

항암화학요법에 의하여 골수억제가 수반된 진행암환자에서 Recombinant Human Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factor (rh GM-CSF, LBD-005)의 제 1b상 및 약동태학 연구

연세대학교 의과대학 내과학교실, 연세암센터¹
인하대학교 의과대학 약리학교실, 럭키 바이오텍 연구소⁴

노재경^{1,2} · 최진혁^{1,2} · 노형근³ · 라선영^{1,2} · 이경희^{1,2}
이혜란^{1,2} · 김범수⁴ · 한지숙¹ · 김병수²

= Abstract =

Phase Ib Clinical Trial and Pharmacokinetic Evaluation of Recombinant Human Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factor(rh GM-CSF, LBD-005) in Advanced Cancer Patients with Chemotherapy Induced Myelosuppression

Jae Kyung Roh^{1,2}, Jin Hyuk Choi^{1,2}, Hyung Keun Roh³, Sun Young Rha^{1,2}, Kyoung Hee Lee^{1,2},
Hea Ran Lee^{1,2}, Bum Soo Kim⁴, Jee Sook Hahn² and Byung Soo Kim¹

Division of Oncology, Yonsei Cancer Center¹

Department of Internal Medicine, Yonsei University College of Medicine²,

Department of Pharmacology, Inha University, College of Medicine³

Lucky Biotech Institute⁴, Seoul, Korea

To define the clinical safeties and hematologic effects of subcutaneously administered yeast-derived recombinant human granulocyte-macrophage colony stimulating factor(rh GM-CSF, LBD-005), and to determine the maximally tolerated dose(MTD) and the pharmacokinetics.

Single arm open non-randomized phase Ib study was carried in 15 cancer patients(14 patients evaluable) with chemotherapy induced bone marrow depression. Rh GM-CSF by once-daily subcutaneous administration to groups of 3~6 patients at doses of 50, 100, 150, 250, 350, 500, 700 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{d}$ for 10 consecutive days was escalated unless greater than WHO grade III toxicities were observed. Inpatient dose escalation was permitted. Clinical safeties and toxicities were observed with frequent hematologic monitoring. Blood and urine were collected on day 1, and 8 of rh GM-CSF administration to evaluate the pharmacokinetic parameters.

Of the 15 enrolled patients, 14 patients were evaluable. Male to female ratio was 8:6 with median age 32 y-o(10~70 y-o). Seven patients had osteosarcoma, 2 malignant lymphoma, 2 gastric carcinoma, 2 lung cancer and 1 had uterine leiomyosarcoma. The total administered cycles

*본 연구 내용의 요지는 1993년 제 19회 대한암학회 학술대회, 1993년 11th Asian Pacific Cancer Conference에서 구연발표 하였음.

of rh GM-CSF were 24. At each dose step, 3 patients were treated with exception of 6 patients at 500 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{d}$ dose. At all the doses administered, fever and flue-like syndrome were common side effects. Grade I fever and flue-like syndrome 50~150 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ dose, and grade II fever flue-like syndrome were observed at the dose of grater than 250 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{d}$ dose. Even at the 700 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{d}$ dose, no greater than grade III toxicities were observed. Leucocytosis were dose dependent with 120~480% increment of baseline.

Pharmacokinetic parameters are as follows:

C_{max} were dose dependent(0.42~11.7 ng/ml) with 2~4 hours of T_{max} . AUC were also dose dependent(3.93~87.9 ng.hr/ml) with sustained serum levels(0.2~2 ng/ml) up to 12 hours after rh GM-CSF administration. Urinary excretion(0~24 hours) after GM-CSF was less than 1% of administered dose.

Yeast-derived rh GM-CSF induces leucocytosis in the dose range of 150~500 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{d}$ with tolerable side effects. Subcutaneously administered rh GM-CSF has sustained serum levels up to 12 hours after administration. The doses of 150~500 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{d}$ would be appropriated for the further trials.

Key Words: Cancer patients, Myelosuppression, rhGM-CSF, Pharmacokinetics

서 론

항암화학요법의 발달로 악성임파종, 백혈병, 용모암 등은 진행된 경우에서도 완치가 가능하고, 소세포폐암, 유방암, 두경부 상피세포암 및 위선암 등에서도 병용항암화학요법에 의한 항암효과가 확인되고 있으나, 특히 고용량 항암화학요법 후의 가장 흔한 문제점은 골수억제에 의한 백혈구 및 혈소판 감소증이다. 혈소판 감소에 의한 출혈성은 혈소판 분획수혈에 의하여 예방 및 치료에 상당한 성과를 거두고 있으나, 백혈구 감소는 백혈구 분획수혈에 의한 예방치료효과가 미미하여 백혈구 감소에 의한 균혈증이 항암화학요법의 가장 중요하며 심한 부작용이다.

최근 유전자 재조합에 의하여 recombinant human granulocyte-macrophage colony stimulating factor(rh GM-CSF) 및 recombinant human granulocyte colony stimulating factor(rh G-CSF)등이 합성되어 백혈구 증식에 효과적이라고 보고되고 있다¹⁾.

이 중 GM-CSF는 조혈모세포 증식에 필수적인 당단백의 일종으로, 조혈모세포 증식 작용외에 성숙 과립구, 호산구 및 대식세포의 기증을 강화한다고 알려져 있다. 인간 GM-CSF는 Gasson²⁾에 의하여 최초로 분리된 후, Wong^{3,4)}이 포유동물세포(Cos

cell)에서 유전자 조작을 이용하여 재조합 인형(recombinant human) GM-CSF를 제조하게 되었다. rh GM-CSF는 E. coli, yeast, 및 Cos cell을 이용하여 재조합하고 있으며, 각기 glycosylation 여부 및 역가의 차이가 있으나 in vitro 및 in vivo 생물학적 활성에는 큰 차이가 없는 것으로 보고되고 있다^{5~8)}.

국내에서 개발된 rh GM-CSF(LBD-005), (Lucky Biotech Institute, Korea)도 전임상 연구결과 안전성과 독성이 확인되고 골수 조혈모세포 증식효과가 확인되어, 항암화학요법후 흔히 발생하는 중성구 감소증의 예방 및 조절효과 및 재생불량성 빈혈, 골수 이형성 중후군(myelodysplastic syndrome), 골수 이식수 골수기능 조기회복에 효과를 기대할 수 있을 것으로 사료된다^{9~13)}.

이에 연구자들은 진행 암환자를 대상으로 항암화학요법후 rh GM-CSF를 단계적으로 증량 투여하는 후기상 임상연구를 시행하였다.

본 연구의 목적은 유전자 재조합 GM-CSF를 진행 암 환자에서 항암화학요법제 투여 후 각 환자마다 단계적으로 증량 투여하여,

- 1) 용량에 따른 rh GM-CSF의 부작용을 평가하고
- 2) 용량에 따른 혈액소견에 미치는 영향을 평가하여,
- 3) 최대내량(maximally tolerated dose, MTD)

을 결정하며, 제2상 시험에 사용될 수 있는 권장량 (recommended dose, BAD, biologically active dose)을 결정하려 하였고,

4) 피하주사된 rh GM-CSF의 약동태를 연구하였다.

연구대상 및 방법

1) 연구대상

1992년 7월부터 1993년 2월까지 연세대학교 의과대학 세브란스병원, 연세암센터에 내원한 진행암 환자 중 비교적 심한 골수억제가 예상되는 항암화학요법을 시행 예정인 환자를 대상으로 하였다. 연구 적합 기준은 병리조직학적으로 악성종양을 진단 받은 환자 중 의과적 절제가 불가능한 진행암, 재발암 또는 전이암을 가진 환자를 대상으로, 연령은 10~70세, 환자의 수행 상태는 ECOG(Eastern Cooperative Oncology Group)기준 0~2, 최소 기대수명은 8주 이상이며, 본 연구시행 3주 이내에 항암화학요법이나 방사선요법을 시행받은 적이 없어야 되었다. 적절한 골수기능(백혈구 $3,000/\text{mm}^3$ 이상, 혈소판 $100,000/\text{mm}^3$ 이상, 혈색소치 10.0 gm/dl), 간기능(SGOT, SGPT 및 총 bilirubin; 정상치의 1.5배 이하) 및 신장기능(BUN, creatinine; 정상치의 1.5배 이하)를 가지며 환자 자신 또는 친권자 자의에 의하여 연구 참여동의서에 서명한 환자를 대상으로 하였다. 본 연구 계획서는 보건사회부 임상시험기준에 부합되었으며, 연세의료원 임상시험 심사위원회의 승락을 얻어 본 연구를 시행하였다

2) rh GM-CSF

rh GM-CSF(LBD-005)는 럭키 바이오텍연구소에서 임상시험용으로 공급하였다. rh GM-CSF는 yeast(*Saccharomyces cerevisiae*)를 이용하여 생산된 glycosylation이 된 제조합 GM-CSF로 127개의 아미노산으로 구성되어 있으며, 분자량은 14.5~15.5 Kd, 역가는 $5 \times 10^7 \text{ units/mg protein}$ 이상이었다⁴⁾. 시험약은 동결건조 진공포장 상태로 용액과 같이 공급되었으며, 보관은 광선이 차단된 상태에서 4°C 냉장보관하여, 임상시험시 첨부용액으로 rh GM-CSF 용해후 2시간 이내 사용하였다.

