응용약물학회지, The Journal of Applied Pharmacology 2, 82-93(1994)

새로운 안트라사이클린계 항암제 DA-125의 생식독성연구: (I) 랫트 최기형시험

정문구* · 한상섭 · 양중익[1] · 노정구

한국화학연구소 안전성연구부, [1]동아제약 주식회사 중앙 연구소

Reproductive Toxicity Study of DA-125, A New Anthracycline Anticancer Agent: (I) Teratogenicity Study in Rats

Moon Koo CHUNG*, Sang Seop HAN, Jung Ick YANG[1] and Jung Koo RHO

Korea Research Institute of Chemical Technology, Toxicology Research Center, P.O.Box 9, Daedeog-Danji, Daejeon 305-606, Korea

[1]Dong-A Pharm. Co. Ltd., Research Laboratories 47-5, Sanggal-ri, Kiheung-up, Yongin-gun, Kyunggi-do, Korea

(Received January 24, 1994; accepted March 23, 1994)

Abstract—DA-125, a new anthracycline antitumor antibiotic, was at dose levels of 0, 0.1, 0.3 and 1.0 mg/kg/day administered intravenously to pregnant Sprague-Dawley rats during the organogenetic period. Two-third of dams per group were subjected to caesarean section on day 20 of pregnancy and the remaining 10 dams per group were allowed to deliver. Effects of test substance on dams, embryonal development of F1 fetuses, as well as growth, behaviour and mating performance of F1 offspring were examined.

1. At 1 mg/kg, one out of the 10 dams showed difficult delivery. A decrease in food consumption, a loss in body weight and a decrease of spleen weight were found in this dose level group.

At 0.3 mg/kg, difficult deliverys were observed in two out of the 10 dams.

2. At 1 mg/kg, an increased resorption rate and a decreased fetal weight were found. In addition, various types of external, visceral and skeletal malformations occurred at an incidence of 11.9, 41.8 and 14.5%, respectively.

3. At 1 mg/kg, body weight reduction, small eyeball, hydrocephalus and atrophy of sexual organs were observed in F1 offspring. One male pup receiving 0.3 mg/kg died on day 2 of lactation.

The results show that the no-effect dose levels (NOELs) for dams and F1 offspring are 0.1 mg/kg/day and NOEL for F1 fetuses is 0.3 mg/kg/day.

Keywords □ DA-125, antitumor antibiotic, teratogenicity study, rats.

Adriamycin은 전세계적으로 널리 사용되는 양질의 항암제이지만 장기투약시 높은 심장독성을 나타내기 때문에 사용이 제한되고 있다(Donehower 등, 1979; Fantel 등, 1985). 따라서 최근 수많은 제약연구자들이 기존 약제보다 부작용이 적은 항암제 개발에 전력하고 있다.

DA-125는 현재 동아제약(주) 연구소(경기도 용인군 기흥읍 상갈리 47-5)에서 개발 중에 있는 안트라사이클린계 항종양성 항생제이다. 대표적인 동일계 항암제인 adriamycin의 단점을 보완하기 위해 합성된 본 약제는 다른 안트라사이클린계 약물과 마찬가지로 DNA에 작용하여 개열과 그에 따른 핵산합성 억제를 유발함으로써 작용한다고 한다(양중익, 1993). 현재까지의 전임상 연구(pre-clinical study)에 의하면 DA-125는 adriamycin보다 약효가 뛰어날 뿐만 아니라 심장독성, 국소자극성등의 부작용이 경감되었다고 한다(백 등, 1993; 안 등, 1993). 한편, adriamycin은 상기한 독특한 작용기작 때문에 인간 및 랫트에 있어서 기형을 유발할 수 있다(Thompson 등, 1978; Murray 등, 1984).

* To whom correspondence should be addressed.

본 연구는 신약후보물질의 생식독성학적 스크리닝(reproductive-toxicological screening)의 일환으로서 adriamycin의 유도체인 DA-125가 임신랫트의 배아 및 태자에 있어서 기형, 치사, 발육지연 및 기능장애를 유발하는지를 조사하기 위하여 실시하였다. 본 시험은 의약품 등의 독성시험기준(국립보건안전원, 1988)과 일본독성시험기준(Yakugyo Jiho Co., 1984)에 준하여 실시하였다.

실험방법

시험물질

본 시험에는 동아제약에서 합성한 DA-125(Lot No. Da-125-026)가 사용되었다. DA-125의 구조식은 7-0-(2,6-dideoxy-2-fluoro-a-talopyranosyl)-adriamycinone-14-b-alaniate HCl이고 분자량은 670이며 적색분말로서 순도는 95% 이상이었다. 주사시 DA-125는 1 mM lactic acid (in saline, pH 4.0) 용액에 용해시켜 사용하였다.

실험동물 및 사육환경

실험동물은 한국화학연구소 안전성연구부 실험동물육종실(대전직할시 유성구 장동 100)로부터 입수한 Sprague-Dawley 랫트(SPF)를 사용하였다. 9주령의 수컷 160마리와 암컷 320마리를 입수한 후 1주일간의 검역 및 순화를 거친뒤 1 : 2로 교배시켜 질구의 정충을 확인한 날을 임신 0일로 정하였으며 임신확인된 암컷 160마리를 시험에 사용하였다.

본 시험은 온도 23± 3℃, 상대습도 50± 10%, 환기횟수 13~18회/hr., 조명시간 12시간(오전 7시~오후 7시), 조도 200~300 Lux로 설정된 동물실에서 실시되었다. 시험기간 중 사료는 실험동물용 고형사료(제일사료(주))를 방사선 조사(2.0 Mrad)멸균하여, 그리고 물은 상수도수를 자외선 유수살균기로 소독시킨 후 자유섭취시켰다.

투여량의 설정과 시험군의 구성

0.5, 1.0, 1.5 및 2.0 mg/kg의 4개 용량으로 예비시험을 실시한 바, 1 mg/kg군에서는 모동물 및 태자의 체중감소가 나타났고 1.5 및 2 mg/kg군에서는 상기한 1 mg/kg군의 소견 이외에 배아흡수율의 증가(1.5 mg/kg군; 81%, 2 mg/kg군; 100%)가 관찰되었다. 이를 기초로 1 mg/kg을 고용량으로 정하고 공비 3으로 중용량 및 저용량을 0.3, 0.1 mg/kg으로 설정하였으며 그 외에 매체(1 mMol L(+) lactic acid) 대조군을 두었다. 시험군의 구성은 Table I과 같다.

Table I. Experimental design for teratogenicity study of DA-125 in rats

Group	Dose (mg/kg/day)	Volume (ml/kg)	No. of animals (females)
Control	0	1	40
DA-125	0.1	1	40
	0.3	1	40
	1.0	1	40

투여방법 및 투여기간

동물의 미정맥내로 기관형성기(임신 7일부터 임신 17일까지)동안 1일 1회 오전 중에 연속투여하였다. 투여액량은 임신 7일, 10일 및 14일의 체중을 기준으로 산출하였다.

관찰 및 검사항목

일반증상관찰 : 시험기간 중 1일 1회 동물의 일반증상, 중독증상 및 사망유무에 관해서 관찰하였고 투여기간 중에는 투여 전후 1일 2회 관찰하였다.

체중 및 사료섭취량 측정 : 각군의 전 어미동물에 대하여 임신 0, 7, 10, 14, 17 및 20 일째에 체중을 측정하였고 자연분만군에 속한 어미동물은 포육 0, 7, 14 및 21 일째에 체중측정을 실시하였다. 그리고 사료섭취량은 모든 동물에 대하여 체중측정일에 사료를 급여한 후 익일 잔량을 측정하였다(단, 임신 20일째에는 제왕절개로 인하여 임신 19일째에 사료급여 후 익일 잔량을 측정하였고 포육 21일째에는 부검으로 인하여 포육 20일째에 급여 후 잔량을 측정함).

