

CJ-50001(recombinant human granulocyte-colony stimulating factor)의 흰쥐와 개에서의 약물동태학적 연구

김성남* · 신재규 · 이수정 · 정용환 · 하석훈 · 김기완 · 고형곤 · 김제학
제일제당 주식회사 종합연구소

Pharmacokinetics of CJ-50001, Recombinant Human Granulocyte-Colony Stimulating Factor, in Rats and Dogs

Sung Nam KIM*, Jae Kyu SHIN, Soo Jung LEE, Yong Hwan JUNG,
Suk Hoon HA, Ki Wan KIM, Hyung Kon KOH and Je Hak KIM
R&D center, Cheil Jedang Corp., 522-1 Dokpyong-Ri, Majang-Myon. Ichon-Si,
Kyonggi-Do 467-810, Korea

(Received July 15, 1998; accepted September 11, 1998)

Abstract – The pharmacokinetics of CJ-50001 (recombinant human granulocyte-colony stimulating factor, developed by R&D center of Cheil Jedang Corp.) were investigated in rats and dogs. The serum concentrations of CJ-50001 were measured by a sandwich enzyme immunoassay. After single intravenous (iv) administration of CJ-50001 to rats at a dose of 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, the mean terminal half-life and area under the concentration-time curve (AUC) were 0.96 h and 124.49 $\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{ml}$, respectively. After single subcutaneous (sc) administration at the same dose, maximum serum concentration was observed at about 2 hours after administration, and the mean terminal half-life, AUC and the bioavailability were 1.11 h, 63.58 $\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{ml}$ and 51.07%, respectively. In repeated dosing studies, CJ-50001 was administered iv and sc to rats at a daily dose of 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ for 7 days. The pharmacokinetic parameters, such as mean AUC and terminal half-life, were not significantly different from those of single administration. Following single iv and sc administration of CJ-50001 to dogs at a dose of 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, mean AUCs were much higher than those of rats, due to the decreased clearance (CL). After sc administration to dogs, maximum serum concentration was observed at 2~4 hours after administration and the bioavailability was 54.60%.

Keywords □ CJ-50001, recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (rhG-CSF), pharmacokinetics, bioavailability (BA)

G-CSF(Granulocyte-Colony Stimulating Factor)는 단구/대식구, 섬유아세포, 성세포 및 내피세포에 의해 만들어져 골수내에서 호중구 생성과 호중구 전구세포의 증식, 분화, 그리고 마지막 단계에서의 활성화(탐식능 향상, respiratory burst와 관련된 세포내 대사과정 야기, 항체의존성 세포독성 등)를 특이적으로 향상시키는 조혈인자의 일종이다(Nicola 등, 1983; Nagata, 1994).

인간의 G-CSF를 유전자 재조합 기술을 이용하여 대장균(*Escherichia coli*) 혹은 동물 세포로부터 대량 발현시킬 수 있게 되었고(Souza 등, 1986), 대량 생산된 recombinant human G-CSF(rhG-CSF)를 임상적으로 실용화함으로써 골수

이식 환자들에서 골수의 회복촉진, 골수 억제성 항암제 치료환자의 기회감염 감소 및 재생 불량성 빈혈환자의 호중구 기능 향상 등의 임상적 치료효과를 나타내었고, 또한 약물에 의해 야기되는 호중구 감소증의 치료 등에 사용하게 되었다. 대장균에서 생산된 rhG-CSF는 당이 없는 단백질로서 당단백질인 인간의 G-CSF와 비교하여 시험관내 약효 및 생체내 약효측면에서는 유사하지만 분포용적은 작다고 알려져 있다(Tanaka 등, 1992, Souza 등, 1986).

제일제당 (주) 종합연구소에서는 대장균을 발현계로 하여 유전자 재조합 기술로 생산한 CJ-50001(rhG-CSF)을 흰쥐 및 개를 대상으로 정맥주사 및 피하주사로 일회 및/또는 반복 투여 후 혈청중 농도를 측정하여 이들 실험동물에서의 체내약물동태 및 피하주사의 생체이용율을 평가하였다.