3) 연구방법

(1) 치료 계획: 본 연구는 rh GM-CSF의 안전성, 독성, 말초백혈구 증식효과 및 약동태를 평가하기 위한 후기 1상 연구로써 개방, 비무작위 시험으로 시행하였다.

최소 시작용량에서부터 modified Fibonacchi scale을 기초로 단계적 증량을 시도하였다(15). 각 용량당 최소 3예의 환자를 예정하였다. 임상시험 적합성 판정은 상세한 병력, 이학적 검진, 임상병리검사, 방사선학적 검사등 증례보고서에서 요구하는 사항들을 시험개시 2주 이내에 시행하여 판정하였다. 환자병력, 이학적 검사, 수행상태(ECOG), 체중 및 신장, 흉부 X-선, EKG, complete blood count, SMA 12, serum electrolyte, PT/PTT, 소변검사 등을 시행하고, 종양측정(optional)을 시행하였다. 임상시험중 말초 혈액 검사는 2일 간격으로 시행하고 백혈구가 $3000/\text{mm}^3$ 미만으로 떨어질 경우는 $3000/\text{mm}^3$ 이상으로 회복될 때까지 매일 시행하였다.

동일환자내에서 용량의 변화에 대한 독성, 백혈구 증식효과 및 약동태의 변화를 관찰하기 위하여 재 치료 시 다음 용량으로의 증량을 허용하였다.

rh GM-CSF는 $50 \text{ ug/m}^2/\text{d}$, $100 \text{ ug/m}^2/\text{d}$, $150 \text{ ug/m}^2/\text{d}$, $250 \text{ ug/m}^2/\text{d}$, $350 \text{ ug/m}^2/\text{d}$, $500 \text{ ug/m}^2/\text{d}$, $700 \text{ ug/m}^2/\text{d}$ 용량으로 단계별로 증량하여 시행하며, 대상환자에 계획된 화학요법 시행후 익일부터 매일 10일동안 동일용량을 피하주사 하였다. 말초혈액의 변화를 관찰하기 위하여 매일 rh GM-CSF투여직 전 말초혈액 검사를 시행하였다.

rh GM-CSF 투여에 따른 부작용의 평가는 임상연구기간 계속 시행하였으며 평가는 WHO독성기준에 의하여 grade I에서 IV까지로 분류하였고, rh GM-CSF투여와의 연관성은 A; almost certainly, B; probably, C; possibly, D; unlikely, E; unrelated로 구분하여 증례기록부에 기록하였으며, A, B, C의 부작용을 rh GM-CSF투여에 따른 부작용으로 평가하였다. WHO기준 grade III의 독성이 관찰될 때는 독성이 grade 0 또는 치료 개시 전으로 회복될때까지 치료를 연기하였다. 회복후 치료는 전치료 용량으로 시작하고, 독성이 2주 이상까지도 회복이 되지 않으면, 치료를 중단하였다. grade III 이상의 신경독성이

관찰되면 치료를 중단하였다. 3명의 환자 모두에서 grade III 이상의 독성이 관찰되지 않으면, 다음 용량으로 증량하여 연구를 계속하였다. 3명중 1명에서라도 grade III 이상의 독성이 관찰되면, 6명까지 동일용량으로 연구를 계속하고 이중 2명 이상에서 grade III 이상의 독성이 관찰되면 본 연구를 종료하고, 이 용량을 최대내량(Maximally Tolerated Dose, MTD)으로 정의하였다.

각 대상환자마다 현저한 진행 병변, 수용할 수 없는 독성이 관찰되거나, 대상환자가 더 이상의 임상연구를 거부할 경우 rh GM-CSF 투여를 종료하였다.

rh GM-CSF 투여, 제 1, 8일 약동학 연구를 시행하였으며, 치료 시작전, 종료 후 및 치료종료 2주후 중화항체 형성 여부를 측정하였다.

(2) rh GM-CSF 약동학 연구: 약동학 연구는 50 ug/m² 용량 3예, 100 ug/m² 3예, 150 ug/m² 3예, 250 ug/m² 3예, 350 ug/m² 3예, 그리고 500 ug/m² 6예에서 시행되었다.

약동학 연구는 rh GM-CSF 투여 제 1일과 제 8일에 시행하였으며 혈액은 rh GM-CSF 투여 제 1일에는 0, 1, 2, 4, 8, 12, 24시간, 투여 제 8일에는 0, 2, 4, 8, 24시간후 채혈하였다. 소변은 제 1일에는 0~4, 4~8, 8~12, 12~24시간, 제 8일에는 0~4, 4~8, 8~12, 그리고 12~24시간에 채취하였다. 혈액은 채혈 후 30분 이내 원심분리한 혈청을, 소변은 배설량을 기록하고 동일 시간대의 소변을 잘 혼합 후 원심분리된 10~20 ml의 소변을 -70°C에서 보관하였다.

① Sandwich ELISA 방법에 의한 혈청 및 소변내 rh GM-CSF 측정: 혈청 및 소변내 rh GM-CSF는 polyclonal antibody(PAb)와 HRP(horse radish peroxidase) conjugated monoclonal antibody(MAb)를 이용하는 sandwich ELISA 분석법에 의하여 측정하였다¹⁶⁻¹⁸⁾.

PAb는 가토(New Zealand white rabbit)를 이용하여 만든 후, ammonium sulfate를 이용하여 침전시킨후 Protein-A chromatography(Pierce, IL)를 이용하여 정제하였다.

MAb는 rh GM-CSF로 면역된 Balb/c mice의 비장세포와 P3X63 Ag 8.653 mouse myeloma cell에 PEG 1450(Eastman Kodak, NY)를 융합제로 이용하여 생산하였다¹⁶⁾. Hybrid를 limit dilution으

로 선별한 후 DAE chromatography를 이용하여 정제한 후 HRP로 conjugation하였다¹⁷⁾.

ELISA 측정방법은 다음과 같았다. Microtiter plates(Nunc, Denmark)에 10 mM carbonate buffer에 희석된 10 µl의 PAb를 37°C에서 2시간 동안 coating하였다. Plate를 증류수로 씻어낸 후 비특이 결합부위를 ELISA 완충액(PBS with 1% BSA + 0.05% Tween-20)으로 2시간동안 실온에서 배양하여 차단하였다. 다시 증류수로 씻어낸 후 50 µl의 standard rh GM-CSF 또는 시료와 50 µl의 ELISA 완충액을 넣은 후 4°C에서 밤새 배양하였다. Plate를 세척완충액(PBS + 0.05% Tween-20)으로 씻어내고 MAb-HRP를 첨가후 37°C에서 2시간동안 배양하였다. 그 후 완충액을 이용하여 다시 씻어냈다.

Peroxidase활성도는 well당 100 µl의 기질용액(1.5 mg o-phenylenediamine/ml of 50 mM citrate buffer, PH 5.0 containing 0.3% H₂O₂)를 넣고 어두운데서 15분간 배양한 후 100 µl의 1N H₂SO₄를 첨가하여 반응을 정지시켰다. 시료의 흡광도를 ELISA reader (Dynatech, VA)를 이용하여 492 nm에서 측정하였다.

Background 흡광도는 BSA(0.1% wt/vol)을 포함하는 PBS를 이용하여 최소 6개의 well에서 측정하여 결정하여 그 평균을 모든 결과에서 감하였다. 평균 background 흡광도는 0.019였으며, 본 측정의 한계는 0.1 ng/ml 농도의 rh GM-CSF의 O.D. 0.017이었고 20ng/ml의 O.D는 2.309로 0.1ng/ml에

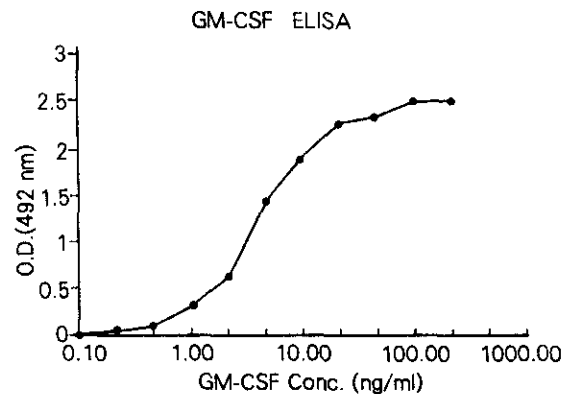


Fig. 1. Standard curve of rh GM-CSF in serum and urine measured by ELISA.

