

기니픽에서 HM10411의 항원성

고우석¹ · 김종춘¹ · 차신우¹ · 김영민² · 정성엽² · 권세창² · 이관순²

¹한국화학연구원 부설 안전성평가 연구소

²한미약품(주) 중앙연구소

Antigenicity of HM10411 in Guinea Pigs

Woo Suk KOH^{1*}, Jong-Choon KIM¹, Shin Woo CHA¹, Young Min KIM², Sung Youb JUNG²,
Se Chang KWON² and Gwan Sun LEE²

¹Korea Institute of Toxicology, P.O. Box 107, 100 Jang-dong, Yusong, Daejeon 305-600, Korea

²Central Research Institute, Hanmi Pharm. Co. Ltd., 371 Sampyong-dong, Boondang-ku, Sungnam, Kyonggi-do 463-400, Korea

(Received May 30, 2002 ; accepted June 22, 2002)

Abstract – HM10411 is a recombinant granulocyte-colony stimulating factor (rG-CSF) that has been developing as a drug for neutropenia. In this study, antigenic potential of HM10411 was examined by active systemic anaphylaxis (ASA) in guinea pigs and passive cutaneous anaphylaxis (PCA) in guinea pig-guinea pig system. HM10411 was subcutaneously administered at 0, 5, and 50 mg/kg and also as a suspension with adjuvant (50 mg/kg+FCA). Ovalbumin (OVA) as a suspension with adjuvant was used to induce positive control responses. In the ASA test, no symptoms except urination and evacuation that were considered as physiological phenomena were observed at 0 and 5 mg/kg. Two of 5 animals at 50 mg/kg showed sneezing, dyspnea, or cyanosis. All animals in the adjuvant mixture group showed severe symptoms of anaphylactic shock and 3 of them died. In the PCA test, no antibody against HM10411 was detected in the sera from the animals sensitized with 0 or 5 mg/kg. Only 1 serum sample from the animals immunized with 50 mg/kg showed positive reaction against HM10411, while all 5 sera collected from the HM10411 and FCA mixture group contained the HM10411-specific antibodies. These results suggest HM10411 is considered to have antigenicity in guinea pig.

Key words □ HM10411, G-CSF, antigenicity

과립구콜로니자극인자(G-CSF)는 단핵구/대식세포, 섬유아세포 및 내피세포 등에서 합성되어 골수내의 호중구 계통의 전구세포들의 증식과 분화를 자극하여 혈중 호중구의 수를 일정하게 유지시켜주는 조혈인자 중의 하나이며 성숙 호중구들에도 작용하여 활성화를 유도하는 역할을 한다(Nagata, 1994; Ottmann 등, 1987). 호중구는 사람의 혈액중의 백혈구들 가운데 가장 높은 비율로 존재하며 체내로 침입한 외부물질을 비특이적으로 제거하는 면역계의 1차 방어선이라고 할 수 있는데, 화학요법을 받고있는 암환자들의 경우에 항암제의 비특이적 세포독성에 의해 골수내에서 혈구들의 전구세포들의 감소가 발생하고 따라서 혈 중 호중구의 수가 감소하는 호중구감소증이 흔히 관찰된다(Bodey, 1986; Pizzo, 1984). 이러한 호중구감소증은 결과적으로 침입한 외부물질에 대항하는 방어선의 상실을 의미하여 잦은 감염과 평상시 쉽게 극복할 수 있는 감염증에 의해 사망에까지 이