* To whom correspondence should be addressed.

실험방법

시험물질

실험에 사용한 CJ-50001은 제일제당(주) 종합연구소에서 대장균을 이용하여 생산, 정제된 것을 물질 안정화제로 0.004%의 Tween 80을 첨가한 10 mM acetate buffer(pH 4.0)를 사용하여 5 µg/ml로 희석하여 사용하였다.

실험동물

실험에 사용한 음성 Sprague-Dawley(SD) 흰쥐는 Charles River(Atsugi, Japan)에서 수입하여 1주일 동안의 검역기간을 거쳐 건강한 동물만을 선별하여 사용하였으며, 실험당시에 6주령으로 체중은 200~250 g이었다. 또한 실험에 사용한 개(beagle dog)는 Hazleton Research Products(Kalamazoo, MI, U.S.A)에서 구입하여 사용하였고 실험 당시의 체중은 9~12 kg이었다. 사육실은 온도 23±3℃, 상대습도 50±10%, 환기횟수 12~13회/h, 조도 150~300 Lux조건으로 유지되었다. 검역기간 및 시험기간 중에는 실험동물용 고형사료(제일제당(주))를 섭취시켰으며, 수돗물을 자유롭게 섭취할 수 있도록 하였다.

혈액의 채취

흰쥐 실험에서 일회 투여의 경우, 각 군을 5마리로 하여 CJ-50001을 5 µg/kg의 용량으로 각각 정맥 또는 피하주사로 투여하였다. 정맥주사는 흰쥐의 꼬리정맥을 통하여 투여하였고, 피하주사는 등배부로 투여하였다. CJ-50001을 각 경로로 투여한 후 20분, 40분, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6 및 8시간 후에 꼬리말단을 베어 약 500 µl의 혈액을 취하여 eppendorf tube에 담은 후 12,000 rpm에서 5분간 원심분리하여 혈청을 취하였다. 반복투여인 경우는 일회 투여와 같은 방법으로 7일간 1일 1회 같은 시간에 투여하고 7일째 투여 후 일회 투여시와 같은 시간대에 같은 방법으로 채혈하였다. 개 실험은 각 군을 4 마리로 하여 CJ-50001을 5 µg/kg의 용량으로 각각 정맥 또는 피하주사로 투여하였다. 정맥주사는 우측 앞다리 요측 피정맥을 통하여 하였고, 피하주사는 배측 경부로 투여하였다. 흰쥐에서와 같은 시간대에 좌측 앞다리 요측 피정맥에서 채혈하고 같은 방법으로 혈청을 얻었다. 각 동물에서 분리한 혈청은 분석할 때까지 -20℃에 보관하였다.

혈청중 약물농도의 측정

Quantikine kit(R&D Systems, Inc. Minneapolis, MN, U.S.A)에 포함된 calibrator diluent RD6A를 사용하여 표준품 및 검체를 적당히 희석하여 표준액과 검액을 조제하였다. 동일 kit의 microtiter plate에 assay diluent RD1A를 100 µl씩 넣은 후 희석된 표준액 및 검액 100 µl를 각각의 well에 넣고 실온에서 2시간 동안 방치하였다. 방치 후 kit에 포함된 세척액으로 3회 세척하고 200 µl의 G-CSF conjugate를 넣은 다음 실온에서 2시간 방치하였다. 세척액으로 3회 세척

한 후 기질용액(color A와 color B를 1:1로 혼합한 액)을 넣어 실온에서 약 20분간 방치 후 stop solution 500 µl을 넣었다. 450 nm에서의 흡광도와 540 nm에서의 흡광도의 차이로 혈청중 약물농도값을 구하였다.

