

Historical Control Data from 4-week Repeated Toxicity Studies in Crj:CD (SD) Rats

Jung-Min Lee¹, Min-Ah Lee¹, Hyeon-Nam Do¹, Re-Ji-Na Bae¹, Mi Ju Lee¹, Myoung Jun Kim¹,
Ho-Song Jang¹, Sun Hee Park¹, Hye-Yeong Lee¹, Jin Seok Kang^{2,†} and Jong-Koo Kang^{3,†}

¹Pathology Department, Biototech Co., Ltd, Chungbuk 353-883, Korea

²Department of Biomedical Laboratory Science, Namseoul University, Cheonan 331-707, Korea

³Laboratory Animal Medicine, College of Veterinary Medicine, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

Reference ranges of standard experimental parameters are useful for comparisons in toxicology. The aim of this study was to collect data from 4-week repeated toxicity studies in CrI:CD (SD) rats, a strain widely used for toxicity and efficacy research, for establishing domestic reference values. Data on body weight, food consumption; urinalysis, hematological, and blood biochemical parameters; and organ weights were collected from 16 toxicity studies in 220 CrI:CD (SD) rats (110 males and 110 females). The studies had been performed at a single testing facility over the last 3 years and involved animals sourced from a single breeder. The findings were collated as means, standard deviations, percentages, and ranges. Urine volume, uterus weight, eosinophil, and basophil counts, and triglyceride, total bilirubin, and gamma-glutamyl transpeptidase levels showed standard deviations of 30% or more. These historical control data would help to interpret the effects of test substances in routine toxicity and efficacy studies.

Key Words: CrI:CD (SD) rat, Control data, Reference range, Toxicology

서 론

식품첨가물, 의약품 및 화학물질 등의 독성 및 유효성을 평가하는데 있어서 배경자료 (historical control data)는 투여에 의한 영향을 해석하는데 실질적으로 도움이 된다 (Kang et al., 1995). 하지만, 이러한 배경자료는 동물의 주령, 사육환경, 사료의 종류, 계통, 측정기기, 사용된 시약, 동물의 스트레스 및 실험방법 등에 따라 영향을 받는다 고 알려져 있다 (Cho et al., 1997; Kang et al., 2001). 안전성,

유효성 평가에 수반되는 시험을 수행할 때 투여에 따른 영향을 평가하기 위하여 대조군을 설정하여, 그 결과를 비교하는 기준으로 사용되어 왔으나, 대조군의 측정치가 일정하지 않거나, 시험물질 투여군의 측정치가 대조군의 최솥치 또는 최댓치와 근접한 경우, 그 결과를 해석하는 일은 쉽지 않다 (Kang et al., 2004). 그 외에도 통계학적으로 유의성이 관찰된 항목이 용량의존성도 없이 산발적으로 분포하거나, 매우 경미한 변동이지만, 표준편차 등의 차이로 인하여 통계적인 오류에 기인된 유의성인 경우에도 결과해석에 방해가 되는 요인이 된다 (Hayes AW, 2001).

따라서, 올바른 결과해석을 위하여, 용량반응관계의 평가 및 다른 검사항목과의 연동 등을 종합적으로 평가하는 경우가 많다 (Ha et al., 1995). 그러나, 관찰된 결과치가 정상적인 생리적 범위 내에 속하는지 판단할 수 있는 가장 중요한 지표는 배경자료가 된다. 그러므로, 안전성 및 유효성 평가에 수반되는 시험을 실시하는 시험종사자는 결과해석단계에서 배경자료의 충분한 이해 및 확보가

*Received: February 27, 2012 / Revised: June 5, 2012

Accepted: July 4, 2012

†Corresponding author: Jin Seok Kang. Department of Biomedical Laboratory Science, Namseoul University, 21 Maeju-ri, Seonghwan-eup, Cheonan, Chungnam 331-707, Korea.

Tel: +82-41-580-2721, e-mail: kang@nsu.ac.kr

†Corresponding author: Jong-Koo Kang. Laboratory Animal Medicine, College of Veterinary Medicine, Chungbuk National University, 410 Seongbong-ro, Heungduk-gu, Cheongju, Chungbuk 361-763, Korea.

Tel: +82-43-261-2607, e-mail: jkkang@cbu.ac.kr

©The Korean Society for Biomedical Laboratory Sciences. All rights reserved.

중요하다 (Kang et al., 2001). 시험종사자는 이러한 배경자료의 중요성을 충분히 인지하고 있음에도, 국내의 경우 주요 실험동물 공급업체로부터 동물의 체중, 사료섭취량, 뇨 검사, 혈액학적 검사, 혈액생화학적 검사 및 장기중량 등에 대한 자료를 제공받지 못하는 경우가 많고, 외국의 실험동물 생산공급업체에서 제공되는 배경자료나 문헌에 의존하여 판단하는 경우가 많다 (Oh et al., 2001). 그리고, 외국에서 널리 사용되는 측정기기 또는 시약은 국내 유통되지 않는 경우도 흔하므로, 외국에서 제공되는 배경자료를 근거로 판단하기에는 어려움이 많다. 국내의 배경자료에 대한 연구에서는 동일 주령의 측정치에 대한 성차의 비교는 언급되어 있으나, 각 항목별 변동폭 및 참고치 (reference range)에 대한 정보는 찾을 수 없었다.