부검 : 각군당 2/3의 임신동물은 임신 20일째 그리고 자연분만군에 속한 동물(각군당 1/3)은 포육 21일째에 부검하여 체표, 체강, 흉강 및 복강의 전장기에 대하여 육안적 검사를 실시하였다. 임신 20일째 부검동물에 대해서는 간장, 신장, 비장, 심장, 뇌, 부신 및 난소의 중량을 측정하였다.

제왕절개 : 각군당 2/3의 암컷동물들을 임신 20일째 제왕절개하여 임신황체수, 착상수, 생존태자수, 흡수배아(태자)수, 사망태자수, 생존태자의 성별, 생존태자의 개체별 체중 등을 조사하였다.

태자의 외표검사 : 생존태자를 자궁에서 적출한 후 즉시 외표이상의 유무에 대하여 관찰하고 왼쪽 자궁각의 난소측에서 번호를 매겨 홀수번호는 골격검사에 그리고 짝수번호는 내장검사에 사용하였다.

골격검사 : 각배당 생존태자를 95% 에칠알콜에 고정한 후 Inouye법(Inouye, 1976)에 따라 골격표본을 제작한 후 골격이상 유무 및 골화상태에 대하여 검사하였다(Lorke, 1977).

내부장기검사 : 각 배당 생존태자를 Bouin액에 고정한 후, 두부 및 복부는 Wilson 법(Wilson *et al*, 1972), 흉부는 현미해부법(Nishimura, 1974)에 의하여 내부장기 이상유무를 검사하였다.

차세대동물의 검사 : 각군당 1/3의 동물을 자연분만시켜 얻은 F1 동물을 생후 4일째에 각 어미동물에 대하여 암·수 각각 4마리씩 되게 조정(1배당 태자수가 8마리가 안될 때에는 조정하지 않았음)하고 각 시험군에 암·수 각각 1마리씩 속하도록 이유부검, 성장시험, 행동시험, 생식시험 등 4개의 시험군으로 나눈 후 시험을 실시하였다. 이때 조정 후 남은 태자에 대해서는 골격 또는

내부장기검사를 실시하였다. 각 분만동물에 대하여 출산일에 생존 및 사망자수, 성비, 생존자의 외표기형 발현유무 등을 조사하였고 이유기간 동안의 생존율을 조사하였다. 이유부검군의 동물들은 포육 21일째에 부검하여 체표, 체강, 흉강 및 복강의 전 장기에 대하여 육안적 검사를 실시하였다. 성장시험군의 동물들은 포육 0일부터 10주령까지 주 1회 체중을 측정하였고 발육분화상태[이개개전(3), 피모발생(9), 절치붕출(11), 안검개열(15), 정소하강(23), 질개구(33)]를 관찰하였고 10주령째에 부검하여 체표, 체강, 흉강 및 복강의 전장기에 대하여 육안적 검사를 실시하였다(( )는 관찰일령을 나타냄). 행동시험군의 동물에 대해서는 정향반사(10), 부주지성(13), 견인력시험(17), 동공반사(22), 청각반사(22), 회전봉시험(24), open field test(47), 수미로시험(62) 등의 행동학습기능시험을 실시하였다(( )는 실시일령을 나타냄). 생식시험군의 암·수동물들은 10주령 이후에 동일군내의 동물끼리 형매교배를 피하여 동거시킨 후 수태율을 산출하였고 교미확인 암컷동물에 대해서는 임신, 0, 7, 14 및 20일에 체중을 측정하였다. 그리고 모동물을 임신 20일째에 제왕절개하여 임신황체수, 착상수, 생존태자수, 흡수배아(태자)수, 사망태자수, 생존태자의 개체별 체중, 외표이상 등을 조사하였다.

통계학적 분석

얻어진 시험자료에 대한 통계분석은 다중비교법을 실시하였다. 일원배치분산분석(ANOVA)을 실시하여 $p<0.05$이면 Dunnett 혹은 Scheffe 검정법을 이용하였다. 시험자료가 빈도수를 나타낼 경우에는 Kruskal-Wallis(H) 검정($p<0.05$)을 실시하고 순위화한 자료를 이용한 Dunnett형의 검정 혹은 Scheffe형 검정을 행하였다. 출현율 및 백분율에 대한 시험자료는 자료의 정리로써 표현되거나 혹은 순위화한 H 검정을 실시하였다. 태자에 대한 시험자료는 성비를 제외하고 한배에서 나온 태자들의 평균체중, 빈도수(황체수, 흡수배아수, 사망태자수)를 이용하여 통계분석하였다. 성비에 대한 분석은 chi-square 검정을 실시하였다. 전체적으로 검정의 유의수준은 0.01 혹은 0.05에서 검사하였으며 위의 검정에 이용된 package program으로는 SAS ver. 6.04를 사용하였다.

실험결과

모동물(F0)에 미치는 영향

일반증상 : 모동물의 임신기간과 포육기간 동안 매체대조군을 포함한 모든 투여군에서 어떠한 특이증상도 관찰되지 않았다. 그리고 분만시에는 대조군에서 빈사동물(moribund sacrifice)이 1례 나타났다. 또한 0.3 mg/kg군과 1 mg/kg군에서는 난산(difficult delivery)이 각각 2(20%), 1(10%)례씩 관찰되었는데 이는 시험물질에 의한 영향으로 판단되었다.

체중 : 모동물의 임신 및 포육기간 동안의 체중은 1 mg/kg군에서 임신 14일부터 포육 0일까지의 체중이 유의성있는 감소를 나타냈는데(Fig. 1), 시험물질에 의한 변화로 인정되었다.

사료섭취량 : 1 mg/kg군에서 임신 8일째의 모동물의 사료섭취량이 통계학적으로 유의한 감소를 나타냈는데(Fig. 2), 이는 시험물질에 의한 변화로 판단되었다.

부검소견 : 모동물의 임신 20일째 부검시 0.3 mg/kg군에서 횡격막탈장(diaphragmatic hernia)이 2례 관찰되었으며 이것은 일반적으로 관찰되는 소견으로써 시험물질에 의한 변화는 아니었다. 그리고 자연분만군에 속한 대조군의 빈사동물 1례에 대하여 부검을 실시한 바, 자궁탈(prolapse)과 암적색 양수(dark-red amniotic fluid)가 발견되었다.

절대 및 상대장기중량 : 모동물의 임신 20일째 부검시 측정한 주요장기의 절대장기에 있어서 0.3 mg/kg군에서는 비장이 그리고 1 mg/kg군에서는 간장 및 비장이 대조군에 비해 유의성있는 감소를 나타냈다. 한편 상대중량에 있어서는 1 mg/kg군에서 비장의 감소와 뇌 및 심장의 증가가 관찰되었으며(Table II) 뇌 및 심장중량의

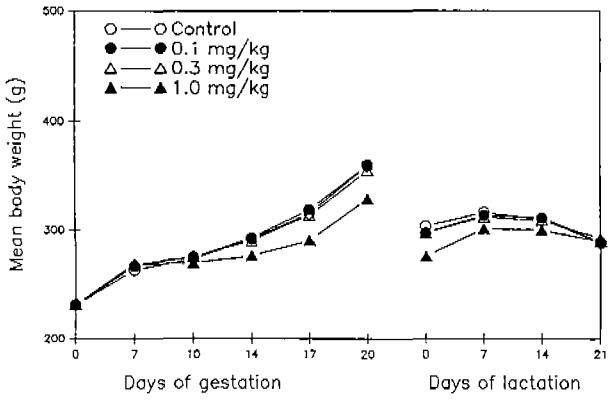

Fig. 1. Mean body weight changes during the gestation and lactation of dams treated with DA-125.

