

## 새로운 아드리아마이신유도체 DA-125의 조혈기독성과 항암효과에 미치는 G-CSF의 영향

안병옥 · 류병권 · 이상득 · 김원배\* · 양중익  
동아제약주식회사 연구소

### Effect of G-CSF on Myelosuppression and Antitumor Effect of DA-125, a Novel Adriamycin Derivative

Byoung Ok AHN, Byong Kweon RYU, Sang Deuk LEE, Won Bae KIM\*, Junnick YANG

Research Laboratories, Dong-A Pharm. Co. Ltd., 47-5, Sanggal-ri,  
Kiheung-up, Yongin-si, Kyunggi-do 449-900, Korea

(Received March 15, 1997; accepted May 25, 1997)

**Abstract** – The present study was designed to evaluate the effects of a recombinant human granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) on leukopenia and tumor growth in mice treated with DA-125, an adriamycin (ADM) derivative. In normal mice, single intravenous injection of DA-125 produced transient leukopenia accompanied with weight loss and splenic atrophy in a dose-related manner. However, subcutaneous administration of G-CSF (5  $\mu$ g/head) for 5 consecutive days after DA-125 resulted in a significantly elevated nadir of leukocyte counts and facilitation of recovery from the leukopenia. To investigate the effect of G-CSF on antitumor effects of DA-125, ADM (12 mg/kg) or DA-125 (40 mg/kg) was administered to Colon-26 murine adenocarcinoma-bearing Balb/c mice with G-CSF. Regardless of treatment with G-CSF, DA-125 and ADM markedly retarded the growth of implanted tumor, though they failed to increase mean survival time of tumor-bearing mice. These results suggest that G-CSF is able to not only ameliorate, but reconstitute DA-125-induced myelosuppression without affecting its antitumor potential.

**Keywords** □ DA-125, adriamycin, G-CSF, antitumor effect, hematotoxicity

항암화학요법제의 대표적 부작용중의 하나인 조혈기독성은 심각한 용량제한요소로 알려져 있으며, 조혈기독성을 유발하는 화학요법제를 투약하는 환자는 호중구수의 감소와 반감기단축에 의해 치명적인 세균성감염증에 노출될 위험이 크다(O'Reilly와 Gamelli, 1988). 화학요법제에 의한 백혈구감소증을 교정하기 위한 방법으로 최근 조혈세포의 증식을 촉진하는 조혈성장인자에 대한 연구가 활발해지면서 그중 과립구코로니자극인자(G-CSF), 과립구-대식세포자극인자(GM-CSF) 등은 이미 개발되어 실제 임상에 사용되고 있다(Vadhan-Raj 등, 1992; Havemann 등, 1991).

DA-125는 최근 동아제약에서 개발중인 새로운 안트라사이클린계 항암제로 전임상연구에서 동일계 약물인 adriamycin (ADM)보다 우수한 항암력과 경감된 독성을 나타내고 있으나(Baik 등, 1994; Lee 등, 1995; Park 등, 1994; Kim, 1994) 동물시험 및 제 1상 임상시험결과 백혈구감소

증이 주된 용량제한요소로 판단되고 있다(Ahn 등, 1993; Lee 등, 1996).

본 시험은 DA-125에 의한 백혈구감소증의 예방 및 치료제로서 G-CSF의 사용가능성을 조사하고 마우스고형암모델을 이용하여 DA-125와 adriamycin (ADM)의 항암효과에 미치는 G-CSF의 영향을 검토할 목적으로 실시되었다.

#### 실험방법

##### 시험동물

DA-125의 말초백혈구수에 미치는 영향검토시험에서는 8주령의 웅성 SPF ICR(CD-1) 마우스를, 항암효과에 미치는 G-CSF의 영향을 조사한 시험에서는 11주령의 자성 SPF BALB/c마우스를 일본 Charles River사(Kanagawa, Japan)로부터 공급받아 시험개시전 약 1주일간 순화 사육한후 외견상 건강한 동물만을 본시험에 사용하였다. 사육환경은 동아제약(주) 연구소내 SPF동물 사육시설내에서 통

\* To whom correspondence should be addressed.

상적인 조건(온도 23 2°C, 습도 60 10%)을 유지하였고, 시험기간중 사료(방사선멸균품, 제일사료)와 물(자외선 멸균수)은 자유섭취시켰다.

**시험물질**

시험물질 DA-125(Lot No. DA-125-R-024)는 동아제약(주)연구소 합성연구실에서 공급받아 사용하였으며, ADM(Lot No. CDXB-20116)은 일본 明治製菓에서 공급받아 사용하였다. 투여시 DA-125는 1 mM의 lactic acid에 용해시켜 사용하였으며, ADM은 멸균생리식염수에 용해시켜 사용하였다. rhG-CSF는 일본 Kirin Brewery에서 생산된 Grasin(Lot No. 322G, 300 µg/1.2 ml /1sample)을 구입하여 사용하였다.