또한, 자료의 수집기간이 1년 이내로 짧아 검사결과에 영향을 주는 사육환경 및 실험방법 등의 영향요인들이 충분히 반영되지 않았다. 따라서, 우리는 안전성, 유효성 평가에 많이 사용되는 CrI:CD (SD) 랫드에 대하여 총 16개의 4주 반복시험에서 사용된 대조군 암수 랫드의 체중, 사료섭취량, 뇨 검사, 혈액학적 검사, 혈액생화학적 검사 및 장기중량자료를 약 3년간 수집하여 10주령의 암수 랫드 각각 110마리의 각 항목별 변동범위 및 참고치를 포함하여 보고함으로써, 많은 시험종사자들이 CrI:CD (SD) 랫드를 이용한 시험에 결과해석을 보다 용이하게 할 수 있도록 도움이 되고자 한다.

재료 및 방법

동물

(주)바이오톡스텍에서 2008년부터 2011년까지 실시한 4주 반복투여 독성시험에서 ORIENTBIO INC., Korea CrI:CD (SD) 랫드를 이용한 16개 시험 중, 총 220마리 (수컷 110마리, 암컷 110마리)의 대조군 동물을 이용하였다.

검역순화

반입시 동물의 외관검사를 실시하고, 전자저울 (CP-3202S, Sartorius AG, Goettingen, Germany)로 체중을 측정하였다. 6~7일간의 순화기간 중에 매일 1회 일반증상을 관찰하고, 순화기간 종료일에 체중을 측정하고, 일반증상 및 체중변화를 확인하여 동물의 건강상태를 평가하였다.

사육환경

동물은 스테인레스 철망사육상자 (260W × 350D ×

210H (mm))에 1마리씩 배치하여 온도 19~25°C, 상대습도 30.0~70.0%, 환기회수 10~15회/시간, 명암주기 12시간/일 (오전 7시부터 오후 7시), 조도 150~300 Lux의 조건에서 사육하였다. 사료는 실험동물용 고형사료 (Teklad Certified Irradiated Global 18% Protein Rodent Diet 2918C)를 급이기에 넣어 자유섭취 시켰다.

투여방법

주사용수 (JW Pharmaceutical, Korea)을 시험기간에 따라 4주간 매일 오전에 경구투여용 존테를 부착한 일회용 주사기 (3~5 mL)를 이용하여 투여기간 1일 1회 위 내에 강제 경구투여 하였다.

뇨 검사

투여 최종주에 신선뇨 (배설 후 약 3시간 이내의 뇨)와 축뇨 (배설 후 약 24시간 뇨)를 수거하여, 단백 (protein, PRO), 당 (glucose, GLU), 케톤체 (ketone body, KET), 유로빌리노겐 (urobilinogen, URO), 빌리루빈 (bilirubin, BIL), 잠혈 (occult blood, Ery), 아질산염 (Nitrite, NIT)은 뇨화학 분석기 (Miditron Junior II, Roche Diagnostics, Basel, Switzerland)를 이용하여 측정하였다. 정량적 검사로서 24시간 축뇨에 대한 뇨량 (urine volume)을 측정하였다.

혈액학적 검사

모든 생존동물에 대하여 부검 전 약 18시간 이상 절식시킨 후, 부검일에 Isoflurane으로 마취하여 배대동맥으로부터 혈액을 채취한 후 혈액 약 1 mL을 EDTA 함유 tube에 넣었다. 혈액학적 검사는 적혈구수 (erythrocyte count, RBC), 혈색소량 (hemoglobin, HGB), 헤마토크리트치 (hematocrit, HCT), 평균적혈구용적 (mean corpuscular volume, MCV), 평균적혈구헤모글로빈량 (mean corpuscular hemoglobin, MCH), 평균적혈구헤모글로빈농도 (mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC), 혈소판 수 (platelet, PLT), 백혈구수 (leucocyte count, WBC), 중성호성백혈구 (neutrophils, NEU), 림프구 (lymphocytes, LYM), 단핵구 (monocytes, MONO), 산호성 백혈구 (eosinophils, EOS), 염기호성 백혈구 (basophils, BASO), 망상적혈구 (reticulocytes, Reti)에 대하여 혈구분석기 (ADVIA 120, Siemens Healthcare Diagnostics, Tarrytown, NY, USA)로 측정하였다. 또한, 응고검사는 채취한 혈액 약 2 mL을 3.2% sodium citrate 함유 tube에 넣고, 3,000 rpm으로 10분간 원심분리한 후 혈장을 채취하여, 응고시간 분석기 (ACL