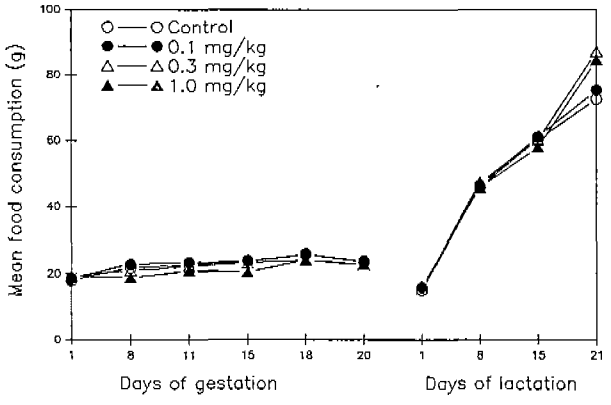

Fig. 2. Mean food consumption during the gestation and lactation of dams treated with DA-125.

증가는 체중감소에 따른 상대적 증가로 판단되었고 비장의 감소는 시험물질에 의한 변화로 인정되었다.

태자(F1)에 미치는 영향

제왕절개성적 : 제왕절개시 조사된 황체수, 착상수, 흡수배수, 사망태자수, 산자수와 성비는 모든 투여군에서 대조군과 비교하여 유의성을 나타내지 않았다(Table III). 흡수배아수에 있어서는 1 mg/kg군에서 후기흡수가 대조군에 비해 유의성있는 증가를 나타냈고, 생존태자의 체중은 1 mg/kg군에서 암·수 모두 대조군에 비해 유의성있는 감소를 나타냈는데 이들은 시험물질에 의한 영향으로 판단되었다.

태자의 외표소견은 대조군에서 무미(acaudate), 무악증(agnathia), 그리고 복합기형[뇌탈출증(exencephaly), 개안(open eye), 혀돌출증(protruded tongue) 및 무미]이 각각 1례씩 관찰되었고 0.1 mg/kg군에서는 주둥이 단소(short snout), 단미(short tail), 그리고 무미가 각각 1례씩 나타났다. 0.3 mg/kg군에서는 단미, 혀돌출증, 주둥이 단소 그리고 복합기형[소악증(micrognathia) 및 안구돌출증

Table II. Relative organ weights of dams treated with DA-125

Dose: (mg/kg)	0	0.1	0.3	1.0
No. of animals	23	25	28	24
Body weight (g)	355.3± 34.1	358.5± 29.1	349.5± 30.8	322.4± 23.0
% Body weight				
Brain (g)	0.525± 0.052	0.520± 0.040	0.533± 0.040	0.563± 0.069*
Adrenal Gland-Left (g)	0.009± 0.001	0.009± 0.002	0.008± 0.001	0.009± 0.002
Adrenal Gland-Right (g)	0.008± 0.001	0.008± 0.001	0.008± 0.001	0.008± 0.002
Liver (g)	4.084± 0.371	4.144± 0.277	4.04± 0.365	3.998± 0.290
Spleen (g)	0.188± 0.022	0.179± 0.024	0.171± 0.024	0.154± 0.026**
Kidney-Left (g)	0.288± 0.038	0.275± 0.028	0.283± 0.039	0.298± 0.041
Kidney-Right (g)	1.535± 5.941	0.284± 0.030	0.289± 0.034	0.304± 0.044
Heart (g)	0.262± 0.028	0.255± 0.022	0.265± 0.029	0.284± 0.025*
Ovary-Left (g)	0.015± 0.004	0.014± 0.003	0.015± 0.004	0.014± 0.003
Ovary-Right (g)	0.015± 0.004	0.016± 0.005	0.015± 0.003	0.016± 0.003

Values are Mean± S.D.
* and **indicate significant difference at $p<0.05$ and $p<0.01$ levels when compared with control group.

Table III. Caesarean section data of dams treated with DA-125

Dose: (mg/kg)	0	0.1	0.3	1.0
No. of pregnant animals	23	25	28	24
Corpora lutea (Mean± S.D.)	14.83± 3.33	15.08± 2.58	15.25± 2.03	15.21± 2.30
Implantations (Mean± S.D.)	12.35± 4.76	13.00± 3.11	12.36± 4.13	11.88± 4.82
% to corpora lutea (Mean± S.D.)	80.44± 22.67	86.20± 13.29	80.49± 22.58	76.18± 24.97
Fetal deaths (resorptions+dead fetuses)	30	29	31	50
Resorptions	30	29	31	48
Early	30	27	28	34
Late	0	2	3	14**
Dead fetuses	0	0	0	2
Live fetuses				
Male/Female	136/117	142/156	169/146	127/108
Litter size (Mean± S.D.)	11.04± 4.82	11.84± 3.21	11.25± 3.93	9.79± 4.68
% to implantation (Mean± S.D.)	89.09± 18.19	91.06± 10.72	90.11± 10.72	81.18± 21.14
Sex Ratio (male/female)	1.16	0.91	1.16	1.18
No. of fetuses with external anomalies (%)	3 (1.2)	3 (1.0)	4 (1.3)	28**[a] (11.9)
Body weight of live fetuses				
Male (Mean± S.D.)	3.75± 108	3.54± 0.84	3.64± 0.74	2.99± 0.83**
Female (Mean± S.D.)	3.57± 0.99	3.40± 0.77	3.50± 0.71	2.86± 0.64**

[a]Agnathia, anophthalmia, cleft lip, club foot. crooked snout, curvature of thoracic vertebrae, dome-shaped head, edema, exencephaly, exophthalmus, gastroschisis, hematoma, micrognathia, protruded tongue, short snout.
**indicates significant difference at $p<0.01$ levels when compared with contol group.

(exophthalmus), (Fig. 3)]이 각각 1례씩 발견되었다.

그리고 1 mg/kg군에서는 28례(11.9%; 그중 26례는 복합기형)가 뇌탈출증, 혀돌출증, 복벽파열(gastroschisis, Fig. 4), 구순열(cleft lip), 부종(edema) 및 만곡족(club foot), 무악증등의 외표기형을 나타냈는데, 발현율이 대조군에 비해 현저히 높아 시험물질에 기인한 변화로 인정되었다.

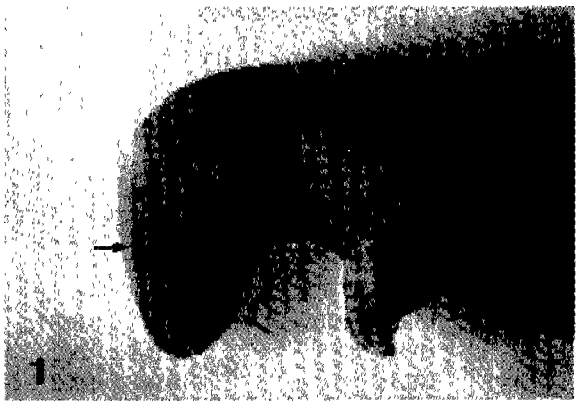

Fig. 3. Micrognathia and exophthalmus in a fetus of 0.3 mg/kg group.

