학교 학생들을 대상으로 실시되었으며 1995년도에 1, 2, 3 학년 학생들을 대상으로 하였고 이들의 나이는 7세에서 11세이며, 1996년도에는 1995년도에 조사 대상에 포함되었던 학생중 전학 및 1차 접종 후 채혈이 확인이 되지 않는 학생을 포함한 동일한 학생들을 선정하여 계속 조사를 하였다. 채혈시 대상자들의 당일 건강 조건 등으로 지속적인 채혈을 할 수 없는 학생도 일부 존재하였다.

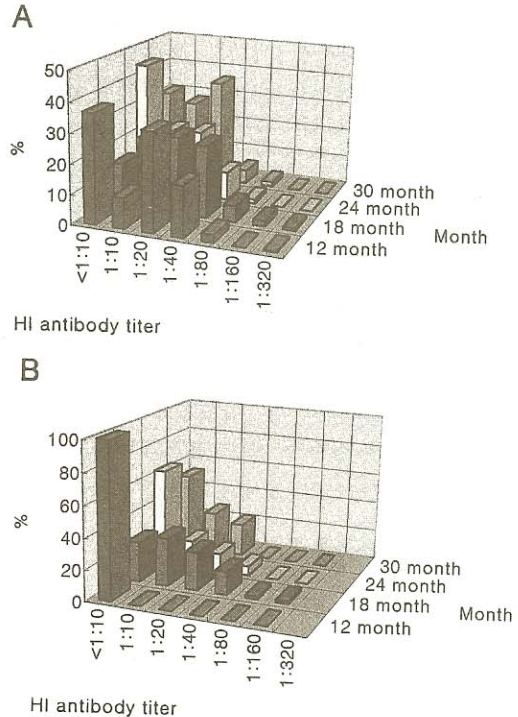


Fig. 2. Evaluation of HI antibodies in immunized human serum.

A : all tested individuals

B : tested individuals who have less 1:10 HI antibodies at first bleeding.

2. HI 항체 보유율 및 지속율

Group A에서는 1차 채혈(1995년 4월)시의 HI 항체가는 1:10 미만은 36.6%, 1:10 이상은 63.4%가 나타났다. 백신을 접종한 후 6개월후(1995년 10월)에는 1:10 미만이 14.4%로 감소했으나, 12개월후(1996년 4월)에는 다시 44.3%로 증가하였다. 다시 백신을 재접종(1996년 4월)한후 6개월후(1996년 10월)에는 30.3%로 감소했다. Group B는 1차 혈청 (1995년 4월)시의 HI 항체가가 모두 1:10미만인 혈청을 선택하였고 모든 대상자에 백신을 접종하였다. 접종후 6개월후(1995년 10월)에는 1:10 미만이 26.2%로 감소하였으나 12개월후(1996년 4월)에는 다시 1:10 미만이 63.6%로 증가하였고 백신을 재접종(1996년 4월)한후 6개월후(1996년 10월)에는 1:10 미만이 51.4%가 되었다 (Table 1, Fig. 2).

Group B의 73건 중에서 1차 채혈(1995년 4월) 시 1:10미만인 대상자중 백신을 접종 받고 1년후(1996년 4월)에도 혈청을 채혈할 수 있었던 대상자는 66건이었다. 이중 HI 항체가가 1년후에도 1:10 이상을 유지하고 있는 것은 24건으로 1차 채혈시 HI 항체가가 1:10 미만인 상태에서 일본뇌염 백신을 접종 받은 대상자의 36.4% 만이 1년후까지 HI 항체가가 1:10 이상으로 seroconversion 되었다. (Table 1, Fig. 2).

HI titer의 G.M.T. 값으로 group A 와 group B의 양상을 비교해보면 백신 접종전보다 후에 약간의 G.M.T. 값의 상승을 볼수 있으나 전반적으로 2배 이상 크게 상승하고 있지는 않았다 (Table 1).