르는 면역기능의 저하가 발생하게 된다. 호중구감소증은 화학요법에서 항암제 투여용량의 제한요소가 되고있기 때문에 최근 호중구의 수를 유지시켜주기 위한 G-CSF의 병용투여가 임상에서 활발히 이루어지고 있다(Lyman 등, 2002; Pokemeyer 등, 2002). 임상에서 사용되는 G-CSF는 생산방법에 따라 포유동물세포배양을 이용하여 생산된 제품과 대장균에서 생산된 제품으로 나눌 수 있다. Chinese hamster ovary (CHO) 세포와 같은 포유동물의 세포배양을 통해 얻은 G-CSF는 O-글라이코시딕 당쇄구조를 가지고 있으며 이러한 당쇄구조가 G-CSF의 활성에 필수적이지는 않지만 친수성을 높여 고농도에서 응집을 막는 것으로 알려져 있다(Haniu 등, 1996). 대장균에서 발견되어 당쇄구조가 없는 G-CSF, 예를 들어 임상에서 현재 널리 쓰이는 filgrastim은 이미 노말단에 메티오닌이 첨가된 형태로 얻어지는데 이러한 구조적 변화는 항원성을 유발할 가능성을 제시한다. 또한 인간의 G-CSF에는 5개의 시스테인 잔기가 존재하여 4개는 다이설파이드 결합에 관여하고 1개의 시스테인

*To whom correspondence should be addressed.

잔기는 자유로운 상태로 존재하여 단백질접힘의 활성과 용액의 안전성을 낮춘다는 문제점이 있었다(Lu 등, 1996).

한편 본 연구진이 개발한 HM10411은 대장균에서 합성 분리된 인간 유전자재조합 G-CSF로 함암제투여시 발생하는 호중구감소증의 발생을 막아주거나 호중구 감소증으로부터 빠른 회복을 유도하기 위한 함암제 병용투여제로서 개발 중인 물질이다(Kang 등, 2001). HM10411은 대장균에서 합성되었지만 페티오닌 잔기가 첨가되지 않았으며 17번째 아미노산 잔기인 시스테인을 치환하여 용액내 안정성과 친수성을 향상시켜 동결건조 형태로도 보관이 가능하면서도 G-CSF의 역가에는 영향을 받지 않은 G-CSF의 유도체이다. 17번째 아미노산 잔기가 치환되었으며 대장균에서 발견되어 O-글라이코시덕 당쇄구조를 갖지 않아 결국 인간의 생체내에 존재하는 G-CSF와는 구조적 차이를 나타내는 HM10411이 항원성을 나타내는지 여부를, 본 시험에서는 Hartley계통의 기니픽을 사용한 능동성 전신성 아나필락시스(ASA) 쇼크와 수동 피부 아나필락시스(PCA) 반응시험을 수행하여 알아보려고 하였다.

실험방법

시약

HM10411을 sodium acetate buffer (10 mM, pH 4.0, 5% sorbitol, 0.004% Tween 80)에 용해하여 사용하였다. Ovalbumin (OVA)과 Evans blue는 Sigma (St. Louis, MO, USA)에서 Freund's complete adjuvant는 Difco (Grand Island, NY, USA)에서 구입하여 사용하였다.

실험동물 및 사육조건

4주령의 Hartley계통 특정병원균부재 기니픽을 Beijing Yunling Biotech Co. (북경, 중국)에서 구입하여 일주일 간의 순화기간을 거친 후 실험에 사용하였다. 군분리는 순화기간 중 건강한 동물만을 선택하여 체중범위에 따른 무작위법으로 실시하였다. 사육실은 온도 $23\pm 3^{\circ}\text{C}$, 상대습도 $55\pm 15\%$, 환기횟수 10~20회/hr, 조명시간 12시간(오전 8시~오후 8시), 조도 150~300 Lux로 유지하였다. 사료는 기니픽용 고품사료(Purina Mills, Inc.; Logan, UT, USA)를 물은 상수도를 자외선유수살균기로 소독하였으며 사료와 물은 자유섭취시켰다. 동물사육 및 실험은 안전성평가연구소내의 실험동물사용위원회의 사전검토 후 수행되었다.