서 20ng/ml의 농도에서 상관관계를 관찰할 수 있었다(Fig. 1).

시료의 분석은 각 시료당 3회 시험하여 그 평균치를 이용하였다. 각 용량의 결과는 최소 3예의 평균을 이용하였다.

② 약동학 결과 분석; Sandwich ELISA방법에 의하여 측정된 rh GM-CSF의 혈청내 농도와 소변 배설에 대한 약동학적 parameter는 시간의 변화에 따른 혈청 rh GM-CSF농도를 비선형 최소제곱법을 이용한 two compartment model에 적용하여 TOFIT(Godeck-Schering-Thomae, 1991)으로 계산하였다.

AUC(o-t)(area under the curve)는 투여 직후부터 마지막 측정된 혈청농도까지를 trapezoidal rule을 이용하여 계산하였고, AUC(O-∞)는 다음식을 이용하여 외삽법으로 구하였다. $AUC(t-\infty)Ct/\lambda_z$. 이때 λ_z 는 terminal elimination rate이었다. Terminal half life: $T_{1/2} = 0.693/\lambda_z$, Total clearance: $CL_{tot} = Dose/AUC$, Volume of distribution: $V_z = CL/\lambda_z = Dose/\lambda_z * AUC$ 이었다.

Renal clearance는 시간에 따른 혈청 및 소변의 rh GM-CSF농도를 이용하여 다음 식으로 구하였다. $CL_{ren} = Ae/AUC$. 이때 Ae는 소변으로 배설된 약물의 총량을 의미하였다.

Mean residence time은 다음식을 이용하여 구하였다. $MRT = AUMC/AUC$. 이때 AUMC는 total area under the first moment curve이었다.

(3) rh GM-CSF 중화 항체 형성 검사: rh GM-CSF에 대한 항체형성 여부는 rh GM-CSF 투여전, 투여시작 10일 후 및 GM-CSF 투여 종료 2주후 총 3회 측정하였다. rh GM-CSF를 microtiter plate (Nunc, Demnark)에 coating한 후 시료(혈청, 소변)를 37°C 2시간 배양한 후 HRP(horse radish peroxidase)가 부착된 second antibody(Anti-human IgG-HRP)로 중화항체를 검출하였다. Negative control은 정상인의 혈청 및 소변을, 그리고 positive control은 쥐에서 형성한 anti-human IgG-HRP monoclonal antibody를 100, 1,000, 10,000배 희석하여 사용하였다.

결 과

본 연구는 rh GM-CSF의 안정성, 독성, 말초백혈구 증식효과 및 최대내량을 결정하고 약동학을 위한 개방 후기 1상 시험으로 시행되었다. 대상환자는 15예로 14예에서 평가가능하였다(Table 1). 평가가 불가능하였던 1예의 환자는 rh GM-CSF 150 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{d}$ 용량의 3일 투여받고 자의로 중단하였다. 평가 가능하였던 남자:여자비는 8:6, 연령은 10~70세로 중앙연령은 32세이었다. 대상 질환은 골육종 7예, 악성임파종 2예, 위선암 2예, 폐암 2암, 그리고 자궁 평활근육종 1예이었다. ECOG수행상태는 0~2(중앙값: 0)이었고 본 연구 참여전 항암화학요법을 시행받은 과거력이 있는 환자는 5예, 없는 환자는 9예이었다. Rh GM-CSF투여전 시행된 화학요법은 골육종의 경우; cisplatin 120 $\text{mg}/\text{m}^2/\text{d}$ 1 IA infusion + doxorubicin 20~30 $\text{mg}/\text{m}^2/\text{d}$ d 1~3 continuous IV infusion, 악성임파종; doxorubicin 40~50 mg/m^2 iV + vincristine 1.2 mg/m^2 IV + cyclophosphamide 500 mg/m^2 IV + methotrexate 200 mg/m^2 IV with leucovorine rescue + prednisolone 60 mg/m^2 PO for 10days, 위암; doxorubicin 40 mg/m^2 IV + 5-U 1.0 $\text{gm}/\text{m}^2/\text{d}$ d 1~3 continuous IV infusion + (cisplatin 80~100 mg/m^2 IV + VP-16 120 $\text{mg}/\text{m}^2/\text{d}$ d 1-3 IV). or mitomycin-C 10 mg/m^2 IV, 폐암; VP-16 120 $\text{mg}/\text{m}^2/\text{d}$ d 1-3 IV, + cisplatin 80 mg/m^2 IV \pm 5-FU 1.0 $\text{gm}/\text{m}^2/\text{d}$ d 1-3 continuous IV infusion, 자궁평활근육종; doxorubicin 40 mg/m^2 IV + DTIC 250 $\text{mg}/\text{m}^2/\text{d}$ d 1-5 IV로 비교적 심한 골수억제가 예상되는 병용요법을 시행하였다.

Rh GM-CSF를 투여한 주기는 1주기 투여 7예, 2주기 5예이었고 3주기와 4주기는 각각 1예로 총 24주기에서 GM-CSF의 안전성 및 작용에 대한 평가가 가능하였다.

Rh GM-CSF의 용량별 투여환자는 50 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{d}$ 용량 3예, 100 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{d}$ 3예, 150 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{d}$ 4예, (평가가 가능 3예, 1예는 rh GM-CSF투여 제 2일 후 자의에 의하여 사퇴), 250 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{d}$, 3예, 350 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{d}$ 3예, 500 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{d}$ 6예, 그리고 700 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{d}$ 3예이었다.

Table 1. Patient characteristics

No	Age/Sex	Diagnosis	History of previous chemotherapy	Chemotherapy prior to GM-CSF	Dose of GM-CSF ($\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{d}$)
1	M/70	stomach cancer with liver metastasis	No	5-FU+ADR+MMC	50
2	M/58	small cell lung cancer (limited stage)	No	VP-16+DDP	50,100
3	M/54	non-small cell lung cancer	No	5-FU+VP-16+DDP	50
4	F/45	leiomyosarcoma of uterus with lung mets	No	ADR+DTIC	100
5	M/13	osteosarcoma	ADR+DDP	ADR+DDP	100, 500
6	F/16	osteosarcoma	ADR+DDP	ADR+DDP	150, 350
7	M/58	stomach cancer with liver metastasis	VP-16+5-FU+ADR+DDP	VP-16+5-FU+ADR+DDP	150
8	M/32	malignant lymphoma (diffuse large cell type)	No	ADR+VCR+CTX+MTX+Ble+P-1	150
9	F/33	osteosarcoma	No	ADR+DDP	250, 350, 500
10	F/21	malignant lymphoma (diffuse large cell type)	CTX+ADR+VCR+Ble+MTX P-1	VP-16+ADR+MTX+Ble+P-1	250, 350
11	F/12	Osteosarcoma	No	ADR+DDP	250, 500 500, 700
12	F/23	Osteosarcoma	ADR+DDP	ADR+DDP	500
13	M/10	Osteosarcoma	No	ADR+DDP	500, 700
14	M/32	Osteosarcoma	No	ADR+DDP	700

Abbreviations; ADR; adriamycin, VP-16; etoposide, DDP; cispatin, VCR; vincristine, CTX; cyclophosphamide, Ble; Bleomycin, P-1; prednisolone, 5-FU; 5-fluorouracil, DTIC; darcabazine

1) rh GM-CSF투여에 따른 부작용

연구된 rh GM-CSF 50~700 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{d}$ 10일 연속 피하주사에 따른 부작용은 Table 2와 같았다.

