

랫드와 마우스에서 DA-3030(G-CSF)의 급성독성에 관한 연구

이영순 · 조재진 · 김영석 · 남정석 · 박재학* · 이순복**

서울대학교 수의과대학 공중보건학교실, 실험동물의학교실*, 동아제약(주)연구소**

Acute toxicity of DA-3030(G-CSF) in rats and mice

Yong Soon LEE, Jae Jin CHO, Yong Suk KIM, Jeong Seok NAM,
Jae Hak PARK* and Soon Bok LEE

Department of Public Health, College of Veterinary Medicine, SNU

*Department of Laboratory Animal Medicine

**Research Laboratories Dong-A Pharm. co, Ltd

(Received October 1, 1994; accepted October 20, 1994)

Abstract—This study was performed to evaluate the acute toxicity of DA-3030(granulocyte-colony stimulating factor, G-CSF) in mice and rats via intragastrical and intravenous routes. DA-3030(G-CSF) in the acute toxicity study did not induce any toxic signs in the mice and rats in mortalities, clinical findings, body weights and gross findings. It is suggested that LD₅₀ values in mice and rats would be >13,800 µg/kg in the oral route and >6,900 µg/kg in the intravenous route.

Keywords □ DA 3030, granulocyte colony stimulating factor, acute toxicity, LD₅₀

정상골수에서 과립구 콜로니에 대한 선택적 자극효과와 백혈병 세포에서 분화를 촉진 시키는 것으로 알려진 과립구 콜로니 자극인자(granulocyte-colony stimulating factor, G-CSF)를 1983년 처음으로 마우스의 폐장으로 부터 분리되었으며(Nicola 등, 1983), 현재는 박테리아, 포유류 세포를 이용한 유전자 재조합 G-CSF가 대량 생산되고 있다. 이 G-CSF는 항암화학요법 후 부작용으로 발생하는 백혈구 감소증, 골수 이식, 그리고 재생 불량성 빈혈 등에 사용될 수 있다(Lieschke 등, 1992).

이에 본 연구는 최근 동아제약 연구소에서 개발한 DA-3030(G-CSF)에 대한 급성 독성시험을 실시하였다.

실험방법

본 연구는 국립보건안전연구원 예규 제10호 의약품 등의 독성시험기준(1988년 10월 29일)에 준하여 실시하였다.

시험물질

시험물질인 DA-3030은 동아제약(주) 생물공학연구실에서 생산한 무색의 액상물질(3 mg/2ml vial)로 순도는 98% 이상, Lot No는 CTS-001이었으며, 대조물질은 매체대조물질(10 mM sodium acetate, 5% mannitol, 0.004% tween 80, pH 4.0)을 사용하였다.

실험동물 및 사육환경

5주령의 마우스(ICR) 랫드(SD)를 서울대학교 실험동물사육장에서 구입하여 동물입수후 실험실에 순화시키는 기간을 약 1주일 두었으며, 그 기간중 일반증상을 관찰하여 건강한 동물만을 시험에 제공하였다.

본 시험은 온도 22±3°C, 상대습도 50±10%, 환기횟수 10~12회/hr, 조명시간 07:00 점등-19:00 소등, 조도 150~300 lux로 설정된 서울대학교 수의과대학 소동물 실험실에서 실시하였다. 순화, 검역, 투여 및 관찰 기간중 랫드는 polycarbonate 케이지(26×42×18 cm, 명진기계 제작), 마우스는 polycarbonate 케이지(20×26×13 cm, 명진기계 제작)에 사육상자당 5마리씩 사육하였다. 사육상자에는 시험번호, 동물번호 및 투여량을 기입한 tag를 붙였다. 사료는 실험동물용 고형사료(삼양사료 주식회사)를 자유섭취시켰으며, 음수는 상수도수를 자유섭취시켰

* To whom correspondence should be addressed.

