

## 새로운 안트라사이클린계 항암제 DA-125의 생식독성연구: 토끼 최기형시험

정문구\* · 김종춘 · 한상섭 · 노정구

한국화학연구소 안전성연구부

### Reproductive Toxicity of DA-125, A New Anthracycline Anticancer Agent: Teratogenicity Study in Rabbits

Moon Koo CHUNG\*, Jong Choon KIM, Sang Seop HAN and Jung Koo ROH

*Korea Research Institute of Chemical Technology, Toxicology  
Research Center, P.O. Box 107, Daejeon, 305-606, Korea*

(Received December 30, 1994; accepted February 9, 1995)

**Abstract**—DA-125, a new anthracycline antitumor antibiotic, was administered at dose levels of 0, 0.2, 0.6 and 1.8 mg/kg/day intravenously to pregnant New Zealand White rabbits from day 6 through 18 of gestation. The does were subjected to the caesarean section on day 28 of gestation. Effects of test agent on general toxicity of does and embryonic development of F1 fetuses were examined. At 1.8 mg/kg, the organ weight for ovary of does was significantly decreased. The decrease in the number of corpus lutea, implantations and litter size, and the increase in the rate of resorptions were also observed. In addition, various types of external, visceral and skeletal malformations occurred in fetuses at an incidence of 7.7, 7.7 and 20.6 %, respectively. The results show that the no effect dose levels (NOELs) of DA-125 are 0.6 mg/kg/day for does and F1 fetuses.

**Keywords** □ DA-125, antitumor antibiotic, teratogenicity study, rabbits

DA-125는 현재 동아제약(주) 연구소(경기도 용인군 기흥읍 상갈리 47-5)에서 개발중에 있는 안트라사이클린계 항종양성 항생제로서, 암세포주 및 일부 실험동물 악성종양에 대하여 현저한 항암작용이 있으며 또한 기존의 anthracycline계 항암약물로 구조적 유사체인 adriamycin에 비하여 심장독성, 국소자극성 등의 독성이 적다고 한다(백 등, 1993; 안 등, 1993). 그런데 본 약제는 다른 안트라사이클린계 약물과 마찬가지로 DNA에 작용하여 개열과 그에 따른 핵산합성 억제를 유발함으로써 작용한다고 한다(양, 1993). 한편, adriamycin은 상기한 독특한 작용기작 때문에 인간 및 랫트에 있어서 기형을 유발할 수 있으며(Thompson 등, 1978; Murray 등, 1984), 토끼에 있어서는 0.6 mg/kg의 용량으로 기관형성기동안 투여할 경우 유산을 야기시킨다는 사실이 보고된 바 있다(Thompson 등, 1977). 본 연구는 신약후

보물질의 생식독성학적 스크리닝(reproductive-toxicological screening)의 일환으로서 adriamycin의 유도체인 DA-125가 임신토끼의 배아 및 태자에 있어서 기형, 치사 또는 발육지연을 유발하는지를 조사하기 위하여 실시하였다. 본 시험은 의약품등의 독성시험기준(국립보건안전원, 1988)과 일본독성시험기준(Yakugyo Jiho Co., 1984)에 준하여 실시하였다.

#### 실험방법

##### 시험물질

본 시험에는 동아제약에서 합성한 DA-125 (Lot No. DA-125-026)가 사용되었다. DA-125의 구조식은 7-0-(2,6-dideoxy-2-fluoro- $\alpha$ -talopyranosyl)-adriamycinone-14- $\beta$ -alanilate HCl이고 분자량은 670이며 적색분말로서 순도는 95% 이상이었다. 주사시 DA-125는 1 mM lactic acid (in saline, pH 4.0) 용액에 용해시켜 사용하였다.

\* To whom correspondence should be addressed.

## 실험동물 및 사육환경

실험동물은 삼육 실험동물 연구센터(경기도 오산시 서랑동 77-1)로 부터 입수한 New Zealand White 토끼를 사용하였다. 교배는 철망사육상자에 수컷과 암컷동물을 무작위로 동거교배시켰고 1회 이상의 교미동작이 확인된 날을 임신 0일로 정하였으며 교미확인된 암컷 84마리를 시험에 사용하였다.

본 시험은 온도  $23 \pm 3^\circ\text{C}$ , 상대습도  $50 \pm 10\%$ , 환기횟수 10~20회/hr., 조명시간 12시간(오전 7시~오후 7시), 조도 200~300 Lux로 설정된 동물실에서 실시되었다. 시험기간중 사료는 실험동물용 고품사료(퓨리나코리아(주))를, 그리고 물은 상수도수를 자외선 유수살균기로 소독시킨 후 자유섭취시켰다.