가장 낮은 용량인 50 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{d}$ 에서 rh GM-CSF투여에 따른 가능성 있는 부작용(possible 이상)은 grade I 발열이 3예중 2예에서, 전신쇠약 및 허약감 2예, 식욕부진이 2예에서 관찰 되었으나 grade II 이상의 부작용은 관찰되지 않았다. 2차 용량 100 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ 에서도 grade II(38.5°C)의 발열이 1예에서 관찰되었으나 다른 grade II이상의 부작용은 관찰되지 않았고

관찰된 가능성 있는 grade I의 부작용은 현취(1예), 전신쇠약감(1예), 식욕부진(1예), 간기능 장애(1예)등이었다. 3차 용량인 150 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ 용량에서는 grade I의 발열(3예), 흉부압박감(1예), 전신쇠약(2예), 현취(1예)가 있었고, 1예에서 grade II의 가역성 간기능 장애가 관찰되었다. 4차 용량인 250 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ 3예 중 3예에서 grade II의 발열이 관찰되었으나 다른 grade II이상의 부작용은 관찰되지 않았다. 5차 용량인 350 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ 3예 중 2예에서 grade II발열이 관찰되었으나 다른 grade II이상의 발열은 관찰되지 않았다. 6차 용량 500 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ 6예중 2예에서 grade II의 발열이 관

Table 2. Side effects associated with subcutaneously administered rh GM-CSF

	WHO toxicity criteria(grade)				% of incidence
	I/II/III/IV	I/II/III/IV	I/II/III/IV	I/II/III/IV	
	Doses of rh GM-CSF($\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{d}$)				
	50~150	250~350	500~700	All doses	
No of administered cycles	9	6	9	24	
Fever	7 1 0 0	1 5 0 0	3 5 0 0	10 11 0 0	92
Malaise, lethargy	5 0 0 0	4 0 0 0	5 0 0 0	14 0 0 0	64
Bone pain, arthralgia, Myalgia	1 0 0 0	4 0 0 0	2 0 0 0	7 0 0 0	32
Anorexia	3 0 0 0	3 0 0 0	1 0 0 0	7 0 0 0	32
Headache, dizziness	2 0 0 0	4 0 0 0	4 0 0 0	10 0 0 0	46
Chest tightness	1 0 0 0	3 0 0 0	9 0 0 0	13 0 0 0	59
Tachycardia					
Skin rash	0 0 0 0	3 0 0 0	1 0 0 0	4 0 0 0	18
Periorbital edema	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	1 0 0 0	5
Liver enzyme elevation	1 1 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	1 0 0 0	9
Hypocalcemia	0 0 0 0	0 0 0 0	5 0 0 0	5 0 0 0	23
First dose reaction	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0

찰되었으나 다른 부작용은 관찰되지 않았다. 7차 용량인 700 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ 3예중 3예에서 grade II발열이 관찰되었을 뿐 grade II이상의 다른 부작용은 관찰되지 않았다. 피부발적은 350 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ 이상 용량에서 발견되었으나 grade I이었고 가역적 이었다.

이상 시행된 50~700 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ 전 용량에서 grade III이상의 부작용은 관찰되지 않았고 250 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ 이상에서 grade II발열이 관찰되었으며, 전 용량에서 grade I의 전신쇠약, 식욕부진, 빈맥, 현휘, 관절통, 간기능장애가 관찰되었으나, 특별한 처치없이 정상으로 회복되었다. rh GM-CSF 정주 또는 연속 점적시 잘 발생된다고 보고되는 first dose reaction이나, pericardial effusion등은 관찰되지 않았다. 700 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ 용량에서도 grade III이상의 부작용은 관찰되지 않아, MTD에는 도달하지 못하였으나 rh GM-CSF가 생물학적 활성조절물질(biologic response modifier, BRM)인 점을 감안하여 더 이상의 증량을 시도하지 않았다.

2) rh GM-CSF 투여에 의한 말초혈액 소견 변화

항암화학요법후 rh GM-CSF 10일간 매일 투여시의 용량군별 백혈구 변화는 시행된 화학요법이 각 군마다 상이한 경우가 있어 직접 비교는 어려웠으나 골수억제가 심한 adriamycin을 주로 사용하였으므로 각 용량군 간의 총 백혈구치와 중성구치의 증가 및 감소와 감소기간을 상대적으로 비교하였다.

전체군의 각 용량군에서 총 백혈구치의 변화는 Fig. 2와 같았고, 중성구치의 변화는 Fig.3과 같았다. 각 용량군별 변화는 다음과 같았다.

3예에서 시행된 50 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ 용량군의 총 백혈구치와 중성구치는 각 항암요법 투여후 rh GM-CSF 투여전 기준치 8,633 \pm 3,516/ mm^3 , 7,773 \pm 3,675/ mm^3 , rh GM-CSF 투여시작후 최고치 10,366 \pm 5,143/ mm^3 , 9,259 \pm 4,980/ mm^3 으로 백혈구치 및 중성구치 증가율은 120.1%과 119.1%이었고, 최저치는 1733 \pm 751/ mm^3 , 441 \pm 125/ mm^3 으로 기준치대비율 20.1%, 5.7%로 감소하였다. 골수억제기간(백혈구 3,000/ mm^3 이

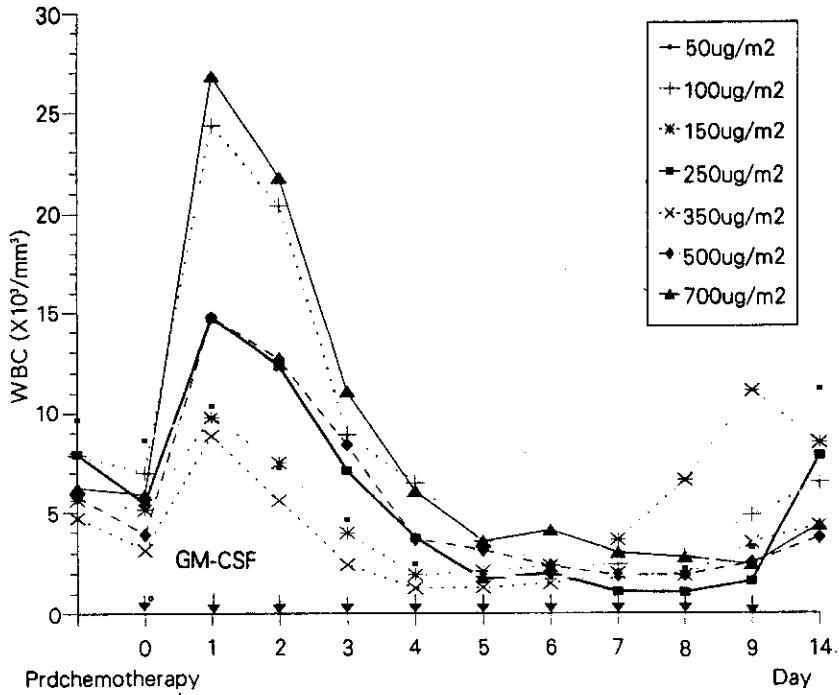


Fig. 2. Effects of rh GM-CSF on WBC counts in cancer patients treated with combination chemotherapy (Mean).

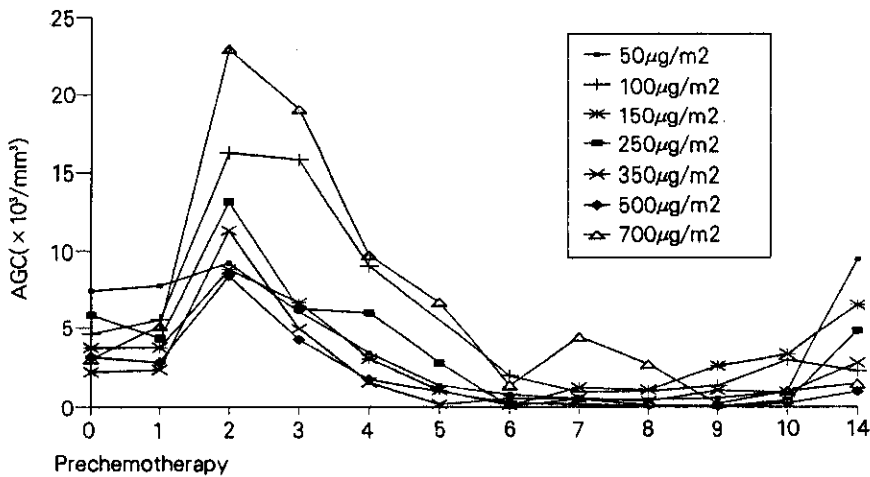


Fig. 3. Effects of rh GM-CSF on AGC(neutrophil) counts in cancer patients treated with combination chemotherapy. GM-CSF was administered S.Q. daily for 10 days.

하, 중성구치 $1,500/\text{mm}^3$ 이하)은 6 ± 1 일, 5.7 ± 1.5 일이었다.

3예에서 시행된 $100 \mu\text{g}/\text{m}^2$ 용량군의 총 백혈구치와 중성구치는 기준치 $7,000 \pm 3,515/\text{mm}^3$, $5,554 \pm 3,864/\text{mm}^3$, 최고치 $24,333 \pm 2,574/\text{mm}^3$, $22,743 \pm 25,731/\text{mm}^3$ 으로 증가율은 347.6% , 409.5% 이었다. 최저치는 $2,166 \pm 1,814/\text{mm}^3$, $898 \pm 1,404/\text{mm}^3$ 으로 각각 30.9% , 16.2% 로 감소하였다. 골수억제기간은 3.3 ± 3.3 일, 3.3 ± 3.3 일이었다.

