

## Sprague-Dawley 랫드를 이용한 수태능 및 초기배 발생시험의 기초자료연구

김종춘\* · 이상준 · 서정은 · 차신우 · 김충용 · 한정희 · 정문구  
한국화학연구원 부설 안전성평가연구소

### Background Data for Fertility and Early Embryonic Development Study in Sprague-Dawley Rats

Jong-Choon Kim\*, Sang-Joon Lee, Jeong-Eun Suh, Shin-Woo Cha, Choong-Yong Kim, Junghee Han and Moon-Koo Chung

Korea Institute of Toxicology, P.O. Box 107, Yuseong, Daejeon 305-600, Korea  
(Received April 1, 2002)  
(Accepted May 30, 2002)

**ABSTRACT** : Historical control data have been shown to be valuable in the proper interpretation and validation of reproductive toxicology studies. The present data were compiled from rat fertility and early embryonic development studies conducted at Korea Institute of Toxicology during the 1994~2001 period. These data were assembled in order to provide background information for the general and reproductive data collected in 11 fertility and early embryonic development studies using Sprague-Dawley rats obtaining from the Breeding Facility, Korea Institute of Toxicology, Korea. A total of 274 males and 274 females were used in these studies during the eight-year period. Parameters of fertility and early embryonic development included clinical signs, body weights, food consumption, organ weights, estrus cycle, copulation index, precoital time, fertility index, pregnancy index, sperm parameters, and early embryonic development parameters. Most of the values were comparable to the previous historical control data reported by other investigators. These data can be used not only as a historical database for the meaningful interpretation of data from reproductive and developmental toxicity studies, but also as a contribution to biological characterization of Sprague-Dawley rats.

**Key Words** : Historical control data, Fertility, Embryonic development, Rodent

#### I. 서 론

1960년대 초 유럽에서 발생한 thalidomide 복용에 따른 기형아분만과 최근 들어 세계적으로 문제시되고 있는 환경오염물질에 의한 내분비 관련질환의 증가는 화학물질에 대한 안전성평가의 중요성을 일깨워 주는 대표적인 사건들이다(Speirs, 1962; Sonnenschein와 Soto, 1998). 화학물질의 노출에 의한 위해성은 사람뿐만 아니라 생태계 전반에 많은 부작용을 야기하고 있는 현실을 감안해 볼 때 과학적이고도 적절한 안전성 평가는 매우 시급하고도 중요한 연구과제라고 할 수 있겠다. 화학물질의 안전성 평가시험에서는 질병적, 유전적 및 환경적으로 엄격히 제어된 양질의 실험동물을 사용하여 시험하여야 하고, 또한 시험물질에 의해 나타나는 독성학적 변화를 신뢰성있게 평가하

기 위해서는 각 실험실마다 사용하는 동물종 및 계통에 대한 기초자료를 확보하는 것이 필수적인 과제라 할 수 있다. 생식독성(reproductive toxicology) 시험의 경우 수태능 및 초기배 발생시험(fertility and early embryonic development study)에서 평가하는 정자검사항목, 성주기, 교미율, 수태율, 임신율, 임신동물의 장기중량, 황체수, 착상수, 생존태자수, 사망태자수 등의 생물학적 특성치들은 동물의 주령이나 계통, 사육환경, 동물의 관리상태, 시험방법 등에 따라 많은 차이가 있을 수 있다(Seed 등, 1996; Serre와 Robaire, 1998; Wilkinson 등, 2000). 뿐만 아니라 동일한 동물 종 및 계통과 동일한 주령의 실험동물을 이용한 시험에서도 각 실험실마다 시험결과에 다소의 차이가 발견되는데, 이러한 차이를 실험실간 변이성(inter-laboratory variability)이라고 한다. 따라서 독성시험에서 얻어지는 시험결과에의 정확한 해석을 위해서는 이러한 실험실간 또는 시험간의 변이를 이해하고 시험결과를 직접적으로 비교할

\*To whom correspondence should be addressed

수 있는 historical control data를 확보하는 것이 매우 중요하며(Deschl 등, 2002), 이로 인하여 국내외의 많은 연구 기관에서는 각 시험들의 기초자료를 확보하고자 많은 노력을 기울이고 있다. 랫드는 번식능력이 우수하고 세대기간이 짧으며 시험기초자료가 풍부하기 때문에 의약품, 농약, 식품첨가제, 의료용구, 산업화학물질 등 신물질의 안전성평가가 가장 많이 이용되고 있는 실험동물이다(Baker 등, 1979; Harkness와 Wagner, 1995). CrI : CD<sup>®</sup>(SD) 랫드는 1950년대에 Charles River Laboratories (CRL)에서 확립된 교잡혈통으로서 현재 약 10여개 국가의 여러 생산시설에서 활발하게 생산되고 있다. 본 연구실에서는 Charles River Japan, Inc.으로부터 Sprague-Dawley 계통의 랫드를 입수하여 당 연구소의 실험동물육종실에서 번식·육종시킨 특정병원체부재(specific pathogen free, SPF) 동물을 생식독성시험에 사용해 왔다.