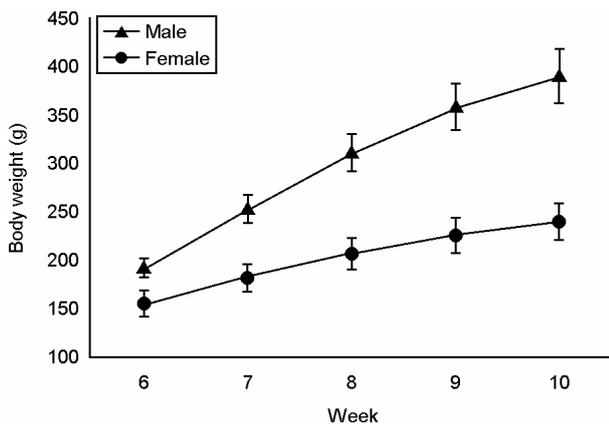


Fig. 1. Changes in body weight of male and female rats. The male and female rats showed a body weight gain of 204% and 155%, respectively, from week 1 to week 4.

7000, Instrumentation Laboratory, Bedford, USA)로 프로트롬빈시간 (prothrombin time, PT), 부분활성 트롬보플라스틴시간 (activated partial thromboplastin time, APTT)을 측정하였다.

혈액생화학적 검사

혈액학적 검사를 수행한 모든 동물의 배대동맥에서 채취한 혈액을 3,000 rpm으로 10분간 원심분리한 후 채취한 혈청을 생화학분석기 (7080, Hitachi, Tokyo, Japan)를 이용하여 알라닌 아미노기 전이효소 (alanine aminotransferase, ALT), 아스파테이트 아미노기 전이효소 (aspartate aminotransferase, AST), 알칼라인포스파타제 (alkaline phosphatase, ALP), 감마 글루타미드 트랜스펩티다제 (gamma glutamyl transpeptidase, GGT), 혈액요소질소 (blood urea nitrogen, BUN), 크레아티닌 (creatinine, Crea), 총빌리루빈 (total bilirubin, T-Bili), 총단백 (total protein, TP), 알부민 (albumin, ALB), 총콜레스테롤 (total cholesterol, T-Chol), 트리글리세라이드 (triglycerides, TG), 인 (phosphorus, P), 혈당 (glucose, Glu), 칼슘 (calcium, Ca)을 측정하였다. 또한, 전해질분석기 (AVL 9181, Roche Diagnostics, Basel, Switzerland)로 염소 (chloride, Cl), 나트륨 (sodium, Na), 칼륨 (potassium, K)을 측정하였다.

장기중량

모든 동물에 대하여 뇌 (brain), 뇌하수체 (pituitary), 심장 (heart), 폐 (lung), 간 (liver), 비장 (spleen), 신장 (kidney), 부신 (adrenal), 고환 (testis), 전립선 (prostate), 난

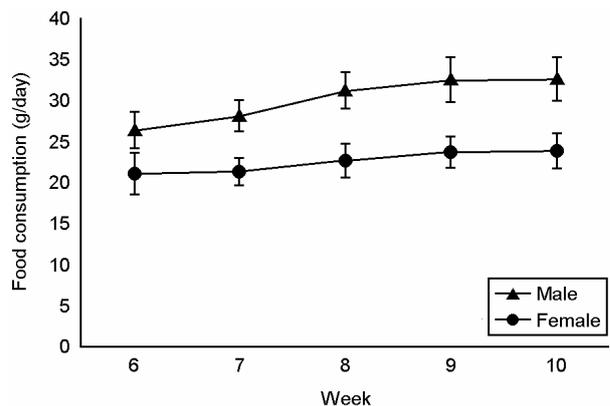


Fig. 2. Changes in food consumption of male and female rats. Male and Female rats consumed the maximum amount of food in the experimental 4week; thereafter, food consumption reached a plateau until the end of the study.

소 (ovary), 자궁 (uterus)에 대하여 중량을 측정하였다. 단, 좌우가 있는 양측장기는 좌우를 합하여 무게를 측정하였다.

결 과

체중

시험개시 1주부터 4주까지 체중 증가율은 수컷 204%, 암컷 155%로 시험종료까지 지속적으로 증가하였다. 또한, 동일주령에서 체중의 표준편차는 평균체중의 10% 이내였다. 수컷에서는 시험개시부터 3주까지 평균체중의 10% 이상 크게 증가하였으나, 시험개시 4주에서는 체중의 증가율이 10% 이내로 감소되었다. 암컷은 수컷과 비교 시 체중의 증가폭이 크지 않았으며, 시험개시 3주부터 체중 증가율이 평균체중의 10% 이내로 감소되었다 (Fig. 1).