3예에서 시행된 $150 \mu\text{g}/\text{m}^2$ 용량군의 총 백혈구치와 중성구치는 기준치 $5,133 \pm 3,515/\text{mm}^3$, $3,735 \pm 597/\text{mm}^3$, 최고치 $9,766 \pm 26,531/\text{mm}^3$, $8,856 \pm 2,777/\text{mm}^3$ 으로 증가율은 190.3% , 237.1% 이었다. 최저치는 $1,923 \pm 1,035/\text{mm}^3$, $607 \pm 593/\text{mm}^3$ 으로 각각 37.5% , 16.3% 로 감소하였다. 골수억제기간은 6 ± 5.3 일, 6.7 ± 4.2 일이었다.

3예에서 시행된 $250 \mu\text{g}/\text{m}^2$ 용량군의 총 백혈구치와 중성구치는 각각 기준치 $5,466 \pm 2,059/\text{mm}^3$, $4,312 \pm 1,839/\text{mm}^3$, 최고치 $15,367 \pm 9,739/\text{mm}^3$, $13,605 \pm 9,946/\text{mm}^3$ 으로 증가율은 281.1% , 315.5% 이었다.

최저치는 각각 $967 \pm 231/\text{mm}^3$, $35 \pm 27/\text{mm}^3$ 으로 17.7% , 0.8% 감소하였다. 골수억제기간은 각각 5.7 ± 1.5 일, 6 ± 0.8 일이었다.

3예에서 시행된 $350 \mu\text{g}/\text{m}^2$ 용량군의 총 백혈구치와 중성구치는 각각 기준치 $3,133 \pm 1,305/\text{mm}^3$, $2,363 \pm 1,549/\text{mm}^3$ 이었고, 최고치는 $8,900 \pm 7,767/\text{mm}^3$ 으로 증가율은 284.1% , 349.8% 이었다. 최저치는 각각 $1,200 \pm 435/\text{mm}^3$, $389 \pm 599/\text{mm}^3$ 으로 38.3% , 16.5% 로 감소하였다.

6예에서 시행된 $500 \mu\text{g}/\text{m}^2$ 용량군의 총 백혈구치와 중성구치는 각각 기준치 $3,867 \pm 1,095/\text{mm}^3$, $2,695 \pm 1,211/\text{mm}^3$ 이었고, 최고치는 $14,750 \pm 10,473/\text{mm}^3$, $13,515 \pm 88,261/\text{mm}^3$ 으로 증가율은 381.4% , 501.5% 이었다. 최저치는 각각 $146.7 \pm 1,444/\text{mm}^3$, $404 \pm 626/\text{mm}^3$ 으로 37.9% , 15.0% 로 감소하였다. 골수억제기간은 6.7 ± 4.0 일, 7.5 ± 4.0 일이었다.

3예에서 시행된 $700 \mu\text{g}/\text{m}^2$ 용량군의 총 백혈구치와 중성구치는 각각 기준치 $5,913 \pm 801/\text{mm}^3$, $5,114 \pm 810/\text{mm}^3$ 이었고, 최고치는 $28,500 \pm 14,570/\text{mm}^3$, $25,634 \pm 14,092/\text{mm}^3$ 으로 증가율은 482.0% , 501.3%

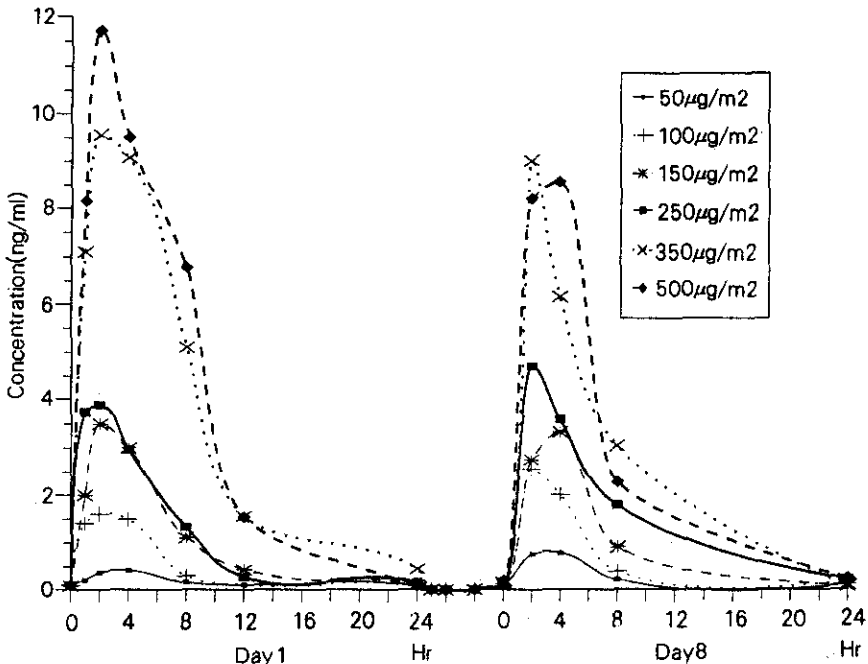


Fig. 4. Serum pharmacokinetics of rh GM-CSF (Day 1 & 8).

이었다. 최저치는 1,469±12,621/mm³, 365±304/mm³로 24.8%, 7.1%로 감소하였다.

총 백혈구치(중성구치)의 최대증가율은 시행된 50~700 µg/m²용량군에서 각각 120.1%(119.1%), 347.6%(409.5%), 190.3%(237.1%), 281.1%(315.5%), 284.1%(349.8%), 381.4%(501.5%), 그리고 482.0%(501.3%)로 50 µg/m²용량군을 제외하고는 현저한 총 백혈구치(중성구치)의 증가를 보여주었다. 그러나, 최저 백혈구치(중성구치)는 17.7~38.3%(0.8~16.5%)로 용량군에 따른 상관관계가 관찰되지 않았으며, 골수억제기간(총 백혈구 3,000/mm³이하, 중성구 1,500/mm³)도 백혈구 3.3±3.3일~6.7±4.0일, 중성구 3.3±3.3일~7.5±4.0일로 각 용량군 사이의 상호관계는 발견할 수 없었다.

각 용량군별 rh GM-CSF투여 후 혈색소 및 혈소판의 변화는 관찰되지 않았으며, prothrombin time, partial thrombin time의 특이한 변화도 관찰되지 않았다.

3) rh GM-CSF의 약동태

피하주사된 rh GM-CSF의 약동학 연구는 50, 100, 150, 250, 350 µg/m²용량에서 3예씩 그리고 500 µg/m²에서는 6예에서 제 1, 8일 시행되었다.

각 용량의 혈청 rh GM-CSF농도 및 소변 배설양상은 Fig. 4, 7과 같았고, pharmacokinetic parameter는 Table 3과 같았다.

rh GM-CSF피하 투여후 최대 혈청 농도는 2~4시간에 도달하였으며(Fig.4), 용량별 50, 100, 150, 250, 350 및 500 µg/m²의 최고농도는 각각 제 1일 0.42, 1.61, 3.5, 3.88, 9.56, 11.7 ng/m², 제 8일 0.79, 2.56, 3.33, 4.7, 9, 8.55 ng/m²의 농도로 용량이 증가함에 따라 혈청 rhGM-CSF 최고 농도의 증가됨이 관찰되었다(Fig. 5). 최대농도 도달시간(Tmax)는 용량과 무관하게 2~4시간 평균 2.67시간이었다.