3. 중화항체 보유율 및 지속율

중화항체 조사는 실험의 복잡성을 감안하여 일부 학생을 대상으로 실험하였다. 최초 면역전(1995

년 4월)에 조사한 전체 혈청에서는 중화항체 역가가 모두 1:20을 넘고 있었고, 1:20부터 1:640까지 중화항체 역가가 고르게 분포하고 있었다. 1차 면역역을 마친 후 6개월째(1995년 10월)에는 항체가가 전반적으로 상승하고 있으며 1년후(1996년 4월)까지 지속적인 중화 항체의 유지 현상을 볼수 있었다 (Table 2, Fig. 3).

HI 항체 G.M.T 역가에서는 백신 전후로 큰 증가를 볼수 없었으나 중화항체의 G.M.T. 역가는 1차 백신 접종전(1995년 4월)에 1:244.1인 값이 접종후 6개월째(1995년 10월)에는 1:469.4로 증가하였고 12개월째(1996년 4월)에는 1:275.7로 낮아졌다가 boosting 후 6개월째(1996년 10월)에는 1:348.1로 증가하였다. 따라서 G.M.T.로 측정한 중화항체가는 백신 접종후에 일정 정도 증가하고 있었다 (Table 2).

1차 백신 접종전에 HI 항체가가 1:10 미만으로

Table 1. HI Antibody Titer of Japanese Encephalitis Virus Response after JE Vaccination.

First Vaccination was Done in 1994

month	(1995. 4)	(1995. 10)	(1996. 4)	(1996. 10)
A	12 months*	18 months	24 months	30 months
<1: 10	78 (36.6)	32 (14.4)	102 (44.3)	71 (30.3)
1: 10	22 (10.3)	61 (24.5)	51 (22.2)	64 (27.4)
1: 20	70 (32.9)	57 (25.7)	52 (22.6)	84 (35.9)
1: 40	36 (16.9)	54 (24.3)	22 (9.6)	11 (4.7)
1: 80	6 (2.8)	12 (5.4)	3 (1.3)	4 (1.7)
1:160	—	4 (1.8)	—	—
1:320	1 (0.47)	2 (0.9)	—	—
Total	213	222	230	234
G.M.T	1:18.1	1:27.7	1:11.6	1:13.2

month	(1995. 4)	(1995. 10)	(1996. 4)	(1996. 10)
B	12 months	18 months	24 months	30 months
<1: 10	73 (100)	16 (26.2)	42 (63.6)	36 (51.4)
1: 10	—	19 (31.1)	12 (18.2)	19 (27.1)
1: 20	—	15 (24.6)	8 (12.1)	15 (21.4)
1: 40	—	9 (14.8)	4 (6.1)	—
1: 80	—	1 (1.6)	—	—
1:160	—	1 (1.6)	—	—
1:320	—	—	—	—
Total	73	61	66	70
G.M.T	—	1:17.9	1:6.7	1:7.0

Table 2. Neutralizing Antibody titer of Japanese Encephalitis Virus Response after JE Vaccination. First Vaccination was Done in 1994

Month Neut	(1995. 4) 12 months*	(1995. 10) 18 months	(1996. 4) 24 months	(1996. 10) 30 months
1: 20	15 (9.9)			
1: 40	22 (14.6)	3 (3.8)	2 (2.4)	1 (3.7)
1: 80	36 (23.8)	10 (12.7)	17 (20.2)	3 (11.1)
1: 160	21 (13.9)	20 (25.3)	24 (28.6)	5 (18.5)
1: 320	32 (21.2)	19 (24.1)	26 (31.0)	10 (37.0)
1: 640	20 (13.2)	18 (22.8)	11 (13.1)	8 (29.6)
1:1280	5 (3.3)	6 (7.6)	4 (4.8)	
1:2560		3 (3.8)		27
Total	151	79	84	
G.M.T.	1:244.1	1:469.4	1:275.7	1:348.1