본 연구는 랫드를 이용한 수태능 및 초기배 발생시험의 기초자료를 확보하고자 수행하였으며, 이를 위해 본 연구실에서 지난 8년간 Sprague-Dawley 랫드를 이용하여 수행한 수태능 및 초기배 발생시험의 대조군 결과중 체중, 사료섭취량, 장기중량, 성주기, 교미율(copulation index), 교배소요기간(precoital time), 수태율(fertility index), 임신율(pregnancy index), 정자검사 및 초기배발생검사 결과를 종합하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 시험기준 및 GLP 적용

본 시험들은 식품의약품안전청의 “의약품등의 독성시험기준”과 식품의약품안전청의 “비임상시험에 대한 GLP (Good Laboratory Practice) 기준”에 준하여 수행하였다.

### 2. 실험동물 및 사육환경

안전성평가연구소의 실험동물육종실(대전광역시 유성구 장동 100번지)에서 입수한 특정병원체부재 Sprague-Dawley 랫드를 사용하였다. 5주령의 암수동물을 입수한 후 수컷은 1주간, 암컷은 3주간 또는 8주간 검역 및 순화를 거친 뒤 건강하다고 판정된 동물을 선발하여 시험에 사용하였다.

상기 시험들은 온도 23±3°C, 상대습도 50±10%, 환기 횟수 10~20회/hr, 조명시간 12시간(오전 8시~오후 8시) 및 조도 150~300 Lux로 설정된 동물실에서 실시하였다. 교배 전 기간중에는 스테인레스제 망사육상자(210 W×350 L×180 H mm)에 2마리씩 수용하였고, 교배기간 중에는 스테인레스제 망사육상자에 암수 1 : 1로 수용하였으며, 교미가 확인된 동물은 폴리카보네이트 사육상자(260 W×420 L×

180 H mm)에 개체별로 수용하였다. 시험기간중 사료는 방사선 조사(25 kGy)로 멸균한 실험동물용 고형사료[제일사료(주), 대전광역시 대덕구 대화동 40-36]를, 그리고 물은 자외선 유수살균기로 소독한 상수도수를 자유롭게 섭취하도록 하였다. 상기 시험들은 국제실험동물관리인증협회(Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care International)로부터 인증된 시설에서 수행하였고, 모든 시험방법은 기관내 동물관리사용위원회(IACUC, Institutional Animal Care and Use Committee)에 의해 검토되었다.

### 3. 일반증상관찰

시험기간 중 1일 1회씩 동물의 일반증상, 중독증상 및 사망유무에 관해서 관찰하였고 투여기간 중에는 투여전후로 1일 2회씩 관찰하였다.

### 4. 체중측정

교배전의 암수동물은 주 2회씩 체중을 측정하였고, 임신 동물에 대해서는 약 3일 간격으로 체중을 측정하였다.

### 5. 사료섭취량 측정

교배전의 암수동물에 대해서는 주 1회씩 사료섭취량을 측정하였고, 임신동물에 대해서는 체중측정일에 사료를 급여한 후 익일 잔량을 측정하였다. 단, 임신 15일째에는 제왕절개로 인하여 임신 14일째에 사료급여 후 익일 잔량을 측정하였다.

### 6. 성주기 검사

시험물질의 투여개시 전후로 2주간씩 또는 투여개시 후 2주간 암컷동물의 질도말 검사를 실시하였고, 성주기의 규칙성과 기간을 조사하였다. 질도말 표본은 95% 알콜에 고정하고 Wright 염색을 한 후 검경하였다. 질도말상에서 작은 유헤상피세포가 다수 관찰되면 발정전기(proestrus), 각화상피세포가 다수 관찰되면 발정기(estrus), 각화상피세포와 다수의 백혈구가 혼재하면 발정후기(metestrus), 소량의 상피세포, 백혈구 및 점액이 관찰되면 휴지기(diestrus)로 판정하였다(Davis 등, 2001).

### 7. 수태능력 검사

수컷은 교배 4주 또는 9주전부터, 그리고 암컷은 교배 2주전부터 시험물질을 투여한 다음 스테인레스제 망사육상

자에 암수 1:1로 2주간 동거교배시켰다. 익일 질전 또는 질도말시 정자를 확인한 날을 임신 0일로 정하였으며, 최종판정은 제왕절개시 자궁의 착상흔적에 따랐다. 2주간의 교배기간동안 교미가 확인되지 않은 암컷동물에 대해서는 교미경험이 있는 동일군의 다른 동물과 추가로 1주일간 동거시켰다. 이 결과를 기초로 하여 교미율, 수태율 및 임신율을 산출하였다.

## 8. 부검 및 장기중량측정

시험에 사용된 모든 동물을 수컷은 교배종료 후, 암컷은 임신 15일째(단, 교미 미확인 암컷동물에 대해서는 최종 동거일로부터 15일 이후)에 에테르 또는 CO<sub>2</sub> 마취하에 부검하여 체표, 두부, 흉강 및 복강의 모든 장기에 대하여 육안적 검사를 실시하였고, 이상장기는 10% 중성완충포르말린에 고정하였다. 이 때 뇌, 간장, 비장, 신장, 부신, 흉선, 폐, 심장, 고환, 부고환, 전립선, 정낭선, 또는 난소의 습중량을 측정하였고, 부검시 체중에 대한 상대장기중량을 계산하였다.

## 9. 호르몬 측정

정자검사를 실시한 수컷동물에 대하여는 부검시 복대동맥에서 채혈하여 혈청을 분리한 다음 혈청중 테스토스테론(testosterone)의 함량을 방사선면역측정법(radioimmunoassay)으로 측정하였다.