내부장기검사 : 임신 20일째 적출한 태자의 내부장기 검사시 0.3 mg/kg군에서는 복합기형(무설증(aglossia) 및 구개무발생증(agenesis of palate))이 1례 관찰되었는데 자연발생기형으로 단정하기는 어려우나 발현율이 낮아서 시험물질에 기인한 소견으로는 판단되지 않았다. 그리고 1 mg/kg군에서는 46례(41.8%; 그중 37례는 복합기형)가 무안구증(anophthalmia), 소안구증(microphthalmia), 외측뇌실확장(dilatation of lateral vertricle, Fig. 5), 외측뇌실 및 제3뇌실확장(dilatation of lateral and 3rd ventricle)과 구개무발생증을 나타내었는데(Table IV) 이는 시험물질에 의한 영향으로 인정되었다. 그리고 대조군에서 0.1, 0.3 및 1 mg/kg군의 순으로 신우확장(dilatation of renal pelvis)은 각각 5, 3, 1 및 1례씩, 요관확장(dilatation of ureter)은 각각 1, 0, 8 및 7례씩, 그리고 신우확장 및 요관확장은 각각 1, 1, 4 및 0례씩 관찰되었는데 이들은 자연발생적인 소견들로써(Morita 등, 1987) 시험물질에 의한 변화는 아니었다. 4일째 조정 후 남은 태자의

Fig. 4. Exencephalia, protruded tongue and gastroschisis in a fetus of 1 mg/kg group.

Fig. 5. Dilatation of lateral ventricle in a fetus of 1 mg/kg group.

Table IV. Visceral findings in fetuses from dams treated with DA-125

Dose: (mg/kg)	0	0.1	0.3	1.0
No. of dams	21	25	27	22
No. of fetuses examined	120	138	152	110
(Mean± S.D.)	(5.7± 1.9)	(5.5± 1.5)	(5.6± 1.7)	(5.0± 2.1)
No. of fetuses with malformations (%)	0	0	1[a](0.7)	46[b](41.8)
No. of fetuses with variations (%)	7(16.8)	4(2.9)	13(8.5)	8(7.3)
Dilatation of renal pelvis	5	3	1	1
Dilatation of ureter	1	0	8	7
Dilatation of renal pelvis and ureter	1	1	4	0

[a]Aglossia and agenesis of palate.
[b]Anophthalmia, microphthalmia, dilatation of lateral ventricle, dilatation of lateral and 3rd ventricle and agenesis of palate.

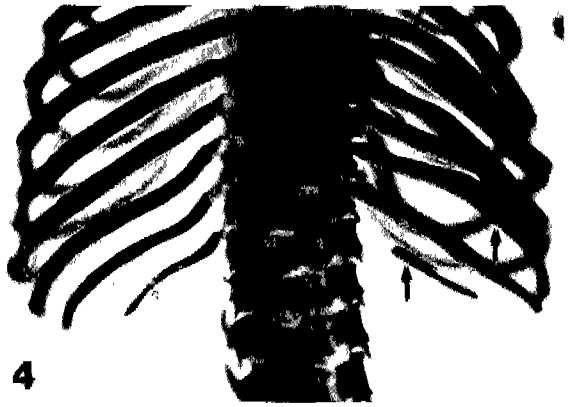

Fig. 6. Fused ribs, flying rib and absence of thoracic vertebral body in a fetus of 1 mg/kg group.

내부장기 검사시 1 mg/kg군에서 외측 뇌실확장이 3례(18.8%) 관찰되었는데 이는 시험물질의 투여에 기인한 소견으로 인정되었다.

골격검사 : 랫트태자의 골격소견은 신체의 기능장애 유발여부, 골화정도 등에 따라서 기형(malformation), 변이(variation) 및 골화지연(retardation)으로 구분된다.

임신 20일째 적출한 태자의 골격검사시 대조군에서는 늑골유착(fused ribs), 말늑골단소(shortened 13th rib), 하악골단소(shortened mandibula), 요추추체결손(absence of lumbar vertebral body) 및 두개골의 불완전골화(incomplete ossification of cranial bones)[기형]가 4례(3%), 요늑(14th rib) 및 비대칭흉골(asymmetric sternebrae)[변이]이 5례(3.7%) 그리고 천문확장(enlarged fontanelle), 흉추추체의 좌우분리(cleaved thoracic vertebral body) 및 아령형 흉추추체(dumbbell-shaped thoracic vertebral body)[골화지연]가 8례(6%) 관찰되었다.

0.1 mg/kg군에서는 말늑골단소와 두개골의 불완전골화[기형]가 7례(4.5%), 요늑과 비대칭흉골[변이]이 7례(4.5%) 그리고 천문확장, 흉골의 좌우분리(cleaved sternebrae) 및 아령형흉추추체[골화지연]가 5례(3.2%) 나타났다.

0.3 mg/kg군에서는 말늑골단소[기형]가 3례(1.8%), 요늑, 비대칭흉골, 경늑(cervical rib) 및 파상형늑골(wavy ribs)[변이]이 13례(8%), 그리고 천문확장, 흉골의 좌우분리, 흉추추체의 좌우분리 및 아령형 흉추추체[골화지연]가 18례(11%) 관찰되었다.

또한 1 mg/kg군에서는 늑골유착, 부유늑골(flying rib), 흉추의 추체결손(absence of thoracic vertebral body) (Fig. 6), 분지늑골(bifurcated rib), 말늑골단소, 흉골개열(sternal cleft), 하악골단소 및 두개골의 불완전골화[기형]가 18례(14.5%), 요늑, 경늑, 비대칭흉골 및 천추의 요추화(lumbarization of sacral vertebrae)[변이]가 47례(37.9%) 그리고 천문확장, 흉골의 좌우분리, 흉추 및 요추추체의 좌우분리(cleaved thoracic and/or lumbar vertebral body), 아령형흉추추체 및 요추추궁결손(absence of lumbar vertebral arch)[골화지연]이 48례(38.7%) 발견되었다(Table V). 이중 1 mg/kg군에서 나타난 기형, 변이 및 골화지연의 발현율은 대조군에 비해 현저히 높아서 시험물질에 의한 영향으로 인정되었다. 그리고 흉골, 중수골, 중족골, 전후지의 지골 및 천미추의 골화진행도에 있어서 대조군과 각 투여군간의 유의차는 인정되지 않았다. 또한 포육 4일째 조정 후 남은 태자의 골격검사시 모든 군에서 어떠한 이상소견도 나타나지 않았다.

차세대 동물(F1)에 미치는 영향

출산시 소견 및 포육기간중의 생존율 : 모동물의 임신기간, 출생시의 사산자수 및 생존자수 그리고 포육생존자의 생존율에 있어서, 대조군과 각 투여군간의 차이는 인정되지 않았다. 그리고 출생일의 생존자 관찰시 모든 군에서 어떠한 외표기형도 관찰되지 않았다(Table VI).

부검소견(이유부검군) : 이유부검군에 속한 F1 암·수 동물의 포육 21일째 부검시 좌측안구형성부전(small eyeball)과 안구주위의 암적색분비물(dark material around eye)이 수컷의 1 mg/kg군에서 1례(12.5%) 관찰되었는데, 이중 안구형성부전은 시험물질에 의한 변화로 판단되었고 안구주위의 암적색 분비물은 동물의 허약에 기인한 일시적인 증상으로서 시험물질에 의한 변화는 아니었다.

분화상태 : 성장시험군에 속한 F1 암·수동물의 형태분화(이개개전, 피모발생, 절치붕출, 안검개열, 정소하강, 질개구)의 관찰시 분화상태는 모든 투여군에서 대조군과 비교하여 유의성을 나타내지 않았다(Table VII).

행동기능검사 : 행동시험군에 속한 F1 암·수동물에 대해 정향반사기능시험, 부주지성시험, 견인력시험, 동공반사시험, 청각반사시험 및 회전봉시험을 실시한 바, 합격율에 있어서 대조군과 각 투여군간의 유의차는 인정되지 않았다(Table VIII).