* : month agter first vaccination

Table 3. The Relationship Between HI titers and Neutralizing Antibody titers

Neutralization titer	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	1:2560	Neutralization mean titer
HI titer									
<1: 10	12	11	15		12				1:114.4
1: 10		3	12	22	9				1:162.6
1: 20		1	14	29	55	7			1:281.9
1: 40			1	10	10	42	2		1:539.4
1: 80							3		1:1280
1:160							9	2	1:2560
1:320							1	1	1:1920

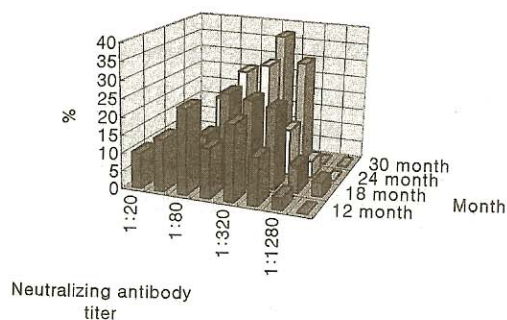


Fig. 3. Evaluation of neutralizing antibodies in immunized human serum.

나온 group B의 73명 전원에서 중화항체가는 1: 20 이상의 중화항체가를 보여주고 있었다.

4. HI 항체가와 중화항체가의 상관관계

본 연구에서 일본뇌염 항체를 측정하는 방법으로는 hemagglutination-inhibition (HI) test와 plaque reduction neutralization (PRNT) test를 사용하였다. 두 방법으로 측정한 항체가는 상관관계를 보이고 있다. Table 3에서 비교되어진 대상자는 HI 항체와 중화항체가가 모두 존재하는 대상자를 대상으로 하여 비교되어졌다. 이 표에 의하면 일반적으로 HI항체가가 높을수록 중화항체가 역시 높았다. 그러나 HI항체가 1:10 미만인 대상자중 모두에서 중화항체가는 1:20 이상이 되었다. 따라서 PRNT test가 HI test에 비해서 더욱 민감한 검사법이라고 볼수 있다.

고 찰

일본뇌염 바이러스 질환은 1960년대 이래로 마우스 뇌내 유래 불활화 백신이 사용되면서 환자 발생의 급격한 감소를 보이고 있다. 국내에서도 1949년에 5,500명의 대발생이 있는 후, 매년 1,000~2,000 명 정도의 환자가 발생하였다. 그러나 백신 접종이후에는 수십명 수준으로 발생률이 감소하였으나 1982년에서 1983년 사이에 1,336명이 발생하여 55명이 사망하는 마지막 대유행이 있었다⁸⁾. 국내에서는 1967년 처음으로 백신 접종이 시작되었고 1982년의 대유행이후 1985년 정부에서 국가적인 면역 확대 사업(Expanded Immunization Program)을 실시하면서 학교에서 단체 접종하여 매년 800~1,000만명이 접종 대상자로서 이는 3세에서 15세의 소아 연령층의 95~100%의 접종율을 유지하고 있는 것이다. 이후 환자 발생은 매년 1~5명 내외의 환자가 보고되는 등 급격히 감소하고 있다²⁾. 따라서 이러한 환자 발생의 양상은 백신을 대량으로 접종하기전의 환자 발생률과 비교할 때 불활화 백신이 큰 효과를 보이고 있음을 알 수 있다. 그러나 지금까지 백신 접종이 매년 특별한 항체가 조사 없이 실시되었고 이러한 백신 접종의 근거 자료가 모두 외국에서 야외 실험을 실시한 결과를 토대로 실시되어 왔기 때문에 국내 실정에 적합한 야외 자료가 없었다. 따라서, 본 연구에서는 아직까지 국내에서 야외 조사가 시행되지 않은 일본뇌염백신의 야외조사를 위하여 인천광역시 강화의 한 초등학교를 대상으로 하여 중화항체 및 HI 항체의 백신에 의한 항체가 증감 및 2년간의 항체 보유율을 조사하였다.

