Kor. J. Food Hygiene 6(3, 4), 185-189(1991)

랫드와 마우스에서 소성장 호르몬-서방형 제형 (BST-SR)의 급성독성에 관한 연구

강경선 · 이영순

서울대학교 수의과대학 공중보건학교실

Acute Toxicity of Bovine Somatotrophine-Sustained Release(BST-SR) in Rats and Mice

Kyung-Sun Kang and Yong-Soon Lee

College of Veterinary Medicine, Seoul National University, Suwon 440-744, Korea

ABSTRACT—This study was carried out to investigate whether acute toxicity of BST-SR is or not. Single dose of BST-SR was given to both sexes of Spraqe-Dawley rats and ICR mice, subcutaneously. No significant toxic symptom was observed in single treated rats and mice during the experimental period. In gross and microscopic observation, no significantly different abnormality observed between the several organs of tested animals and control animals. Therefore, it was concluded that BST-SR was nontoxic when BST-SR was subcutaneously administered to rats and mice up to 1000 times of clinical dose.

Keywords□BST-SR, Acute Toxicity

독성(toxicity)이라는 것은 화학물질(chemical)이나 약물(drug)의 표적기관(target organ)에 대한 유해한 작용이라고 정의할 수 있다. 그 중에서도 급성독성을 Organization for Economic Cooperation and Development(OECD)에서는 "24시간 이내의 1회 이상 투여에 의해 짧은기간 동안 나타나는 부작용(adverse effect)"이라고 정의하였다 (OECD, 1981). 이러한 급성독성을 알아보는 급성독성시험은 1백여년 전부터 시작되어 새로운 급성독성 방법에 대한 모색이 이루어지고 있다(Bass 등, 1982; FDA, 1983; Kennedy 등, 1986; Lorke, 1983; Muller 등, 1982; Schutz 등, 1982; Zbinden 등, 1981).

본 실험은 (주)럭키에서 의뢰한 소성장 호르몬의 방출지연제제의 마우스와 랫드에 있어서의 급성피하독성을 조사하기 위하여 실시되었다. 시험방법은 국립보건안전연구원 독성시험지침서(1988)에 준하였다.

Received for publication 21 Jan., 1992
Reprint request: Dr. Y. S. Lee at the above address

재료 및 방법

실험동물—실험동물은 암수 각 5주령의 Spraque Dawley(SD) 랫드 120마리와 ICR 마우스 120마리를 한국화학연구소 안전성 연구센터 실험동물 육종실에서 분양받아 동물 입수 후 약 1주일간 동물실 환경에서 순화시켰다. 순화기간 중 일반상태를 관찰하여 건강한 동물만을 시험에 사용하였다. 독성시험에서 사용되는 적당한 실험동물로서는 마우스에서 ICR, 랫드에서 SD가 가장 널리 사용되고 있는데, 그 이유는 본 계통이 풍부한 기초실험 성적이 축적되어 있어서 시험결과의 해석, 비교 및 평가에 유용하기 때문이다.

사육환경—본 시험은 온도 20±3℃, 상대습도 60±10%, 환기회수 10~12회/hr, 조명시간(오전 7시~오후 2시), 조도 150~300 Lux로 설정된 서울대학교 수의과대학 소동물 실험실에서 실시되었다. 순화기

Table 1. Dosage and composition of groups in SD rats and ICR mice

Groups	Sex	No. of animals	
Clinical dose	Male	5	M1-M5
(T1)	Female	5	F1-F5
10 times dose	Male	5	M6-M10
(T2)	Female	5	F6-F10
100 times dose	Male	5	M11-M15
(T3)	Female	5	F11-F15
500 times dose	Male	5	M16-M20
(T4)	Female	5	F16-F20
1,000 times dose	Male	5	M21-M25
(T5)	Female	5	F21-F25
Control	Male	5	M26-M30
(C)	Female	5	F26-F30

간 및 시험기간 중에 랫드는 polycarbonate 사육상자(26×24×18 cm, 명진기계제작)에 5마리/사육상자로 사육하였고, 마우스는 polycarbonate 사육상자(26×24×18 cm, 명진기계제작)에 10마리/사육상자로 사육하였다. 사육상자에는 시험번호, 동물번호 및 투여량을 기입한 tag를 붙였다. 사료는 실험동물용 고형사료(제일사료 주식회사)를 자유섭취 시켰으며, 음수는 수돗물을 자유 섭취시켰다.

시험물질－(주)럭키에서 공급받은 소성장 호르몬(Bovine Somatotrophine-sustained release, BST-SR)를 이용하였다.

투여량 및 시험군의 구성－본 시험물질은 500 mg/600 kg이 소에서의 최적임상 용량으로 추정되고 있으므로 마우스, 랫드 모두에 이 용량의 10, 100, 500, 1,000배의 용량을 투여하는 군을 설정하고, 그 외에 대조군을 두었다.

