

Ktc: Sprague-Dawley 랫드의 장기중량치의 자료분석

강부현 · 김일환 · 김용범 · 김영희 · 이현숙 · 하창수

한국화학연구원 안전성평가연구소

Reference Values of Organ Weights in Sprague-Dawley Rats

Kang Boo-Hyon, Kim Il-Hwan, Kim Yong-Bum, Kim Young-Hee, Lee Hyun-Sook and Ha Chang-Su

Korea Institute of Toxicology, KRICT, P.O. Box 107, Yuseong, Daejeon, Korea

Abstract: A reference range data base containing organ weight values on animals used in 4 week and 13 week toxicity tests is described. Data listed include the values of minimum, maximum, mean and standard deviation for each of the following organ weights. Organs: Brain, heart, liver, spleen, kidney, adrenal gland, testis, ovary. This study was undertaken to determine organ weight reference values of Ktc: SD rats

Key words: organ weight, sprague-dawley rats

서 론

안전성 평가에 수반하는 독성시험을 수행하는데 있어서 결과의 신뢰성을 높이기 위하여 선진국에서 시행하고 있는 우수실험실운영(Good Laboratory Practice; GLP) 체계가 80년대 말부터 한국에 도입되어 시험에 필요한 시험기관의 조직, 제반시설장비, 시험계획 및 시험실시과정, 시험물질 및 대조물질, 시험의 운영, 보고, 그리고 기록 등에 대해 적용되어 왔다.⁴ 신뢰성이 높은 보고서를 산출하기 위해서는 동물생산에서부터 시험물질의 투여, 동물의 관리 및 관찰, 부검, 조직의 제작, 혈액학 및 혈액생화학 검사, 조직의 검경, 그리고 보고 서작성에 이르는 제반절차에서 표준작업순서(standard operating procedures; SOP's)에 따라 시험을 실시하고 산출된 결과 역시 SOP's에 따라 정리되어야 한다.²

독성시험에서 부검에 따른 육안적 검사와 함께 실시되는 주요 장기의 중량측정검사⁶는 시험항목 중 필수항목¹으로서 검경, 혈액학 및 혈액생화학 검사와 함께 시험물질의 독성을 판단하는데 있어 결과를 올바르게 해석하기 위한 바탕이 되므로 비임상시험에 종사하는 시험자는 시험에 공시되는 동물의 장기중량자료를 잘 이해하여야 한다. 장기중량변화는 조직변화나 혈액학 및 혈액생화학치의 변화에 동반되나, 그렇지 않은 경우도 있다. 따라서 정상적인 장기중량의 결과는 독성시험의 결과 판단에 많은 도움을 준다. 또한 장기중량은 동물의 주령, 체중, 성별, 부검 조작 및 방혈 유무 등에 따라 다르게 나타나는 것으로 알려져 있다. 현재까지 국내에서 실험동물의 전반적인 기초자료에 대한 보고³는 있었으나, 일반독성시험에 가장 많이 사용되고 있는 SD 랫드의 장기중량 결과와 대조할 만한 장기중량 분석에 관한 적절한 보고가 없다.

그러므로 본 시험에서는 일반독성시험에서 빈번히 수행되고 있는 4주 및 13주 아급성독성시험에 사용된 대조군 암·수 랫드의 주요장기중량자료를 합하여 통계학적으로 분석하고 이 자료가 어떠한 범위에 있는지 검사하여 보고함으로써 이와 관련된 분야의 기초자료로서 도움이 되게 하고자 한다.

재료 및 방법

공시동물

한국화학연구원 안전성연구센터의 차폐시설에서 사육된 SPF Ktc: SD 랫드로서 1994년부터 1999년까지 수행되었던 4주, 13주 아급성독성시험에 이용된 동물 중 대조군 암수 각각 100 마리의 자료를 이용하였다.

사육환경

공시동물은 철망사육상자(W410×220×200 min)에 2~3마리 씩 배치하여 온도는 23±3°C, 상대습도는 55±10%, 환기횟수는 시간당 10~20회, 조도는 150~300 Lux에서 12시간 조명하는 조건에서 사육하였다.