Open field test : 행동시험군에 속한 F1 암·수동물에 대해 open field test를 실시한 결과, 동물이 이동한 정방형의 수는 암·수 모두 모든 투여군에서 대조군에 비해 유의차를 나타내지 않았다(Table IX).

수미로시험 : 행동시험군에 속한 F1 암·수동물에 대해 수미로시험을 실시한 결과, 학습시험(1~6회), 기억력시험 및 역학습시험(1~6회)의 합격율에 있어서 암·수 모두 대조군과 각 투여군간의 유의차는 인정되지 않았다(Table X).

일반 증상(성장시험군) : 성장시험군에 속한 F1 암·수동물에 대해 포육기간 및 이유 후 10주령까지 일반증상 관찰을 실시한 바 수컷동물의 경우 0.3 mg/kg군의 1례(11.1%)가 출생 후 2일째에 사망을 했는데 시험물질의 영향으로 인정되었다.

그리고 암컷동물에 있어서는 대조군과 0.3 mg/kg군에서 각각 1례씩 안구주위의 암적색분비물이 약 7일 동안 관찰되었다. 그리고 1 mg/kg군의 1례는 백내장(cataract)을 나타냈는데 자연발생적인 소견으로서 시험물질에 의

Table V. Skeletal findings in fetuses from dams treated with DA-125

Dose: (mg/kg)	0	0.1	0.3	1.0
No. of dams	23	25	28	24
No. of fetuses examined (Mean± S.D.)	134 (5.8± 2.4)	154 (6.2± 1.6)	163 (5.8± 2.0)	124 (5.2± 2.3)
No. of fetuses with malformations (%)	4(3.0)[a]	7(4.5)[b]	3(1.8)[c]	18(14.5)[d]
No. of fetuses with variations (%)	5(3.7)	7(4.5)	13(8.0)	47(37.9)[e]
No. of fetuses with retardations (%)	8(6.0)	5(3.2)	18(11.0)	48(38.7)[f]
No. of ossification centers				
No. of sternebrae	4.3± 1.7	4.6± 1.1	4.8± 0.9	3.9± 1.7
No. of metacarpals in both forelimbs	5.8± 2.6	6.6± 1.1	6.9± 0.9	62± 1.7
No. of lst & 2nd phalanges in both forelimbs	1.7± 2.8	2.0± 3.3	1.4± 2.7	1.6± 2.9
No. of 3rd phalanges in both forelimbs	2.6± 3.6	2.2± 3.3	2.0± 3.2	1.9± 3.3
No. of metatarsals in both hindlimbs	7.1± 2.9	8.0± 0.7	8.0± 0.7	7.0± 2.4
No. of lst & 2nd phalanges in both hindlimbs	0.6± 1.1	0.8± 1.7	0.7± 1.6	0.7± 1.5
No. of 3rd phalanges in both hindlimbs	2.4± 3.5	1.7± 3.1	1.8± 3.1	1.7± 3.1
No. of sacral and caudal vertebrae	7.4± 2.6	7.7± 1.7	7.7± 1.5	6.8± 2.3

[a]Fused ribs. shortened 13th rib, shortened mandibula, incomplete ossification of cranial bones, absence of lumbar vertebral body.
[b]Shortened 13th rib, incomplete ossification of cranial bones.
[c]Shortened 13th rib.
[d]Fused ribs, flying rib, bifurcated rib, shortened 13th rib, sternal cleft, shortened mandibula, absence of thoracic vertebral body, incomplete ossification of cranial bones.
[e]14th rib. cervical rib. asymmetric sternebrae, lumbarization of sacral vertebrae.
[f]Enlarged fontanelle. cleaved sternebrae, cleaved thoracic and/or lumbar vertebral body, dumbbell-shaped thoracic vertebral bdoy, absence of lumbar vertebral arch.

Table VI. Reproductive and littering findings of dams treated with DA-125

Dose: (mg/kg)	0	0.1	0.3	1.0
No. of dams	9	10	10	10
No. of implantations	112	151	124	135
Mean± S.D.	12.4± 3.5	15.1± 2.3	12.4± 3.7	13.5± 2.0
No. of perinatal deaths	0	1	4	6
% to implantation: Mean± S.D.	0	0.6± 2.0	5.6± 15.7	4.5± 6.4
No. of live young at birth				
Male	53	55	52	61
Female	39	77	47	48
Total	92	132	99	109
Mean± S.D.	10.2± 3.2	13.2± 2.4	11.0± 4.4	12.1± 2.9
% to implantation: Mean± S.D.	82.1± 12.4	88.0± 11.7	81.8± 27.5	87.9± 11.5
No. of neonates with external anomalies	0	0	0	0
Pregnancy period (day) (Mean± S.D.)	22.1± 0.3	22.1± 0.3	22.5± 1.1	22.2± 0.6
Viability index[a] (%)	100	98.5	98.0	99.1
Lactation index[b] (%)	98.5	100	100	100
Delivery index[c]	9/10	10/10	9/10	9/10

[a](No. of live offspring at day 4/No. of live offspring at birth)×100.
[b](No. of live offspring at day 21/No. of live offspring after litter size control)×100.
[c]No. of dams with live newborns/No. of pregnant dams.

Table VII. Postnatal physical development results of F1 pups from dams treated with DA-125

Dose: (mg/kg)	0	0.1	0.3	1.0
	% (positive/observed)			
Auricular detachment	100 (18/18)	100 (20/20)	100 (16/16)	100 (18/18)
Hair growth	100 (18/18)	100 (20/20)	100 (16/16)	100 (18/18)
Incisors eruption	100 (18/18)	95 (19/20)	100 (16/16)	94 (17/18)
Eyelid opening	100 (18/18)	100 (20/20)	100 (16/16)	100 (18/18)
Testis descent	100 (9/9)	100 (10/10)	100 (8/8)	89 (8/9)
Vagina opening	100 (9/9)	100 (10/10)	100 (8/8)	89 (8/9)

Table VIII. Faculty tests results of F1 pups from dams treated with DA-125

Dose: (mg/kg)	0	0.1	0.3	1.0
	% (positive/observed)			
Righting reflex	100 (16/16)	100 (20/20)	100 (15/15)	100 (18/18)
Negative geotaxis	100 (16/16)	100 (20/20)	100 (15/15)	100 (18/18)
Traction test	100 (16/16)	95 (19/20)	93 (14/15)	89 (16/18)
Pupillary reflex	100 (15/15)	100 (20/20)	100 (15/15)	100 (16/16)
Acoustic startle resoponse	100 (15/15)	100 (20/20)	100 (15/15)	100 (17/17)
Rotating rod test	100 (15/15)	95 (19/20)	100 (15/15)	100 (16/16)

Table IX. Open field test results of F1 pups from dams treated with DA-125

Dose: (mg/kg)	0	0.1	0.3	1.0
Male				
No. of young tested	8	10	8	7
No. of squares (Mean± S.D.)	6.3± 4.6	6.1± 4.6	7.8± 3.8	10.4± 8.9
Female				
No. of young tested	7	10	7	9
No. of squares (Mean± S.D.)	13.0± 3.3	11.8± 5.4	8.4± 6.0	12.1± 5.2