시험군의 구성 및 군별 용량은 Table 1에 나와 있으며, 시험군의 구성은 랫드, 마우스에서 동일하다.

랫드, 마우스 모두 순화기간 중에 건강하다고 판단된 동물을 체중측정을 하여 평균체중에 가까운 개체들이 골고루 들어가도록 무작위법으로 군분리를 하였다. 동물개체식별은 피모색소 마킹법과 Tag 표시법으로 하였다.

시험물질의 투여－투여액의 본래 액상제재이기 때문에 조제가 필요없으며, vehicle은 의뢰자가 제공한 것을 사용하였다. 시험물질을 체중용량별로 경배부에 1회 투여하였다.

관찰 및 검사항목－1)일반상태 및 폐사의 관찰 : 투여 당일은 투여 후 6시간 까지는 매 시간마다 일반상태를 관찰하였고, 투여 다음날부터 7일 까지는 매일 1회씩 일반상태의 변화, 중독 증상 및 폐사동물의 유무를 관찰하였다.

2)체중변화 : 모든 동물에 대하여 투여직전과 투여 후 부검일인 7일에 체중을 측정하였다.

3)부검 : 관찰기간 종료 후 에테르 마취를 하고 방혈치사 시켜서 내부장기의 육안적 이상 유무를 상세히 관찰하였다.

통계학적 방법－체중에 대한 유의성 검정법으로 one-way ANOVA에서 유의차가 인정되는 F값이 관찰될 때 대조군과 각 용량군과 비교하기 위하여 Dunnett's t-test를 하였으며, 발생병변의 빈도는 x^2 (chi-square) 검정을 하였다.

결 과

폐사율－시험 전기간을 통하여 랫드와 마우스의 암수 모두에서 폐사동물은 관찰되지 않았다(Table 2, 3).

임상증상－시험 전기간을 통하여 랫드와 마우스의 암수 모두에서 대조군과 비교시 어떠한 유의할 만한 중독적 증상이 관찰되지 않았다.

체중변화－랫드와 마우스의 암수 모든 시험군에서 그 대조군에 비하여 유의할 만한 변화가 관찰되지 않았다(Table 4, 5).

해부병리 소견－랫드의 폐장에서 가끔 암적색 반점이 발견되었으나, 시험군과 대조군에 관계없이 관찰되었으며(Table 6, 7), 현미경 소견으로는 시험물질의 투여에 의한 소견이 아닌 일반 세균 감염병소로 판단되었으며, 랫드의 신장에 흰색반점의 병변이 가끔 시험군과 대조군 모두에서 발견되었으나, 선천적 이상으로 사료된다.

결론 및 고찰

BST-SR에 대한 급성피하 독성시험을 ICR 마우스와 SD 랫드에서 실시한 결과 폐사, 일반증상에서 시험물질의 투여에 기인한 변화는 관찰되지 않았다. 단지, 체중에서 무처치 대조군에 비하여 최고용량

Table 2. Mortality of male and female ICR mice

Sex	Dose(×0.0125 mg/15 g)	Hours after treatment						Days after treatment							Final mortality
		1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	7	
Male	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	1000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
Female	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	1000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5

Table 3. Mortality of male and female SD rats

Sex	Dose(×0.0125 mg/150 g)	Hours after treatment						Days after treatment							Final mortality
		1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	7	
Male	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	1000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
Female	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	1000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5

Table 4. Body weights of male and female ICR mice (Mean± SD: g)

Sex	Days after treatment	Dose (×0.0125 mg/15 g)					
		0	1	10	100	500	1000
Male	0	22.80± 3.31(5)	22.90± 3.28(5)	22.90± 2.92(5)	23.10± 3.28(5)	23.10± 3.43(5)	23.60± 3.20(5)
	7	27.00± 4.48(5)	25.10± 4.24(5)	23.50± 3.36(5)	26.00± 3.65(5)	25.20± 4.78(5)	26.50± 3.54(5)
Female	0	19.60± 2.75(5)	20.00± 2.02(5)	20.20± 2.01(5)	20.60± 1.93(5)	20.70± 1.18(5)	20.70± 2.06(5)
	7	20.70± 2.93(5)	22.20± 1.44(5)	22.10± 1.88(5)	22.20± 1.63(5)	23.60± 1.28(5)	24.70± 3.33(5)

(5): No. of animals

Table 5. Body weights of male and female SD rats (Mean± SD: g)

Sex	Days after treatment	Dose (×0.125 mg/150 g)					
		0		10	100	500	1000
Male	0	160.30± 15.60(5)	160.30± 12.85(5)	161.30± 12.83(5)	161.80± 12.83(5)	161.80± 12.23(5)	161.90± 16.63(5)
	7	202.62± 10.21(5)	194.70± 6.35(5)	201.02± 16.52(5)	195.80± 16.22(5)	195.70± 13.57(5)	212.90± 17.42(5)
Female	0	138.40± 14.18(5)	139.80± 13.29(5)	140.30± 14.69(5)	140.80± 15.36(5)	140.60± 8.91(5)	141.05± 8.73(5)
	7	181.68± 43.97(5)	159.90± 12.37(5)	161.70± 18.29(5)	158.50± 13.15(5)	159.20± 16.58(5)	180.10± 11.17(5)