사료와 음수

사료는 실험동물용 분말사료(제일사료 주식회사)를 방사선 멸균(2.0Mrad)하여 자유섭취하게 하였다. 음수는 수돗물을 여과한 후 자외선 유수멸균기(Dynamics, M600, USA)로 멸균하여 자유 섭취하게 하였다.

체중 및 장기중량측정

랫드를 약 12시간 절식시킨 후 부검 직전에 체중을 측정하

였다. 부검은 에테르로 마취하여 혈액을 채취하고 방혈한 후 실시되었다. 적출한 장기는 중량측정시까지 10% 중성완충포르말린에 일차 고정하였다가 습윤 트레이로 운반하여, 전자저울(BP310S, Satorius Co.)로 중량을 측정하였다. 모든 절차는 한국화학연구원 안전성평가연구소의 SOP's에 따랐다. 본 연구에서는 주요장기로 뇌(brain), 심장(heart), 간(liver), 비장(spleen), 신장(kidney), 부신(adrenal gland), 고환(testis), 난소(ovary)로서, 양측장기는 좌,우 및 그 합을 측정하였다

통계학적 방법

측정된 자료는 컴퓨터 프로그램인 LABCAT (Innovative Programming Associates, Inc)에 자동으로 저장되었으며, 이 자료들은 추출⁶되어 InStat(GraphPad Software, Inc) 통계처리용 프로그램으로 통계 처리되었다 (Dunnett test).

결 과

체중 및 장기중량 측정결과는 각 항목에 있어서 최저치와 최고치, 평균 및 표준편차로 표기하여 Table 1, 2에 나타내었다. 장기중량 측정결과, 개체간 차이가 크게 나타난 장기는 간, 신장, 부신, 고환, 그리고 난소이었으며, 심장, 비장, 그리고 뇌는 개체간 차이가 적게 나타났다.

고찰 및 결론

동물실험에서 중요한 요소 중의 하나는 공시된 동물에 대한 기초자료의 확립이다. 약물이나 화학물질의 안전성평가에 수반되는 일반독성시험에 있어서 장기중량 측정은 필수적으로 실시되고 있다. 이런 장기중량의 결과는 시험물질의 독성

Table 1. Absolute weight (g) reference range data of Sprague-Dawley rats

Sex	Organ	4 Weeks			13 Weeks		
		Min	Max	Mean±D	Min	Max	Mean±D
Male (n=100)	Body weight	242.3	385.3	326.0±28.3	404.5	618.4	481.6±36.81*
	Brain	1.645	2.115	1.946±0.0921	1.776	2.318	2.094±0.0928
	Heart	0.931	1.523	1.143±0.1127	1.156	1.826	1.369±0.1268
	Liver	6.680	11.961	9.254±2.0212	9.995	17.818	12.627±1.6331
	Spleen	0.412	0.934	0.615±0.0904	0.504	0.937	0.730±0.1011
	Kidney (L)	0.871	1.558	1.218±0.1397	1.135	1.767	1.448±0.1481
	Kidney (R)	0.862	1.582	1.215±0.1273	1.212	1.838	1.461±0.1369
	Adrenal gland (L)	0.018	0.045	0.029±0.0047	0.014	0.043	0.030±0.0055
	Adrenal gland (R)	0.016	0.037	0.027±0.0046	0.012	0.037	0.027±0.0046
	Testis (L)	0.358	2.590	1.505±0.2046	0.974	2.079	1.698±0.1876
	Testis (R)	0.356	1.796	1.510±0.1687	1.139	2.150	1.696±0.2013
	Kidney (L+R)	1.733	3.134	2.433±0.2466	2.499	3.593	2.910±0.2787
	Adrenal gland (L+R)	0.034	0.080	0.057±0.0088	0.036	0.079	0.058±0.0091
	Testis (L+R)	0.714	4.048	3.016±0.3471	1.256	4.184	3.394±0.3759
Female (n=100)	Body weight	167.9	235.2	203.8±15.20	213.4	332.8	267.1±24.81*
	Brain	1.548	2.031	1.819±0.0844	1.667	2.134	1.907±0.1198
	Heart	0.561	0.931	0.760±0.0681	0.717	1.160	0.872±0.0915
	Liver	4.600	8.137	5.978±0.5950	5.183	8.806	6.663±0.8111
	Spleen	0.299	0.532	0.409±0.0498	0.335	0.758	0.462±0.0719
	Kidney (L)	0.578	1.064	0.778±0.0753	0.655	1.201	0.841±0.1106
	Kidney (R)	0.624	1.002	0.789±0.0731	0.679	1.384	0.864±0.1255
	Adrenal gland (L)	0.023	0.050	0.035±0.0051	0.020	0.056	0.035±0.0070
	Adrenal gland (R)	0.021	0.050	0.033±0.0053	0.025	0.046	0.033±0.0060
	Ovary (L)	0.022	0.070	0.042±0.0091	0.025	0.071	0.043±0.0103
	Ovary (R)	0.025	0.068	0.043±0.0091	0.022	0.068	0.044±0.0095
	Kidney (L+R)	1.202	1.929	1.568±0.1404	1.360	2.541	1.707±0.2251
	Adrenal gland (L+R)	0.050	0.095	0.068±0.0097	0.042	0.118	0.069±0.0121
	Ovary (L+R)	0.057	0.134	0.085±0.0136	0.046	0.138	0.087±0.0177