Table X. Water-T-maze test results of F1 offspring from dams treated with DA-125

Dose: (mg/kg)	0	0.1	0.3	1.0
No. of males tested	8	10	8	7
% of correct escapes				
Learning 1~6	70.8	80.0	72.9	78.6
Memory	87.5	90.0	50.0	85.7
Reverse learning 1~6	35.4	35.0	47.9	57.1
No. of females tested	7	10	7	9
% of correct escapes				
Learning 1~6	73.8	65.0	71.4	64.8
Memory	71.4	50.0	42.9	66.7
Reverse learning 1~6	64.3	48.3	52.4	42.6

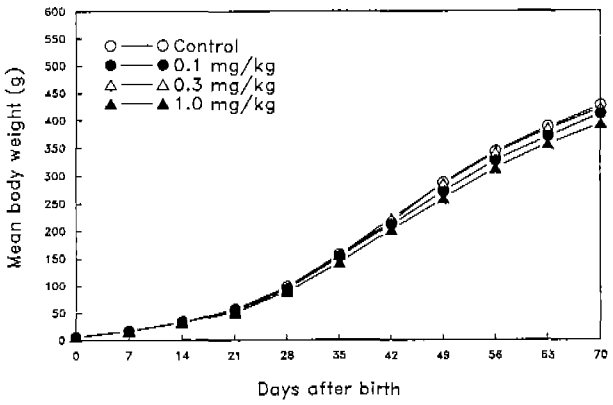

Fig. 7. Changes in body weights of F1 male rats from dams treated with DA-125.

한 변화는 아니었다.

체중(성장시험군) : 성장시험군에 속한 F1 암·수 동물에 대해 포육 0일부터 10주령까지 체중을 측정한 결과, 암·수 모두 1 mg/kg군의 포육 0일째 체중이 대조군과 비교하여 통계학적으로 유의성 있는 감소를 나타냈는데 (Fig. 7, 8), 이는 시험물질에 기인한 변화로 판단되었다.

부검소견(성장시험군) : 성장시험군에 속한 F1 암·수 동물에 대해 10주령째 부검을 실시한 바, 수컷동물의 경우 대조군에서는 좌측부신의 결손 및 우측부신의 위축이 1례 관찰되었고, 0.1 mg/kg군에서는 비장, 췌장 및

위의 전위(situs inversus)가 1례 발견되었다. 그리고 1 mg/kg군에서는 뇌수종과 횡격막탈장이 각각 1례씩(11.1%) 그리고 정소위축이 9례(100%) 나타났다. 암컷동물에 있어서는 대조군에서 우측난소의 결손이 1례 관찰되었고 0.3 mg/kg에서 신우확장이 2례 나타났다. 그리고 1 mg/kg군에서는 횡격막탈장이 1례, 좌측난소 결손 및 우측 난소 위축이 2례(20%) 그리고 난소위축이 7례(70%)가 관찰되었다.

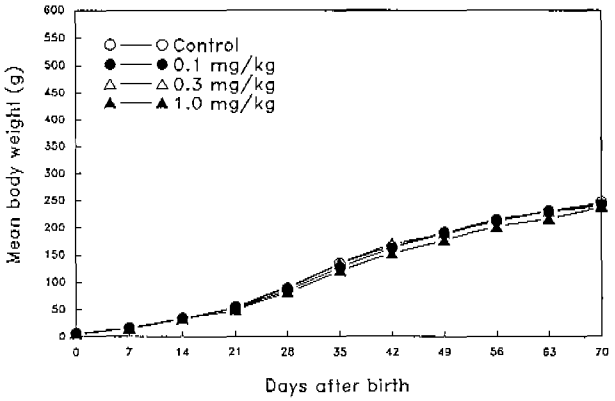

Fig. 8. Changes in body weights of F1 female rats from dams treated with DA-125.

상기 소견중 1 mg/kg군에서 나타난 뇌수종, 정소위축, 난소결손 및 위축은 시험물질에 의한 영향으로 인정되었다. 또한 비장, 췌장 및 위의 전위, 횡격막탈장과 신우확장은 일반적인 소견으로써 시험물질에 의한 변화는 아니었다.

장기중량(성장시험군) : 성장시험군의 부검시 장기중량을 측정한 결과 수컷동물에 있어서는 1 mg/kg군에서 정소의 절대 및 상대장기중량이 대조군에 비하여 통계학적으로 유의성 있는 감소를 나타냈다. 그리고 암컷동물의 경우는 0.3 mg/kg군의 간장과 1 mg/kg군의 뇌 및

Table XI. Relative organ weights of F1 male rats from dams treated with DA-125

Dose: (mg/kg)	0	0.1	0.3	1.0
No. of animals	9	10	8	9
Body weight (g)	442.4± 34.6	423.5± 30.1	444.5± 44.6	407.7± 35.3
% Body weight				
Brain (g)	0.449± 0.033	0.467± 0.028	0.450± 0.040	0.483± 0.046
Adrenal Gland-Left (g)	0.007± 0.001	0.006± 0.001	0.006± 0.001	0.007± 0.001
Adrenal Gland-Right (g)	0.005± 0.001	0.006± 0.001	0.005± 0.001	0.006± 0.001
Liver (g)	4.462± 0.501	4.164± 0.285	4.374± 0.324	4.117± 0.278
Spleen (g)	0.179± 0.020	0.174± 0.025	0.162± 0.020	0.171± 0.024
Kidney-Left (g)	0.358± 0.023	0.344± 0.028	0.347± 0.037	0.352± 0.029
Kidney-Right (g)	0.373± 0.028	0.351± 0.026	0.355± 0.034	0.370± 0.043
Heart (g)	0.298± 0.011	0.295± 0.014	0.300± 0.019	0.304± 0.015
Testis-Left (g)	0.351± 0.020	0.368± 0.036	0.347± 0.036	0.123± 0.032**
Testis-Right (g)	0.348± 0.019	0.373± 0.039	0.344± 0.034	0.141± 0.028**

Values are Mean± S.D.
**indicates significant difference at $p<0.05$ and $p<0.01$ levels when compared with control group.

Table XII. Relative organ weights of F1 female rats from dams treated with DA-125

Dose: (mg/kg)	0	0.1	0.3	1.0
No. of animals	9	10	8	9
Body weight (g)	252.6± 29.2	245.4± 13.3	247.1± 18.1	239.7± 28.6
% Body weight				
Brain (g)	0.740± 0.106	0.749± 0.046	0.742± 0.033	0.729± 0.073
Adrenal Gland-Left (g)	0.013± 0.003	0.014± 0.002	0.014± 0.003	0.015± 0.003
Adrenal Gland-Right (g)	0.013± 0.003	0.013± 0.002	0.012± 0.003	0.012± 0.002
Liver (g)	3.872± 0.775	3.575± 0.331	3.400± 0.224	3.478± 0.227
Spleen (g)	0.210± 0.030	0.196± 0.020	0.191± 0.022	0.182± 0.028
Kidney-Left (g)	0.362± 0.045	0.365± 0.029	0.349± 0.022	0.349± 0.026
Kindey-Right (g)	0.365± 0.038	0.375± 0.024	0.376± 0.022	0.359± 0.038
Heart (g)	0.337± 0.020	0.339± 0.015	0.330± 0.011	0.326± 0.031
Ovary-Left (g)	0.017± 0.004	0.019± 0.004	0.018± 0.002	0.001± 0.001**
Overy-Right (g)	0.018± 0.003	0.019± 0.004	0.107± 0.003	0.004± 0.003**

Values are Mean± S.D.
**indicates significant difference at $p<0.05$ and $p<0.01$ levels when compared with control group.

간장의 절대중량 그리고 1 mg/kg군의 난소의 절대 및 상대중량에 있어서 유의성 있는 감소가 관찰되었다(Table XI, XII). 이중 1 mg/kg군에서 나타난 정소 및 난소의 상대중량감소는 시험물질의 투여에 기인한 소견으로 인정되었다.