## 투여량의 설정과 시험군의 구성

0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 1.0 및 3.0 mg/kg 의 6개 용량으로 예비시험을 실시한 결과, 3 mg/kg 군에서는 75%의 모동물이 사망하였으나 그 밖의 투여군에서는 어떠한 독성학적 소견도 관찰되지 않았다. 이를 기초로 1.8 mg/kg/day를 고용량으로 정하고 공비 3으로 중용량 및 저용량을 0.6 및 0.2 mg/kg/day로 설정하였으며 그외에 매체(1 mM L(+) Lactic acid) 대조군을 두었다. 각 군당 사용된 교미확인 동물수는 21마리였다.

## 투여방법 및 투여기간

동물의 이개정맥내로 임신 6일부터 임신 18일 까지 1일 1회 오전중에 연속투여하였다. 투여액은 0.2 ml/kg으로서 임신 6일, 10일 및 14일의 체중을 기준으로 산출하였다.

## 관찰 및 검사항목

**일반증상관찰** 시험기간중 1일 1회 동물의 일반증상, 중독증상, 유산, 조산 및 사망유무에 관해서 관찰하였고 투여기간중에는 투여 전후 1일 2회 관찰하였다.

## 체중 및 사료섭취량 측정

각 군의 전 어미동물에 대하여 임신 0, 6, 10, 14, 18, 23 및 28일째에 체중을 측정하였다. 그리고 사료섭취량은 모든 동물에 대하여 체중측정일에 사료를 급여한 후 익일 잔량을 측정하였다(단, 임신 28일째에는 제왕절개로 인해 임신 27일째에 사료급여한 후 익일 잔량을 측정함).

## 부검

각 군의 모든 동물들을 임신 28일째에 부검하여 체표, 체강, 흉강 및 복강의 전장기에 대하여 육안적 검사를 실시하였다. 모든 부검동물에 대해서 간장, 신장, 비장, 심장, 흉선, 부신 및 난소의 중량을 측정하였다.

## 제왕절개

각 군의 모든 동물들을 임신 28일째에 제왕절개하여 임신황체수, 착상수, 생존태자수, 흡수배아(태자)수, 사망태자수, 생존태자의 개체별 체중 등을 조사하였다.

## 태자의 외표검사

생존태자를 자궁에서 적출한 후 즉시 외표이상의 유무에 대하여 관찰하였다.

## 내부장기검사

제왕절개를 하여 얻은 모든 생존태자를 마취, 치사시킨 후 Stuckhardt 법(Stuckhardt 와 Poppe, 1984)에 따라서 내부장기 이상유무를 검사하였고 이때에 태자의 성별을 확인하였다.

## 골격검사

내부장기 검사를 마친 태자를 95% 에칠알콜에 고정한 다음 Dawson 법(Dawson, 1926)에 따라 골격표본을 제작하여 골격이상 유무 및 골화상태에 대하여 검사하였다.

## 통계학적 분석

얻어진 시험자료에 대한 통계분석은 SAS 프로그램(SAS institute Inc., Ver. 6.04)을 이용하였으며, 체중, 사료섭취량 및 장기중량은 일원배치분산분석(ANOVA)과 Dunnett 다중비교법으로, 빈도수를 나타내는 시험자료는 Kruskal-Wallis 검정과 Dunnett 다중비교법으로 각각 대조군과의 유의차를 조사하였다. 태자에 대한 시험자료는 성비를 제외하고 한배에서 나온 태자들의 평균체중, 빈도수(황체수, 흡수배아수, 사망태자수)를 이용하여 통계분석하였고, 성비에 대해서는  $\chi^2$  검정을 실시하였다. 전체적으로 검정의 유의수준은 0.01 혹은 0.05에서 검사하였다.

## 실험결과

### 모동물에 미치는 영향

#### 일반증상

모동물의 임신기간동안 대조군에서 비루(nasal discharge)가 2례, 탈모 및 연변이 각각 1례씩 관찰되었고, 0.2 mg/kg 군에서는 비루와 유루(lacrimation)가 각각 4례씩, 그리고 탈모가 2례 나타났다. 0.6 mg/kg 군에서는 비루와 연변이 각각 5 및 1례씩 발견되었으며, 1.8 mg/kg 군에서는 비루가 4례 그리고 연변 및 외이의 부종(edema)이 각각 2 및 1례씩 관찰되었다. 유산은 대조군과 0.2 mg/kg 군에서 각각 1례씩 나타났고, 사망례는 0.2 mg/kg 군에서 1례 발견되었다.