**DA-125의 조혈기독성**

DA-125 용량에 따른 조혈기독성을 평가하기 위해 시험제 0일에 DA-125 0, 10, 20, 40, 60 mg/kg의 용량을 10 ml/kg의 액량으로 미정맥내 단회 투여하고 매일 임상증상 및 폐사상태를 관찰하였다. 시험제 3, 6, 9, 12일 제에 각각 동물의 체중을 측정하고 각군의 5마리에서 안와정맥총으로부터 채혈후 부검을 실시하여 비장을 적출, 중량을 측정하였다. 채취한 혈액을 CBC bottle에 모은 후 자동혈구측정기(Minos Vet, Roche)를 사용하여 혈구수를 측정하였으며, 도말표본은 Giemsa염색후 광학현미경(BH-2, Olympus)을 이용하여 개체당 1000개의 백혈구를 감별계측하여 호중구의 백분율을 구하고, 이를 총백혈구수와 곱하여 호중구수(absolute neutrophil count, ANC)를 산출하였다. DA-125의 용량에 따른 조혈기독성 발현정도는 폐사율, 체중감소, 비장무게 및 백혈구수감소 등의 결과를 종합하여 판단하였다.

**DA-125에 의한 조혈기독성에 미치는 G-CSF의 영향**

G-CSF가 DA-125에 의한 백혈구감소증에 미치는 영향검토시험에서는 시험제 0일에 DA-125 40, 60 mg/kg의 용량으로 각 40마리에 단회 정맥내 투여하였다. 투여후 1일에 각 용량의 20마리에게 각각 5 µg/0.2 ml/head의 G-CSF를 5일간 연일 피하투여하였으며, 시험제 3, 6, 9, 12일에 체중을 측정하고 각 군의 각 5마리에서 안와총정맥으로부터 혈액을 채취 말초혈액중 백혈구수와 도말표본을 이용하여 ANC 를 구하였으며, 비장을 분리하여 그 중량을 측정하였다.

**항암효과에 대한 G-CSF의 영향**

마우스 고형암인 Colon 26 모델에서 DA-125와 ADM의 항암효과에 미치는 G-CSF의 영향을 검토하였다. 시험제 0일에 자성 BALB/c 마우스 배부피하에 생체내 계대종인 2×2×2 mm<sup>3</sup> 크기의 신선암조직(fresh tumor mass)을 이식하였다. 1일후인 시험제 1일에 DA-125 40 mg/kg과 ADM 12 mg/kg을 10 ml/kg의 액량으로각 12마리에 단회 정맥내 투여하였으며, 대조군에는 동량의 생리식염수를 투여하였다. DA-125와 ADM투여군의 각 6마리에는 시험제 2일부터 5일간 연일 G-CSF를 5 µg/0.2 ml/head의 용량으로 피하 주사하였다. 암주이식후 주 2회 종양부피와 체중을 측정하였으며, 각 동물의 생사를 60일간 연일 관찰하여 각 군별로 평균생존일을 산출하였다. 생명연장율(increased life-span, ILS, %)은 (처치군의 평균생존일/대조군의 평균생존일-1)×100의 식으로 구하였으며, 종양부피는 종양의 장경 (a)과 단경 (b)을 digital caliper (Mitutoyo)로 측정하여 1/2 ab<sup>2</sup>으로 표시하였다. 종양성장억제율(tumor inhibition rate, TIR %)은 다음 식에 의해 계산하였다.

$$TIR(\%) = (1 - V_t/V_c) \times 100,$$

단 V<sub>t</sub>는 시험군의 종양부피, V<sub>c</sub>는 대조군의 종양부피

각 처치조건에 대한 항암효과는 생명연장율과 종양성장억제율에 의해 평가하였다.

**통계처리**

모든 측정치는 mean±S.D.로 나타내었으며, 일원일차 분산분석과 다중비교(Dunnett's test) 및 Student-Newman-Keul's test (all pair-wise comparison)를 이용하여 P≤0.05 일 경우 각 군간 유의차가 있는 것으로 판단하였다.

**실험결과**

**DA-125의 조혈기독성**

고용량군인 DA-125 60 mg/kg투여군에서는 약물투여후 2-4일에 3마리의 폐사가 관찰되었으며, 그 외의 용량군에서는 폐사예가 없었다. 고용량인 DA-125 60 mg/kg 투여군에서는 투여후 3일부터 체중이 감소되어 6일과 9일후까지 대조군에 비해 유의한 감소를 보인후 서서히 회복되는 양상을 나타내었다(Table I). 약물투여후 3, 6, 9, 12일에 측정된

**Table I.** Body weight change in mice treated intravenously with DA-125 (gram, Mean±S.D.)

Group	Day after administration				
	0	3	6	9	12
Control	30.6±2.8	29.6±1.7	30.6±1.5	30.1±3.0	31.1±1.6
DA-125 10 mg/kg	30.7±1.5	30.3±1.5	30.4±1.8	31.3±2.3	32.9±2.2
DA-125 20 mg/kg	30.6±2.0	29.8±2.3	29.7±2.5	29.2±2.5	28.3±1.6
DA-125 40 mg/kg	31.3±2.1	29.1±2.1	29.5±2.5	30.1±2.0	29.6±3.1
DA-125 60 mg/kg	30.3±1.6	27.2±1.2	24.0±3.0*	24.8±2.2*	25.4±3.3

Each value represents the mean body weight from at least 6 mice. \*Significantly different from control (P<0.05).