사료섭취량

시험개시 1주부터 4주까지의 사료섭취량은 암수 모두 시험개시 4주에서 최고치를 나타내었다. 평균 사료섭취량은 수컷 26.3 g/day부터 32.6 g/day, 암컷 20.8 g/day부터 23.6 g/day의 범위였다. 또한, 시험개시 1주부터 4주까지의 사료섭취량에서 최소 사료섭취량과 최대 사료섭취량의 차이가 가장 큰 주령은 수컷의 시험개시 3주령으로 최소 25.6 g/day에서 최대 40.0 g/day이었고, 암컷은 시험개시 1주령 이내로 최소 15.5 g/day에서 최대 29.5 g/day이었다 (Fig. 2).

뇨 검사

뇨 검사결과 양성이 검출된 항목은 수컷의 단백, 케톤 체 및 잠혈, 암컷의 단백이었다. 양성률은, 수컷 (단백: 50%, 케톤체: 3%, 잠혈: 3%)로 암컷 (단백: 6%)과 비교 시 높은 경향이 인정되었으며, 뇨량의 표준편차는 암수

모두 평균치의 30% 이상으로 변동폭이 큰 것이 확인되었다 (Table 1).

혈액학적 검사

혈액학적 검사결과 적혈구 및 관련 검사항목의 검사치에서 표준편차가 평균치의 10% 미만을 나타낸 검사항목

Table 1. Urinalysis data

	Male						Female					
	N	Mean	±	SD	Min	Max	N	Mean	±	SD	Min	Max
U. Volume (mL)	25	9.8	±	5.2	3.6	30	25	5.3	±	2.3	2.2	11.1
	N	-	±	+	+++	++++	N	-	±	+	+++	++++
Protein (mg/dL)	30	15 (50)	15 (50)	0	0	0	30	28 (94)	2 (6)	0	0	0
Glucose (mg/dL)	30	30 (100)	0	0	0	0	30	30 (100)	0	0	0	0
Ketone body (mg/dL)	30	29 (97)	1 (3)	0	0	0	30	30 (100)	0	0	0	0
Urobilinogen	10	10 (100)	0	0	0	0	10	10 (100)	0	0	0	0
Bilirubin (mg/dL)	30	30 (100)	0	0	0	0	30	30 (100)	0	0	0	0
Occult blood (Ery/μl)	30	29 (97)	1 (3)	0	0	0	30	30 (100)	0	0	0	0
Nitrite (mg/dL)	30	30 (100)	0	0	0	0	30	30 (100)	0	0	0	0

() incidence

Table 2. Hematological data

	Male				Female			
	N	Mean ± SD	-2S.D	+2S.D	N	Mean ± SD	-2S.D	+2S.D
RBC (×10 ⁶ cells/μL)	110	7.71 ± 0.28	7.14	8.28	110	7.58 ± 0.27	7.04	8.13
HGB (g/dL)	110	14.9 ± 0.5	13.9	15.9	110	14.7 ± 0.5	13.8	15.6
HCT (%)	110	44.0 ± 1.6	40.9	47.1	110	42.4 ± 1.6	39.2	45.5
Reti (%)	65	2.7 ± 0.4	1.9	3.5	65	2.0 ± 0.3	1.3	2.7
MCV (fL)	110	57.0 ± 1.5	54.0	60.0	110	55.9 ± 1.6	52.6	59.2
MCH (pg)	110	19.3 ± 0.6	18.1	20.5	110	19.4 ± 0.6	18.1	20.7
MCHC (g/dL)	110	33.8 ± 0.8	32.2	35.3	110	34.6 ± 0.9	32.8	36.4
PLT (×10 ³ cells/μL)	110	1266 ± 155	957	1576	110	1250 ± 166	918	1583
WBC (×10 ³ cells/μL)	110	9.13 ± 2.19	4.74	13.51	110	4.67 ± 1.26	2.14	7.20
NEW (%)	65	14.5 ± 3.6	7.3	21.7	65	16.4 ± 4.7	7.0	25.7
LYM (%)	65	81.1 ± 4.0	73.2	89.0	65	79.7 ± 4.9	69.9	89.5
MONO (%)	65	2.2 ± 0.7	0.8	3.5	65	1.9 ± 0.5	0.9	2.9
EOS (%)	65	0.8 ± 0.3	0.3	1.4	65	1.1 ± 0.4	0.3	1.9
BASO (%)	65	0.2 ± 0.1	0.0	0.4	65	0.2 ± 0.1	0.0	0.4
LUC (%)	65	1.0 ± 0.4	0.1	1.9	65	0.8 ± 0.3	0.1	1.4
PT (sec)	64	14.4 ± 0.6	13.2	15.6	60	14.6 ± 0.6	13.5	15.8
APTT (sec)	64	16.6 ± 1.9	12.7	20.5	60	16.6 ± 1.8	13.0	20.1
Fib (mg/dL)	55	344 ± 56	231	456	49	266 ± 34	198	334