상기 소견들중 각 군에서 소수례씩 관찰된 비루, 유루, 탈모 및 외이의 부종은 보정에 의한 물리적 자극증상으로 사료되었고, 대조군, 0.6 mg/kg 군 및 1.8 mg/kg 군에서 각각 1, 1 및 2례씩 나타난 연변 그리고 대조군과 0.2 mg/kg 군에서 각각 1례씩 발견된 유산은 투여 스트레스에 기인된 소견으로 추정되었다. 또한 0.2 mg/kg군에서 1례 관찰된 모동물의 사망은 병리부검소견에서 나타난 바와 같이 질병에 기인한 것으로서 시험물질에 의한 변화는 아니었다.

#### 체중

모동물의 임신기간동안의 체중에 있어서 각 투여군과 대조군간의 유의차는 인정되지 않았다(Fig. 1).

#### 사료섭취량

모동물의 임신기간동안 모든 군에서 정상적인 사료섭취가 관찰되었다(Fig. 2).

**부검소견**

모동물의 임신 28일째 부검시 대조군에서 간장의 백색반점과 신장의 조면(rough surface)이 각각 6 및 1례씩 나타났고, 0.2 mg/kg군에서는 간장의 백색반점이 4례 관찰되었다. 0.6 mg/kg군에서는 간장의 백색반점, 신장의 조면 및 좌측신장결손이 각각 10, 1 및 1례씩 발견되었고, 1.8 mg/kg군에서는 간장의 백색반점이 4례 관찰되었다.

상기의 소견들은 병리조직소견이 없어서 병인을 단정하기는 어려우나 대조군에서도 관찰된 것으로 미루어 보아 시험물질에 기인한 변화는 아니었다. 또한 0.6 mg/kg 군에서 1례 나타난 좌측신장의 결손은 선천성 기형으로 판단되었다. 그리고 0.2 mg/kg 군의 사망례에서 관찰된 심막염(pericarditis)과 폐염(pneumonia)은 동물의 사망을 유발한 직접적인 원인으로 사료되었다.

**절대 및 상대장기중량**

부검시 측정된 장기중량에 있어서 1.8 mg/kg 군의 좌

측난소의 절대중량은 대조군에 비해 통계학적으로 유의성있는 감소를 나타냈고, 간장의 상대중량은 유의성있는 증가를 그리고 난소의 상대중량은 유의성있는 감소를 보였다(Table I).

상기 소견들중 1.8 mg/kg 군에서 나타난 간장의 상대중량 증가는 모동물의 체중감소에 따른 결과로 사료되었고, 난소의 절대 및 상대중량 감소는 시험물질에 기인한 소견으로 판단되었다.

**태자에 미치는 영향**

**제왕절개성적**

제왕절개시 조사된 사망태자수, 성비 및 태자체중에 있어서 각 투여군과 대조군간의 유의차는 인정되지 않았다. 황체수, 착상수 및 산자수는 1.8 mg/kg군에서 통계학적으로 유의성있는 감소를 나타냈다. 반면에 착상수에 대한 흡수배이수의 비율은 1.8 mg/kg군에서 유의성있게 증가했다(Table II). 1.8 mg/kg군에서 나타난 상기 소견들은 모두 시험물질의 영향으로 사료되었다.

생존태자의 외표이상 관찰시 1.8 mg/kg군에서 척추의

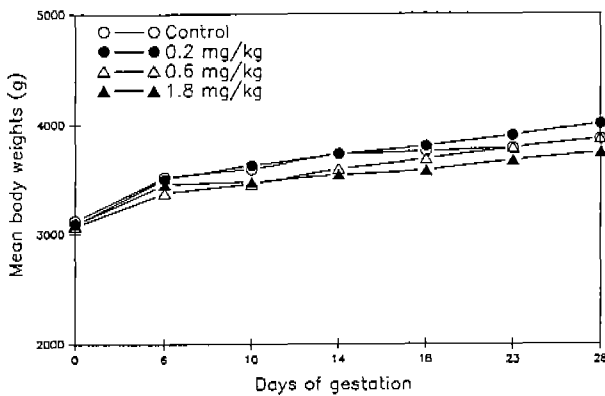


Fig. 1. Mean body weight changes during the gestation of does treated with DA-125.