ASA

ASA는 백 등(1994)의 방법에 따라 수행되었으며 시험군은 Table I의 내용과 같이 구성하였다. 감작시 시험물질은 동물의 경배부 피하에 주사기와 주사침(26G)을 이용하여 투여하였다. I군은 본시험에서 사용되었으며 filgrastim을 녹이는데 사용되는 부형제인 sodium acetate buffer를 부형제대조군으로 감작하였으며, II군은 임상예정용량($5\ \mu\text{g}/\text{kg}$)으로, III군은 임상예정용량의 10배량인 $50\ \mu\text{g}/\text{kg}$ 으로 감작하였다. IV군과 V군은 각각 $50\ \mu\text{g}/\text{kg}$ 또는 OVA $2.5\ \text{mg}/\text{kg}$ 을 adjuvant와 혼합 에멀션화하여 감작하였다. 감작은 시험물질 투여군 및 부형제대조군의 경우에는 주 3회, 3주간(총 9회) 감작시켰으며 FCA와 혼합하여 투여하는 군(IV, V군)은 3주에 1회, 6주간(총 3회) 투여하여 감작하였다. 최종감작후 14일째에 야기항원액을 기니픽의 후지정맥에 주사하고 30분간 전신

Table I. Experimental design of ASA

Groups	No. of animals	Sensitizing antigens ($\mu\text{g}/\text{kg}$, s.c.)	Challenge antigens ($\mu\text{g}/\text{kg}$, i.v.)	Volume (ml/kg)
I	5	HM10411(0)	HM10411(50)	1
II	5	HM10411(5)	HM10411(50)	1
III	5	HM10411(50)	HM10411(50)	1
IV	5	HM10411(50)+FCA	HM10411(50)	1
V	5	OVA(2,500)+FCA	OVA(2,000)	1

Table II. Experimental design of PCA

Groups	No. of animals	Challenge sera ^{a)} (50 μl , i.d.)	Challenge antigens ($\mu\text{g}/\text{kg}$, i.v.)	Volume (ml/kg)
A	10	I	HM10411(50)	1
B	10	II	HM10411(50)	1
C	10	III	HM10411(50)	1
D	10	IV	HM10411(50)	1
E	10	V	OVA(2,000)	1

^{a)}Each serum from an animal sensitized with antigen was tested for titer in duplicate

적인 아나필락시스 쇼크 증상을 관찰하였는데 이때 투여량은 감작시의 최고용량인 50 µg/kg을 I, II, III 및 IV 군에 투여하였으며 V군의 경우에는 OVA를 2.0 mg/kg으로 투여하였다. 관찰된 증상들은 Table III의 기준에 따라 등급을 결정하였다.

PCA

PCA 시험은 Mota와 Wong의 방법(1969)에 따라 수행되었으며 동종(기니픽-기니픽) 피부 아나필락시스 반응 수행하여 감작방법과 일정이 동일한 ASA 시험과 기니픽을 공유하여 사용하였다. 최종감작 12일째에 안와정맥총으로부터 혈액을 부분채혈하여 혈청을 얻었다. 실험동물의 개체차이를 고려하여 혈청 당 2마리의 recipient 기니픽을 사용하였다(Table II). 혈청을 10배에서 5,120배까지 2배씩 연속희석한 후 각각 50 µl씩 기니픽의 배부피내에 주사기와 주사침을 이용하여 투여하고 4 시간 후 야기항원액을 후지정맥에 투여하였다. 항원량으로는 감작시의 최고용량(50 µg/kg)을 투여하였다. OVA는 일반적으로 사용되는 양인 2.0 mg/kg으로 투여하였다. PCA 야기에는 시험물질(100 µg/ml) 또는 OVA (4 mg/ml)을 1% Evans blue 용액과 1:1로 섞어서 시험물질 또는 OVA의 농도가 각각 50/ml 또는 2 mg/kg이 되도록 만든 후 투여하였다. PCA 반응 야기 30분 후에 기

니픽의 배부피부를 각피한 후, 청색반의 유무를 관찰 청색반의 장경+단경의 평균치가 5 mm 이상 되는 것을 양성으로 판정하였으며 이때의 희석배수를 PCA titer라고 하였다. 각 군의 혈청에서 시험물질에 대해 양성반응을 나타내는 평균희석배수(average titer)는 아래 계산식에 따라 나타내었다.

$$\text{Average titer} = \sum(\text{PCA titer} \times \text{Ratio})$$

Ratio=총례 중 특정희석배수에서 양성을 나타낸 비율

통계학적 방법

검사항목중 체중에 관한 분석은 비모수적 방법인 Kruskal-Wallis test를 한 다음 유의성이 인정되면 다중비교법인 Dunnet's test를 유의수준 p<0.05 혹은 p<0.01에서 실시하였다.