약물동태학적 해석

시간 0에서 무한대까지 CJ-50001의 혈청중 농도-시간 곡선하 면적(AUC)과 1차 모멘트 곡선하 면적(AUMC), 평균 체류시간(MRT), 클리어런스(CL), 피하주사의 평균흡수 시간(MAT) 및 생체이용율(F)은 모델 비의존적 방법으로 다음 식에 의하여 구하였다(Gibaldi and Perrier, 1982).

$$AUC = \int_0^T C_p dt + \frac{C_{plast}}{\lambda_z}$$

$$AUMC = \int_0^T C_p dt \cdot t dt + \frac{T \cdot C_{plast}}{\lambda_z} + \frac{C_{plast}}{\lambda_z^2}$$

$$MRT = \frac{AUMC}{AUC}$$

$$MAT_{sc} = MRT_{sc} - MRT_{iv}$$

$$F = \frac{AUC_{sc}}{AUC_{iv}}$$

$$CL = \frac{Dose}{AUC}$$

여기에서 T는 실험동물에서의 최종 채혈시간, C_p 는 최종 채혈시간에서의 약물의 농도, λ_z 는 terminal phase의 기울기를 나타내며, 반감기와 CL의 평균은 조화평균의 방법으로 구하였다(Chiou등, 1979).

또한 흰쥐의 일회 정맥주사의 약동학적 파라미터를 two-compartment model에 따라 WinNonlin™ program(Scientific Consulting, Inc., Cary, NC, U.S.A)으로 분석하여 모델 비의존적 방법과 비교하였다.

통계분석

각 시험 결과는 Student's t-test를 사용하여 통계 처리하였다($p < 0.05$).

실험결과 및 고찰

CJ-50001은 제일제당(주) 종합연구소에서 대장균(*E. coli*)을 이용하여 생산한 recombinant human granulocyte-colony stimulating factor(rhG-CSF)이다. CJ-50001을 흰쥐 및 개에 정맥주사 및 피하주사로 일회 및/또는 반복 투여한 후 약물 동태학적 특성을 알아보았다.

흰쥐에 CJ-50001을 5 µg/kg 용량으로 정맥주사 및 피하주사로 각각 투여하였을 경우 평균 혈청농도-시간 추이를 Fig. 1에 나타내었으며, 이를 모델 비의존적 방법으로 해석한 결과를 Table I에 나타내었다.

정맥주사시 혈청중 농도는 처음 2시간 동안 빠르게 소실

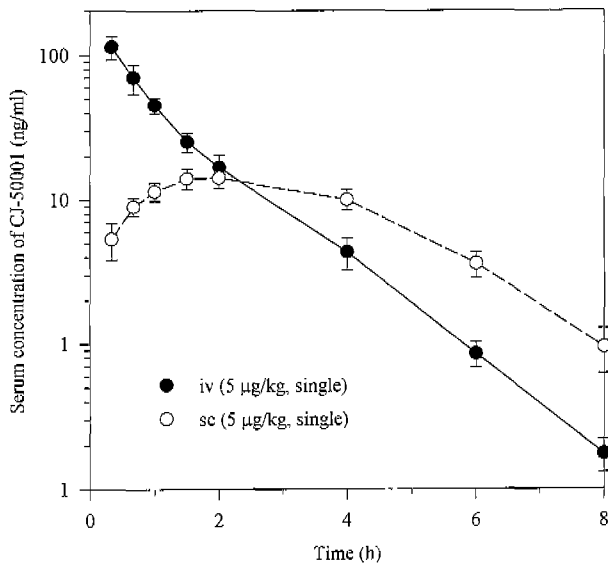


Fig. 1. Serum concentration-time profiles of CJ-50001 after single intravenous or subcutaneous administration to rats. Each point is the mean of five rats with S.D. indicated by bars.