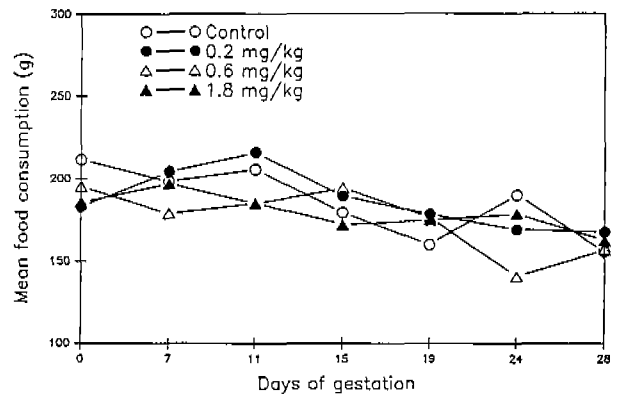


Fig. 2. Mean food consumption during the gestation of does treated with DA-125.

Table I. Relative organ weights of does treated with DA-125

Dose (mg/kg)	0	0.2	0.6	1.8
No. of does	14	15	17	14
Body weight (g)	3875.9 ± 449.3	4010.0 ± 315.4	3876.1 ± 286.0	3752.2 ± 360.5
<b>% Body weight</b>				
Kidney-left	0.243 ± 0.050	0.234 ± 0.027	0.238 ± 0.034	0.249 ± 0.029
Kidney-right	0.244 ± 0.047	0.232 ± 0.026	0.247 ± 0.058	0.246 ± 0.027
Spleen	0.053 ± 0.024	0.050 ± 0.016	0.051 ± 0.016	0.058 ± 0.017
Thymus	0.076 ± 0.035	0.094 ± 0.037	0.082 ± 0.037	0.100 ± 0.029
Liver	2.794 ± 0.614	2.916 ± 0.490	3.002 ± 0.545	3.443 ± 0.508**
Ovary-left	0.016 ± 0.005	0.017 ± 0.004	0.013 ± 0.005	0.011 ± 0.005**
Ovary-right	0.015 ± 0.005	0.017 ± 0.005	0.014 ± 0.005	0.010 ± 0.005*
Heart	0.220 ± 0.031	0.224 ± 0.029	0.217 ± 0.023	0.228 ± 0.019
Adrenal gland-left	0.005 ± 0.002	0.004 ± 0.002	0.005 ± 0.002	0.005 ± 0.001
Adrenal gland-right	0.005 ± 0.005	0.004 ± 0.002	0.004 ± 0.002	0.004 ± 0.001

Values are Mean ± S.D.

\* and \*\* indicate significant difference at p<0.05 and p<0.01 levels when compared with the control group

**Table II.** Caesarean section date of dose treated with DA-125

Dose (mg/kg)	0	0.2	0.6	1.8
No. of pregnant animals	14	15	17	14
Corpora lutea (Mean±S.D.)	12.64± 4.16	13.67± 5.27	12.06± 5.09	9.07± 3.34*
Implantations (Mean±S.D.)	10.00± 3.57	10.53± 5.15	9.47± 4.64	5.50± 3.59**
% to corpora lutea (Mean±S.D.)	80.33± 19.74	76.64± 21.24	78.83± 14.63	61.73± 30.70
Fetal deaths (resorptions+dead fetuses)	26	37	38	51
Resorptions				
Early	19	19	25	48
Late	0	0	0	0
Mean±S.D.	1.36± 1.60	1.27± 2.55	1.47± 2.27	3.43± 2.77
% to implantations (Mean±S.D.)	18.1± 28.7	14.1± 26.0	15.1± 25.4	69.0± 41.1**
Dead fetuses	7	18	13	3
Live fetuses				
Male/Female	61/53	59/62	64/59	15/11
Litter size (Mean±S.D.)	8.14± 3.94	8.07± 4.59	7.24± 3.33	1.86± 2.88**
% to implantation (Mean±S.D.)	78.12± 28.46	78.05± 24.97	79.60± 26.81	29.17± 39.60**
Sex Ratio (male/female)	1.15	0.95	1.08	1.36
No. of fetuses with external anomalies (%)	0	0	0	2 <sup>a</sup> (7.7)
Body weight of live fetuses				
Male (Mean±S.D.)	36.48± 6.64	34.48± 8.57	34.03± 5.35	36.44± 4.10
Female (Mean±S.D.)	34.48± 5.89	33.80± 8.35	34.13± 6.30	34.74± 3.83

\* and \*\* indicate significant difference at  $p < 0.05$  and  $p < 0.01$  levels when compared with the control group <sup>a</sup>Camptodactylia, gastroschisis, lordosis, scoliosis, vestigial tail



**Fig. 3.** Multiple external anomalies(scoliosis, gastroschisis, camptodactylia, vestigial tail) in a fetus of 1.8 mg/kg group.