교배성적 : 생식시험군에 속한 F1 암·수동물을 10주령 이후에 교배시켰을 때 교미율에 있어서 각 투여군과 대조군간의 유의차는 인정되지 않았다. 그리고 수태율과 임신율은 1 mg/kg군에서 공히 16.7%로서 대조군과 비교하여 통계학적으로 유의성 있는 하락을 나타냈는데 (Table XIII) 이는 시험물질에 기인한 변화이었다.

체중(생식시험군) : F1 암컷동물의 임신기간 동안의 체중에 있어서 1 mg/kg군에서 임신 20일째 체중이 대조군에 비해 유의성 있게 감소했으나 동물수가 1마리에 불과하므로 시험물질의 영향으로 단정하기는 어려웠다.

부검소견(생식시험군) : F1 동물의 부검시 수컷동물에 있어서는 0.1 mg/kg군에서 비장종대(enlargement of spleen), 흉선종대(enlargement of thymus) 및 신우확장이 각각 1례씩 관찰되었다. 그리고 1 mg/kg군에서는 뇌수종이 2례(22.2%), 정소위축과 정낭선위축(atrophy of seminal vesicle)이 각각 8례씩(88.9%) 나타났다. 암컷동물에 있어서는 0.3 mg/kg군에서 비장의 주위장기와의 유착(adhesion of spleen to adjacent organs)과 경골 및 비골의 종대(enlargement of tibia and fibula)가 각각 1례씩

Table XIII. Fertility data of F1 rats from dams treated with DA-125

Dose: (mg/kg)	0	0.1	0.3	1.0
Male				
No. of mated animals	9	10	8	9
Copulation index[a] (%)	9/9 (100)	10/10 (100)	7/8 (87.5)	6/9 (66.7)
Fertility index[b] (%)	9/9 (100)	7/10 (70)	7/7 (100)	1/6 (16.7)
Female				
No. of mated animals	9	10	8	8
Copulation index[a] (%)	9/9 (100)	10/10 (100)	7/8 (87.5)	6/9 (66.7)
Pregnancy index[c] (%)	9/9 (100)	7/10 (70)	7/7 (100)	1/6 (16.7)

[a]No. of animals with successful copulation/No. of mated animals.
[b]No. of impregnating animals/No. of animals with successful couplation.
[c]No. of pregnant animals/No. of animals with successful couplation.

Table XIIII. Caesarean section data of F1 female rats from dams treated with DA-125

Dose: (mg/kg)	0	0.1	0.3	1.0
No. of pregnant animals				
Corpora lutea				
Mean± S.D.	16.44± 1.67	16.57± 1.62	17.14± 3.02	13.00
Implantations				
Mean± S.D.	15.00± 1.73	15.43± 1.51	15.71± 1.11	1.00
% to corpora lutea: Mean± S.D.	91.46± 8.42	93.55± 9.31	93.04± 9.36	7.69
Fetal deaths (resorptions+dead fetuses)				
Resorptions				
Total	6	8	8	0
Early	6	8	8	0
Late	0	0	0	0
Dead fetuses	0	0	0	0
Live fetuses				
Male/Female	66/63	46/54	60/42	1/0
Litter size (Mean± S.D.)	14.33± 1.73	14.29± 1.70	14.57± 1.62	1.00
% to implantation: Mean± S.D.	95.58± 4.38	92.52± 4.90	92.81± 8.89	100.00
Sex Ratio (male/female)	1/05	0.85	1.42	—
No. of fetuses with external anomalies (%)	1[a](0.8)	1[b](1.0)	2[c](2.0)	0
Body weight of live fetuses				
Male (Mean± S.D.)	3.24± 0.17	3.07± 0.33	3.00± 0.25	3.40
Female (Mean± S.D.)	3.07± 0.28	2.96± 0.25	2.79± 0.21	—

[a]Protruded tongue, open eye.
[b]Short tail.
[c]Acaudate, short tail.

발견되었다. 그리고 1 mg/kg군에서는 난소위축이 3례(33.3%), 자궁위축이 2례(22.2%), 그리고 뇌수종, 난소결손 및 황색의 복막결절(a yellow node of peritoneum)이 각각 1례씩(11.1%) 관찰되었다.

상기 소견들 중 1 mg/kg군에서 나타난 정소 및 정낭선 위축, 뇌수종, 난소위축 및 결손과 자궁위축은 시험물질의 영향으로 인정되었다.

제왕절개성적(생식시험군) : F1 모동물의 제왕절개시 조사된 황체수, 착상수, 흡수배아수, 사망태자수, 산자수, 성비 및 생존태자의 체중은 모든 투여군(단, 1 mg/kg군은 모동물수가 1마리에 불과하므로 대조군과의 비교가 불가능함)에서 대조군에 대하여 유의성을 나타내지 않았다(Table XIIII). 그리고 0.1 mg/kg군과 0.3 mg/kg군에서 관찰된 단미와 무미는 자연발생적으로도 나타나는 소견들로서 그 발현율이 낮아서 시험물질에 기인한 소견으로 판단되지 않았다.

고 찰

DA-125는 기존의 adriamycin의 결점, 즉 심장독성과 조혈기계독성등의 부작용을 줄이기 위하여 개발된 안트라사이클린계 항종양성 항생제의 일종이다. 이러한 DA-125를 0, 0.1, 0.3 및 1 mg/kg의 용량으로 Sprague-Dawley 계통의 랫트에 임신 7일부터 임신 17일까지 정맥투여하여 모동물, 태자 및 차세대동물에 미치는 영향을 조사하였다.

모동물의 분만관찰시 0.3 및 1 mg/kg군에서 각각 2, 1례씩 발견된 난산은 시험물질에 의한 호르몬장애, 대사장애등을 원인으로 고려할 수 있으나, 본 시험에서는 체중감소에 따른 허약 또는 산도(birth canal)가 열리지 않아 야기된 것으로 추정된다. 모동물의 체중 및 사료섭취량에 있어서 1 mg/kg군에서 임신 8일째 나타난 사료섭취량의 감소는 투여 스트레스도 다소 작용했을지 모르나 시험물질에 의해 야기된 식욕부진증(anorexia)의 결과로서 이로인해 1 mg/kg군의 임신 14일부터 포육 0일까지의 체중이 감소한 것으로 판단된다. 모동물의 장기중량 측정시 1 mg/kg군에서 관찰된 소견들 중에서 비장중량의 감소는 DA-125의 랫트 급성독성시험에서 나타난 바와 같이 시험물질이 임파기관인 비장에 독성을 나타냈음을 시사하고 있다.

모동물의 제왕절개시 1 mg/kg군에서 나타난 후기흡수의 증가는 시험물질의 투여에 기인한 배아 치사효과(embryocidal effect)로서, 그리고 암·수 생존태자의 체중감소는 시험물질에 의한 태자의 발육지연효과(growth retardation effect)로서 설명할 수 있다. 태자의 외표검사시 1 mg/kg군에서 관찰된 무안구증, 구순열, 위벽파열, 소악증 및 혀돌출증과 내부장기검사시 역시 1 mg/kg군에서 발견된 소안구증, 외측 및 제3뇌실확장과 구개무발생증은 중기형(major anomaly)에 속하는 소견들로서 시험물질이 암세포와 마찬가지로 세포분열이 빠른 배아(태자)에 작용하여 세포 및 조직의 분화장애 등을 야기시킴으로써 나타난 것으로 사료된다. 태자의 골격검사시 1 mg/kg군에서 관찰된 늑골유착, 부유늑골, 분지늑골, 흉골개열, 하악골단소 및 흉추의 추체결손은 중기형에 속하며 상기한 외표 및 내부장기기형과 동일한 기작에 의하여 발현한 것으로 사료된다. 그리고 말늑골단소와 두개골의 불완전골화는 경기형(minor anomaly)에 속하는 소견들로서 자연발생적으로 나타날 수도 있으나 본 시험에서는 모독성(maternal toxicity)의 결과로 나타난 비특정 최기형효과(unspecific teratogenic effect)인 것으로 추정된다.