본 연구진이 1992년에 한국인의 일본뇌염 항체 보유율을 조사한 결과에 의하면⁹⁾ 19세 미만의 대상자중 HI 항체가 56.2%에서 양성율이 나왔다. 본 연구진의 실험 결과에서는 초등학교 1, 2, 3학년에서는 63.4%에서 1:10 이상의 HI 항체가가 나왔다. 본 결과는 1992년도의 결과와 유사한 결과를 보여주고 있다. 그러나 중화 항체가 조사에서는 전체 대상자가 모두 1:20 이상의 결과를 보여주고 있는

것으로 볼 때, 백신을 접종 받은 대상자는 모두 중화 항체가 발생하고 있음을 확인할 수 있었다.

초회 면역후 8개월째에는 HI 항체의 G.M.T. 값이 1:18.1에서 1:27.7로, 중화항체의 G.M.T 값이 1:244.1에서 1:469.4로 상승하는 등 불활화 백신에 의해서 항체가 증가하고 있음을 알 수 있었다. Table 1과 Fig. 2에 의하면 백신 1회 면역후 1년이 지나면 HI 항체와 중화항체가 모두 감소함을 볼 수 있으나 2차 면역후 5개월째에는 항체가가 모두 일정 정도씩 증가함을 관찰할 수 있었다. 따라서 현재 사용중인 불활화 백신은 충분한 항체 발생 능력과 boosting 효과를 보이고 있음을 알 수 있었다.

1차 면역전에 HI 항체가 1:10 미만인 경우를 다시 group B로 분류하여 항체가 변이를 관찰하였다. 이들은 HI 항체가가 모두 1:10 미만임에도 불구하고 중화항체는 모두 1:20 이상을 보이고 있었다. 이들은 백신에 의한 항체가 증감이 전체 대상자를 상대로 관찰된 group A보다 높지는 않았으나 백신접종후 항체가가 증가하고 있음은 확실히 알 수 있었다 (Table 1, Fig. 2). 그러나 이들 중에서 지속적으로 HI 항체가가 확인이 되지 않는 대상자도 있었다. group B 대상자 73명중 6개월후에도 연속적으로 혈청을 확보하여 실험을 한 대상자 64건중 16건은 백신접종후에도 확인 가능한 정도의 HI 항체가 변화가 보이지 않아 25%의 접종 대상자는 백신의 boosting 효과가 보이지 않았다. 그러나 이 대상자 전원에서 중화 항체가는 1:20 이상이 관찰되었다. 이와 같은 결과는 백신 접종 대상자 개개인의 면역력에 따라 백신 접종의 효과가 다르게 나타남을 보여주고 있으며, 한 번의 백신 접종에 의해서 항체 생성이 충분하지 않은 group은 boosting 효과 역시 다른 group에 비해서 크지 않음을 알 수 있었다.

백신접종후 1년후에도 HI 항체가는 1:10 이상이 55.7%이었고 전원이 중화 항체가는 1:20 이상을 보유하고 있었다. 따라서 과거에 일본뇌염 백신을 유행 지역에서 매년 접종 받는 방식은 기존에 항체를 가지고 있는 대상자를 선택함이 없이 무작위로 접종하는 방식으로 불필요한 경제적 손실 및 부작용의 가능성을 높여주었다고 할 수 있다. 따라서

1995년에 개정된 일본뇌염 백신 접종 스케줄에 의한 2년마다의 접종이 본 야외 시험에 의해서 그 타당성을 얻었다고 할 수 있다.