**Fig. 4.** Lordosis and gastroschisis in a fetus of 1.8 mg/kg group.

측만곡(scoliosis), 복벽파열(gastroschisis), 굴지증(camptodactylia) 및 흔적미(vestigial tail)의 복합기형(Fig. 3)과 척추전만증(lordosis) 및 복벽파열의 복합기형(Fig. 4)이 각각 1례씩 총 2례(7.7%) 관찰되었다. 그런데 1.8 mg/kg군의 외표기형 발현율은 대조군에 비해 통계학적인 유의성은 나타나지 않았으나 자연발생적으로 출현하지 않는 척추만곡, 굴지증 등의 특이소견이 관찰됨으로써 생물학적 유의성이 인정되어 시험물질에 기인한 소견으로 판단되었다.

#### 내부장기검사

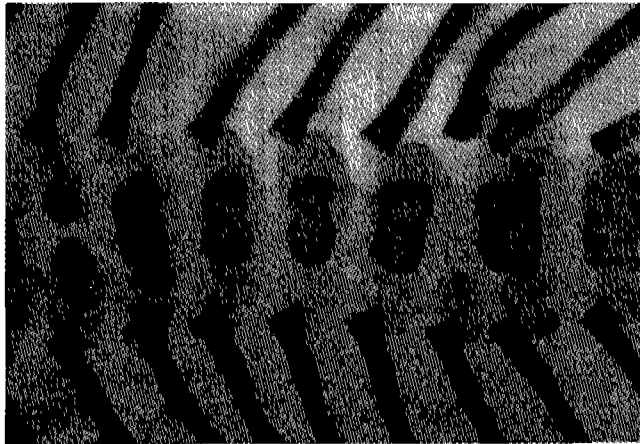
임신 28일째에 적출한 F1 태자의 내부장기검사시 대

조군에서는 신우확장(dilatation of renal pelvis)과 식도 전위(shift in position of esophagus)[변이(variation)]가 2례(1.8%) 관찰되었고, 0.2 mg/kg군에서는 외측뇌실확장(dilatation of lateral ventricle) 및 소안증(microphthalmia)[기형(malformation)]이 1례(0.8%) 그리고 좌측 총경동맥의 기시이상(abnormal origin of left A. carotis) 및 우측신장의 전위(dislocation of right kidney)[변이]가 3례(2.5%) 관찰되었다. 0.6 mg/kg군에서는 소안증[기형]이 1례(0.8%) 그리고 좌측총경동맥의 기시이상 및 식도 전위[변이]가 4례(3.3%) 발견되었으며, 1.8 mg/kg군에서는 횡격막탈장(diaphragmatic hernia) 및 심실중격결손

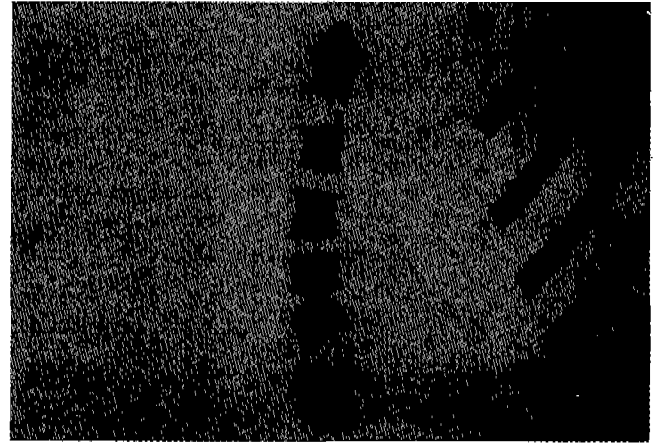
**Table III.** Visceral findings in fetuses from does treated with DA-125

Dose (mg/kg)	0	0.2	0.6	1.8
No. of does	13	14	16	6
No. of fetuses examined	114	121	123	26
No. of fetuses with malformations (%)	0	1 <sup>a</sup> (0.8)	1 <sup>b</sup> (0.8)	2 <sup>c</sup> ( 7.7)
No. of fetuses with variations (%)	2 <sup>d</sup> (1.8)	3 <sup>e</sup> (2.5)	4 <sup>f</sup> (3.3)	5 <sup>g</sup> (19.2)