실험결과

시험동물의 감작

시험기간중 매일 1회 일반증상과 사망 및 빈사유무를 관찰한 결과, 모든 시험군에서 감작기간을 통하여 시험물질의 감작과 관련한 사망동물이나 이상증상은 관찰되지 않았다. 또한 부형제대조군과 비교할 때 모든

Table III. Anaphylactic shock symptoms

No.	Symptoms	No.	Symptoms	No.	Symptoms
1	Restlessness	8	Urination	15	Jumping
2	Piloerection	9	Evacuation	16	Gasping and writhing
3	Tremor	10	Lacrimation	17	Convulsion
4	Rubbing or licking nose	11	Dyspnea	18	Side position
5	Sneezing	12	Rhonchus	19	Cheyne-Stokes respiration
6	Coughing	13	Cyanosis	20	Death
7	Hyperpnea	14	Staggering gait		

[-]Asymptomatic, [±] Mild, symptoms of 1-4, [1+] Moderate, symptoms of 1-10, [2+] Severe, symptoms of 1-19, [3+] Death.

Table IV. Active systemic anaphylaxis in male guinea pigs

Group	Sensitizing antigen	Challenging antigen	No. of animals	Severity of anaphylaxis ^{a)}				
				[-]	[±]	[1+]	[2+]	[3+]
I	HM10411 (0 µg/kg)	HM10411 (50 µg/kg)	5	1		4		
II	HM10411 (5 µg/kg)	HM10411 (50 µg/kg)	5	2		3		
III	HM10411 (50 µg/kg)	HM10411 (50 µg/kg)	5	3		1	1	
IV	HM10411 (50 µg/kg)+FCA	HM10411 (50 µg/kg)	5				2	3
V	OVA (2.5 µg/kg)+FCA	OVA (2.0 µg/kg)	5				4	1

투여군에서 통계학적으로 유의성있는 체중의 변화가 관찰되지 않았다.

ASA

ASA의 결과는 Table IV에 정리되어 있는 바와 같이 부형제대조군에서는 5례중 4례에서 배뇨(urination), 배변(evacuation) 등의 중등도의 증상이 관찰되었다. 양성대조군에서는 5례 모두에서 심한 증상 [호흡곤란(dyspnea), 청색증(cyanosis), 헐떡거리고 몸부림 치м(gasping and writhing), 횡와(side position) 중 최소 1가지 이상]을 나타내다가 그 중 1례는 사망하여 전형적인 아나필락시스 쇼크증상을 나타내었다. 저용량(5 µg/kg)군에서는 부형제대조군과 유사하게 5례 중 2례는 무증상, 나머지 3례는 배뇨, 배변 등의 중등도 증상을 보였다. 고용량(50 µg/kg)군에서는 5례 중 3례가 아무런 증상을 나타내지 않았으며 1례는 재채기(sneezing)의 중등도 증상을 보였으나 1례에서 횡와에까지 이르는 심한 증상이 관찰되었다. 시험물질과 adjuvant의 혼합투여군에서는 2례에서 재채기, 배뇨, 배변 등의 중등도 증상을 보였으며 나머지 3례에서는 청색증, 보행불안(staggering gait), 횡와 등의 심한 증상을 나타내어 양성대조군과 매우 유사한 증상을 나타내었다(Figure 1). Table V에 나타난 바와 같