**Table II.** Spleen weight change in mice treated intravenously with DA-125 (mg, Mean±S.D.)

Group	Day after administration			
	3	6	9	12
Control	108.1±19.4	112.6±17.7	110.1±14.3	119.2±22.2
DA-125 10 mg/kg	87.4±10.5	113.0±23.7	193.0±33.8	186.4±67.8
DA-125 20 mg/kg	84.0± 8.3	106.0± 7.9	160.0±22.6	165.4±45.8
DA-125 40 mg/kg	55.8± 9.6*	77.0±19.9	117.0±16.9	125.4±33.1
DA-125 60 mg/kg	43.0± 9.1*	63.5± 6.5*	77.8±42.3*	100.7± 9.0

Each value represents the mean from of at least 6 mice. \*Significantly different from control (P<0.05).

**Table III.** Changes in number of peripheral WBC in mice treated with DA-125 (×1000 cell/mm<sup>3</sup>, Mean±S.D.)

Group	Day after administration			
	3	6	9	12
Control	5.90±0.78	6.21±0.82	5.88±0.66	6.17±1.10
DA-125 10 mg/kg	3.48±0.57*	6.66±2.68	9.04±1.95*	8.10±0.99
DA-125 20 mg/kg	2.54±0.59*	4.64±1.31	8.52±1.52	6.45±1.11
DA-125 40 mg/kg	1.86±0.62*	5.32±1.68	6.30±1.73	5.40±1.13
DA-125 60 mg/kg	1.06±0.29*	2.33±0.59*	5.98±2.01	5.64±0.54

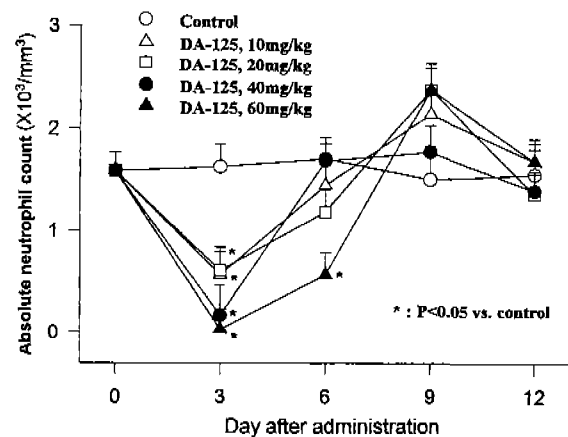
Each value represents the mean from of at least 6 mice. \*Significantly different from control (P<0.05).

비장중량은 투여후 3일에 용량의존성을 보이며 감소되었다가 이후 서서히 증가하여 정상으로 회복되는 경향을 나타내었다(Table II). 투여후 3일에 40 mg/kg이상의 용량군에서는 대조군에 비해 유의한 감소를 나타내었으며, 6일 이후에는 60 mg/kg 용량군에서만 유의한 감소가 인정되었다(P<0.05). 한편 말초혈액중 백혈구수는 약물투여후 3일째 용량의존적으로 전 용량군에서 유의하게 감소되어 40 mg/kg 용량군과 60 mg/kg 용량군에서는 대조군에 비해 각각 32%, 18% 정도로 감소되었다(Table III, P<0.05). 고용량군인 60 mg/kg 용량군에서는 투여후 6일에도 대조군의 38% 정도로 유의한 감소를 나타내었으며, 9일 이후 정상으로 회복되었다. 고용량을 제외한 다른 투여군에서는 투여후 6-9일부터 회복되어 중, 저용량군에서는 대조군을 유의하게 상회하는 rebound 소견이 인정되었다(P<0.05). 한편 말초혈액중 백혈구 감별계산결과 대조군에서는 임파구와 호중구의 비율이 약 7:3 정도였으나 DA-125 투여군에서는 투여후 3일에 DA-125 모든 용량군에서 용량상관성있게 호중구의 비율감소가 나타나 DA-125에 의한 백혈구감소증은 ANC 감소에 기인하는 것을 알 수 있었다(Fig. 1). 고용량인 60 mg/kg 투여군의 ANC는 0.03×1000/mm<sup>3</sup>으로, 백혈구수중 호중구의 비율이 2.7% 정도로 크게 감소되었으며, 임파구가 혈중 백혈구의 대부분인 것으로 나타났다. 투여후 9일 이후에는 전용량군에서 대조군과 유사한 정도의 ANC와 임파구, 호중구의 비를 나타내었으나 유의한 rebound 소견은 인정되지 않았다.

**DA-125에 의한 조혈기독성에 미치는 G-CSF의 영향**

DA-125의 조혈기독성에 대한 G-CSF 영향검토시험결과 DA-125 60 mg/kg 용량군에서는 총 20마리중 2마리가 폐사

되어 10%의 폐사율을 나타냈으나 DA-125 60 mg/kg을 투여한 후 G-CSF 5 μg을 5일간 후처치한 시험군에서는 폐사 동물이 없었다. DA-125 40 mg/kg 용량군에서는 G-CSF의 투여에 관계없이 폐사된 동물이 없었다. 체중변화에서는 모든 DA-125 투여군에서 체중감소의 경향을 나타내었으나 G-CSF 병용투여군에서는 체중감소의 정도가 약한 것으로 나타났다(Table IV). 비장중량측정결과 모든 DA-125 투여군에서 투여후 3일에 비장중량의 유의한 감소를 보였다가 이후 전 시험군에서 경시적으로 회복되어 투여후 12일에는 전부 대조군에 비해 유의한 비장중량의 증가를 나타내었다(P<0.05, Table V). 이러한 양상은 말초혈액중 백혈구수변화에서도 유사하게 나타났다(Table VI). DA-125 40 mg/kg 용량군에서는 투여후 3일에 1.4±0.2×1000/mm<sup>3</sup> 정도의 백혈구수를 나타내 대조군(8.3±1.7×1000/mm<sup>3</sup>)에 비해 총백