<sup>a</sup>Dilatation of lateral ventricle, microphthalmia <sup>b</sup>Microphthalmia <sup>c</sup>Diaphragmatic hernia, ventricular septal defect <sup>d</sup>Dilatation of renal pelvis, shift in position of esophagus <sup>e</sup>Abnormal origin of left A. carotis, dislocation of right kidney <sup>f</sup>Abnormal origin of left A. carotis, shift in position of esophagus <sup>g</sup>Abnormal origin of left A. carotis



**Fig. 5.** Multiple skeletal anomalies(bicentric thoracic vertebral body, absence of 7th thoracic vertebral body and left arch) in a fetus of 1.8 mg/kg group.



**Fig. 6.** Fused sternbrae in a fetus of 0.2 mg/kg group.

(ventricular septal defect)[기형]이 2례(7.7%) 그리고 좌측 총경동맥의 기시이상[변이]이 5례(19.2%) 관찰되었다(Table III).

상기 소견들중 1.8 mg/kg군에서 나타난 기형 및 변이 발현율은 대조군에 비하여 통계학적인 유의차는 보이지 않았으나 New Zealand White 계통 토끼에 대한 기초 데이터의 수치를 훨씬 상회하여서(Morita 등, 1987) 생물학적 유의성이 인정되었고 따라서 이는 시험물질에 기인된 소견으로 사료되었다.

**골격검사**

토끼태자의 골격소견은 신체의 기능장애 유발여부, 골화정도 등에 따라서 기형, 변이 및 골화지연(retardation)으로 구분된다. 임신 28일째에 적출한 태자의 골격 검사시 대조군에서는 파열늑골(broken rib), 부유늑골(flying rib), 늑골유착(fused ribs), 7번 늑골결손(absence of 7th rib), 7번 흉추결손(absence of 7th thoracic vertebrae) 및 11번 흉추결손(absence of 11th thoracic vertebrae)[기형]이 3례(2.6%), 8번 요추(8th lumbar vertebrae), 13번 늑골(13th rib) 및 흉골분절의 이분(cleaved sternebra)[변이]이 45례(39.5%) 그리고 아령형 흉추추체(dumbbell-shaped thoracic vertebral body) 및 흉추추체의 이분(bicentric thoracic vertebral body, Fig. 5)[골

화지연]이 2례(1.8%) 관찰되었다. 0.2 mg/kg군에서는 흉골유착(fused sternbrae, Fig. 6), 늑골유착 및 비대칭 장골(asymmetric os ilium)[기형]이 4례(3.0%), 8번 요추, 9번 요추, 13번 늑골 및 비대칭 흉골분절(asymmetric sternebra)[변이]이 47례(38.8%) 그리고 흉추추체이분, 아령형 흉추추체, 흉골분절의 이분 및 아령형흉골분절(dumbbell-shaped sternebra)[골화지연]이 7례(5.8%) 나타났다. 0.6 mg/kg군에서는 늑골유착, 흉골분절유착, 3번 흉골분절의 돌출(protrusion of 3rd sternebra), 미추유착(fused caudal vertebrae) 및 9번 흉추추궁결손(absence of 9th thoracic vertebral arch)[기형]이 5례(4.1%), 6번 요추, 8번 요추, 13번 늑골 및 비대칭 흉골분절[변이]이 49례(39.8%) 그리고 아령형 흉추추체 및 흉골분절의 이분[골화지연]이 2례(1.6%) 관찰되었다. 또한 1.8 mg/kg 군에서는 척추외측만곡(scoliosis), 척추전만증(lordosis), 요추추체유착(fused lumbar vertebral body), 천추추궁유착(fused sacral vertebral arches), 12번 늑골결손, 11번 및 12번 늑골결손, 7번 흉추의 추체 및 좌측추궁 결손(Fig. 5), 1번 및 2번 요추추궁결손, 늑골유착, 흉골분절유착(Fig. 6)[기형]이 4례(15.4%), 8번 요추, 13번 늑골 및 비대칭 흉골분절[변이]이 5례(19.2%) 그리고 흉추추체의 이분 및 흉골분절의 이분[골화지연]이 2례(7.7%) 발견되었다(Table IV).