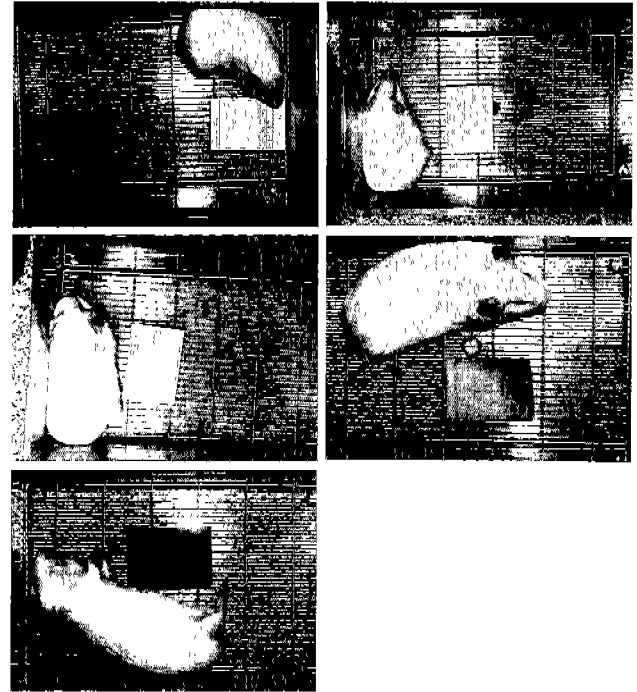


Fig. 1. Active systemic anaphylaxis shock by HM10411 in guinea pigs sensitized with A) vehicle, B) HM10411 (5µg/kg), C) HM10411 (50µg/kg), D) HM10411 (50µg/kg)+FCA. E) Positive control sensitized with OVA.

Table V. Necropsy findings of active systemic anaphylaxis test animals

Group	Sensitization		Animal No.	Challenging		ORGAN				
	Antigen	Route		Antigen	Route	Trachea	Lung	Heart	Thorax	Diaphragm
I	Vehicle control (0 µg/kg)	s.c.	1	HM10411	i.v.	-	-	-	-	-
			2	(50 µg/kg)		-	-	-	-	-
			3			-	d,f	-	-	-
			4			-	-	-	-	-
			5			-	d	-	-	-
II	HM10411 (5 µg/kg)	s.c.	6	HM10411	i.v.	-	d	-	-	-
			7	(50 µg/kg)		-	-	-	-	-
			8			-	-	-	-	-
			9			-	-	-	-	-
			10			-	-	-	-	-
III	HM10411 (50 µg/kg)	s.c.	11	HM10411	i.v.	-	-	-	-	-
			12	(50 µg/kg)		-	d	-	-	-
			13			-	-	-	-	-
			14			-	-	-	-	-
			15			-	b	-	-	-
IV	HM10411 (50 µg/kg) +FCA	s.c.	16	HM10411	i.v.	-	-	-	-	-
			17	(50 µg/kg)		-	d	-	-	-
			18			-	d	-	-	-
			19			-	d	-	-	-
			20			-	-	-	-	-
V	OVA (2.5 µg/kg) +FCA	s.c.	21	OVA	i.v.	-	d	-	-	-
			22	(2.0 mg/kg)		a	b,d	c	-	-
			23			-	d	-	-	-
			24			a,c	b	-	-	-
			25			-	d	-	-	-

a: Congestion, b: Ecchymosis, c: Hemorrhage, d: Petechia, e: Hemothorax, f: white spot

Table VI. Four-hour homologous passive cutaneous anaphylaxis test in male guinea pigs with sera from sensitized male guinea pigs

Group	Sensitizing antigen	Challenging ^{a)} antigen	PCA titer ^{b)}	Ratio	Average titer ^{d)}	Positive ratio in donor serum ^{c)}
I	HM10411 (0 µg/kg)	HM10411 (50 µg/kg)	x0 ^{e)}	10/10	0	0/5
II	HM10411 (5 µg/kg)	HM10411 (50 µg/kg)	x0	10/10	0	0/5
III	HM10411 (50 µg/kg)	HM10411 (50 µg/kg)	x0	8/10	20	1/5
			x10~x40	1/10		
IV	HM10411 (50 µg/kg)+FCA	HM10411 (50 µg/kg)	x10~x80	3/10	139	5/5
			x10~x160	1/10		
			x10~x320	3/10		
V	OVA (2.5 mg/kg)+FCA	OVA (2.0 mg/kg)	x10~x2560	2/10	4096	5/5
			x10~x5120	8/10		

^{a)}Challenging antigen was intravenously injected 4 hours after sensitization of guinea pigs with sera.