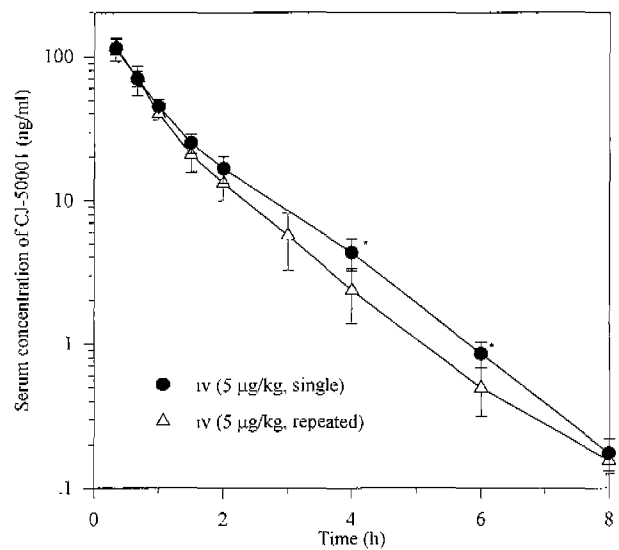


Fig. 2. Serum concentration-time profiles of CJ-50001 after single or 7-consecutive day intravenous administrations at a daily dose of 5 µg/kg to rats. Each point is the mean of five rats with S.D. indicated by bars. **p*<0.05.

되고, 그 이후에는 보다 완만히 소실되는 biexponential한 양상을 보였으며, 이는 생쥐나 흰쥐에서 rhG-CSF의 혈장중 농도가 polyexponential하게 감소한다는 보고(Lee 등, 1994) 및 biexponential equation에 잘 맞는다는 보고(Tanaka 등, 1991b)와 일치하였다. 또한 Table V에 제시한 two-compartment model을 가정하여 계산한 약동학 파라메타도 모델 비의존적으로 구한 파라메타와 유의성있는 차가 없었다.

피하주사시 혈청중 농도는 투여 후 서서히 증가하여 약 2시간 후에 최고농도에 이르렀고, 이후 정맥주사시보다 다소 완만하게 감소하였으나 반감기에 있어 유의성있는 차이는 없었다. 또한 피하주사시 약 2시간 이후부터의 혈청중 농도는 정맥주사에서의 같은 시간대의 혈청중 농도보다 높게 나타났다. Tanaka 등은 흰쥐의 혈청중에서의 rhG-CSF의 빠른 소실은 신이나 간에서의 대사 때문으로 투여경로와 무관하며, 따라서 피하주사시에 혈청중 농도가 오래 유지되는 것은 피하주사부위로부터 전신혈액순환계로 rhG-CSF가 천천히 유리되기 때문이라고 보고하였다(Tanaka 등, 1989).

rhG-CSF의 정맥투여시의 반감기는 5 µg/kg 투여군에 비해 10 µg/kg 및 100 µg/kg에서 유의성있게 증가하여 용량 의존성을 나타낸다고 보고된 바가 있으나(Tanaka 등, 1990,

Lee 등, 1994), Table I의 약동학 파라메타에서 정맥주사와 피하주사시 반감기가 유의성있는 차이를 보이지 않아 피하주사시의 생체이용률 계산시 용량의존성을 고려하지 않았다. 정맥주사시와 피하주사시의 평균 AUC는 각각 124.49 ng · h/ml 및 63.58 ng · h/ml로서 피하주사시 CJ-50001의 생체이용률은 51.07%이었고, 정맥주사시와 피하주사시의 평균 MRT는 각각 1.26 시간 및 3.11 시간이었으며, 피하주사시 평균 MAT는 1.85시간이었다. 피하주사시 생체이용률이 낮은 이유는 주사부위의 protease에 의한 약물의 분해 때문으로 여겨진다(Petros 등, 1992)

CJ-50001을 5 µg/kg 용량으로 흰쥐에게 정맥주사 및 피하주사로 7일간 반복 투여한 후 측정된 혈청중 농도를 일회 투여시의 혈청중 농도와 비교하여 Fig. 2와 3에 각각 나타내었으며, 7일 반복 투여시의 약동학 파라메타는 Table II에 나타내었다.