상기 소견들중 1.8 mg/kg군에서 나타난 태자골격기형

**Table IV.** Skeletal findings in fetuses from does treated with DA-125

Dose (mg/kg)	0	0.2	0.6	1.8
No. of does	13	14	16	6
No. of fetuses examined	114	121	123	26
No. of fetuses with malformation (%)	3 <sup>c</sup> ( 2.6)	4 <sup>b</sup> ( 3.0)	5 <sup>c</sup> ( 4.1)	4 <sup>d</sup> (15.4)
No. of fetuses with variations (%)	45 (39.5)	47 (38.8)	49 (39.8)	5 (19.2)
No. of fetuses with retardations (%)	2 ( 1.8)	7 ( 5.8)	2 ( 1.6)	2 ( 7.7)
No. of ossification centers (Mean± S.D.)				
Sternebrae	5.8± 0.2	5.8± 0.2	5.8± 0.2	5.6± 0.4
Metacarpals in both forelimbs	9.9± 0.2	9.5± 0.7	9.8± 0.4	9.8± 0.3
First & second phalanges in both forelimbs	16.8± 0.8	16.4± 1.1	16.1± 1.9	16.3± 1.9
Third phalanges in both forelimbs	10.0± 0.1	10.0± 0.0	10.0± 0.1	10.0± 0.1
Metatarsals in both hindlimbs	8.0± 0.0	8.0± 0.0	8.0± 0.0	8.0± 0.0
First & second phalanges in both hindlimbs	15.7± 0.4	15.3± 1.0	15.3± 1.0	15.7± 0.7
Third phalanges in both hindlimbs	8.0± 0.0	8.0± 0.0	8.0± 0.0	8.0± 0.0
Sacral and caudal vertebrae	19.2± 0.6	19.2± 0.6	19.1± 0.6	19.1± 1.1

<sup>a</sup>Broken rib, flying rib, fused ribs, absence of 7th rib, absence of 7th thoracic vertebrae, absence of 11th thoracic vertebrae <sup>b</sup>Fused sternebrae, fused ribs, asymmetric os ilium <sup>c</sup>Fused ribs, fused sternebrae, fused caudal vertebrae, protrusion of 3rd sternebra, absence of 9th thoracic vertebral arch <sup>d</sup>Lordosis, scoliosis, fused ribs, fused sternebrae, fused lumbar vertebral body, fused sacral vertebral arches, absence of 12th rib, absence of 11th and 12th ribs, absence of 7th thoracic vertebrae, absence of 1st and 2nd lumbar vertebral arches

의 발현율은 대조군에 비해 통계학적으로 유의성있게 증가하지는 않았으나 척추외측만곡, 척추전만증 등의 특이소견이 관찰되어 생물학적 유의성이 인정되었고 따라서 시험물질에 의한 영향으로 사료되었다.

## 고 찰

DA-125는 동아제약에서 개발중인 안트라사이클린계 항종양성 항생제이다. 이러한 DA-125를 0, 0.2, 0.6 및 1.8 mg/kg의 용량으로 New Zealand White 계통의 토끼에 임신 6일부터 임신 18일까지 투여하여 모동물의 일반상태 및 태자발생에 미치는 영향을 조사하였다.

모동물에서 나타난 난소중량의 감소와 제왕절개시 관찰된 황체수 및 착상수의 감소는 시험물질의 영향으로 상호연계되어 나타난 소견임이 명백하다. 토끼의 경우 착상일은 임신 7~8일로 보고되어 있는데(Manson과 Kang, 1989), 본 최기형시험에서는 시험물질의 투여가 착상전인 임신 6일부터 시작되어 1차적으로 시험물질에 기인한 착상전 배아사망(preimplantation loss)이 유발되었고 이에 따른 결과로서 착상수의 감소, 임신황체의 퇴화에 따른 황체수의 감소 및 난소중량의 감소가 초래된 것으로 사료된다. 또한 배아흡수율의 증가는 시험물질에 기인한 배아치사효과(embryocidal effect)로서 설명되며, 이로 인하여 산자수의 감소가 야기된 것으로 판단된다.

태자의 외표검사시 1.8 mg/kg군에서 관찰된 척추기형, 굴지증 및 복벽파열과 내부장기검사시 역시 1.8 mg/kg군에서 발견된 횡격막탈장 및 심실중격결손은 중기형(major anomaly)에 속하는 소견들로서 시험물질이 암세

포와 마찬가지로 세포분열이 빠른 배아(태자)에 작용하여 세포 및 조직의 분화장애 등을 야기시킴으로써 나타난 것으로 사료된다.