^{b)}PCA titer represents the maximum dilution factor of original serum which gives positive reaction.

^{c)}Specific antibodies were not detected in 10-fold dilution of original sera.

^{d)}Average titer=Σ(PCA titer×Ratio).

^{e)}The ratio of guinea pigs that showed positive response among the animals of each group.

이, 아나필락시스 쇼크를 야기한 후 모든 동물에 대하여 부검을 한 결과, 부형제대조군에서는 폐(lung)의 출혈점(petechia)이 2례 및 백색반점(white spot)이 1례에서 관찰되었다. 저용량군에서는 폐의 출혈점만이 1례에서 관찰되었으며 고용량군에서는 5례 중 1례에서 폐의 출혈점과 출혈반(ecchymosis)이 각각 1례씩 관찰되었다. 시험물질과 adjuvant 혼합투여군의 경우에는 폐의 출혈점이 3례 관찰되었다. 양성대조군은 5례 모두에서 증상이 관찰되었는데 폐의 출혈점이 4례, 폐의 출혈반이 2례, 기관점막(tracheal mucosa)의 충혈(congestion)은 2례, 기관점막의 출혈(hemorrhage)이 1례 및 심장(heart)의 출혈 1례가 관찰되어 부형제대조군과 시험물질에 비해 상대적으로 양성대조군에서 많은 증상들이 관찰되었다.

PCA

혈청 당 2마리의 recipient 기니픽을 사용하여 혈청내 시험물질 특이적인 항체의 존재여부를 검사한 PCA 결과는 Table VI과 Figure 2에 나타내었다. 부형제대조군(I군)과 5 µg/kg군(II군)에서는 10배에서 5,120배까지 희석한 혈청 모두에서 시험물질에 대한 항체반응이 음성이었다. 50 µg/kg군(III군)에서는 5례 중 8례에서는 무검출, 1례는 40배, 1례는 160배 희석까지 양성을 나타내었다. 시험물질과 adjuvant 혼합투여군(IV군)에서는 10례 중 3례는 10배, 3례가 80배, 1례가 160배, 3례가 320배 희석까지 양성반응을 나타내었다. 한편, 양성대조군인 V군에서는 10례 중 2례가 2560배, 8례가 5120배 희석까지 양성반응을 나타내었다. 따라서 I, II, III, IV 및 V군에

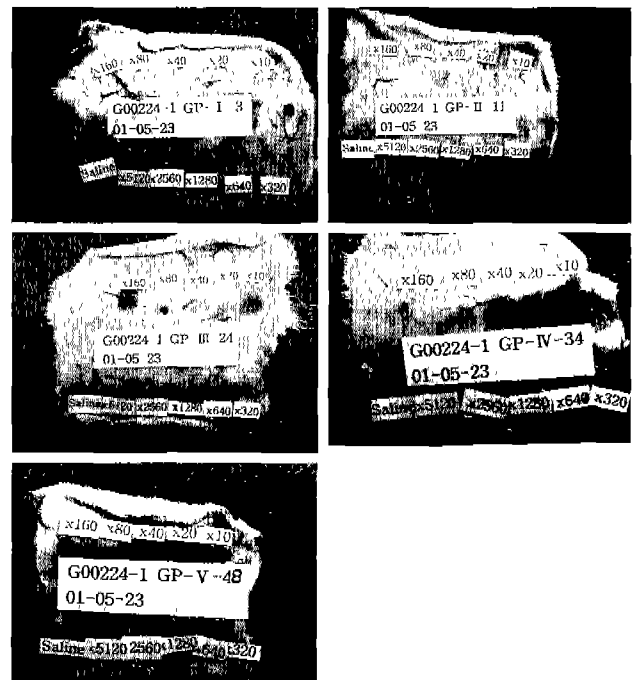


Fig. 2. Passive cutaneous anaphylaxis response by HM10411 in guinea pigs treated with sera from A) vehicle, B) HM10411 (5 µg/kg), C) HM10411 (50 µg/kg), D) HM10411 (50 µg/kg)+FCA-sensitized guinea pigs. E) Positive control sensitized with OVA.