**Fig. 1.** Effect of DA-125 on peripheral absolute neutrophil count (ANC).

**Table IV.** Body weight change in mice treated with DA-125 and G-CSF (gram, Mean  $\pm$  S.D.)

Group (mg/kg)	Day after administration				
	0	3	6	9	12
Control	33.8 $\pm$ 2.5	34.7 $\pm$ 2.3	34.5 $\pm$ 2.0	35.6 $\pm$ 2.0	35.9 $\pm$ 1.7
DA-125 (40)	32.7 $\pm$ 3.3	31.8 $\pm$ 3.2	30.3 $\pm$ 3.8	32.6 $\pm$ 3.1	34.5 $\pm$ 2.3
DA-125 (60)	33.4 $\pm$ 3.6	31.1 $\pm$ 3.9	26.4 $\pm$ 4.7	29.0 $\pm$ 4.1	29.6 $\pm$ 3.4
DA-125 (40)+G-CSF	34.3 $\pm$ 3.1	33.6 $\pm$ 3.1	33.6 $\pm$ 3.8	36.7 $\pm$ 4.0	36.9 $\pm$ 4.5
DA-125 (60)+G-CSF	34.1 $\pm$ 2.5	31.9 $\pm$ 2.6	28.1 $\pm$ 3.0	30.9 $\pm$ 3.4	32.0 $\pm$ 3.1

ICR mice were treated i.v. with dose levels of 40 mg/kg or 60 mg/kg of DA-125 on day 0 and the half of them were injected s.c. with 5  $\mu$ g/mouse of G-CSF daily for 5 days (D1 - D5). Each value represents the mean from at least 6 mice.

**Table V.** Spleen weight change in mice treated with DA-125 and G-CSF (mg, Mean  $\pm$  S.D.)

Group (mg/kg)	Day after administration			
	3	6	9	12
Control	130.6 $\pm$ 8.9	127.6 $\pm$ 10.6	134.4 $\pm$ 12.2	147.2 $\pm$ 15.1
DA-125 (40)	56.0 $\pm$ 9.8*	98.2 $\pm$ 26.6	155.8 $\pm$ 40.9	244.3 $\pm$ 25.5*
DA-125 (60)	35.2 $\pm$ 5.4*	62.0 $\pm$ 27.4*	70.5 $\pm$ 12.6*	232.5 $\pm$ 48.3*
DA-125 (40)+G-CSF	67.3 $\pm$ 4.8*	163.8 $\pm$ 40.6	309.6 $\pm$ 51.7*	271.4 $\pm$ 57.4*
DA-125 (60)+G-CSF	44.6 $\pm$ 1.7*	98.4 $\pm$ 24.0	159.4 $\pm$ 29.6	218.2 $\pm$ 30.1*

Each value represents the mean from at least 6 mice. \*Significantly different from control (P<0.05).

혈구수가 20% 이내로 감소되었으며, 60 mg/kg 용량군에서는 대조군에 비해 약 7% 정도로 극적인 감소를 나타내었으나 G-CSF 병용에 의해 감소정도가 약하게 나타나 3일간의 G-CSF 투여가 DA-125에 의한 백혈구수의 급격한 감소를 부분적으로 차단하는 것으로 판단되었다. DA-125 단독투여군에서는 백혈구수의 유의한 rebound 현상이 관찰되지 않았으나, G-CSF 병용군에서는 DA-125 투여후 6일부터 대조군과 DA-125 단독군에 비해 유의하게 높은 백혈구수를 나

타내었으며(P<0.05), 9일후부터는 정상치를 나타내었다. 말초혈액중 호중구수 (ANC)변화도 총백혈구수와 유사하게 나타났다(Table VII). 즉 DA-125 60 mg/kg 단독투여군의 ANC의 최저치(nadir)는 투여후 3일에 0.03 $\pm$ 0.04 $\times$ 1000/mm<sup>3</sup>를 나타내었으나 G-CSF 병용군에서는 0.15 $\pm$ 0.04 $\times$ 1000/mm<sup>3</sup>로 유의하게 증가된 nadir를 관찰할 수 있었다(P<0.05). 시험 제 6일에 DA-125 60 mg/kg 단독투여군에서의 ANC는 0.69 $\pm$ 0.23 $\times$ 1000/mm<sup>3</sup>로 대조군에 비해 여전히 유

**Table VI.** Changes in the number of peripheral WBC in mice treated with DA-125 and G-CSF

Group (mg/kg)	Day after administration			
	3	6	9	12
Control	8.3 $\pm$ 1.7	7.6 $\pm$ 1.5	6.8 $\pm$ 1.9	8.2 $\pm$ 1.7
DA-125 (40)	1.4 $\pm$ 0.2*	5.1 $\pm$ 0.9	6.8 $\pm$ 1.1	6.1 $\pm$ 1.4
DA-125 (60)	0.6 $\pm$ 0.2*	2.4 $\pm$ 0.9*	6.4 $\pm$ 0.9	8.2 $\pm$ 1.3
DA-125 (40)+G-CSF	1.6 $\pm$ 0.3*	16.0 $\pm$ 2.6***	5.2 $\pm$ 0.8	7.2 $\pm$ 2.2
DA-125 (60)+G-CSF	1.2 $\pm$ 0.2***	18.4 $\pm$ 5.4***	5.7 $\pm$ 2.0	6.5 $\pm$ 0.8