낮은 빈도의 변이는 보통 시험물질과 무관하게 자연 발생적으로 나타날 수 있지만 그 발현율이 현저히 높거나 용량상관성있게 나타날 경우 시험물질에 기인한 독성효과로 간주된다. 배아흡수의 증가로 태자의 표본수가 자아군간의 비교가 다소 어렵기는 하지만 1.8 mg/kg군의 경우 좌측총경동맥의 기시이상과 같은 내부장기변이가 높은 발현율(19.2%)로 나타남으로써 DA-125는 변이유도물질임을 알 수 있었다.

태자의 골격검사시 1.8 mg/kg군에서 관찰된 척추만곡, 흉추결손, 요추추체유착, 요추추궁결손, 천추추궁유착, 늑골유착 및 늑골결손은 중기형에 속하며 상기한 외표 및 내부장기 기형과 동일한 기작에 의하여 발현한 것으로 사료된다. 그리고 흉골분절유착은 경기형(minor anomaly)에 속하는 소견으로서 자연발생적으로도 나타날 수도 있으나 본 시험에서는 모독성(maternal toxicity)의 결과로 나타난 비특정 최기형효과(nonspecific teratogenic effect)인 것으로 추정된다. 그런데 DA-125 와 동일 계열의 약제인 adriamycin과 tetrahydropyranil-adriamycin의 최기형성연구(Thompson 등, 1978; Kurebe 등, 1986) 에서는 각각 0.6 또는 0.1 ml/kg의 용량으로 기관형성기 동안 정맥투여했을 때 어떠한 태자기형도 관찰되지 않아 유사 물질들간에 기형유발성에 있어서 차이가 있음을 알 수 있었다.

이상의 결과를 종합하여 볼 때 본 최기형시험에 의한 DA-125의 무해용량(NOEL)은 모동물 및 태자에 있어서

공히 0.6 mg/kg 이라고 사료된다.

### 감사의 말씀

본 연구는 1993년도 과학기술처 신약개발연구비 지원에 의하여 수행되었습니다. 본 시험을 수행하는데 기술적인 도움을 주신 최규갑, 이상준씨 그리고 통계처리를 맡아주신 김정란씨에게 감사를 드립니다.

### 참고문헌

- Dawson, A. B. (1926). A note on the staining of the skeleton of cleared specimens with Alizarin Red S. *Stain Technol.* 1, 123-124.
- Kurebe, M., Asaoka, H., Moriguchi, M., Hata, T., Okano, K. and Ito, M. (1986). A study on the effect of (2''R)-4'-o-tetrahydropyranyl-adriamycin, a new antitumor antibiotic, on reproduction. II. Its teratogenicity in rats and rabbits. *Jap. J. Antibiotics* 39(2), 161-190.
- Manson, J. M. and Kang, Y. J. (1989). Test methods for assessing female reproductive and developmental toxicology. In: Principles and methods of toxicology. (W. Hayes *et al.* eds.), Raven press, New York, pp. 311-359.
- Morita, H., Ariyuki, F., Inomata, N., Nishimura, K., Kagegawa, Y., Miyamoto, M. and Watanabe, T. (1987). Spontaneous malformations in laboratory animals: Frequency of external, internal and skeletal malformations in rats, rabbits and mice. *Cong. Anom.* 27, 147-206.
- Murray, C. L., Reichert, J. A., Anderson, J. and Twigg, L. B. (1984). Multimodal cancer therapy for breast cancer in the first trimester of pregnancy. A case report. *JAMA* 252, 2607-2608.
- Stuckhardt, J. L. and Poppe, S. M. (1984). Fresh visceral examination of rat and rabbit fetuses used in teratogenicity testing. *Teratogen. Carcinogen. Mutagen.* 4, 181-188.
- Thompson, D. J., Molello, J. A., Strebing, R. J. and Dyke, I. L. (1978). Teratogenicity of adriamycin and daunomycin in the rat and rabbit. *Teratology* 17, 151-158.
- Yakugyo Jiho Co. (1984). Toxicity Test Guideline: Collection of notifications related to the pharmaceutical affairs law (IV), Japan.
- 국립보건안전원 (1988). 의약품등의 독성시험기준, 국립보건안전연구원, 예규 제 10호.
- 백남기, 안병옥, 이순복, 김원배, 양중익, 渡邊俊彦 (1993). 새로운 항암성 항생물질 DA-125의 심장독성에 대한 평가, 응용약물학회지 1(1), 9-19.
- 안병옥, 백남기, 이순복, 김원배, 양중익, 김부영, 김대병, 이종권 (1993). DA-125의 국소자극성, 응용약물학회지 1(1), 20-25.
- 양중익 (1993). 항종양 치료제 개발연구, 과학기술처, pp. 271-311.