*Significantly different from the 4 weeks subacute study data (p<0.01).

Table 2. Relative weight (%) reference range data of Sprague-Dawley rats

Sex	Organ	4 Weeks			13 Weeks		
		Min	Max	Mean±D	Min	Max	Mean±D
Male (n=100)	Brain	0.479	0.825	0.601±0.0536	0.287	0.528	0.437±0.0367
	Heart	0.294	0.450	0.351±0.0309	0.245	0.404	0.284±0.0524
	Liver	2.549	3.486	2.961±0.2127	2.266	3.644	2.619±0.2576
	Spleen	0.137	0.275	0.189±0.0262	0.111	0.227	0.152±0.0213
	Kidney (L)	0.297	0.504	0.374±0.0376	0.238	0.379	0.301±0.0285
	Kidney (R)	0.259	0.462	0.373±0.0333	0.243	0.382	0.304±0.0276
	Adrenal gland (L)	0.006	0.013	0.009±0.0013	0.003	0.010	0.006±0.0012
	Adrenal gland (R)	0.005	0.013	0.008±0.0014	0.002	0.008	0.005±0.0010
	Testis (L)	0.104	0.575	0.464±0.0650	0.144	0.454	0.353±0.0435
	Testis (R)	0.104	0.583	0.465±0.0530	0.142	0.457	0.353±0.0450
	Kidney (L+R)	0.603	0.965	0.748±0.0648	0.501	0.773	0.605±0.0548
	Adrenal gland (L+R)	0.013	0.024	0.017±0.0025	0.007	0.016	0.012±0.0020
	Testis (L+R)	0.706	1.207	0.929±0.1110	0.531	0.905	0.707±0.0858
	Female (n=100)	Brain	0.752	1.082	0.896±0.0697	0.392	0.857
Heart		0.311	0.461	0.373±0.0278	0.261	0.412	0.327±0.0263
Liver		2.467	3.468	2.932±0.1991	2.202	3.164	2.493±0.2199
Spleen		0.140	0.258	0.201±0.0235	0.112	0.323	0.174±0.0297
Kidney (L)		0.313	0.577	0.382±0.0346	0.270	0.427	0.315±0.0307
Kidney (R)		0.321	0.450	0.387±0.0287	0.255	0.476	0.323±0.0373
Adrenal gland (L)		0.011	0.025	0.017±0.0026	0.011	0.022	0.013±0.0024
Adrenal gland (R)		0.012	0.024	0.016±0.0026	0.010	0.025	0.012±0.0022
Ovary (L)		0.011	0.032	0.020±0.0041	0.010	0.028	0.016±0.0040
Ovary (R)		0.015	0.032	0.022±0.0144	0.011	0.026	0.016±0.0035
Kidney (L+R)		0.634	0.993	0.770±0.0587	0.525	0.874	0.639±0.0652
Adrenal gland (L+R)		0.021	0.047	0.033±0.0048	0.016	0.047	0.025±0.0044
Ovary (L+R)		0.030	0.061	0.041±0.0071	0.018	0.053	0.033±0.0068