서 HM10411을 투여하여 항체를 생성한 기니픽의 비율은 0/5, 0/5, 1/5, 5/5 및 5/5이며, 이때의 평균 희석배수는 각각 0, 0, 20, 139 및 4096배이다.

고찰 및 결론

아나필락시스 쇼크반응은 감각이 성립된 동물에 항원을 투여하여 항원-항체 반응을 전신성반응으로 관찰하는 것인데, 비만세포에 결합된 항원이 crosslink되면 비만세포로부터 히스타민 등의 매개인자들이 나오면서 일어나는 반응으로 일반적으로 기니피크를 사용하고 있다 (Karol and Graham, 1997). 이에 따라 본 시험에서는 Hartley계 기니피크를 이용하여 HM10411의 아나필락시스 쇼크반응을 시험한 결과, 기니피크에 감각하는 동안 시험물질에 기인한 동물의 사망, 일반증상 및 체중의 변화는 관찰되지 않았다. 저용량군에서는 5례중 2례는 무증상, 나머지 3례는 배뇨, 배변 등의 중등도의 증상을 보였으며 고용량군의 경우에는 5례중 1례에서 횡외에까지 이르는 심한 증상이 관찰되었지만 3례가 무증상을, 나머지 1례가 재채기의 중등도의 증상을 나타내, 부형제 대조군에서 5례중 4례에서 배뇨, 배변 등의 중등도의 증상을 보인 결과와 크게 다르지 않았다. 한편, adjuvant 혼합투여군의 경우에는 부형제 투여군과 뚜렷이 구분되어 2례에서 재채기, 배뇨, 배변 등의 중등도의 증상을 보였으며 나머지 3례에서는 청색증, 보행불안, 황와 등의 심한 증상을 나타내었다. 양성대조군인 V군에서는 5례 모두에서 심한 증상을 나타내다가 그 중 1례는 사망하였다. 한편 아나필락시스 쇼크반응 관찰 후 수행된 부검의 결과는 양성대조군을 제외하곤 모든 군이 별다른 차이점을 보이지 않았다. 따라서 30분간의 관찰기간동안 자연적인 생리현상의 가능성이 높은 배뇨와 배변 증상을 제외하면 5 µg/kg에서는 아나필락시스 쇼크증상으로 판단되는 증상이 관찰되지 않았으나 50 µg/kg군에서는 5례 중 2례에서 그리고 adjuvant 혼합투여군에서는 모든 례에서 확실한 아나필락시스 쇼크 증상이 관찰되어 기니피크에서 HM10411의 투여가 용량 및 투여조건에 따라 아나필락시스 쇼크를 유발할 수 있음을 보여주었다.

수동 피부 아나필락시스 반응은 동물의 피내에 항혈청을 투여하여 국소피내의 호염기구와 비만세포를 수동적으로 감각시키고 일정시간 후에 항원과 색소를 정맥주사하여 항원-항체반응의 결과를 유도해 내는 것으로서, 세포로부터의 화학적 매개인자의 유리에 의한 국소모세혈관의 투과성 항진으로 나타나는 누출색소의 정도를 측정하는 것이다 (Mota and Wong, 1969). 시험을 수행한 결과, 부형제대조군인 I군에서는 항체가 검출되지 않았으며 양성대조군인 V군에서는 모든 동물이 양성반응을 나타냈다. 한편, 시험물질 투여군인 II에서는 항체가 검출되지 않았으며 III군에서도 10례중 2례에서만 적은 양(1례가 40배, 1례가 160배 희석까지 양성)

의 시험물질에 대한 특이적인 항체가 검출되었다. 한편, adjuvant 혼합투여군인 IV군에서는 모든 동물에서 시험물질에 특이적인 항체가 검출되었는데 양으로는 10배에서 320배 사이로 많은 양은 아니었다. 이를 평균 희석배수로 표시하면 I군은 0배, II군은 0배, III군은 20배, IV군은 139배이었다. 한편, 양성대조군인 V군의 평균 희석배수는 4,096배로 매우 높은 항체생성물을 보여 실험조건이 양호하였음을 보여주었다.