Terminal half life는 각 용량별로 차이가 있었으나 평균 4.9시간, terminal elimination rate (Lamda)는 0.16/hr이었고, mean residence time

Table 3. Pharmacokinetic parameters of rh GM-CSF in humans after subcutaneous administration. Each value is mean of 3~6 patients

Parameters		Dose of GM-CSF(µg/m ² /d)						Average	Average (D1+D8)
		50	100	150	250	350	500		
C _{max} -D1	ng/ml	0.42	1.61	3.5	3.88	9.56	11.7		
C _{max} -D8	ng/ml	0.79	2.56	3.33	4.7	9	8.55		
T _{max} -D1	hr	4	2	2	2	2	2	2.33	2.67
T _{max} -D8	hr	4	2	4	2	2	4	3	
Lamda-D1	/hr	0.17	0.13	0.17	0.14	0.15	0.24	0.17	0.16
Lamda-D8	/hr	0.08	0.1	0.16	0.14	0.23	0.17	0.15	
T _{1/2} -D1	hr	4.14	5.4	4.21	4.87	4.6	2.84	4.34	4.90
T _{1/2} -D8	hr	8.97	7.14	4.35	5.05	3.05	4.13	5.45	
AUC ₍₀₋₂₄₎ -D1	ng.hr/ml	3.93	10.2	23.6	26	80.9	87.9		
AUC ₍₀₋₂₄₎ -D8	ng.hr/ml	6.63	15.5	22.4	35.3	54.5	58.4		
MRT ₍₀₋₂₄₎ -D1	hr	8.55	5.48	5.99	5.53	6.47	6.11	6.36	6.59
MRT ₍₀₋₂₄₎ -D8	hr	7.89	6.57	6.48	7	6.74	6.23	6.82	
CL _{total} -D1	ml/mln	208	157	104	155	69.9	94.4	131.39	121.42
CL _{total} -D8	ml/mln	104	96.7	109	113	106	140	111.45	
CL _{renal} -D1	ml/min	6.45	0.87	2.18	2.58	0.99	1.52	2.43	1.72
CL _{renal} -D8	ml/min	0.68	0.75	0.72	0.55	0.96	2.36	1.00	
V _Z -D1	L	74.5	73.4	37.8	65.4	27.8	23.3	50.37	50.91
V _Z -D8	L	80.6	59.8	40.9	49.4	28.1	49.9	51.45	

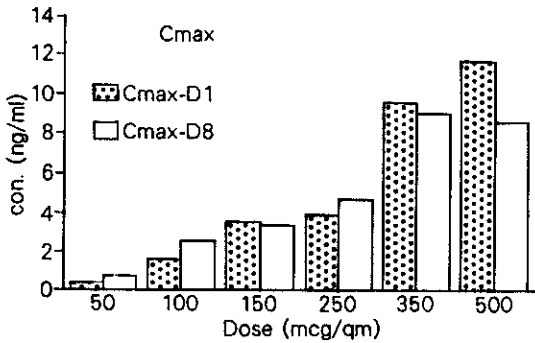


Fig. 5. Maximal concentration(Cmax) of subcutaneously administered rh GM-CSF.

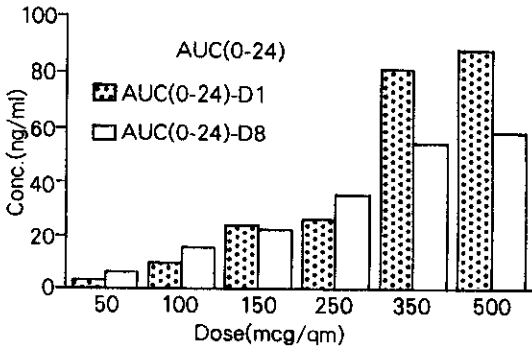


Fig. 6. Area under the curve(AUC) of subcutaneously administered rh GM-CSF

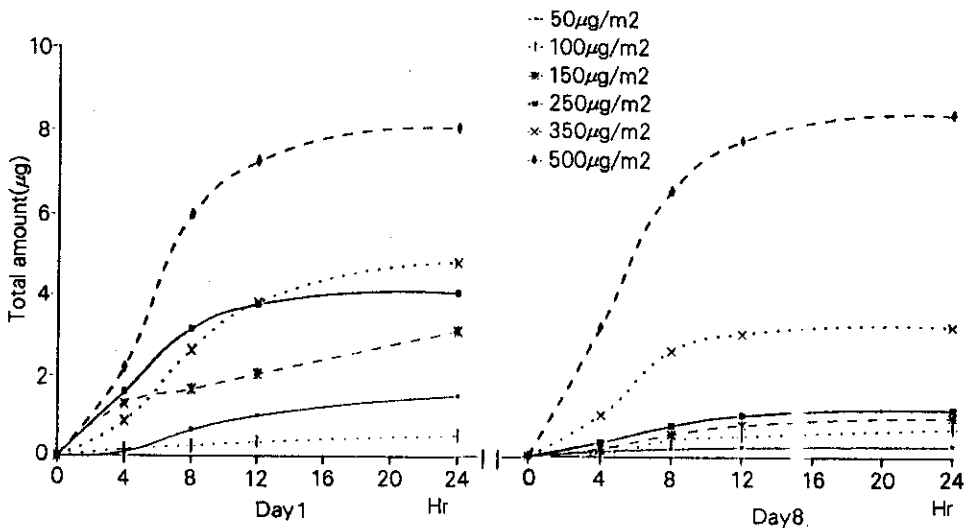


Fig. 7. Cumulative urinary excretion of rh GM-CSF (Day 1&8).

(MRT)은 6.59시간 이었다. AUC(area under the curve)는 각 용량별로 50, 100, 150, 250, 350, 500 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ 에서 각각 제 1일 3.93, 10.2, 23.6, 26, 80.9, 87.9 $\text{ng}\cdot\text{hr}/\text{ml}$, 제 8일에서는 6.63, 15.5, 22.4, 35.4, 54.5, 58.4 $\text{ng}\cdot\text{hr}/\text{ml}$ 로 용량의 증가에 따라 AUC의 증가를 보여주었다(Fig. 6).

간 신장을 비롯한 총 clearance는 121.4 ml/min 이 었으나 이중 신 clearance는 1.7 ml/min (CLrenal-D1 2.4 ml/min , CLrenal-D8 1.0 ml/min)으로 매우 낮았다(Fig 7).

Volume of distribution은 평균 50.9 L(Vz-D1 50.4 L, Vz-D8 51.5 L)이었다.

4) rh GM-CSF의 중화 항체

rh GM-CSF에 대한 중화항체는 rh GM-CSF투여 전, 투여 10일째, 투여 종료 2주후 3회 시행되었다. 24 주기의 rh GM-CSF투여 후 1예의 시료에서도 중화항체는 검출되지 않았다.

고 함

코로나 자극인자(colony stimulating factors, CSFs)는 glycoprotein계의 인자로 조혈세포계의 분화, 증식, 성숙 및 활성화를 조절한다고 알려져 있으며

최근 여러 조절계 성장인자들의 gene이 cloning되어 재조합형 단백질 생산 가능하게 되었다^{3,4,19~24}). 이중 사람 GM-CSF는 Gasson등²¹에 의하여 최초로 분리되어, Wong²³에 의하여 cloning되어 mammalian cell에서 표현가능하게 되었다. 사람 GM-CSF는 다양하게 glycosylation되어 분자량이 다양하나, rh GM-CSF의 활성도는 in vitro, in vivo실험상 glycosylation여부에 의한 차이는 거의 없는 것으로 보고되고 있다. 현재 rh GM-CSF는 E. coli, yeast 및 Cos cell을 이용하여 생산되고 있으며, E. coli 유래 GM-CSF의 역가는 1×10^8 units/mg protein, yeast GM-CSF $4 \sim 5 \times 10^7$ units/mg protein, 그리고 Cos cell GM-CSF 8×10^6 units/mg protein으로 알려져 있다²⁵).

본 연구에 이용된 yeast유래 rh GM-CSF(럭키(주)서울)은 glycosylation이 된 CSF로 127개의 아미노산으로 구성되어 있으며, 분자량은 14.5~15.5 Kd, 역가 5×10^7 units/mg protein이상이므로 다른 yeast 유래 GM-CSF와 비슷한 역가, 분자량을 가지고 있었다. In vitro 시험상 rh GM-CSF는 semi-solid agar plate에서 과립구, 단핵구 colony성장을 촉진하며, 조혈 모세포의 성숙을 촉진하였다¹²). 또한 rh GM-CSF는 성숙한 대식세포의 항 종양작용, 중성구 및 호산구의 식균작용을 촉진하고, intracellular killing, ADCC, superoxide 생성 및 complement-mediated phagocytosis등이 in vitro, in vitro검사상 증명되었다¹³).

럭키에서 개발된 rh GM-CSF의 임상연구는 이등²⁶)이 진행암 환자를 대상으로 rh GM-CSF단독 투여한 제 1상 연구를 시행하였고, 저자들은 진행암 환자에서 항암화학요법후 rh GM-CSF를 투여하는 후기 1상 연구를 시행하였다.

본 연구에서는 진행 암환자에서 항암화학요법 후 다음날부터 rh GM-CSF $50 \mu\text{g}/\text{m}^2/\text{d}$ (10일간 매일 피하주사)을 최저 용량으로 시작하여 100, 150, 250, 350, 500, $700 \mu\text{g}/\text{m}^2/\text{d}$ 용량까지 증량하였다. 피하주사로 시행된 본 연구에서의 부작용은 다른 연구들^{28~34})과 비슷하였으나 정주(IV bolus)나 점적(IV infusion)투여에 비하여 비교적 낮은 독성을 보여주었다. 시행된 $700 \mu\text{g}/\text{m}^2/\text{d}$ 용량에서도 grade III이상의 부작용은 없었으나 grade II의 발열감, 전신권태 및 쇠

약감, 식욕부진, 흉부압박감 및 심계항진 등이 나타났고 투여부위 피부발적, 현취, 및 경한 잔기능 장애가 관찰되었다.