Table III. Mortality of male and female ICR mice treated intragastrically with DA-3030 (G-CSF)

Sex	Dose ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Hours after treatment						Days after treatment							Final Mortality	
		1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	7		
Male	13,380	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	1,380	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	138	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	13.8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	1.38	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
Female	13,380	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	1,380	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	138	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	13.8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	1.38	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5

Table IV. Mortality of male and female Sprague Dawley rats treated intragastrically with DA-3030 (G-CSF)

Sex	Dose ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Hours after treatment						Days after treatment							Final Mortality	
		1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	7		
Male	13,380	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	1,380	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	138	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	13.8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	1.38	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
Female	13,380	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	1,380	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	138	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	13.8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	1.38	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5

Table V. Body weights of male and female ICR mice treated intragastrically with DA-3030 (G-CSF) (Mean \pm SD : g)

Sex	Days after treatment	Dose ($\mu\text{g}/\text{kg}$)					
		0	6,900	690	69	6.9	0.69
Male	0	20.23 \pm 3.02(5)	21.12 \pm 0.31(5)	21.12 \pm 2.10(5)	19.99 \pm 1.23(5)	20.12 \pm 1.43(5)	20.41 \pm 2.51(5)
	7	24.42 \pm 1.22(5)	24.76 \pm 3.32(5)	22.12 \pm 4.56(5)	23.97 \pm 2.65(5)	24.87 \pm 1.32(5)	24.23 \pm 1.20(5)
Female	0	17.34 \pm 3.14(5)	17.55 \pm 2.23(5)	16.98 \pm 3.45(5)	17.34 \pm 2.54(5)	17.22 \pm 1.05(5)	17.22 \pm 3.45(5)
	7	20.54 \pm 1.93(5)	19.64 \pm 2.44(5)	21.32 \pm 0.68(5)	20.12 \pm 2.86(5)	20.11 \pm 0.58(5)	20.33 \pm 3.02(5)

(5), No. of animals examined.

Table VI. Body weights of male and female SD rats treated intragastrically with DA-3030 (G-CSF) (Mean \pm SD : g)

Sex	Days after treatment	Dose ($\mu\text{g}/\text{kg}$)					
		0	6,900	690	69	6.9	0.69
Male	0	150.15 \pm 22.23(5)	149.96 \pm 15.34(5)	151.32 \pm 11.21(5)	150.34 \pm 20.16(5)	150.24 \pm 17.78(5)	150.78 \pm 19.18(5)
	7	192.40 \pm 19.25(5)	195.33 \pm 21.32(5)	193.52 \pm 18.15(5)	194.34 \pm 19.15(5)	195.14 \pm 20.67(5)	194.93 \pm 19.13(5)
Female	0	132.53 \pm 33.16(5)	133.51 \pm 14.51(5)	134.54 \pm 17.32(5)	134.43 \pm 18.12(5)	135.25 \pm 22.65(5)	135.11 \pm 11.34(5)
	7	161.33 \pm 31.29(5)	163.66 \pm 20.25(5)	159.16 \pm 14.23(5)	160.24 \pm 14.22(5)	162.24 \pm 15.22(5)	161.22 \pm 15.33(5)

(5), No. of animals examined.

Table VII. Body weights of male and female ICR mice treated intragastrically with DA-3030(G-CSF) (Mean± SD : g)

Sex	Days after treatment	Dose ($\mu\text{g}/\text{kg}$)					
		0	13,800	1,380	138	13.8	1.38
Male	0	21.26± 2.03(5)	21.34± 3.13(5)	22.15± 1.11(5)	19.99± 3.21(5)	20.12± 3.42(5)	20.41± 5.52(5)
	7	23.12± 2.45(5)	23.33± 3.68(5)	23.59± 2.65(5)	24.37± 4.58(5)	23.27± 3.22(5)	23.44± 1.56(5)
Female	0	17.48± 2.35(5)	18.12± 2.23(5)	17.78± 1.54(5)	18.11± 1.78(5)	17.56± 2.54(5)	17.26± 2.57(5)
	7	21.34± 0.93(5)	20.15± 3.35(5)	20.35± 2.78(5)	20.21± 4.11(5)	21.33± 1.15(5)	21.04± 2.52(5)

(5), No. of animals examined.