이상의 결과로 볼 때 HM10411은 기니피크를 이용한 아나필락시스 쇼크 반응시험과 기니피크-기니피크제를 이용한 수동 피부 아나필락시스 반응시험에 있어서 사용된 고용량(50 µg/kg)에서는 약한 항원성을 adjuvant와 혼합투여할 경우에는 항원성이 있는 것으로 보이며 이는 유사물질의 항원성시험 결과에서 보고된 바(백 등, 1994)와 같이 시험물질이 인간 유래의 유전자재조합 사이토카인으로 기니피크에서 이종단백질로서 인식됨에 따라 나타나는 현상으로 판단된다.

감사의 말

본 연구는 보건복지부 보건의료기술연구개발사업(01-PJ1-PG4-01PT02-0005)의 지원에 의하여 이루어진 것임.

참고문헌

- 백남기, 강경구, 이순복, 김원배, 양종익(1994). Guinea pig 및 mouse에 있어서 인형 과립구 콜로니 자극인자 DA-3030의 항원성. *응용약물학회지* 2, 292-297.
- Bodey G. (1986). Infection in cancer patients: A continuing association. *Am. J. Med.* (Suppl 1A), 81, 11-26.
- Bokemeyer C., Honecker F., Wedding U., Spaeth-Schwalbe E., Lipp H. P., Kolb G. (2002). Use of hematopoietic growth factors in elderly patients receiving cytotoxic chemotherapy. *Onkologie*, 25(1), 32-39.
- Donald M. (1985). The granulocyte-macrophage colony-stimulating factors. *Science*, 229, 16-22.
- Haniu M., Horan T., Arakawa T., Le J., Katta V., Hara S., Rochde M. F. (1996). Disulfide structure and N-glycosylation sites of an extracellular domain of granulocyte-colony stimulating factor receptor. *Biochemistry*, 35(40), 13040-13046
- Kang K-S, Che J-H, Kim K-B, Lee J-H, Cho S-D, Cho J-H, Park J-S, Ahn N-S, Yang S-R, Jung J-W, Lee Y-S, Kwon S-C, Kim Y-M, Jung S-Y, Bae S-M and Lee G-S. (2001). Therapeutic effect of HM10411 on neutropenia caused by anticancer agents in mice. *J. Toxicol. Pub. Health*, 17, 151-157
- Karol M. H. and Graham C. (1997). Antibody-mediated hypersensitivity. in [Comprehensive toxicology; Ed. Lawrence D.A., vol. 5 (Toxicology of the immune system)], Pergamon Press, New York, pp. 305-322.

- Lu H. S., Clogston C. L., Narhi L. O., Merewether L. A., Pearl W. R. and Boor T. C. (1992). Folding and oxidation of recombinant human granulocyte-colony stimulating factor produced in *Escherichia coli*. Characterization of the disulfide-reduced intermediates and cystein-serine analogs. *J. Biol. Chem.*, **267**(13), 8770-8777.
- Lyman G. H., Kuderer N. M. and Djulbegovic B. (2002). Prophylactic granulocyte colony-stimulating factor in patients receiving dose-intensive cancer chemotherapy: a metaanalysis. *Am. J. Med.*, **112**(5), 406-411.
- Mota I. and Wong D. (1969). Homologous and heterologous passive cutaneous anaphylactic activity of mouse antisera during the course of immunization. *Life Sci.*, **8**, 813-820.
- Nagata S. (1994). Granulocyte colony stimulating factor and its receptor. In *The cytokine handbook* (Thompson A. Ed), pp. 371-385. Academic Press, London.
- Ottmann O. G., Welte K., Souza L. M. and Moore M. A. (1987). Proliferative effects of a recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (rG-CSF) on highly enriched hematopoietic progenitor cells. *Hematol Bluttransfus*, **31**, 244-247.
- Pizzo P. A. (1984). Granulocytopenia and cancer chemotherapy: past problems, current solutions, future challenges. *Cancer*, **54**, 2649-2661.