RBC, erythrocyte count; HGB, hemoglobin; HCT, hematocrit; Reti, reticulocyte; MCV, mean corpuscular volume; MCH, mean corpuscular hemoglobin; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration; PLT, platelet; WBC, leukocyte; NEW, neutrophil; LYM, lymphocyte; MONO, monocyte; EOS, eosinophil; BASO, basophil; PT, prothrombin; APTT, activated partial thromboplastin time; Fib, fibrinogen

Table 3. Hematological data

	Male				Female			
	N	Mean ± SD	-2S.D	+2S.D	N	Mean ± SD	-2S.D	+2S.D
ALT (U/L)	110	29.0 ± 4.88	19.3	38.8	110	23.5 ± 3.4	16.6	30.4
AST (U/L)	110	83.2 ± 16.0	51.2	115.2	110	75.4 ± 12.4	50.6	100.1
ALP (U/L)	110	615.7 ± 121.9	372.0	859.4	110	354.1 ± 68.5	217.2	491.1
GGT (U/L)	20	0.94 ± 0.49	0.00	1.92	25	1.21 ± 0.63	0.00	2.46
Glu (mg/dL)	110	144 ± 14	116	172	110	134 ± 14	106	163
BUN (mg/dL)	110	12.9 ± 1.4	10.1	15.8	110	14.1 ± 1.7	10.7	17.5
Crea (mg/dL)	110	0.45 ± 0.06	0.34	0.57	110	0.47 ± 0.05	0.36	0.58
T-Bili (mg/dL)	75	0.04 ± 0.02	0.01	0.08	75	0.05 ± 0.01	0.02	0.08
T-Chol (mg/dL)	110	75 ± 15	45	105	110	85 ± 14	57	112
TG (mg/dL)	110	43 ± 17	9	78	110	16 ± 6	4	28
TP (g/dL)	110	5.7 ± 0.3	5.2	6.2	110	5.9 ± 0.3	5.4	6.4
Alb (g/dL)	110	2.5 ± 0.2	2.1	2.8	110	2.7 ± 0.2	2.3	3.2
A/G ratio	110	0.77 ± 0.09	0.59	0.94	110	0.85 ± 0.10	0.65	1.05
P (mg/dL)	65	8.05 ± 0.57	6.90	9.19	65	6.40 ± 0.58	5.24	7.56
Ca (mg/dL)	65	10.4 ± 0.3	9.8	11.1	65	10.0 ± 0.3	9.4	10.6
Na (mmol/L)	65	139 ± 1	137	142	65	139 ± 1	136	14
K (mmol/L)	65	4.7 ± 0.3	4.0	5.3	65	4.3 ± 0.3	3.8	4.8
Cl (mmol/L)	65	103 ± 1	100	106	65	105 ± 1	102	108

ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate aminotransferase; ALP, alkaline phosphatase; GGT, gamma-glutamyl transpeptidase; GLU, glucose; BUN, blood urea nitrogen; Crea, creatinine; T-Bili, total bilirubin; T-Chol, total cholesterol; TG, triglyceride; TP, total protein; Alb, albumin; A/G, albumin/globulin; P, phosphorus, Ca, calcium; Na, sodium; K, potassium; Cl, Chloride

은 암수 RBC, HGB, HCT, MCV, MCH 및 MCHC, 표준편차가 평균치의 10% 이상 20% 미만의 검사항목은 암수 PLT, Reti, 백혈구 백분율 검사에서 표준편차가 평균치의 10% 미만 검사항목은 암수 LYM, 표준편차가 평균치의 20% 이상 30% 미만의 검사항목은 암수 Neu, 그 외의 백혈구 백분율 검사항목은 표준편차가 평균치의 30% 이상이었다. 응고계 검사항목에서 표준편차가 평균치의 10% 미만 검사항목은 암수 PT, 표준편차가 10% 이상 20% 미만의 검사항목은 APTT, Fib이었다 (Table 2).

혈액생화학적 검사

혈액생화학적 검사결과항목 ALP와 TG에서 암수 성별에 의한 차이 (ALP: 수컷 (615.7 ± 121.9), 암컷 (354.1 ± 68.5)), (TG: 수컷 (43 ± 17), 암컷 (16 ± 6))가 인정되었다. 그 외, 검사항목에서는 암수의 명확한 차이가 인정되지 않았다. 검사항목에서 표준편차가 평균치의 10% 미만 검사항목은 암수 Na, K, Cl, P, Ca, TP 및 ALB, 표준편차가 평균치의 10% 이상 20% 미만의 검사항목은 암수

ALT, AST, ALP, Glu, Bun, Crea, A/G ratio 및 T-Chol, 표준편차가 평균치의 20% 이상 30% 미만의 검사항목은 암컷 T-Bili, 그 외 표준편차가 평균치의 30% 이상이었던 항목은 암수 GGT, TG 및 수컷 T-Bili 등이었다 (Table 3).

장기중량

장기중량 측정결과 표준편차가 평균치의 10% 미만의 장기는 암수 뇌, 심장, 폐 및 고환, 표준편차가 평균치의 10% 이상 20% 미만이었던 장기는 암수 뇌하수체, 간, 비장, 신장 및 부신, 표준편차가 평균치의 20% 이상 30% 미만이었던 장기는 전립선, 표준편차가 평균치의 30% 이상이었던 장기는 자궁이었다 (Table 4).