주로 Non-glycosylated GM-CSF투여시 보고되는 골통(bone pain)은 본 연구에서도 관찰되었으나 grade II이상의 골통은 관찰되지 않았다. Leisceke등²⁹)이 $20 \sim 30 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{d}$ 용량을 non-glycosylated GM-CSF 정맥 투여시 관찰하였던 심낭 삼출(pericardial effusion)은 본 연구에서는 관찰되지 않았다.

Non-glycosylated GM-CSF 첫 투여후 flushing, 저혈압 및 일과성 저산소증을 수반하는 소위 "first dose reaction"³⁵)은 본 연구에서는 관찰되지 않았다. Glycosylated GM-CSF투여시의 가장 흔한 부작용은 발열, 전신쇠약감, 근육통, 등으로 보고되고 있으며^{27,34}) 본 연구에서도 grade I-II의 발열이 가장 흔하게 관찰 되었으며, 대부분 가역적이었으며 acetaminophen에 의해 잘 조절되었다.

총 백혈구수 및 중성구의 수가 다른 연구들^{26~35})과 비슷하게 rh GM-CSF의 양과 비례하여 증가하는 것으로 관찰 되었다. $500 \sim 700 \mu\text{g}/\text{m}^2/\text{d}$ 용량에서 380~480%의 총 백혈구치의 증가, 500%정도의 중성구치의 증가로 다른 용량에 비하여 높은 증가율을 보여주는 경향이였다. 그러나, 백혈구의 증가는 $100 \mu\text{g}/\text{m}^2/\text{d}$ 용량에서부터 시행된 최대용량인 $700 \mu\text{g}/\text{m}^2/\text{d}$ 용량에서까지 증가되었으나 $500 \mu\text{g}/\text{m}^2$ 이상에서는 증가양상이 둔화되었다. 비록 grade III이상의 독성은 관찰되지 않았으나, rh GM-CSF가 생물학적 활성조절제(biologic response modifier, BRM)임을 감안할 때 최대내량을 결정하기 위하여 $700 \mu\text{g}/\text{m}^2$ 이상을 투여하는 시도는 임상적으로 의의가 없을 것으로 판단되어 $700 \mu\text{g}/\text{m}^2$ 까지 임상시험을 시행하였다.

총 백혈구 및 중성구는 rh GM-CSF투여 1일 후부터 현저히 증가하여 3~4일 증가 추세가 계속되다가 항암화학요법에 의한 골수억제 소견에 의하여 백혈구 증가 추세가 감소되었으나 투여 10~14일째부터는 정상 소견으로 백혈구가 상승하였다. 대조군이 없는 1상 연구인 본 연구에서 확인할 수는 없으나 임상경험과 비교할때 백혈구 최저치와 골수억제 일 수의 감소가 시사된다 할 수 있었다.

Leisceke등³²)은 피하 주사된 rh GM-CSF(0.3~30

$\mu\text{g}/\text{kg}/\text{d}$ 10일)에 의해 중성구수는 0.2~10배 증가시켰으며, 용량 비례반응(dose-dependent response)은 0.1~1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{d}$ 에서 나타났고, 3~15 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{d}$ 용량에서는 plateau를 나타냈다고 보고 하였으나 최근 Steward등³⁶⁾과 Ajani등³⁷⁾은 250~500 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ 의 용량이 백혈구 감소를 억제 하는데 효과적이라고 보고한 점은 본 연구의 150~500 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{d}$ 용량의 백혈구 증가율과 유사하다고 믿어져, 본 연구에서 얻어진 결과에 의한 2상을 위한 BAD(biologically active dose)인 임상권장량은 150~500 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ 의 용량에서 용량과 효과에 대한 비교연구가 필요하다고 사료된다.

rh GM-CSF의 분석을 위한 ELISA 측정법은 0.1 ng/ml~20ng/ml의 농도에서는 재현성이 높아 혈청 및 소변의 rh GM-CSF농도 측정을 위한 신뢰할 만한 방법으로 사료되었다(Fig. 2). 피하 투여된 rh GM-CSF의 Tmax 2~4 hr, Cmax 0.42~15.4 ng/ml로 Cebon등^{38,39)}의 glycosylated GM-CSF pharmacokinetics와 유사하였으며, rh GM-CSF는 피하주사후 12시간후 까지도 검출되어 T 1/2(terminal half life)는 5.4hr에 해당하였다. 투여 용량별 혈청 최고농도(Cmax)와 생체 이용률(bioavailability)을 반영하는 AUC는 비교적 용량의 증가에 따라 비례하였으나, 고용량으로 갈수록 혈청농도의 증가율은 감소하는 경향을 보여주었다. 총 청소율(total clearance, CLtotal)에 비하여 신 청소율(renal clearance, CLrenal)은 매우 낮았다. 이는 rh GM-CSF가 투여 즉시 체내에서 분해되어 소변으로는 미량이 배출되는 것으로 소변내 rh GM-CSF의 측정은 임상적으로 의의를 갖기 어렵다 하겠다. 총 청소율과 volume of distribution은 Table 4와 같이 용량과는 무관하였다. 본 연구에서는 50~500 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{d}$ 용량의 rh GM-CSF 약동학 연구를 각 용량마다 최소 3예, 최대 6예에서 시행하였던 점은 다른 연구에 비하여 연구의 신뢰도가 높다고 믿어지며, 특히 혈청과 소변의 rh GM-CSF를 동시에 측정하므로써 rh GM-CSF의 소변내 배설이 rh GM-CSF의 체내 분해에 비하여 낮은 것을 증명한 점은 임상적 의의가 크다 하겠다.

본 연구에서 실시된 rh GM-CSF의 중화항체 형성은 1예에서도 검출되지 않았으며, 3~4주기 반복투여한 예에서도 검출되지 않은 점은 rh GM-CSF의 반

복투여에 의하여도 중화항체의 출현에 의한 rh GM-CSF역가의 감소가 없음을 간접적으로 증명하였다 하겠다.

총괄 및 결론

본 연구는 yeast유래 rh GM-CSF(LBD-005)를 단계별로 50~700 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{d}$ 용량으로 10일간 매일 피하주사하였다. 진행암 환자를 대상으로 비교적 골수 독성이 심한 항암화학요법을 시행 후 익일부터 주사하였다. 대상 15예중 14예에서 평가 가능하였으며 총 24주기에서 rh GM-CSF를 단계별로 투여하였다. 시행된 700 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{d}$ 용량에서도 MTD에 도달하지 않았으나, 백혈구 증가는 150~500 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{d}$ 용량에서 현저하여 임상 권장량은 150~500 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{d}$ 용량으로 사료되었다. 모든 환자에서 rh GM-CSF에 잘 적응하였으며, rh GM-CSF 투여에 따른 부작용은 grade I-II의 발열, 전신쇠약감, 전신 통증(골통, 근육통), 간기능 장애가 있었으나, 가역적으로 회복되었다. 그외 심낭 삼출, first dose reaction이나 pericardial effusion 등은 관찰되지 않았다.

Rh GM-CSF 피하 투여후 2~4시간 후 최고 혈중 농도를 나타냈으며, 혈청농도는 용량에 비례하여 0.42~15.4 ng/ml로 증가 하였고 투여 12시간 후까지도 0.1 ng/ml이상의 농도를 유지하였다. Rh GM-CSF의 소변 배설은 매우 낮아 신청소율은 임상적 의의를 갖지 못하였다.