(5): No. of animals

Table 6. Gross findings of Male and Female ICR mice

	Dose (×0.0125 mg/15 g)											
	0		1		10		100		500		1000	
Fate	tk	fd	tk	fd	tk	fd	tk	fd	tk	fd	tk	fd
No. of Animals Male	5	0	5	0	5	0	5	0	5	0	5	0
Female	5	0	5	0	5	0	5	0	5	0	5	0
Male												
NAD	4		4		4		5		4		5	
Lung: dark red spot	1		1		1		0		1		0	
Female												
NAD	4		4		5		4		3		4	
Lung: dark red spot	1		1		0		1		2		1	

tk: Terminal kill, fd: Found dead, NAD: No abnormality detected

Table 7. Gross findings of Male and Female SD rats

	Dose (×0.125 mg/150 g)											
	0		1		10		100		500		1000	
Fate	tk	fd	tk	fd	tk	fd	tk	fd	tk	fd	tk	fd
No. of Animals Male	5	0	5	0	5	0	5	0	5	0	5	0
Female	5	0	5	0	5	0	5	0	5	0	5	0
Male												
NAD	4		5		4		5		5		4	
Lung: dark red spot	1		0		1		0		0		1	
Female												
NAD	4		5		5		4		4		5	
Lung: dark red spot	1		0		0		1		1		0	

tk: Terminal kill, fd: Found dead, NAD: No abnormality detected

투여군(×1,000배)을 제외한 4개 투여용량군에서 체중이 감소하는 경향을 보였으나, 유의성 있는 변화는 아니고 어떠한 용량 상관성을 나타내지 않았기 때문에 약제에 의한 독성이라기 보다는 약물 투여에 의한 stress에 기인되는 것으로 사료된다.

모든 생존동물에 대한 병리해부학적 연구결과를

보면 위의 해부병리 소견과 같은 병변들이 관찰되었으나, 시험군과 대조군 모두에서 관찰되었다는 점과 용량 상관성도 보이지 않았으므로, 시험물질의 투여에 의한 변화로 볼 수 없다.

이상과 같은 결과를 종합하여 볼 때 시험물질 BST-SR는 아무런 급성적 중독 증상은 나타내지 않으며, LD_{50}값은 소 임상 용량의 1,000배 이상일 것으로 판단된다.

국문요약

BST-SR의 마우스(ICR)와 랫드(S.D)에서의 급성 피하 독성을 조사하기 위하여, 본 시험 물질을 암수 각각 소에서 임상용량인 500 mg/600 kg의 일정한 공비로 최고 1,000배 까지의 용량으로 경배부위로 1회 피하투여하여 1주일간 관찰하였으나, 일반적인 임상증상에서 아무런 이상을 발견할 수 없었으며, 체중변화나 전 생존동물의 부검에서도 아무런 이상을 발견할 수 없었다.

BST-SR의 시험물질은 소에서의 임상적용 용량 1,000배 까지의 투여로도 아무런 독성이 관찰되지 않은 것으로 미루어 보아 현재의 임상적용 용량은 상당히 안전할 것으로 사료된다.

참고문헌

1. Bass, R., Gunzel, P., Henschler, D. *et al.* : LD_{50} *versus* acute toxicity. *Arch. Toxicology.*, **51**, 183-186 (1982).
2. FDA : Final report on acute studies workshop (1983).
3. Kennedy, G. L. Jr., Ferenz, R. and Burgess, B. A. : Estimation of acute oral toxicity in rats by determination of the approximate lethal dose rather than the LD_{50}. *J. Appl. Toxicology.*, **6**, 145-148 (1986).
4. Lorke, D. : A new approach to practical toxicity testing. *Arch. Toxicol.*, **54**, 275-287 (1983).
5. Muller, H. and Kley, H. P. : Retrospective study on the reliability of an "approximate LD_{50}" determined with a small number of animals. *Arch. Toxicology.*, **51**, 189-196 (1982).
6. OECD : OECD guidelines for testing of chemicals. OECD. Paris (1981).
7. Schutz, E. and Fuchs, H. : A new approach to minimizing the number of animals used in acute toxicity testing and optimizing the information of test results. *Arch. Toxicology.*, **51**, 197-220 (1982).
8. Trevan, J. W. : The error of determination of toxicity. *Proc. R. Soc. Lond.*, **101B**, 483-514 (1927).
9. Zbinden, G. and Flury-Roversi, M. : Significance of the LD_{50}-Test for toxicology evaluation of chemical substances. *Arch. Toxicol.*, **47**, 77-99 (1981).
10. 국립보건안전연구원 : 예규 제 10호, 의약품 등의 독성시험 기준 (1988).