## 10. 정자검사

고환의 정자두부수와 부고환의 정자수, 정자운동성 및 정자기형율은 이전에 보고한 방법(Kim 등, 1999; Kim 등, 2000)으로 조사하였다. 정자두부수를 측정하기 위해 중량을 측정된 좌측고환의 백막을 제거하고 12 ml의 증류수가 들어있는 튜브에 넣은 다음 균질기(homogenizer)로 충분히 균질화한 후, 이 균질액을 초음파기(ultrasonicator)를 이용하여 4~7°C에서 3분간 초음파 처리하였다. 이 균질액을 혈구계산판(hemocytometer, Germany)에 고루게 퍼지도록 주입하고 충분히 안정이 되도록 5분 이상 방치한 후에 광학현미경을 이용하여 200배율로 관찰하여 고환당 총 정자두부수를 계산하였다. 정자수를 측정하기 위해 좌측부고환 미부의 중량을 측정한 다음 10 ml의 생리식염수가 들어있는 용기에서 잘게 세절하고 균질기를 이용하여 충분히 균질화한 후, 정자두부수와 같은 방법으로 혈구계산판에서 정자수를 계수하였다. 정자의 운동성은 우측부고환 미부를 5 mg/ml의 Bovine serum albumin이 들어있고 pH 7.2로 조정된 Hanks' balanced salt solution(Sigma Chem-

ical Co., St. Louis, MO, USA) 10 ml이 들어있는 1회용 배양접시에 넣고 세절한 다음 37°C의 배양기에서 5분간 배양하였다. 이 정자배양액을 37°C로 유지된 흡이 파진 슬라이드 글라스에 놓고 커버글라스를 덮어서 현미경의 항온판(microwarm plate, Japan)에 놓은 다음 200배율로 검정하였다. 각 개체당 200마리의 정자에 대해서 운동성의 유무를 관찰하였고, 조금이라도 움직이는 정자는 운동성이 있는 것으로 평가하였다. 정자의 형태학적 검사를 위해 좌측고환 미부에서 얻은 정자배양액을 슬라이드 글라스에서 1% eosin Y와 2:1로 잘 혼합한 다음 커버글라스를 덮어서 염색표본을 만든 후, 각 개체당 200마리의 정자에 대해서 형태학적 이상유무를 관찰하였다. 정자의 형태는 정상과 소두부, 비정형두부, 이중두부/미부, 두부각도 과다, 두부각도 과소, 미부분리, 미부접힘, 미부절단, 미부단소 등의 비정상상으로 분류하였다.

## 11. 제왕절개

각 암컷동물들을 임신 15일째에 제왕절개하여 자궁과 난소를 적출한 다음 황체수, 착상수, 생존태자수, 흡수배자수, 사망태자수 등을 조사하였다. 흡수배자의 경우 태반조직만 보일 경우 초기흡수로 하였고, 태반 및 태자의 근조직이 관찰될 경우에는 후기흡수로 분류하였다. 배자가 착상초기에 흡수 또는 사망하여 착상부위를 관찰하기 어려운 경우에는 착상부위를 명확히 구분하기 위해 2% sodium hydroxide 용액에서 1시간 동안 침적한 다음 황색 또는 황갈색의 착상흔을 계수하였다(Yamada 등, 1985).

## 12. 시험자료의 정리

모든 시험자료는 각 시험에서 얻어진 결과의 평균값 및 표준편차와 각 시험에서의 최소값과 최대값의 범위를 표기하였다. 부검시 암수동물의 주령은 반복투여독성시험에서 수컷생식기에 부작용의 유발여부에 따라 5주의 차이가 있게 된다. 본 시험에서는 교배시 성성숙이 완료된 동물을 이용하여 시험하였기 때문에 주령의 차이에 따른 결과의 차이가 인정되지 않았으며, 따라서 부검시 주령에 따른 구분없이 합산하여 표기하였다.

## III. 결과 및 고찰

### 1. 일반증상

시험기간중 암수 랫드에서 관찰된 일반증상은 Table 1에 나타내었다. 이상소견중 탈모(loss of fur)가 가장 높은 빈도로 관찰되었으며, 안면부 및 경부 등의 국소부위에서

**Table 1.** Clinical findings of male and female rats

Parameters	Male	Female
	Incidence (% range)	Incidence (% range)
No. of rats examined	274	274
Loss of fur	9 <sup>a</sup> (0.00~3.25)	3 (0.00~4.17)
Reddish tear	2 (0.00~4.17)	1 (0.00~3.85)
Soft stool	4 (0.00~16.67)	0
Wound	4 (0.00~7.69)	0
Scar under the ear	2 (0.00~4.17)	0
Lacrimiation	1 (0.00~4.17)	0
Emaciation	0	1 (0.00~3.85)
Bleeding from the oral cavity	1 (0.00~4.17)	0

<sup>a</sup>A single rat may be represented more than once in listing individual findings.

주로 관찰되었다. 적색유루(reddish tear)와 창상(wound), 귀밑의 반흔(Scar under the ear), 유루(lacrimiation), 구강출혈(bleeding from the oral cavity) 등의 이상소견은 주로 수컷에 관찰되었으며, 이는 서열경쟁 등 싸움으로 인한 외상과 스트레스에 기인된 것으로 판단된다. 연변(soft stool)은 한 시험에서만 다소 높은 빈도로 관찰되었는데, 이는 자연발생적인 소견이 아니라 대조군 동물에게 투여된 부형제에 의해 유발된 것으로 판단된다.