Each value represents mean  $\pm$  S.D. ( $\times$ 1000/mm<sup>3</sup>) from at least 6 mice. \*Significantly different from control (P<0.05). \*\*Significantly

**Table VII.** Effect of DA-125 and G-CSF on absolute neutrophil count (ANC) in mice

Group (mg/kg)	Day after administration			
	3	6	9	12
Control	2.31 $\pm$ 0.42	2.42 $\pm$ 0.61	1.71 $\pm$ 0.44	2.41 $\pm$ 0.57
DA-125 (40)	0.14 $\pm$ 0.09*	1.71 $\pm$ 0.19	2.34 $\pm$ 0.32	1.77 $\pm$ 0.55
DA-125 (60)	0.03 $\pm$ 0.04*	0.69 $\pm$ 0.23*	2.39 $\pm$ 0.43	2.29 $\pm$ 0.37
DA-125 (40)+G-CSF	0.22 $\pm$ 0.12*	9.79 $\pm$ 2.91***	1.40 $\pm$ 0.77	1.92 $\pm$ 0.41
DA-125 (60)+G-CSF	0.15 $\pm$ 0.04***	10.90 $\pm$ 1.69***	2.17 $\pm$ 0.55	1.74 $\pm$ 0.37

Each value represents mean  $\pm$  S.D. ( $\times$ 1000/mm<sup>3</sup>) from at least 6 mice. \*Significantly different from control (P<0.05). \*\*Significantly different from the group treated with DA-125 alone (P<0.05).

**Table VIII.** Effect of G-CSF on antitumor potential of DA-125 or ADM against s.c.-implanted Colon26 murine adenocarcinoma

Group (mg/kg)	MST (days)	ILS (%)	TIR (%)	BW change (g)
Control	35.5± 6.5	-	-	-0.3
ADM (12)	27.3± 3.9	-23.1	65	-1.3
DA-125 (40)	45.7± 8.4	28.7	83	-3.3
ADM (12)+G-CSF	29.1± 7.4	-18.0	80	-1.5
DA-125 (40)+G-CSF	44.3±10.7	24.8	81	-1.4

MST: Mean survival time, Mean±S.D.; ILS: Increase in life span; TIR: Tumor inhibition rate on day 14; BW change: Body weight change between day 7 and day 1 after chemotherapy. Each value represents mean±S.D. from at least 6 mice.

의하게 낮게 측정되었으나 G-CSF 병용군 모두에서는 대조군에 비해 4-5배의 높은 ANC를 나타내었다.

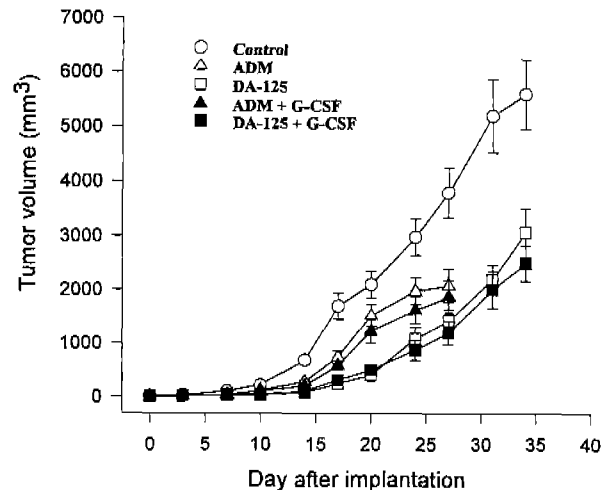
#### 항암효과에 대한 G-CSF의 영향

Balb/c계 마우스피하에 이식한 Colon26 adenocarcinoma에 대한 각 조건의 항암효과는 Table VIII과 같이 요약될 수 있으며, 각 군의 종양성장곡선은 Fig. 2와 같다.

생리식염수를 투여한 대조군에서의 평균생존일(mean survival time, MST)은 35.5±6.5일로 나타났다. ADM 12 mg/kg 단독투여군에서는 MST가 27.3±3.9일로 나타나 본 시험계에서 독성용량으로 판단되었으며, ADM과 G-CSF 병용투여군에서도 MST는 29.1±7.4일로서 G-CSF에 의해 MST의 연장이 관찰되지 않았다. DA-125 40 mg/kg 단독투여군에서는 MST가 45.7±8.4일로 대조군에 비해 생명연장을(ILS)이 28.7%로 나타났으나 G-CSF 병용에 의한 MST의 연장은 관찰되지 않았다. 암이식후 14일에 측정된 각 군에서의 종양성장억제율(TIR)에서 ADM과 G-CSF 병용군은 80%의 TIR을 보여 ADM 단독투여군(TIR 65%)보다 상승된 종양성장억제효과를 나타내었으나 통계적 유의차는 인정되지 않았다. DA-125의 경우 G-CSF 병용에 관계없이 약 80% 정도의 TIR을 나타냈다. 암이식후 7일과 1일간의 체중변화에서 ADM 단독투여군과 G-CSF 병용투여군은 각각 -1.3 g, -1.5 g을 나타내어 유사한 정도의 체중감소를 나타내었다. DA-125의 경우 단독투여군에서는 -3.3 g으로 중등도의 체중감소를 나타내었으나 G-CSF 병용군에서는 -1.4 g의 체중감소를 나타내었다.