Fig. 2에서 정맥주사로 반복 투여시 일회 투여시와 비교하여 전체적인 혈청농도 감소경향을 보였으나, 4시간과 6시간에서만 일회투여시보다 유의하게 낮은 농도를 나타내었다. 이때의 약동학 파라메타도 AUC가 감소하고 CL가 증가하는 경향을 보였으나 통계적으로 유의성이 없었다. 이러한 결과는 rhG-CSF, 5 µg/kg을 흰쥐에 정맥주사시

Table I. Mean (±standard deviation) pharmacokinetic parameters of CJ-50001 after intravenous and subcutaneous administration at a 5 µg/kg dose to rats (n=5)

Route	AUC (ng · h/ml)	MRT (h)	Terminal t _{1/2} (h)	CL (ml/h/kg)	F (%)
iv	124.49±15.49	1.26±0.14	0.97±0.11	40.16±5.06	-
sc	63.58±9.60	3.11±0.11	1.11±0.19	40.16±6.31	51.07

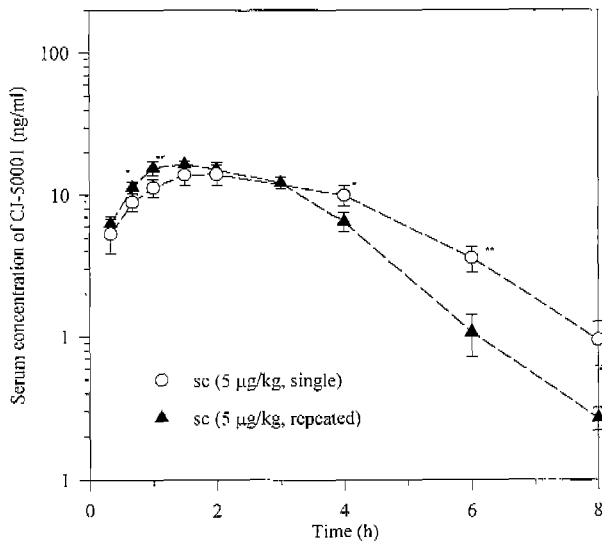


Fig. 3. Serum concentration-time profile of CJ-50001 after single or 7-consecutive day subcutaneous administrations at a daily dose of 5 µg/kg to rats. Each point is the mean of five rats with S.D. indicated by bars. *p<0.05, **p<0.01.

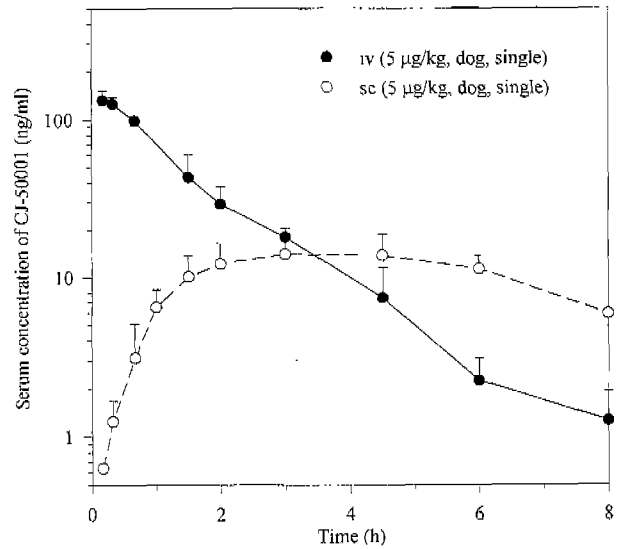


Fig. 4. Serum concentration-time profiles of CJ-50001 after single intravenous or subcutaneous administrations to dogs. Each point is the mean of four dogs with S.D. indicated by bars.