**2. 체중**

시험기간 중 수컷랫드의 체중변화는 Table 2에 요약하였으며, 이전에 보고된 송 등(1990)의 결과와 매우 유사하

**Table 2.** Mean body weights of male rats during the pre-mating period

Periods	n	Value (range)
Day 0	274	224.9±13.38 (196.5~239.4)
Day 4	148	251.7±14.31 (236.4~267.3)
Day 7	274	279.6±15.61 (249.9~320.6)
Day 11	148	301.3±18.19 (287.7~315.4)
Day 14	274	323.1±19.05 (306.6~356.0)
Day 18	148	338.6±21.36 (326.8~353.4)
Day 21	274	358.0±22.30 (340.7~387.5)
Day 25	148	368.6±25.08 (356.3~384.6)
Day 28	274	386.5±25.48 (369.7~409.9)
Day 32	72	398.8±25.98 (383.7~413.9)
Day 35	198	413.4±27.45 (395.2~426.4)
Day 39	72	421.4±27.12 (408.8~434.0)
Day 42	198	433.4±29.59 (414.9~442.9)
Day 46	72	436.5±28.34 (422.1~450.8)
Day 49	198	449.2±33.37 (428.0~460.4)
Day 53	72	449.5±32.08 (434.7~464.2)
Day 56	198	465.0±36.63 (442.2~481.1)
Day 59	72	459.9±39.65 (446.7~473.1)
Day 62	72	463.6±39.75 (450.8~476.3)

Values are presented means±SD; n, no. of males examined.

**Table 3.** Mean body weights of female rats during the pre-mating and early gestation periods

Periods	n	Value (range)
Pre-mating	Day 0	274 226.2±18.51 (214.1~232.5)
	Day 4	148 238.6±17.87 (225.8~254.2)
	Day 7	274 251.8±20.01 (229.1~281.4)
	Day 10	148 250.4±18.96 (245.6~253.0)
	Day 13	274 255.6±21.10 (236.3~278.6)
Gestation	Day 0	260 265.7±13.15 (245.9~283.2)
	Day 3	148 279.1±13.28 (263.6~300.0)
	Day 6	148 289.6±13.92 (272.4~310.7)
	Day 7	112 299.7± 5.45 (294.5~306.9)
	Day 9	148 301.0±16.11 (282.9~324.8)
	Day 12	148 319.0±16.90 (299.0~336.8)
	Day 14	112 328.2± 4.08 (324.4~331.8)
	Day 15	148 336.1±18.56 (315.6~359.5)

Values are presented means±SD; n, no. of females examined.

였다. 암컷랫드의 교배전 및 임신기간 중의 체중변화는 Table 3에서 보는 바와 같다. 교배전 암컷동물의 체중변화 역시 송 등(1990)의 연구결과와 매우 유사하였다. 임신기간 중 모동물의 체중은 임신의 진행에 따라 점진적으로 증가하였고, 임신 0일부터 제왕절개를 실시한 임신 15일까지 마리당 평균 67 g이 증가한 것으로 나타났다. 임신기간 중 일삼분기(first trimester)와 이삼분기(second trimester)의 체중증가량은 거의 유사한 것으로 나타났으며, 임신 0일의 체중에 비해 각각 약 13%가 증가하였다. 이전에 보고한 랫드 배·태자 발생시험의 기초자료(김 등, 2001a)에 따르면 임신말기의 체중은 임신 0일체의 체중에 비해 약 60%가 증가하였고, 임신기간 동안 전체 증체량의 약 54%가 삼삼분기(third trimester)에 증가한 것으로 나타났다.

**3. 사료섭취량**

시험기간 중 수컷동물의 사료섭취량은 Table 4에 나타

**Table 4.** Mean food consumption of male rats during the pre-mating period

Periods	n	Value (range)
Day 1	274	29.7±2.25 (22.1~35.3)
Day 8	274	31.3±2.60 (28.7~38.4)
Day 15	274	32.2±3.21 (28.5~37.7)
Day 22	274	31.4±2.80 (26.3~36.6)
Day 29	274	33.0±2.90 (30.1~39.7)
Day 36	198	31.1±3.27 (26.1~35.4)
Day 43	198	31.7±2.84 (26.8~36.3)
Day 50	198	31.4±2.76 (25.4~38.5)
Day 57	198	30.2±2.79 (25.9~34.0)
Day 63	72	29.6±1.92 (28.3~30.8)

Values are presented means±SD; n, no. of males examined.

**Table 5.** Mean food consumption of female rats during the pre-mating and early gestation periods

Periods	n	Value (range)
Pre-mating	Day 1	274 21.4±3.20 (16.5~24.6)
	Day 8	274 21.7±2.63 (16.4~26.3)
	Day 14	274 21.1±2.70 (17.1~26.0)
Gestation	Day 1	260 23.1±5.49 (16.3~26.8)
	Day 4	148 24.0±6.42 (21.2~27.3)
	Day 7	148 25.4±5.33 (22.5~28.5)
	Day 8	112 26.1±3.95 (21.9~30.7)
	Day 10	148 26.0±5.97 (21.9~29.9)
	Day 13	148 27.4±6.08 (25.3~30.3)
Day 15	260 26.3±4.53 (22.9~33.8)	

Values are presented means±SD; n, no. of females examined.