고 찰

안전성, 유효성 평가에 많이 사용되는 Cri:CD (SD) 랫드에 대하여 총 16개의 4주 반복시험에서 사용된 10주령의 대조군 암수 랫드 각각 110마리의 체중, 사료섭취량,

Table 4. Organ weights data

	Male				Female			
	N	Mean ± SD	-2S.D	+2S.D	N	Mean ± SD	-2S.D	+2S.D
Body Weight (g)	105	360.1 ± 28.1	303.9	416.4	105	221.0 ± 16.6	187.7	254.3
Brain (g)	105	1.95 ± 0.08	1.79	2.12	105	1.83 ± 0.07	1.68	1.98
Pituitary (g)	60	0.0112 ± 0.0013	0.0085	0.0139	60	0.0136 ± 0.0022	0.0093	0.0179
Heart (g)	105	1.18 ± 0.10	0.97	1.39	105	0.83 ± 0.08	0.66	1.00
Lung (g)	55	1.36 ± 0.10	1.16	1.55	55	1.09 ± 0.08	0.92	1.25
Liver (g)	105	10.98 ± 1.40	8.17	13.78	105	6.68 ± 0.64	5.40	7.97
Spleen (g)	105	0.72 ± 0.11	0.49	0.94	105	0.47 ± 0.07	0.33	0.62
Kidney (g)	105	2.65 ± 0.26	2.14	3.16	105	1.73 ± 0.15	1.44	2.02
Adrenl (g)	65	0.0612 ± 0.0087	0.0437	0.0787	65	0.0686 ± 0.0079	0.0528	0.0844
Testis (g)	65	3.10 ± 0.38	2.34	3.86	NA	NA	NA	NA
Prostate (g)	60	0.46 ± 0.10	0.26	0.66	NA	NA	NA	NA
Ovary (g)	NA	NA	NA	NA	65	0.08 ± 0.01	0.06	0.11
Uterus (g)	NA	NA	NA	NA	55	0.58 ± 0.20	0.19	0.98

NA: Not applicable

뇨 검사, 혈액학적 검사, 혈액생화학적 검사 및 장기중량 자료를 수집하였다.

1주부터 4주차까지 체중측정 결과, 암수 평균체중은 수컷 302.0 ± 71.9 g, 암컷 201.7 ± 30.6 g이었다. 시험개시 1주부터 4주차까지 체중 증가율은 수컷 204%, 암컷 155%로 시험종료까지 지속적으로 증가하였다. 암컷에서는 시험개시 1주차에 14.8%, 수컷에서는 24.3% 증가하여 1주차의 체중 증가율이 가장 급격한 것으로 확인되었다. 이러한 체중 증가율은 수컷은 시험개시 4주, 암컷은 3주째부터 10% 이하로 감소하였다. 이러한 체중 측정결과는 동일 주령의 다른 보고 (Song et al., 1990)와 유사한 경향을 나타내었다.

1주부터 4주차까지 측정된 사료섭취량 측정결과, 암수 평균사료섭취량은 각각 수컷 30.1 ± 2.5 g/day, 암컷 22.3 ± 2.1 g/day이었다. 암수 사료섭취량의 차이가 큰 주차는 시험개시 3주와 4주차였으며, 체중 측정결과에서도 동일한 주령의 암수 체중 차이가 가장 크게 확인되어 체중과의 연관성이 깊다고 판단되었다. 또한, 사료섭취량은 각 주령의 표준편차가 평균 사료섭취량의 10% 이상 20% 이내로 개체간의 차이가 큰 것이 확인되었다.

시험개시 4주째 실시한 뇨 검사결과 수컷에서는 단백뇨 50%, 케톤체 3%, 잠혈 3%가 확인되었으며, 암컷에서는 단백뇨 6%만이 확인되어 수컷에서 암컷보다 양성율이 현저하게 높았다. 이러한 검사결과는 동일 주령의

다른 보고 (Song et al., 1990)와 유사한 경향을 나타내었다. 수컷에서 양성율이 현저하게 높았던 단백뇨는 수컷 랫드에서 α_{2u} -globulin이 과량 생산되는데 기인하여 단백뇨가 검출되는 것으로 알려져 있다. 이러한 암수의 차이는 α_{2u} -globulin이 수컷 랫드의 경우 간에서 생산되나 암컷에서는 침샘에서만 소량 생산되는 차이에 근거한다 (Swenberg, 1993; Hamamura et al., 2006; Hisaharu et al., 2009; Yamada, 2009). 또한, 뇨량의 측정결과에서는 암수 모두 표준편차가 30% 이상으로 개체간의 차이가 큰 것이 확인되었다. 랫드의 뇨량 측정치의 개체 차이가 큰 이유 중에서 채뇨를 위하여 대사 케이지로 이동하는 것에 의하여 갑작스런 환경변화가 발생하고 그로 인한 스트레스로 뇨량이 감소할 수 있다 (Lee, 2000). 이러한 영향을 줄이기 위하여 본 연구에서는 뇨의 채취를 위하여 사용하고 있는 대사 케이지를 사용하지 않고 시험기간 중에 랫드를 사육하던 철망 케이지에 채뇨판을 부착하는 방법을 이용하여 갑작스런 환경변화를 제어하였다. 이러한 방법을 이용하여 다른 문헌 (Tanimoto, 1989)에서의 뇨량 측정치보다 개체간의 변동폭을 감소시키는 것이 가능하였다.