Rh GM-CSF의 골수억제조절 효과를 판정하기 위한 제 II상, III상 연구에서 rh GM-CSF의 용량은 150~500 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{d}$ 사이에서 10~14일 피하주사로 시행되는 것이 좋을 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- 1) Groopman JE, Molina J-M, Scadden DT: Hematologic growth factors. *N Engl J Med* 321: 1449, 1989
- 2) Gasson JC, Weisbart RH, Kaufman S, et al: Purified human granulocyte macrophage colony stimulating factor; direct action on neutrophils. *Science* 226: 1339, 1984
- 3) Wong GG, Witek JS, Temple PA, Wilkens KM, et al: Human GM-CSF; molecular cloning of comple-

- mentary DNA and purification of the natural and recombinant proteins. *Science* **228**: 810, 1985
- 4) Wong GG, Temple PA, Leary AC, et al: Human CSF-1; molecular cloning and expression of 4kg cDNA encoding the human urinary protein. *Science* **235**: 1504, 1987
 - 5) Gabillove JL, Welte K, Harris P, et al: *Pluripoietin- α* : A second human hematopoietic colony stimulating factor produced by the human bladder carcinoma cell line, 5637. *Proc Natl Acad Sci USA* **83**: 2478, 1986
 - 6) Sieff C, Emerson SG, Donahue RE, et al: Human recombinant granulocyte macrophage colony stimulating factor; A multi-lineage hematopoietin. *Science* **230**: 1171, 1985
 - 7) Metcalf D, Begley CG, Johnson GR: Biologic properties of in vitro recombinant human granulocyte-macrophage colony stimulating factor. *Blood* **67**: 37, 1986
 - 8) Weisbart RH, Golde DW, Clark SC, et al: Human granulocyte-macrophage colony stimulating factor is a neutrophil activator. *Nature* **314**: 361, 1985
 - 9) Kim H-C, Kang B, Ha C-S, Han S-S, Roh JK: Acute toxicity study of recombinant granulocyte-macrophage colony stimulating factor (LBD-005) in rats. *Korean J Toxicol* **8**: 41, 1992
 - 10) Kim HC, Kang B, Ha C-S, Han S-S, Roh JK: 4-week subcutaneous toxicity study of recombinant granulocyte-macrophage colony stimulating factor (LBD-005) in rats. *Korean J Toxicol* **8**: 49, 1992
 - 11) Park JI, Han SS, Roh JK: A study on antigenicity of granulocyte-macrophage colony stimulating factors (LBD-005) in mice and guinea pigs. *Korean J Toxicol* **8**: 17, 1992
 - 12) 고대균, 이경수: 유전자 재조합형 과립구-단구 집락자극인자가 백혈병 세포주의 증식 및 호중구의 기능에 미치는 영향. 가톨릭대학 의학부 논문집 **44**: 485, 1991
 - 13) 서창인, 김은실, 양성현, 강원기, 허대석, 김병국, 김노경: 재조합 인 GM-CSF(rh GM-CSF)가 조혈세포 생체의 배양 및 실험동물의 혈액상에 미치는 영향. *대한 BRM 학회지* **2**: 151, 1992
 - 14) 이은방, 김운자: 효모에서 발현된 재조합 인간 GM-CSF의 일반약리작용. *약리학회지* **2**: 135, 1991
 - 15) Collins JM, Zaharko DS, Dedrick RL, Chabner BA: Potential roles for preclinical pharmacology in phase I clinical trials. *Cancer Treat Rep* **70**: 73, 1986
 - 16) Koligan JE, Kruisbeek AM, Shevach EM, Strober W: *Antibody detection and preparation in "Current protocols in immunology"* Wiley Interscience. 1991, pp 241-267
 - 17) Nakane PK, Kawaoi A: *Peroxidase-labelled antibody, New method of conjugation.* *J Histochem Cytochem* **22**: 1084, 1974
 - 18) Koler G, Milstein C: Continuous culture of fused cells secreting antibodies of predetermined specificity. *Nature* **256**: 495, 1975
 - 19) Souza LM, Boone TC, Gabillove J, Lai PH, Zsebo KM, et al: Recombinant human granulocyte colony stimulating factor; effects on normal and leukemic myeloid cells. *Science* **232**: 61, 1986
 - 20) Kawasaki ES, Lander MB, Wang AM, Van Arsdell J, Warren Mk, et al: Molecular cloning of a complementary DNA encoding human macrophage-specific colony-stimulating factor(CSF-1). *Science* **230**: 281, 1985
 - 21) Yang Y-C, Ciarletta AB, Temple PA, Cung MP, Kovacic S, et al: Human IL-3(multi-CSF); identification by expression cloning of a novel hematopoietic growth factor related to murine IL-3. *Cell* **47**: 3, 1986
 - 22) Hirano T, Yasukawa K, Harada H, Taga T, Watanabe Y, Matsuda T, Kashiwamura S, Nakajima K, Koyama K, Iwamatsu A, Tsuna-sawa S, Sakiyama F, Matsui H, Takahar Y, Taniguchi T, Kishimoto T: Complementary DNA for a novel human interleukin (BSF-2) that induces B lymphocytes to produce immunoglobulin. *Nature* **324**: 73, 1986
 - 23) Dinarello CA: *Biology of interleukin-1.* *FASEB J* **2**: 108, 1988
 - 24) Lopez AF, Williamson J, Gamble JR, et al: Recombinant human granulocyte macrophage colony-stimulating factor stimulates in vitro mature human neutrophil and eosinophil function, m surface receptor expression and survival. *J Clin Invest* **78**: 1220, 1986
 - 25) Gabillove JL: *Colony Stimulating factors: Clinical status.* In: Devita VT, Hellmans, Rosenberg SA eds. *Important advances in oncology 1991.* J.B. Lippincott, Philadelphia, 1991, 215
 - 26) 이정애, 김현아, 이경훈, 양성현, 허대석, 방영주, 김병국, 김노경: 진행된 악성종양 환자에서 recombinant human granulocyte-macrophage colony stimulating factor(LBD-005)의 제 1상 임상연구. 대한암학회지

25: 520, 1993

- 27) Herrmann F, Schultz G, Lindemann A, Meyenburg W, Oster W, Krumwiech D, Mertelsmann R: Hematopoietic responses in patients with advanced malignancies treated with recombinant human granulocyte-macrophage colony stimulating factor. *J Clin Oncol* 7: 159, 1989
- 28) Rifkin R, Hersh E, Salmon S: Continuous intravenous(IV) administration of recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (rhGM-CSF) is superior to IV bolus administration; a phase I study. *Proc Am Soc Clin Oncol* 7: 165, 1988
- 29) Lieschke GJ, Maher D, Cebon J, O'Connor M, Green M, Sheridan W, Boyd A, Rallings M, Bonnem E, Metcalf D, Burgess AW, McGrath K, Fox RM, Morstyn G: Effects of bacterially synthesized recombinant granulocyte-macrophage colony stimulating factors in patients with advanced malignancy. *Ann Intern Med* 110: 357, 1989
- 30) Clark J, Longo D, Smith J, Urba W, Miller R, et al: Phase I trial of recombinant human granulocyte-macrophage colony stimulating factor(rHuGM-CSF)in cancer patients(Pts). *Proc Am Soc Clin Oncol* 7: 161, 1988
- 31) Steward WP, Scarffe JH, Austen R, Crowther D, Loynds P: Phase I study of recombinant DNA granulocyte-macrophage colony stimulating factor (rGM-CSF). *Proc Am Soc Clin Oncol* 7: 159, 1988
- 32) Lieschke GJ, Maher D, O'connor M, Green M, Sheridan W, Ralling M, Bonnem E, Burgess AW, McGrath K, Fox RM, Morstyn G: Phase I study of intravenously administered bacterially synthesized granulocyte macrophage colony-stimulating factor and comparison with subcutaneous administration. *Cancer Res* 50: 606, 1990
- 33) Lieschke GJ, Cebon J, Morstyn G: Characterization of clinical effects after the first dose of bacterially synthesized recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Blood* 74: 2634, 1989
- 34) Hovgaard DJ, Nissen NI: Effects of recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in patients with Hodgkin's disease: Phase I/II study. *J Clin Oncol* 10: 390, 1992
- 35) Morstyn G, Lieschke GJ, Sheridan W, Layton J, Cebone J, Fox RM: Clinical experience with recombinant human granulocyte colony stimulating factor and granulocyte-macrophage colony stimulating factor. *Semin Hematol* 26: 9, 1989
- 36) Steward WP, Verweij J, Somers R et al: Granulocyte-macrophage colony stimulating factors allows safe escalation of dose-intensity chemotherapy in metastatic adult soft tissue sarcomas: A study of the European organization for Research and Treatment of Cancer. Soft Tissue and Bone Sarcoma Group. *J Clin Oncol* 11: 15, 1993
- 37) Ajani JA, Roth JA, Bernadette RM: Intensive preoperative chemotherapy with colony-stimulating factor for resectible adenocarcinoma of the esophagus gastroesophageal junction. *J Clin Oncol* 11: 22, 1993
- 38) Cebon J, Dempsey P, Fox R, Kannomakis G, Bonnem E, Burgess AW, Morstyn G: Pharmacokinetics of human granulocyte-macrophage colony stimulating factor using a sensitive immunoassay. *Blood* 72: 1340, 1988
- 39) Tanaka H, Tokiwa: Pharmacokinetics of recombinant human granulocyte colony stimulating factor studies in the rat by a sandwich enzyme-linked immunoabsorbant assay. *J Pharmacol & Exp Therap* 255: 724, 1990