AUC와 CL가 일회 및 반복 투여군 간에 유의성있는 차이 (AUC:118±13 vs. 97.6±9.2 ng · h/ml, CL:42.7±4.9 vs. 51.6±5.2 ml/h/kg)가 있다는 보고(Tanaka 등,1991a)와는 다소 상반된 것이었으나, 보고에서도 그 차이가 적었던 점과, 그 값이 본 실험에서의 값과 큰 차이가 없는 점등에서 실험상의 오차라고 생각된다.

Fig. 3에서 피하주사로 반복투여시 초기에는 반복투여시의 농도가, 4시간 이후에는 일회투여시의 농도가 유의성있게 높았으나, AUC와 반감기에서 유의성있는 차이는 없었다. 일회 투여시와 반복 투여시 혈청중 농도의 유의성있는 차이는 반복 투여시의 MRT가 유의성있게 감소하여 체순환 혈액으로의 흡수속도가 증가된 결과이다(MAT 1.85 vs. 1.55).

흰쥐에 정맥주사 및 피하주사로 7일간 반복투여시의 평균 AUC는 각각 109.52 ng · h/ml 및 58.05 ng · h/ml이었고, 평균 MRT는 각각 0.91시간 및 2.46시간이었으며, 이 값으로 구한 피하주사시의 생체이용율은 53.11%이었고 평균 MAT는 1.55시간이었다.

개에서 CJ-50001을 5 µg/kg 용량으로 정맥주사 및 피하주사시의 평균 혈청농도-시간 추이를 Fig. 4에 나타내었으며, 이때의 약동학 파라메타를 Table III에 나타내었다.

개에서 정맥주사시의 혈청중 농도는 흰쥐에서와 달리 biexponential 하게 감소한다고 보기 어려우며, 따라서 모델 비의존적 방법으로 파라메타를 구하였다. 개에서의 혈장중 농도는 monoexponential하게 감소한다는 보고(Lee 등, 1994)

Table II. Mean (±standard deviation) pharmacokinetic parameters of CJ-50001 after 7-consecutive day intravenous and subcutaneous administrations at a daily dose 5 µg/kg to rats (n=5)

Route	AUC (ng · h/ml)	MRT (h)	Terminal t _{1/2} (h)	CL (ml/h/kg)	F (%)
iv	109.52±10.26	0.91±0.18	0.91±0.09	45.65±3.95	-
sc	58.17±5.70	2.46±0.11**	0.88±0.26	45.65±4.45	53.11

**The mean MRT of 7-consecutive day subcutaneous administrations was significantly different (p<0.01), compared with that of single subcutaneous administration.

Table III. Mean (±standard deviation) pharmacokinetic parameters of CJ-50001 after intravenous and subcutaneous administration at a 5 µg/kg dose to dogs (n=4)

Route	AUC (ng · h/ml)	MRT (h)	Terminal t _{1/2} (h)	CL (ml/h/kg)	F (%)
iv	235.70±16.34	1.48±0.20	1.31±0.33	21.21±1.55	-
sc	132.93±9.75	5.32±0.11	2.53±0.40**	21.21±7.05	51.07

** The mean terminal half-life of subcutaneous administration were significantly different (p<0.01), compared with that of intravenous administration.

Table IV. Mean (\pm standard deviation) pharmacokinetic parameters of CJ-50001 after intravenous administration at a 5 μ g/kg dose to rat (n=5) and dogs (n=4)

Species	AUC (ng · h/ml)	MRT (h)	Terminal $t_{1/2}$ (h)	CL (ml/h/kg)
Rat	124.49 \pm 15.49	1.26 \pm 0.14	0.97 \pm 0.11	40.16 \pm 5.06
Dog	235.70 \pm 16.34**	1.48 \pm 0.20	1.31 \pm 0.33	21.21 \pm 1.55**

** The mean AUC and CL in dogs were significantly different ($p < 0.01$), compared with those in rats.

Table V. Mean (\pm standard deviation) pharmacokinetic parameters, according to the model, of CJ-50001 after single intravenous administration at a dose 5 μ g/kg to rats (n=5)

Model	AUC (ng · h/ml)	CL (mg/h/kg)	$t_{1/2}(\alpha)$ (h)	$t_{1/2}(\beta)$ (h)
Two compartment	146.76 \pm 22.31	34.07 \pm 5.60	0.32 \pm 0.07	0.96 \pm 0.13
Model independent	124.49 \pm 15.49	40.16 \pm 5.06	-	0.97 \pm 0.11

They were not significantly different ($p < 0.05$).