시험개시 4주째 실시한 혈액학적 검사결과 적혈구계항목 (RBC, HGB, HCT)과 적혈구 지수항목 (MCV, MCH, MCHC)의 표준편차는 평균치의 10% 미만으로 비교적 안정적이었으나, 응고계 검사항목 (PT, APTT, Fib)과 백혈구계 검사항목 (NEU, LYM, MONO, EOS, BASO)에서는 각

개체간 변동폭이 크게 확인되었다. 혈액검사는 채혈방법, 채혈부위, 측정방법 등의 영향을 받는 것으로 알려져 있다. 특히, 보존방법 및 보존기간에 따라 검사치의 영향이 인정되는 응고계 검사항목 (Hirata et al., 1979; Kim et al., 2000)은 측정치의 영향을 최소화하기 위하여 채혈 후 신속하게 원심분리하여 5시간 이내 검사를 실시하거나 당일 측정이 불가능한 경우 즉시 냉동상태로 보존하여 측정결과에 주는 영향을 최소화 할 수 있었다. 혈액학적 검사결과를 동일 주령의 측정결과 (Song et al., 1990; Kang et al., 1995; Kang et al., 2004)들과 유사한 경향을 나타내었다.

시험개시 4주째 실시한 혈액생화학적 검사결과 ALP와 TG에서 암수 성별에 의한 명확한 차이 (ALP: 수컷 (615.7 ± 121.9), 암컷 (354.1 ± 68.5)), (TG: 수컷 (43 ± 17), 암컷 (16 ± 6))가 인정되었으며, 이러한 차이는 동일 주령의 다른 보고 (Song et al., 1994; Kang et al., 1995; Kang et al., 2004)에서도 유사한 경향을 나타내었다. 혈액생화학적 검사는 검체처리, 채혈방법, 채혈부위, 마취제 및 검체종류 등의 변동요인에 따른 측정치의 영향을 많이 받는 것이 알려져 있다 (Toshihiro et al., 1978; Mariko et al., 2001). 본 연구에서는 채혈 후 경과시간에 따른 당 분해의 영향으로 측정항목 glucose의 측정치가 감소하는 것을 방지하기 위하여 채혈 후 1시간 이내 원심분리하여 측정치에 주는 영향을 최소화하였으며 glucose의 측정결과는 보고된 문헌 (Tanimoto, 1989)과 비교하여 측정치의 변동폭을 감소시키는 것이 가능하였다. 그 외, 다른 검사항목의 경우 측정치의 차이는 명확하였으나 경향은 유사하여 측정방법에 의한 것으로 판단된다 (Song et al., 1990; Oh et al., 2001; Kang et al., 2004).

시험개시 4주째 실시한 장기중량의 측정결과 암수 동일 장기의 변동폭은 10% 이상 20% 미만으로 암수 모두 유사한 변동폭을 확인할 수 있었다. 단, 암컷 자궁의 경우 표준편차가 30% 이상으로 각 개체간의 차이가 크게 확인되었으며, 이러한 차이는 성주기에 따른 영향으로 판단된다. 이러한 장기중량의 측정결과는 동일 주령의 다른 보고 (Song et al., 1990; Kang et al., 2004)와 유사한 경향을 나타내었다.

본 연구에서 사용한 모든 실험방법은 실험결과에 영향을 줄 수 있는 변동요인을 최소화하기 위하여 (주)바이오톡스텍의 SOP를 준수하여 실시하는 것으로 변동요인을 최소화 할 수 있었다. 향후, 실험에 임하는 시험자는 신뢰성 높은 자료를 얻을 수 있도록 SOP를 준수하여 시험

결과의 변동폭을 최소화 하는 등의 노력이 필요하다고 생각된다.