넌 바와 같이 마리당 일일 약 30 g을 섭취하였고, 시험의 경과에 따른 섭취량의 증가는 관찰되지 않았다. Table 5에서 보는 바와 같이 암컷동물의 교배전 기간중의 사료섭취량은 마리당 일일 평균 21 g을 섭취한 것으로 나타났고, 수컷동물과 유사하게 시험의 경과에 따른 사료섭취량의 변화는 인정되지 않았다. 반면, 임신동물의 경우 임신의 진행에 따라 시간의존적인 섭취량의 증가를 나타냈으며, 이는 배자의 성장에 따라 사료요구량이 점차 증가함으로써 나타난 결과로 사료된다.

#### 4. 성주기 및 교배소요기간

암컷동물에 있어서 성주기 기간은 Table 6에 나타낸 바와 같이 투여 전 및 투여 후 모두 평균 4.26일로 나타났으며, 약 88%의 암컷동물이 규칙적인 성주기를 나타내었다. 랫드의 성주기는 4일에서부터 14일까지 다양하게 관찰되지만 전형적으로는 4일 내지 5일의 주기를 나타내며, 계절간에도 다소 차이가 있는 것으로 알려져 있다 (Morrissey 등, 1988; Davis 등, 2001). 성주기의 단축은 황체기(luteal phase)의 결핍에 기인되며, 성주기의 연장은 위임신(pseudopregnancy) 기간중에 발생한다고 한다 (Davis 등, 2001). 본 시험에서 관찰된 Sprague-Dawley 랫드의 성주기 기간은 Fischer 랫드의 성주기에 비해 약간

**Table 6.** Estrus cycle length and pre-coital time of female rats

Parameters	n	Value (range)
<b>Estrus cycle length (day)</b>		
Before treatment	274	4.26±0.449 (4.05~4.40)
After treatment	274	4.26±0.450 (4.10~4.60)
<b>Estrus cyclicity</b>		
Cyclic females (%)	274	87.5±5.960 (80.8~95.8)
Acyclic females (%)	274	12.5±5.950 (4.2~19.2)
<b>Pre-coital time (day)</b>	274	3.82±3.320 (3.10~4.40)

Values are presented means±SD; n, no. of females examined.

**Table 7.** Fertility data of parent animals

Parameters	n	Value (range)
<b>Male</b>		
Copulation index <sup>a)</sup>	274	90.4±10.88 (78.6~100.0)
Fertility index <sup>b)</sup>	274	89.4±7.16 (79.0~100.0)
<b>Female</b>		
Copulation index <sup>a)</sup>	274	97.5±3.24 (91.7~100.0)
Pregnancy index <sup>c)</sup>	274	87.5±10.72 (62.5~100.0)

Values are presented means±SD; n, no. of rats examined.

<sup>a)</sup>(No. of rats with successful copulation/No. of mated rats)×100.

<sup>b)</sup>(No. of impregnating rats/No. of rats with successful copulation)×100.

<sup>c)</sup>(No. of pregnant rats/No. of rats with successful copulation)×100.

짧은 것으로 나타났으며, 이는 다른 연구자들의 연구결과와도 일치한다(Morrissey 등, 1988; Davis 등, 2001). 암수 동물을 1 : 1로 동거교배시켰을 때 교배가 성립되는데에 소요된 시간은 약 3.8일로 확인되었으며, 대부분의 암컷동물은 한번의 성주기 기간내에 교배가 성립한 것으로 나타났다.

**Table 8.** Absolute and relative organ weights of male rats

Parameters	n	Value (range)
Body weight at necropsy	274	459.2±37.2 (386.4~504.3)
Brain (g)	274	2.047±0.108 (1.910~2.176)
per body weight (%)		0.450±0.037 (0.412~0.501)
Liver (g)	274	17.03±2.536 (15.16~19.97)
per body weight (%)		3.707±0.408 (3.199~4.098)
Spleen (g)	274	0.896±0.420 (0.662~1.412)
per body weight (%)		0.196±0.088 (0.145~0.289)
Kidney-Left (g)	274	1.697±0.220 (1.478~2.047)
per body weight (%)		0.370±0.041 (0.340~0.423)
Kidney-Right (g)	274	1.724±0.245 (1.489~2.076)
per body weight (%)		0.376±0.048 (0.341~0.429)
Adrenal gland-Left (g)	274	0.031±0.010 (0.026~0.042)
per body weight (%)		0.007±0.002 (0.005~0.011)
Adrenal gland-Right (g)	274	0.028±0.010 (0.024~0.040)
per body weight (%)		0.006±0.002 (0.005~0.010)
Thymus (g)	124	0.408±0.087 (0.297~0.520)
per body weight (%)		0.097±0.020 (0.065~0.135)
Lung (g)	124	1.586±0.155 (1.480~1.656)
per body weight (%)		0.377±0.031 (0.356~0.391)
Heart (g)	224	1.361±0.129 (1.200~1.495)
per body weight (%)		0.305±0.023 (0.299~0.326)
Testis-Left (g)	274	1.647±0.156 (1.486~1.738)
per body weight (%)		0.362±0.042 (0.333~0.399)
Testis-Right (g)	274	1.637±0.195 (1.478~1.726)
per body weight (%)		0.360±0.046 (0.324~0.395)
Epididymis-Left (g)	248	0.563±0.066 (0.454~0.646)
per body weight (%)		0.124±0.015 (0.118~0.133)
Epididymis-Right (g)	248	0.569±0.075 (0.460~0.642)
per body weight (%)		0.125±0.017 (0.119~0.135)
Prostate gland (g)	250	0.619±0.188 (0.473~0.749)
per body weight (%)		0.135±0.039 (0.122~0.150)
Seminal vesicle (g)	250	1.120±0.330 (0.777~1.612)
per body weight (%)		0.244±0.070 (0.199~0.320)

Values are presented means±SD; n, no. of males examined.