#### 고 찰

항암요법에 의한 백혈구감소증은 대표적인 부작용으로 종종 발열 및 중증감염증 등 심각한 합병증을 야기시키는 까닭에 항암화학요법제의 중요한 용량제한요소(dose limiting factor, DLF)중의 하나이다. 과거 백혈구감소증에 의해 균혈증이 동반된 경우 80% 정도의 높은 사망율을 나타내었으나(McCabe와 Jackson, 1962), 광범위 항생제의 사용



**Fig. 2.** Effect of combined treatment with G-CSF and anthracyclines on the growth of subcutaneously implanted Colon 26 murine adenocarcinoma.

및 보조적 치료의 발달로 대부분의 경우 회복하게 된다. 그러나 이러한 치료에도 불구하고 10% 정도의 환자는 사망한다고 보고되어 있다(Pizzo 등, 1986). 최근 항암화학요법에 의해 유발되는 골수억제의 예방 또는 치료목적으로 골수전구세포의 증식을 촉진하는 조혈성장인자들에 대한 연구가 활발히 이뤄지고 있으며, 이 중 GM-CSF와 G-CSF는 이미 개발되어 임상에서 그 유용성이 입증되고 있다(Gabrillove 등, 1988; Crawford 등, 1991; Bronchud 등, 1989).

DA-125는 동아제약(주)에서 개발중인 새로운 안트라사이클린계 항암제로 수종의 동물암종에 대해 유효성이 입증되었으며, 동일계약물의 특징적 부작용인 심장독성도 경감되어 임상효과가 기대되는 약물이다(Baik 등, 1993). 그러나 DA-125 역시 다른 대부분의 항암요법제와 마찬가지로 조혈기독성을 나타내며, 백혈구감소증이 임상사용시 발현 가능한 DLF중의 하나일 것으로 예측되고 있다(Roh 등, 1996). DA-125의 조혈기독성에 대한 G-CSF 영향검토시험 결과에서 DA-125 60 mg/kg 용량군에서는 10%의 폐사율을 나타내었으나 DA-125 60 mg/kg을 투여한 후 1일부터 G-CSF 5 µg을 5일간 연일 피하주사한 시험군에서는 폐사된 동물이 없었으며, 비장중량의 감소정도와 회복기간면에서 DA-125단독군보다 G-CSF병용군이 적은 것으로 나타나 G-CSF가 어느정도 survival effect를 나타내는 것으로 사료되었다. 또한 본 시험결과 G-CSF는 DA-125에 의한 백혈구수의 극적인 감소를 예방하며, 회복을 촉진하는 것으로 나타났다. DA-125 60 mg/kg-용량군에서는 G-CSF병용에 의해 nadir에서의 총백혈구수와 ANC가 DA-125단독군에 비해 각각 2배 및 5배로 유의하게 높았으며, DA-125단독투여후 6일에 ANC치는  $0.69 \pm 0.23 \times 1000/\text{mm}^3$ 로 여전히 대조군보다 낮은 수치를 나타냈으나 G-CSF병용시에는  $10.80 \pm 1.69$

×1000/mm<sup>3</sup>로 대조군에 약 4배를 상회하는 유의한 rebound 소견을 나타내었다(P<0.05).

G-CSF의 임상적용시 투여경로는 정주, 피하주사 등이 이용되고 정맥내투여의 경우 4시간후부터 호중구가 증가하여 24시간내에 최고치를 나타내는 것으로 알려져 있으며 (Morstyn 등, 1988), 일반적으로 순환호중구는 투여 5-6일 동안 지속적으로 투여용량에 비례하여 증가되고, 2주간 연일 G-CSF 투여시 2주째에는 호중구수의 반응이 없거나 약간 감소되는 것으로 보고되어 있다(Lindemann 등, 1989). G-CSF 투여시 대부분의 환자에서 특별한 부작용은 관찰되지 않으나 경도 또는 중등도의 골통(bone pain)이 간혹 관찰되는 것으로 알려져 있다. 국내에서의 rhG-CSF (KRN 8601) 제 2상 임상시험결과에서도 골통, 전신적 무력감, 발열, 근육통 등의 부작용이 관찰되었으며, 발현율은 모두 10% 미만으로 그 정도는 WHO grade 1 이하의 경미한 것이라고 보고되었다(Roh 등, 1993).

항암제에 의한 백혈구감소증의 치료제로 G-CSF를 사용할 경우 일반적으로 G-CSF 투여전후 24시간동안 항암제를 투여하지 않도록 권장하고 있다. 이는 항암제가 비교적 세포분열이 활발한 조직에 손상을 주는 한편 G-CSF는 조혈기계에서 과립구 등의 생성을 촉진시키는 작용을 나타내므로 항암제와 G-CSF를 동시투여시 항암제의 독성에 대한 조혈기계의 감수성이 더 높아질 수 있기 때문으로 생각된다. 본 시험에서는 ADM과 DA-125 투여후 24시간부터 G-CSF를 투여하였으나 이 시기에 혈중의 약물이 상당량 소실되었다고 해도 표적장기인 골수에 대한 약물의 분포상과 조직내에서의 소실속도에 따라 G-CSF의 효과가 달라질 수 있을 것으로 생각된다. 그러므로 항암제에 의한 백혈구감소증을 예방 또는 치료할 목적으로 G-CSF 등의 조혈촉진인자를 사용할 경우 혈중 및 조직내 분포와 소실속도 등 항암제 자체의 흡수·분포·대사·배설(ADME)특성을 충분히 고려하여 사용해야 할 것으로 판단된다.