일본뇌염 항체가를 나타내는 방법으로는 HI 항체가 측정과 중화항체가 측정 방법이 있다. 이 두 방법을 비교하여 본 결과 Table 3에서 본 바와 같이 HI 항체가가 증가하면 중화항체가 역시 증가함을 볼 수 있었다. 그러나 HI 항체에 대한 항원 결정기와 중화항체의 항원 결정기가 차이가 나기 때문에 HI 항체가가 1:10 미만인 경우에도 중화항체가의 평균 역가는 1:114.4를 유지할 정도로 중화항체가 측정이 HI 항체가 측정보다 민감함을 알 수 있다. 그러나 대부분의 연구실에서 연구 목적으로 중화항체가 측정을 기준으로 하고 있으나 이는 공격용 바이러스의 종류 및 incubation 시간 등에 의하여 역가의 차이를 보이고 있다. 일반적으로 중화항체가가 1:10에서 1:20 정도면 자연 상태에서의 일본뇌염 바이러스의 공격을 막을 수 있는 충분한 능력을 가지고 있다고 알려져 있다. 따라서 정확한 면역도를 측정하기 위하여는 중화항체 시험이 필수적이라고 생각된다.

이상의 결과를 종합해 볼 때, 현재 국내에서 통용되고 있는 일본뇌염 불활화 백신은 Nakayama-NIH 주에 의한 항체가 국내에서 분리되는 일본뇌염 바이러스에 대해 충분한 중화능을 가지는지에 대한 문제와는 별도로 백신 대상자에 대해서 자연계에서의 일본뇌염 바이러스의 공격을 충분히 막을 수 있는 중화 항체가를 만들고 있으며, 면역 항체가 측정에는 중화 항체 측정이 HI 항체가 측정보다 더욱 민감하며 실제로 바이러스를 중화하는 항체를 측정하는 등 herd immunity 측정에는 꼭 필요한 방법이다. 또 과거 매년 일본뇌염 백신을 주사했던 방식은 이미 충분한 중화능을 가지고 있는 대상자에게 연속적으로 백신을 접종하는 불필요한 방식으로 현재 개정된 2년마다의 접종 방식이 합리적이라고 생각된다. 왜냐하면 1회 백신을 접종한 대상자 전원이 1년후에도 1:20이상의 중화항체가를 가지고 있기 때문이다. 본 연구의 결과는 백신접종 후 총 2년간의 관찰을 대상으로 하였다. 그러나 현재 2년마다 접종되기를 권장하고 있는 일본뇌염백

신 접종 스케줄에 의한 항체가 유지를 확인하기 위하여는 백신 접종 후 앞으로 최소 2년 이상의 항체가 경과를 더 조사하여야 할 것으로 생각된다.

결 론

국내에서 만들어진 일본뇌염 백신에 의한 HI 및 중화 항체 생성 능력과 생성된 항체의 유지 기간 및 항체 진단 방법의 비교 등을 확인하기 위하여 1995년부터 1996년까지 강화군의 한 초등학교 학생을 대상으로 하여 항체가 조사를 실시하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 일본뇌염 백신은 국내에서 제조된 백신을 사용하였으며, 면역전의 HI 항체가는 1:10 이상이 전체 213명중 135명으로 63.4%가 HI 항체를 보유하고 있었으며, 중화항체는 전원이 1:20 이상의 항체가를 유지하고 있었다.

2) 백신접종후 능동 면역에 의하여 6개월째에 항체가 상승을 확인할 수 있었고, 12개월째에 항체가 떨어졌다가 다시 boosting한후 항체가가 상승하는 것을 확인할 수 있었다. 따라서 현재 사용중인 일본뇌염 불활화 백신은 자연 상태에서의 일본뇌염 바이러스 공격을 막아내기에 충분한 항체를 생성하고 있으며 boosting 효과도 있는 것으로 판단된다.

3) 백신접종후 1년이 경과하였을 때 HI 항체가에서는 1:10 미만이 44.3%로 나타났으나 바이러스를 막아내는데 직접 작용하는 중화항체가에서는 모두 1:20 이상의 항체가를 보여주고 있어, 백신 접종후 추가면역 획득을 위한 재접종 시기는 1995년에 개정된 2년이 타당한 것으로 볼 수 있었다.