## 5. 수태능력

암수동물의 수태능력을 조사한 결과는 Table 7에 요약하였다. 교미율을 조사한 결과 수컷은 약 90%로서 암컷의 약 98%에 비해 교미율이 다소 낮은 것으로 나타났다. 반면 수컷동물의 수태율은 약 89%로서 암컷동물에서 관찰된 약 88%의 임신율과 거의 유사한 것으로 나타났다.

## 6. 장기중량

교배종료 후 수컷동물을 부검하여 얻어진 주요장기의 절대 및 상대장기중량은 Table 8에 나타내었다. 본 시험에서 얻어진 장기중량 결과는 송 등(1990)이 보고한 Sprague-Dawley 랫드의 기초자료와 매우 유사하였고, Morrissey 등(1988)이 Fischer 랫드를 이용한 13주간 반복투여독성시험에서 얻어진 기초자료와도 유사한 것으로 나타났다. 임신 15일째에 암컷동물을 부검하여 얻어진 주요장기의 절대 및 상대장기중량은 Table 9에 나타내었다. 임신동물에서 얻어진 절대장기중량은 송 등(1990)이 보고한 비임신동물의 장기중량 결과와 비교할 때 뇌, 간장, 비장, 신장, 폐, 심장 및 난소의 중량은 다소 증가하였고, 부신과 흉선의 중량은 뚜렷한 차이가 인정되지 않았다. 임신모체가 정상적인 임신상태를 유지하기 위해서는 모체생리의 광범위

**Table 9.** Absolute and relative organ weights of female rats

Parameters	n	Value (range)
Body weight at necropsy	209	345.2±26.3 (302.5~413.1)
Brain (g)	209	1.907±0.100 (1.821~1.999)
per body weight (%)		0.560±0.049 (0.473~0.627)
Liver (g)	209	14.96±2.981 (13.36~17.62)
per body weight (%)		4.353±0.437 (3.719~4.806)
Spleen (g)	209	0.703±0.379 (0.506~1.416)
per body weight (%)		0.206±0.114 (0.155~0.425)
Kidney-Left (g)	209	1.200±0.123 (1.014~1.367)
per body weight (%)		0.353±0.038 (0.277~0.395)
Kidney-Right (g)	209	1.234±0.130 (1.056~1.393)
per body weight (%)		0.363±0.041 (0.284~0.408)
Adrenal gland-Left (g)	209	0.039±0.006 (0.033~0.046)
per body weight (%)		0.011±0.002 (0.009~0.014)
Adrenal gland-Right (g)	209	0.036±0.005 (0.042~0.068)
per body weight (%)		0.011±0.002 (0.008~0.013)
Thymus (g)	108	0.361±0.086 (0.280~0.453)
per body weight (%)		0.108±0.025 (0.085~0.126)
Lung (g)	108	1.344±0.127 (1.281~1.464)
per body weight (%)		0.403±0.038 (0.383~0.419)
Heart (g)	182	1.030±0.109 (0.944~1.178)
per body weight (%)		0.295±0.031 (0.238~0.348)
Ovary-Left (g)	209	0.055±0.012 (0.042~0.068)
per body weight (%)		0.016±0.003 (0.013~0.021)
Ovary-Right (g)	209	0.057±0.012 (0.039~0.068)
per body weight (%)		0.017±0.003 (0.013~0.021)

Values are presented means±SD; n, no. of females examined.

**Table 10.** Sperm examination and serum testosterone concentration of male rats

Parameters	n	Value (range)
Sperm head count (×10 <sup>6</sup> /testis)	70	250.3±13.12 (228.2~268.0)
Sperm count (×10 <sup>6</sup> /epididymis)	30	138.0±13.20 (127.2~152.7)
Sperm motility (%)	70	73.5±5.16 (68.0~80.1)
Sperm abnormality (%)	70	5.1±2.39 (1.6~8.1)
Serum testosterone concentration (ng/ml)	70	4.0±2.27 (1.09~7.10)

Values are presented means±SD; n, no. of males examined.

한 조절(adjustment)이 야기되며 이로 인하여 여러 가지 특징적인 생리적 변화를 나타낸다는 것은 매우 잘 알려져 있다(Branch, 1992; Stock와 Metcalfe, 1994). 상기한 임신동물의 절대장기중량 증가는 임신으로 인한 모체생리변화가 주요 원인인 것으로 사료된다.

## 7. 정자검사성적

교미가 확인된 수컷동물에 대하여 혈청내 테스토스테론 함량과 고환의 정자두부수, 부고환의 정자수, 정자운동성 및 정자기형율을 조사한 결과는 Table 10에 요약하였다. 혈청내 테스토스테론의 평균함량은 4.0 ng/ml이었으며, 각 동물별 및 각 시험별로 측정치의 변이가 다소 심한 것으로 나타났다. 고환당 정자두부수는 평균 250.3×10<sup>6</sup>이었으며, 부고환 미부당 정자수는 평균 138.0×10<sup>6</sup>이었다. 고환에서의 정자두부수와 부고환에서의 정자수는 생식독성을 평가하는 유용한 지표로서 많이 이용되어 왔으며(Ban 등, 1995), 특히 고환에서의 정자발생(spermatogenesis)과 직접적으로 관계되는 평가항목이다(Kim 등, 1999; Creasy, 2001). 정자운동성을 관찰한 결과, 약 74%의 양성율을 보였으며, 이 결과는 다른 연구자들이 보고한 결과와 유사하였다. 정자운동성의 경우 정자의 채취부위나 실험조건에 따라서 결과에 다소 차이가 인정되나 정상동물에서 약 70% 이상의 운동성이 관찰되면 실험조건이 적절하다고 평가한다(Seed 등, 1996). 정자의 형태학적 이상을 관찰한 결과 약 5.1% 정자가 여러 형태의 기형을 나타내었으며, 이는 이전에 보고된 연구결과와 유사하였다(Kim 등, 1999; Matsumoto 등, 1999).