Okabe 등(1991a)은 변종 G-CSF인 KW-2228이 호중구의 항암활성을 증가시키며, Colon-26암주를 이식한 마우스에서 cyclophosphamide와 nitrosourea (ACNU)의 TGI와 ILS를 증대시킨다고 보고하였다(Okabe 등, 1991b). 그러나 본 시험의 결과 단회 정맥내투여시 최대내성용량인 ADM 12 mg/kg과 DA-125 40 mg/kg의 용량과 G-CSF를 병용한 결과 G-CSF는 항암제 단독투여군에 비해 survival effect나 항암효과의 증강을 나타내지 못했다. 단지 약물투여후 1-7일간의 체중변화에서 DA-125 40 mg/kg 단독투여군이 3.3 g의 체중감소를 보인데 비해 DA-125 및 G-CSF 병용투여군에서는 1.4 g의 체중감소를 나타내었으며, 암이식 14일에 평가한 ADM투여군의 TIR에서 ADM단독투여시보다 G-CSF 병용에 의해 좀 더 우수한 TIR을 나타내었다. 항암제의 약효에 대한 G-CSF의 직접적인 상승작용에 대해서는

추후 심도있는 연구가 진행되어야 할 것으로 생각된다. 한편 G-CSF의 보조요법에 의한 항암요법제의 용량증가(dose-intensification) 및 이에 따른 효력증대에 관해서는 긍정적인 임상결과가 보고되고 있다. Bronchud 등(1989)은 3-4주 간격으로 70-100 mg/m<sup>2</sup>을 투여하는 표준적 ADM투여법에 반응을 보이지 않은 난소암 및 유방암환자에 대해 G-CSF의 병용에 의해 격주로 100 mg/m<sup>2</sup>의 ADM투여가 가능하였으며, 약 80%의 유효율을 얻을 수 있었다고 보고하였다. 또한 Taxol의 경우 G-CSF병용요법시 조혈기독성과 점막염이 더 이상 DLF가 아니고, 신경독성이 발현되는 250 mg/m<sup>2</sup>까지 최대내성용량(Maximum tolerate dose, MTD)이 증가되며 재발성 난소암환자에 대해 45 mg/m<sup>2</sup>/wk의 Taxol용량을 83 mg/m<sup>2</sup>/wk까지 상승시켜 35%정도에서 유효율을 50%이상으로 증가시킬 수 있었다고 한다(Sarosy 등, 1992). 이러한 연구결과는 조혈기독성을 DLF로 갖는 항암요법의 경우 G-CSF 등의 보조요법에 의해 더욱 강화된 치료효과를 기대할 수 있음을 시사하나 이 경우 용량증가에 따른 타 장기에서의 독성발현에 주의해야 함을 시사한다(Gabrilove, 1992).

본 시험에서 설정한 ADM의 용량인 12 mg/kg은 기실시한 전임상효력시험의 결과(Kim 등, 1994)를 참조하였으나 본 시험에서 독성용량으로 나타나 단회 정맥내투여시 시험동물의 체중과 체중차이에 의해서도 독성발현정도가 차이를 나타내는 것으로 판단되었다. 시험결과에서 DA-125의 ILS가 20-30% 정도로 나타난 것은 Colon26 adenocarcinoma모델이 본 조건에서 30일 이상의 MST를 나타내는 장기 고형암시험계이므로 단회투여에 의해 충분한 항암효과를 나타내지 못했기 때문인 것으로 사료된다.

결론적으로 G-CSF는 DA-125의 항암효과를 직접적으로 증가시키지는 않으나 DA-125에 의한 백혈구감소증에 대해 예방 및 치료효과를 나타내어 DA-125의 용량증가 및 이에 따른 항암효과증대목적의 보조요법제로서 사용가능성이 높은 것으로 판단되었다.

### 참고문헌

Baik, N. G., Ahn, B. O., Lee, S. B., Kim, W. B., Yang, J. and Watanabe, T. (1993). A study on cardiotoxicity of DA-125, a new anticancer antibiotic. *J. Appl. Pharmacol.* **1**, 9-19.

Baik, N. G., Ahn, B. O., Lee, S. B., Kim, W. B., Yang, J., Kim, M. S., Kim, J. H., Park, J. W., Jung, H. H., Roh, J. K. and Watanabe, T. (1994). Less cardiotoxicity of DA-125, a novel anthracycline derivative, compared doxorubicin (DXR). *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* **35**, 410.

Bronchud, M. H., Howell, A., Crowther, D., Hopwood, P., Souza, L. and Dexter, T. M. (1989). The use of granulocyte colony-stimulating factor to increase the intensity of treatment with doxorubicin in patients with advanced breast and ovarian cancer. *Br. J. Cancer* **60**, 121.