4) 일본뇌염 백신에 의해 생성된 항체가를 측정하는 방법은 HI 항체가 측정이 간편함에도 불구하고 중화항체 측정이 더욱 민감한 타당한 방법이었다.

참 고 문 헌

- 1) MMWR: Inactivated Japanese encephalitis virus vaccine recommendation of the Advisory Committee on Immunization practice (ACIP). 42:PR-1,

- 1993
- 2) 보사부 전염병 환자 연도별 발생 및 발생률 현황
- 3) Sabin AB: *Oral poliovirus vaccine: Recent results and recommendations for optimum use. R Soc Health J. 2:51, 1962*
- 4) Hoke CH, Hisalak A, et. al: *Protection against Japanese encephalitis by inactivated vaccine. New Eng J of Med. 319(10):608-614, 1988*
- 5) Ku CC, King CC, Lin CY, Hsu HC, Chen LY, Yueh YY, and Chang GJJ: *Homologous and heterologous neutralization antibody responses after immunization with Japanese encephalitis vaccine among Taiwan children. J of Med Virology. 44: 122-131, 1994*
- 6) Poland JD and Cropp CB: *Evaluation of the potency and safety of inactivated Japanese encephalitis vaccine in US inhabitants. J of Infect Disease. 161:878-882, 1990*
- 7) Tasi TF and Yu YX: *Japanese encephalitis vaccine. In plotkin SA and Mortimer EA: Vaccine. philadelphia, WB Saunders Co., p682-794, 1994*
- 8) 김경호: 일본뇌염백신 예방접종. 대한 의학협회지, 25:812-817, 1982
- 9) 조해월, 장영식, 송진원, 반상자, 김승한, 최은영: 최근 한국인의 일본뇌염바이러스에 대한 항체 보유율 조사. 대한바이러스학회지 22(2):147-154, 1992

= Abstract =

Studies on the Duration of Immunity and Production of Antibody following Immunization with Inactivated Killed Japanese Encephalitis Vaccine

H.W. Cho, Ph.D., J.H.Nam, Ph.D., H.D. Lee, H.C.Koh, J.J. Kim, M.D.*
E.J. Kim, S.L. Chae, Y.S. Lee, and J.J. Lu

*Div. of Arboviruses, Korea National Institute of Health
Public Health Center*, Kwangwha Gun, Incheon*

Propose : Studies on the duration of immune response against Japanese encephalitis virus from recipients with JE vaccine (Nakayama-NIH strain) in Korea.

Methods : To determinate the immune response and the duration of antibody against JE vaccine, 213 students were examined since 1994 using hemmagglutination inhibition test and plaque reduction neutralization test (PRNT).

Results : 24 months after the first vaccination, haemmagglutination inhibition and neutralizing antibody maintained from the recipients 63.4% (>1:20) and 100% (>1:20), respectively. In April 1996, one dose booster to the same recipients those who were vaccinated in 1994, the GMT antibody for HI and PRNT titer were both increased from 1:11.6 to 1:13.2 and 1:275.7 to 1:348.1, respectively, after 6 months booster (after 30 months from the initial vaccination). This results showed that the antibody from the active immunity could be maintained more than 12 months after the initial vaccination.

On the basis of these results, inactivated killed JE vaccine (Nakayama-NIH strain) using for preventing against JE purpose seems to produce antibody enough to protect against JE at present.

Conclusions : Along with the results of this study demonstrating duration of antibody, the active immunization could be maintained as long as by initial vaccination of 2 doses, a single dose of booster vaccination made during a period of 1 month to 12 months and the successive booster vaccination by 2 or 3 year intervals. However, the immunization schedule should be concerned with both epidemiology of disease and the immune response of vaccinated individuals.

Key Words : Japanese encephalitis virus, Hemagglutination inhibition test, Plaque-reduction neutralization test