가 있으나 본 연구에서 뚜렷한 경향성을 보기는 어려웠다. 정맥주사시와 피하주사시의 혈청중 농도는 흰쥐에서의 농도보다 높았으며, 두 종간 AUC와 CL 값에서 유의성있는 차이를 보였으나 정맥주사시 소실상에서의 반감기는 두 종간에 유의성있는 차이가 없었다(Table IV). 따라서, AUC와 CL의 유의성있는 차이는 초기의 약물소실이 흰쥐에서의 경우가 개에 비해 빠르기 때문이라고 생각된다. 피하주사시의 혈청중 농도는 투여 후 2~4시간에 최고 농도에 이르며, 4시간 이후에는 정맥주사시의 같은 시간대의 혈청중 농도보다 유의성있게 높았고, 소실상의 반감기도 유의성있게 길었다. 이는 피하주사시의 평균 MAT가 3.84시간으로 소실과 동시에 CJ-50001이 지속적으로 흡수되기 때문이라고 생각된다. 개에서 정맥주사시와 피하주사시의 평균 AUC는 각각 235.70 ng · h/ml 및 132.93 ng · h/ml로 피하주사시 CJ-50001의 생체이용율은 56.39%이었고, 또한 정맥주사시와 피하주사시의 평균 MRT는 각각 1.48시간 및 5.32시간이었다.

이상의 결과는 rhG-CSF의 피하주사시의 생체이용율에 대해 50.9~70.4%로 이미 보고한 연구결과(Tanaka 등, 1991a; Tanaka 등, 1991b; Kuwabara 등, 1996; Lee 등, 1994)와 유사한 값이었다. 피하주사시 생체이용율은 약 50~60%에 불과하지만, rhG-CSF의 체내 반감기가 1시간 내외로 비교적 짧고 시험관내 최대약효농도가 1 ng/ml로 낮으며(Stute 등, 1995) 호중구를 증가시키는 생물학적 약효도 낮은 농도에서 포화되므로, 피하주사처럼 지속적으로 흡수되어 유효 혈청중 농도가 오랫동안 유지되는 것이 임상효과 발현에 유리하다고 여겨진다(Sugiura 등, 1997).

본 실험에서 얻어진 CJ-50001의 약동학 변수는 기 보고된 rhG-CSF의 약동학 파라메타와 유사하였으며, 또한 CJ-50001을 정상 생쥐 및 흰쥐에 정맥주사 및 피하주사로 일회 투여하였을 때, 말초호중구수가 양성 대조약물인 rhG-CSF와 동등한 수준으로 증가된다는 것이 이미 보고된 바

있다(Lim 등, 1997). 이상의 결과를 종합하여 볼 때, CJ-50001의 약물동태학적 특성 및 말초호중구 증가효과는 양성 대조약물인 기 판매되는 rhG-CSF 제들과 동등하게 나타날 것으로 기대된다.