본 연구는 독성시험 및 약효시험에서 이용되고 있는 CrI:CD (SD) 랫드의 배경자료를 제시하여 연구자가 시험물질에 의한 영향 평가를 위한 자료로 도움이 되고자 실시하였다. 물론 본 연구결과를 다른 기관에서 실시한 자료와 직접적인 비교를 하는 것은 실험방법, 측정방법에 의한 차이로 어려움이 있다고 판단된다. 하지만, 유사한 환경에서 실시한 기존 연구에서의 CrI:CD (SD) 랫드의 비교결과 유사한 경향을 나타냈기 때문에 CrI:CD (SD) 랫드를 이용한 독성시험 및 약효시험 등의 배경자료로서 유용하게 사용할 수 있을 거라 생각된다. 본 연구결과는 CrI:CD (SD) 랫드에 대한 체중, 사료섭취량, 혈액학적 검사, 혈액생화학적 검사 및 장기중량에 대한 결과를 정리한 자료로서 각 검사항목별 변동폭, 참고치 등을 확인할 수 있었다. 이러한 자료는 향후 독성시험 및 약리시험 등에서 시험물질에 의한 영향을 판단하는데 배경자료로서 도움이 될 수 있을 것으로 판단된다.

REFERENCES

- Cho JH, Jeong SH, Ku HO, Kang HG, Park JM, Yun HI, Lee YS. Improved Novel Method of Blood Sample Collection via Jugular Vein in Unanesthetized Rats. *Korean Lab Anim Res.* 1997. 13: 117-120.
- Hayes AW. *Principles and Methods of Toxicology*, 4th ed. 2001; 1032-1033. CRC/Taylor & Francis.
- Hamamura M, Hirose A, Kamata E, Katoku K, Kuwasaki E, Oshikata T, Nakahara Y, Ema M, Hasegawa R. Semi-quantitative Immunohistochemical Analysis of Male Rat-Specific $\alpha_2\mu$ -Globulin Accumulation for Chemical Toxicity Evaluation. *J Toxicol Sci.* 2006. 31: 35-47.
- Ha CS, Son HY, Kang BH, Cha SW, Park JI, Han SS. A Study of Hematology and Serum Chemistry in Beagle Dogs. *Lab Anim Res.* 1995. 11: 151-158.
- Hirata M, Nomura G, Tanimoto Y. Stability of Serum Components in Monkey, Dog and Rat. *Exp Anim.* 1979. 28: 401-404.
- Hisaharu Y. Evaluation methods for nephrotoxicity. *Folia Pharmacol. Jpn.* 2009. 133: 154-157.
- Kang BH, Kim IH, Kim YB, Kim YH, Lee HS, Ha CS. Reference Values of Organ Weights in Sprague-Dawley Rats. *Korean J Vet Pathol.* 2001. 5: 39-42.
- Kang BH, Kim YB, Lee HS, Kim YH, Im WJ, Ha CS. Background

- Data on Hematology, Blood Chemistry and Organ Weights for 2 Weeks and 4 Weeks Repeated-Dose Toxicity Studies Using Sprague-Dawley (SD) Rats. *Lab Anim Res.* 2004. 20: 134-140.
- Kang BH, Son HY, Ha CS, Lee HS, Song SW. Reference Values of Hematology and serum Chemistry in Ktc: Spargue-Dawley Rats. *Lab Anim Res.* 1995. 11: 141-145.
- Kim JS, Hwang SY, Chu SK, Kim IT. The Effects of Time and Temperature Variables on PT and aPTT Test of Stored Plasma and Whole Blood. *J Clin Pathol Exam Sci.* 2000. 32: 40-47.
- Lee YS. *Introduction to Experimental Animal.* 2000. pp. 94-96. Sharon. Seoul, Korea.
- Mariko H, Mamoru N, Masayuki Y. *Clinical Chemistry of the Animal. Influence Factors to Be Considered on Establishment of the Reference Data of ALT, AST and ALP in Rats.* *Japanese Journal of Clinical Chemistry.* 2001. 30: 142-152.
- Oh SH, Do SG, Won MH, Lee JY, Kang TC, Oh YS, Suh JG. Reference Values of body weight, blood pressure, hematology and serum biochemistry in the Sprague-Dawley (SD) rats from 24 to 30 months. *Lab Anim Res.* 2001. 17: 275-282.
- Song CW, Cho KH, Han HS, Han SS. The Effects of Fasting Time on Hematological and Blood Biochemical Parameters in SD Rats. *Lab Anim Res.* 1994. 10: 73-80.
- Song CW, Hwang HS, Han SS. Studies on the Basic data of Ktc: SD Rats with Age-Body Weight, Hematology, Serum Chemistry and Urinalysis. *Lab Anim Res.* 1990. 6: 33-43.
- Swenberg JA. α_{2u} -Globulin Nephropathy: Review of the Cellular and Molecular Mechanisms Involved and Their Implications for Human Risk Assessment. 1993; 6: 39-44. *Environ Health Perspect*
- Tanimoto Y. *Biological Reference Data Book On Experimental Animals.* 1989. 95-149 Softscience Co. Tokyo, Japan
- Toshihiro E, Masakazu T, Sumi N. Comparative Studies on Lactate Dehydrogenase in Serum and Plasma of Rats. *Exp Anim.* 1978. 27: 167-175.
- Yamada H. Evaluation Methods for Nephrotoxicity. *Folia Pharmacol Jap.* 2009. 133: 154-157.