을 판단하는데 있어 중요한 바탕이 되므로 시험자는 시험에 공시되는 동물의 장기중량 기초자료를 잘 이해해야 한다. 장기중량은 부검조작 및 환경 등의 요인에 의해 영향을 받는다. 따라서 신뢰성있는 장기중량 측정 결과를 위해서는 장기중량을 측정할 때, 영향을 줄 수 있는 모든 요인을 일정하게 유지하여 변화의 폭을 최소화하는 것이 바람직하다. 그러기 위해서는 채혈 후 방혈에서부터 부검 및 중량측정에 이르는 모든 과정에 대하여 SOP's를 작성한 후, 시험 수행자가 이것을 숙지하고 그대로 준수함으로써 보다 신뢰성이 있는 자료를 산출할 수 있도록 해야 한다. 독성시험의 시험물질 투여군에서 나타나는 시험물질의 영향을 비교하기 위해 대조군을 반드시 두고 있으며, 대조군의 자료가 균질한 경우에는 시험물질 투여군의 자료에 대한 통계학적 비교분석에 어려움이 없다. 그렇지만 대조군의 자료가 균질하지 않거나 시험물질 투여군의 자료가 대조군 자료의 최소치 또는 최대치 경계부근에 위치할 경우, 이것의 유의성을 해석하는 일은 쉽지 않다. 이러한 어려움을 해소하기 위해서는 많은 동물에서 얻은 자

료로부터 정상치의 범위를 산출하여 비교자료로 활용한다면 장기중량 결과를 해석하는 데 많은 도움이 되리라 판단된다. 물론 이 자료의 활용은 장기중량 측정시 영향을 주는 요인들이 본 연구소의 부검실과 유사한 상황에서 장기중량측정을 실시할 경우에 적합할 것이다. 또한 본 연구에서 간, 신장, 고환에서 개체간 중량 변화가 다른 장기에 비하여 그 차이가 크게 나타난 것은 동물의 방혈상태나, 자연발생적인 고환위축이나 신우확장 등과 같은 병변으로 인한 것이다⁵. 본 연구는 이전의 송 등³이 보고한 자료를 뒷받침해 주었다.

본 연구자료는 Ktc: Sprague-Dawley 계통의 랫드에 있어서 기초자료로서 뿐만 아니라, SD 랫드를 이용한 독성시험의 독성자료를 효과적으로 평가하기 위한 비교자료로서도 유용하게 이용될 수 있으리라 판단된다.

참고문헌

1. Michael J Derelanko and Manfred A. Hollinger. CRC hand-

- book of toxicology, pp. 64, CRC press, New york, 1995.
- 비임상시험관리기준 (식품의약품안전청고시 제 2000-63호), 2000.
 - 송창우, 황화선, 한상섭. Ktc:SD랫드의 주령에 따른 기초연구: I. 체중, 장기중량, 혈액학, 혈액생화학적 변화 및 노분석. 한국실험동물학회지 6(1):33-43, 1990.
 - 의약품의 독성시험기준, 보건복지부, 국립보건안전연구원, 1994.
 - P Greaves MB. Histopathology of preclinical toxicity studies Interpretation and relevance in drug evaluation, pp. 554, 649-654 Elsevier, 1990.
 - Hayes WA. Principles and methods of toxicology. pp. 261, 662-664, Raven press, New York, 1994.