참고문헌

- Chiou, W. L. (1979). New calculation method for mean apparent drug volume of distribution and application to rational regimen. *J. Pharm. Sci.* **68**, 1067-1069.
- Gibaldi, M. and Perrier, D. (1982). Pharmacokinetics, 2nd, Edition, Marcel-Dekker, New York.
- Kuwabara, T., Kato, Y., Kobayashi, S., Suzuki, H. and Sugiyama, Y. (1994). Nonlinear pharmacokinetics of a recombinant human granulocyte colony-stimulating factor derivative (nartogastim): species differences among rats, monkeys and humans. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **271**, 1535-1543.
- Kuwabara, T. and Kobayashi, S. (1996). Pharmacokinetics and pharmacodynamics of a recombinant human granulocyte colony stimulating factor. *Drug. Metab. Rev.* **28**, 625-658.
- Lee, E. D., Shim, H. J., Lee, J. J., Lee, S. D., Kang, S. H., Kim, W. B. and Yang, J. (1994). Pharmacokinetics and tissue distribution of DA-3030 (recombinant human granulocyte colony-stimulating factor) after intravenous, intramuscular or subcutaneous administration to the laboratory animals. *J. Appl. Pharmacol.* **2**, 310-315.
- Lim, D. M., Cho, H. J., Kim, D. H., Lee, H. S., Kim, J. H. and Kim, H. S. (1997). The effect of a single administration of rG-CSF on the peripheral neutrophil levels and its dose responsiveness in ICR mice and SD rats. *J. Appl. Pharmacol.* **5**, 380-383.
- Nagata, S. (1994). Granulocyte colony stimulating factor and granulocyte and its receptor, In the Cytokine Handbook, Academic press, New York, pp. 371-385.
- Nicola, N. A., Metcalf, D., Matsumoto, M. and Johnson, G. R. (1983). Purification of a factor inducing differentiation in murine myelomonocytic leukemia cells. *J. Biol. Chem.* **258**,

- 9017-9023.
- Petros, W. P. (1992). Pharmacokinetics and administration of colony-stimulating factors. *Pharmacotherapy*, **12(suppl)**, 33-38.
- Souza, L. M., Boone, T. C., Gabrilove, J., Lai, P. H., Zsebo, K. M., Murdock, D. C., Chazin, V. R., Bruszewski, J., Lu, H., Chen, K. K., Barendt, J., Platzer, E., Moore, M. A. S., Mertelsmann, R. and Welte, K. (1986). Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor: Effects on normal and leukemic, myeloid cells. *Science*, **232**, 61-65.
- Stute, N., Furman, W. L., Schell, M. and Evans, W. E. (1995). Pharmacokinetics of recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in children after intravenous and subcutaneous administration. *J. Pharm. Sci.* **84**, 7, 824-828.
- Sugiura, M., Yamamoto, K., Sawada, Y. and Iga, T. (1997). Pharmacokinetic/Pharmacodynamic analysis of neutrophil proliferation induced by recombinant granulocyte colony-stimulating factor (rhG-CSF): Comparison between intravenous and subcutaneous administration. *Biol. Pharm. Bull.* **20**, 684-689.
- Tanaka, H., Okada, Y., Kawagishi, M. and Tokiwa, T. (1989). Pharmacokinetics and pharmacodynamics of recombinant human granulocyte-colony stimulating factor after intravenous and subcutaneous administration in the rat. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **251**, 1199-1203.
- Tanaka, H. and Kaneco, T. (1991a). Pharmacokinetics of recombinant human granulocyte-colony stimulating factor in the rat: single and multiple dosing studies. *Drug Metab. Dispos.* **19**, 200-204.
- Tanaka, H. and Kaneco, T. (1991b). Sex differences in the pharmacokinetics of recombinant human granulocyte-colony stimulating factor in the rat. *Drug Metab. Dispos.* **19**, 1034-1039.
- Tanaka, H. and Kaneko, H. (1992a). Pharmacokinetic and pharmacodynamic comparisons between human granulocyte-colony stimulating factor purified from human bladder carcinoma cell line 5637 culture medium and recombinant human granulocyte colony-stimulating factor produced in *Escherchia coli*. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **262**, 439-444.
- Tanaka, H. and Tokiwa, T. (1990). Influence of renal and hepatic failure on the Pharmacokinetics of recombinant human granulocyte-colony stimulating factor (KRN8601) in the rat. *Cancer Res.* **50**, 6615-6619.