- Crawford, J., Ozer, H., Stoller, R., Johnson, D., Lyman, G., Tabbars, I., Kris, M., Gradishar, W., Yahanda, A., Vincent, M., Stewart, M. and Glaspy J. (1991). Reduction by granulocyte colony-stimulating factor of fever and neutropenia induced by chemotherapy in patients with small-cell lung cancer. *N. Engl. J. Med.* **325**, 164.
- Gabrilove, J. (1992). The development of granulocyte colony-stimulating factor in its various clinical applications. *Blood* **80**(6), 1382-1385.
- Gabrilove, J. L., Jakubowski, A., Scher, H., Sternberg, C., Wong, G., Grous, J., Yagoda, A., Fain, K., Moore, M. A. S., Clarkson, B., Oettgen, H. F., Alton, K., Welte, K. and Souza, L. (1988). Effect of granulocyte colony-stimulating factor on neutropenia and associated morbidity due to chemotherapy for transitional cell carcinoma of the urothelium. *N. Engl. Med.* **318**, 1414.
- Havemann, K., Klausmann, M., Wolf, M., Fischer, J. R., Drings, P. and Oster, W. (1991). Effect of rhGM-CSF on hematopoietic reconstitution after chemotherapy in small-cell lung cancer. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* **117** Suppl. 4, S203-207.
- Kim, W. B. (1994). Preclinical studies of DA-125, a new anthracycline anticancer agent. *Kor. J. Clin. Pharmacol. Ther.* **2**(1), 73-79.
- Lee, M. G. and Yang, J. (1996). DA-125. *Drugs of the future*, **21**(8), 782-786.
- Lee, S. D., Park, J. B., Lee, W. I., Shim, H. J., Lee, E. D., Lee, J. I., Kim, W. B., Yang, J., Kim, C. K. and Lee, M. G. (1995). Pharmacokinetics and antitumor activity of a new anthracycline, DA-125, after intravenous administration to subcutaneously implanted Lewis-lung-carcinoma-bearing mice. *Biopharm Drug Disposit* **16**, 489-505.
- Lindemann, A., Herrmann, F., Oster, W., Haffner, G., Meyenburg, W., Souza, L. M. and Mertelsmann, R. (1989). Hematologic effects of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor in patients with malignancy. *Blood* **74**, 2644.
- McCabe, W. R. and Jackson, C. G. (1962). Gram-negative bacteremia. *Arch. Intern. Med.* **110**, 847.
- Morstyn, G., Souza, L. M., Keech, J., Sheridan, W., Campbell, L., Alton, N. K., Green, M. and Metcalf, D. (1988). Effect of granulocyte colony stimulating factor on neutropenia induced by cytotoxic chemotherapy. *Lancet* **1**, 667.
- Okabe, M., Asano, M., Katsushige, G. and Hirata, T. (1991a). Potentiation of anti-tumor activity of neutrophils by a mutant granulocyte colony-stimulating factor. *Yakuri To Chiryō* **19**(6), 67-78.
- Okabe, M., Asano, M., Katsushige, G. and Hirata, T. (1991b). Combined anti-tumor effect of a mutant granulocyte colony-stimulating factor, KW-2228 with anti-cancer agent against experimental tumors. *Yakuri To Chiryō* **19**(7), 335-345.
- O'reilly, M. and Gamelli, R. L. Recombinant granulocyte-macrophage colony-stimulating factor improves hematopoietic recovery after 5-fluorouracil. *J. Sur. Res.* **45**, 104.
- Park, J. B., Ahn, B. O., Kim, W. B., Yang, J., Kim, S. J., Park, J. G. and Roh, J. K. (1994). Preclinical activity of DA-125, a new anthracycline derivative: Comparative study with doxorubicin(DXR). *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* **35**, 410.
- Pizzo, P. A., Hathorn, J. W., Hiemenz, J., Browne, M., Commers, J., Cotton, D., Gress, J., Longo, D., Marshall, D., McKnight, J., Rubin, M., Skelton, J., Thaler, M. and Wesley, R. (1986). A randomized trial comparing ceftazidime alone with combination antibiotic therapy in cancer patients with fever and neutropenia. *N. Engl. J. Med.* **315**, 552.
- Roh, J. K., Choi, J. H., Lee, K. H., Lee, H. R., Yoo, N. C., Kim, J. H. and Kim, B. S. (1993). Phase II clinical trial of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (rhG-CSF)(KRN8601) in advanced cancer patients with myelosuppression after chemotherapy. *J. Korean Cancer* **25**, 725.
- Roh, J. K., Rha, S. Y., Lee, C. I., Lee, K. H., Lee, J. J., Shim, H. J., Lee, S. D., Kim, W. B., Yang, J., Kim, S. H. and Lee M. G. (1996). Phase I clinical trial and pharmacokinetics of a novel anthracycline, DA-125. Single dose study. *Int'l. J. Clin. Pharmacol. Ther.* in press.
- Sarosy, G., Kohn, E., Link, C., Adamo, D., David, P., Ognibene, F., Goldspiel, B., Cristian, M. and Reed, E. (1992). Taxol dose intensification in patients with recurrent ovarian cancer. *Proc. Am. Soc. Oncol.* **11**, 716.
- Vadhan-Raj, S., Broxmeyer, H. E., Hittelman, W. N., Papadopoulos, N. E., Chawla, S. P., Fenoglio, C., Cooper, S., Buescher, E. S., Frenck, R. W. Jr. and Holian, A. (1992). Abrogating chemotherapy-induced myelosuppression by recombinant granulocyte-macrophage colony-stimulation factor in patients with sarcoma: protection at the progenitor cell level. *J. Clin. Oncol.* **10**(8), 1266-1277.