## 8. 제왕절개성적

임신이 확인된 178마리의 암컷동물을 임신 15일째에 제왕절개한 결과는 Table 11에 요약하였다. 황체수, 착상수, 배자흡수수, 태자사망수 및 생존태자수는 본 연구실에서 임신 20일째의 암컷랫드를 제왕절개하여 얻은 결과와 매

**Table 11.** Caesarean section data of normal pregnant Sprague-Dawley rats on gestational day 15

Parameters	n	Value (range)
Pregnant females	209	19.0±4.13 (13.0~26.0)
Corpora lutea	209	16.9±2.14 (15.4~17.9)
Implantations	209	15.3±2.91 (14.0~16.7)
Fetal death	209	1.05±0.44 (0.47~1.85)
Resorptions: Early	209	1.00±0.42 (0.47~1.69)
Late	209	0.03±0.05 (0.00~0.14)
Dead fetuses	209	0.01±0.02 (0.00~0.07)
Live fetuses per litter	209	13.8±3.46 (11.6~15.9)

Values are presented means±SD; n, no. of females examined.

우 유사하였으며(김 등, 2001b), 다른 연구실에서 보고한 연구결과와도 매우 유사하였다(MARTA, 1997; Tyl과 Marr, 1997).

본 연구는 생식독성시험의 기초자료를 확보하고자 당해 연도에는 수태능 및 초기배 발생시험의 기초자료를 조사하였으며, 랫드 및 토끼를 이용한 배·태자발생시험의 기초자료(김 등, 2001a; 김 등, 2001b)와 임신기간 중의 혈액학치 변화(Kim 등, 2000; Kim 등, 2002)에 대해서는 이전에 보고한 바 있다. 수태능 및 초기배 발생시험에 대한 시험법은 우리나라의 경우 지난 1988년에 국립보건안전 연구원에 의해 처음으로 제정(국립보건안전연구원, 1988)되었고, 1994년에 1차로 개정(국립보건안전연구원, 1994)된 후, 1999년에 2차 개정(식품의약품안전청, 1999)되어 현재까지 사용되고 있다. 현재의 시험법은 ICH의 가이드라인(1993)에 기초하여 개정된 것으로서 투여기간과 평가 항목 등에 많은 차이가 있으며, OECD(2001)와 EPA의 가이드라인(1998)과는 다소 상이하다. 본 기초자료는 식품의약품안전청(1999)에서 가장 최근에 개정한 평가항목들을 중심으로 조사하였고, 이전의 가이드라인에 의해 평가된 자료는 현재의 가이드라인에 해당되는 항목의 자료만 활용하였다. 따라서 본 기초자료에서 조사된 각 항목에서의 동물수는 각 항목별로 다소의 차이가 있다. 특히, 수컷동물의 정자검사항목과 초기배의 발생을 평가하기 위한 임신 15일째의 제왕절개결과는 최근에 개정된 가이드라인에서 추가되었기 때문에 사용된 동물의 수가 상대적으로 적었다.

결론적으로 본 기초자료는 수태능 및 초기배 발생시험 결과의 의미있는 해석을 위한 비교자료로서 뿐만 아니라 Sprague-Dawley 랫드의 생물학적 특성자료로서도 유용하게 활용될 것으로 사료된다. 또한 앞으로 본 기초자료에 보다 더 다양한 생식관련 항목과 더 많은 자료가 추가된다면 매우 가치있는 논문이 될 것으로 판단된다.