낮은 빈도의 변이는 보통 시험물질과 무관하게 자연발생적으로 나타날 수 있지만, 그 발현율이 현저히 높거나 용량상관성 있게 나타날 경우 시험물질에 기인한 독성효과로 간주된다. 1 mg/kg군의 경우 요늑, 경늑, 비대칭흉골 및 천추의 요추화와 같은 변이가 높은 발현율(37.9%)로 나타남으로서 DA-125는 변이 유도물질임을 알 수 있었다.

골화지연은 태자의 체중감소와 마찬가지로 시험물질에 기인한 태자의 자궁내 발육 지연효과(intrauterine growth retardation effect)로서 평가되는데 1 mg/kg군에서는 천문확장, 흉골의 좌우분리, 흉추 및 요추추체의 좌우분리, 아령형 흉추추체 및 요추추궁결손과 같은 골화지연이 높은 빈도(38.7%)로 관찰되어 DA-125는 태자골격의 칼슘화 장애를 유발하는 것으로 사료되었다. 그런데 대조군의 경우 외표기형 및 골격기형 발현율은 각각 1.2 및 3.0%로서 본 실험실에서 보유하고 있는 기초데이타의 수치(0.2% 및 0.3%)보다 현저히 높게 나타났다. 동물의 투여 보정 또는 매체인 lactic acid의 영향으로 사료되나 어느쪽이 원인으로 작용했는지 단정하기는 어려우며 추후 이에 대한 검토가 필요할 것으로 사료된다.

F1 동물의 포육 21일째 이유부검시 수컷의 1 mg/kg군에서 1례 관찰된 안구형성부전은 태자의 내부장기검사시 동일군 내에서 무안구증과 소안구증이 발견된 것과 더불어 판단해 볼 때 시험물질에 기인한 소견으로 사료된다. 성장시험군에 속한 F1 동물의 일반증상 관찰시 수컷의 0.3 mg/kg군에서 1례 발견된 포육 2일째의 생존자의 사망은 모동물의 난산에 따른 후속소견이고, 1 mg/kg군에서 나타난 암·수 출생자의 포육 0일째 체중감소는 동일군내 모동물의 체중증가 억제에 기인한 것으로 판단된다. F1 동물의 부검시 1 mg/kg군에서 관찰된 뇌수종은 태자의 내부장기 검사시 이미 발견된 시험물질 특유의 기형에 속한다. 또한 1 mg/kg군에서 관찰된 정소위축과 난소결손 및 위축 그리고 그에 따른 정소와 난소의 중량 감소는 모동물의 태반을 통과한 DA-125 또는 대사물질이 F1 태자의 원시성세포(primordial germ cell)에 작용하여 차세대 동물에서 표출된 소견으로 사료된다. 생식시험군에 속한 F1 동물의 부검시 1 mg/kg

군에서 상기한 성장시험군 동물의 부검소견과 동일하게 시험물질에 기인한 생식기 위축이 관찰되었는데 이로 인하여 1 mg/kg군의 수태율 및 임신율이 매우 낮게 나타난 것으로 판단된다.

본 시험에서 얻은 결과 중 모동물 및 태자의 체중감소, 배아흡수율의 증가, 요추수의 증가 및 F1 동물의 고환중량 감소는 tetrahydropyranyladriamycin(THP)의 최기형성 연구(Kurebe 등, 1986)에서도 관찰되어 동일 계열의 약제와 비교할 때에 질적독성효과(qualitative toxic effect)의 유사성이 존재함을 확인할 수 있었으며 반면 심장, 식도 및 내장기형을 나타낸 adriamycin(Thompson 등, 1978)과는 전혀 다른 형태의 기형을 DA-125가 유발함을 알 수 있었다.

이상의 결과를 종합하여 볼 때 본 최기형시험에 의한 DA-125의 무해용량(no observed effect level)은 모동물에 있어서 0.1 mg/kg, F1 태자에 있어서 0.3 mg/kg 그리고 차세대동물에 있어서 0.1 mg/kg이라고 사료된다.

감사의 말씀

본 시험을 수행하는데 기술적인 도움을 주신 최규갑, 김종춘, 이상준씨 그리고 통계처리 및 자료정리를 맡아주신 김정란씨에게 감사를 드립니다.

참고문헌

Donehower, R. C., Meyers, C. E. and Chabner, B. A. (1979). New developments on the mechanisms of action of antineoplastic drugs. *Life Sci.* **25**, 1-14.

Fantel, A. G., Greenway, J. C. and Juchau, M. R. (1985). The embryotoxicity of adriamycin in rat embryos *in vitro*. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **80**, 155-165.

Inouye, M. (1976). Differential staining of cartilage and bone in fetal mouse skeleton by alcian blue and alizarin red S. *Cong. Anom.* **16**, 171-173.

Kurebe, M., Asaoka, H., Moriguchi, M., Hata, T., Okano, K. and Ito, M. (1986). A study on the effect of (2″R)-4′-*O*-tetrahydropyranyladriamycin, a new antitumor antibiotic, on reproduction. II. Its teratogenicity in rats and rabbits. *The Japanese Journal of Antibiotics.* **39**(2), 161-190.

Lorke, D. (1977). Evaluation of skeleton. In *Methods in prenatal Toxicology* (D. Neubert *et al.* eds.), pp. 52-71. Georg Thieme Verlag, Stuttgart.

Morita, H., Ariyuki, F., Inomata, N., Nishimura, K., Kagegawa, Y., Miyamoto, M. and Watanabe, T. (1987). Spontaneous malformations in laboratory animals: Frequency of external, internal and skeletal malformations in rats, rabbits and mice. *Cong. Anom.* **27**, 147-206.

Murray, C. L., Reichert, J. A., Anderson, J. and Twiggs, L. B. (1984). Multimodal cancer therapy for breast cancer in the first trimester of pregnancy. A case report. *JAMA* **252**, 2607-2608.

Nishimura, K. (1974). A microdissection method for detecting thoracic visceral malformations in mouse and rat fetuses. *Cong. Anom.* **14**(1), 23-40.

Thomson, D. J., Molello, J. A., Strebing, R. J. and Dyke, I. L. (1978). Teratogenicity of adriamycin and daunomycin in the rat and rabbit. *Teratology* **17**, 151-158.

Wilson, J. G. and Warkany, J. (1972). *Teratology, Principles and Techniques.* The University of Chicago Press. pp. 1-277.

Yakugyo Jiho Co. (1984). Toxicity Test Guideline: Collection of notifications related to the pharmaceutical affairs law (IV), Japan.

국립보건안전원 (1988). 의약품 등의 독성시험기준, 국립보건안전연구원, 예규 제10호.

백남기, 안병옥, 이순복, 김원배, 양중익, 渡邊俊彦 (1993). 새로운 항암성 항생물질 DA-125의 심장독성에 대한 평가, 응용약물학회지 **1**(1), 9-19.

안병옥, 백남기, 이순복, 김원배, 양중익, 김부영, 김대병, 이종권 (1993). DA-125의 국소자극성, 응용약물학회지 **1**(1), 20-25.

양중익 (1993). 항종양 치료제 개발연구. 과학기술처, pp. 271-311.