Table VIII. Body weights of male and female SD rats treated intragastrically with DA-3030(G-CSF) (Mean± SD : g)

Sex	Days after treatment	Dose ($\mu\text{g}/\text{kg}$)					
		0	13,800	1,380	138	13.8	1.38
Male	0	151.33± 13.34(5)	150.55± 20.14(5)	150.24± 18.22(5)	151.35± 19.26(5)	149.13± 16.26(5)	151.38± 20.01(5)
	7	195.21± 13.20(5)	194.32± 16.22(5)	197.12± 17.34(5)	195.33± 18.24(5)	194.21± 19.45(5)	195.68± 20.32(5)
Female	0	130.05± 21.33(5)	131.23± 18.32(5)	130.44± 16.47(5)	132.13± 22.11(5)	135.25± 21.35(5)	134.12± 18.31(5)
	7	162.35± 25.09(5)	161.67± 22.35(5)	164.26± 19.21(5)	162.56± 20.21(5)	163.45± 22.12(5)	163.21± 11.03(5)

(5), No. of animals examined.

LD₅₀치의 산출에는 Litchfield-Wilcoxon법을 이용하였다. 체중에 대한 유의성 검정법으로 one-way ANOVA에서 유의차가 인정되는 F값이 관찰될때 대조군과 각 용량군과 비교하기 위하여 Dunnett's t-test를 하였으며, 발생병변의 빈도는 χ^2 (chi-square)검정을 하였다.

결 과

폐사율

시험 전기간을 통하여 랫드와 마우스의 암수 모두에서 정맥내 및 경구투여시 폐사동물은 관찰되지 않았다(Tables I, II, III, IV).

임상증상

시험 전기간을 통하여 정맥 및 경구투여 시 랫드와 마우스의 암수 모두에서 본 시험물질에 의한다고 생각되는 어떠한 임상증상도 관찰되지 않았다.

체중변화

랫드와 마우스의 암수 각각 5개 용량으로 정맥 및 경구 투여한 군에서 대조군에 비하여 유의성있는 차이를 나타내지 않았다. 또한, 투여용량군 사이의 체중변화는 용량의존성을 나타내지 않았다(Tables V, VI, VII, VIII).

해부병리 소견

랫드와 마우스 모두에서 본 시험물질의 투여에 기인한다고 사료되는 어떠한 유의할 만한 병변을 관찰하지 못하였다.

고 찰

DA-3030(G-CSF)에 대한 급성독성시험을 ICR 마우스와 SD 랫드에서 정맥 및 경구로 최고용량(정맥 : 6,900 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 경구 : 13,800 $\mu\text{g}/\text{kg}$)까지 투여한 결과, 폐사 및 일반증상과 모든 생존동물에 대한 해부병리 소견에서 시험물질의 투여에 기인한다고 사료되는 변화는 관찰되지 않았다.

이상과 같은 결과를 종합하여 볼 때 시험물질인 DA-3030(G-CSF)은 정맥 및 경구 투여시 마우스와 랫드에서 아무런 급성독성을 나타내지 않았고, LD₅₀값은 정맥 투여시 랫드 및 마우스에서 최고용량인 6,900 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 경구 투여 최고용량인 13,800 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 이상일 것으로 사료된다.

참고문헌

- Lieschke, G. J. and Brfegess, A. W. (1992). Granulocyte colony-stimulating factor and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor(1), (2). *N. Engl. J. Med.* **327**, 28-35, 99-106.
- Nicola, S., Tsuchiya, M., Asano, S., Yamamoto, O., Hirata, Y., Kubota, N., Oheda, M., Nomura, H. and Yamazaki, T. (1986). The chromosomal gene structure and two mRNAs for human granulocyte colony stimulating factor. *EMBO J.* **5**, 575-581.