### 감사의 글

본 연구는 산업자원부에서 주관하는 산업기반기술개발

사업의 일부로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

### 참고문헌

- Baker, H.J., Lindsey, J.R. and Weisbroth, S.H. (1979): The Laboratory Rats (Vol II). Research Applications, Academic Press, New York, pp. 1-435.
- Ban, Y., Komatsu, T., Kemi, M., Inagaki, S., Nakasuka, T. and Matsumoto, H. (1995): Testicular spermatids and epididymal sperm head counts as an indicator for reproductive toxicity in rats, *Exp. Ani.*, **44**, 315-322.
- Branch, D.W. (1992): Physiologic adaptations of pregnancy, *Am. J. Reprod. Immunol.*, **28**, 120-122.
- Creasy, D.M. (2001): Pathogenesis of male reproductive toxicity, *Toxicol. Pathol.*, **29**, 64-76.
- Davis, B.J., Travlos, G. and McShane, T. (2001): Reproductive endocrinology and toxicological pathology over the life span of the female rodent, *Toxicol. Pathol.*, **29**, 77-83.
- Deschl, U., Kittel, B., Rittinghausen, S., Morawietz, G., Kohler, M., Mohr, U. and Keenan, C. (2002): The value of historical control data-scientific advantages for pathologists, industry and agencies, *Toxicol. Pathol.*, **30**, 80-87.
- Harkness, J.E. and Wagner, J.E. (1995): The Biology and Medicine of Rabbits and Rodents (4th edition), Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 1-372.
- ICH (International Conference on Harmonisation) (1993): Detection of toxicity to reproduction for medicinal products, 24 June 1993.
- Kim, J.C., Lee, H.S., Yun, H.I. and Chung, M.K. (2000): Evaluation of the testicular toxicity caused by 2-bromopropane in rats, *Kor. J. Vet. Res.*, **40**, 361-371.
- Kim, J.C., Lim, K.H. and Chung, M.K. (1999): Testicular cytotoxicity of DA-125, a new anthracycline anticancer agent, in rats, *Reprod. Toxicol.*, **13**, 391-397.
- Kim, J.C., Yun, H.I., Cha, S.W., Kim, K.H., Koh, W.S. and Chung, M.K. (2002): Haematological changes during normal pregnancy in New Zealand White rabbits: a longitudinal study, *Comp. Clin. Pathol.*, **11**, 98-106.
- Kim, J.C., Yun, H.I., Lim, K.H., Suh, J.E. and Chung, M.K. (2000): Haematological values during normal pregnancy in Sprague-Dawley rats, *Comp. Haematol. Int.*, **10**, 74-79.
- MARTA (Middle Atlantic Reproduction Teratology Association) (1997): Appendix B: Historical Control Data in Handbook of Developmental Toxicology (Hood, R.D. ed.), CRC Press, New York, pp. 713-733.
- Matsumoto, K., Matsumoto, S., Yoshida, T. and Ooshima, Y. (1999): Sperm abnormalities and histopathological changes in the testes in Crj: CD(SD)IGS rats, *J. Toxicol. Sci.*, **24**, 63-68.
- Morrissey, R.E., Schwetz, B.A., Lamb IV, J.C., Ross, M.D.,

- Teague, J.L. and Morris, R.W. (1988): Evaluation of rodent sperm, vaginal cytology, and reproductive organ weight data from national toxicology program 13-week studies, *Fund. Appl. Toxicol.*, **11**, 343-358.
- OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) (2001): OECD Guidelines for Testing of Chemicals, TG 414: Prenatal Developmental Toxicity Study, Paris, France.
- O'Flaherty, E.J., Scott, W., Schreiner, C. and Beliles, R.P. (1992): A physiologically based kinetic model of rat and mouse gestation: disposition of a weak acid, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **112**, 245-256.
- Seed, J., Chapin, R.E., Clegg, E.D., Dostal L.A., Foote, R.H., et al. (1996): Methods for assessing sperm motility, morphology, and counts in the rat, rabbit, and dog: a consensus report, *Reprod. Toxicol.*, **10**, 237-244.
- Serre, V. and Robaire, B.B. (1998): Paternal age affects fertility and progeny outcome in the Brown Norway rat, *Fertil. Steril.*, **70**, 625-631.
- Speirs, A.L. (1962): Thalidomide and congenital abnormalities, *Lancet*, **1**, 303-305.
- Sonnenschein, C. and Soto, A.M. (1998): An updated review of environmental estrogen and androgen mimics and antagonists, *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.*, **65**, 143-150.
- Stock, M.K. and Metcalfe, J. (1994): Maternal Physiology During Gestation in The Physiology of Reproduction (Vol. II) (Knobil, E. and Neill, J.D. eds), Raven Press, New York, pp. 947-983.
- Tyl, R.W. and Marr, M.C. (1997): Developmental Toxicity Testing-Methodology in Handbook of Developmental Toxicology, (Hood, R.D. ed.), CRC Press, New York, pp. 175-225.
- U.S. EPA (Environmental Protection Agency) (1998): Health Effects Test Guidelines, OPPTS 870.3700, Prenatal developmental toxicity study, U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
- Wilkinson, J.M., Halley, S. and Towers, P.A. (2000): Comparison of male reproductive parameters in three rat strains: Dark Agouti, Sprague-Dawley and Wistar, *Lab. Ani.*, **34**, 70-75.
- Yamada, T., Hara, M., Ohba, Y., Inoue, T. and Ohno, H. (1985): Studies on implantation traces in rats. II. Staining of cleared uteri, formation and distribution of implantation traces, *Exp. Ani.*, **34**, 249-260.
- 국립보건안전연구원(1988): 의약품등의 독성시험기준, 국립보건안전연구원 예규 제10호.
- 국립보건안전연구원(1994): 의약품등의 독성시험기준, 국립보건안전연구원 예규 제94-3호.
- 김종춘, 배주현, 김일환, 정문구, 한상섭(2001a): New Zealand White 토끼의 발생독성학적 기초자료연구, 한국실험동물학회지, **17**, 47-58.
- 김종춘, 이상준, 배진숙, 박종일, 김용범, 정문구(2001b): Sprague-Dawley 랫드를 이용한 발생독성시험의 기초자료연구, 한국독성학회지, **17**, 83-90.
- 식품의약품안전청(1999): 의약품등의 독성시험기준, 식품의약품안전청 고시1999-61호.
- 송창우, 황화선, 한상섭(1990): Ktc: SD 랫드의 주령에 따른 기초연구. 1. 체중변화, 혈액, 혈액생화학적 변화 및 뇨분석, 한국실험동물학회지, **6**, 33-43.