

# 만성 실험성 빈혈자 혈장의 적혈구조혈 작용

서울대학교 의과대학 생리학교실

金完泰 · 鄭觀玉 · 金潤璇 · 趙容文 · 鄭源根 · 南基鏞

=Abstract=

## Erythropoietic Activity in Plasma of Chronic Post-hemorrhagic Anemic Men

Wan Tai Kim, Kwan Ogg Chung, Yoon Sun Kim, Yong Moon Cho,  
Won Keun Chung and Kee Yong Nam

Department of Physiology, Seoul National University College of Medicine  
Seoul, Korea

Erythropoietic activity in anemic plasma of chronic posthemorrhagic anemic men was studied in rats after subcutaneous injection of anemic plasma. Anemic plasma was obtained from blood donors who sold their blood once or twice a week for one or two years to blood bank. Hemoglobin concentrations of 8 blood donors ranged between 4.6 and 8.4 gm/100 ml. Pooled plasma was treated by acidification-boiling method and adjusted to pH 7.5 by adding 0.1 N NaOH. 7ml/kg and 15 ml/kg of anemic plasma filtrate was injected to 2 groups of rats respectively for 7 and 8 days.

Hemoglobin concentrations, red blood cell counts and reticulocyte counts were observed before and after injection of anemic plasma and no change was induced by the injection. Subsequently, it was concluded that there was no erythropoietin of high titer in the plasma of chronic post-hemorrhagic anemic men.

적혈구조혈인자 산출에 대한 자극은 저산소증 기타 여러가지가 있으며 실험도 유력한 것으로 작용한다. 개에서 실험적으로 5-6 일 동안 실험을 반복하여 헤마토크릿을 5-10%로 낮추면 개의 혈장이나 오줌 속에 강력한 적혈구조혈인자가 나타나며 (Naets, 1959), 반대로 사람에게 있어서 진성혈구과다증 환자의 혈장에 적혈구조혈인자가 있음이 보고 되었다 (Contopoulos et al., 1957). 사람의 빈혈증에서는 혈장이나 오줌에 적혈구조혈인자가 있음이 생물학적 검정법에 의하여 증명되었다 (Winkert et al., 1958; Piliero et al., 1956). 한편 사람의 일차적 혈액 질환에서는 혈색소 농도가 6~8 gm/100 ml 이란 높은 농도에 불구하고 역가가 높은 적혈구조혈인자가 발생되나 단순한 실험로는 빈혈이 더 심한데 불구하고 적혈구조혈인자의 역가는 높지 않다고 한다 (Winkert and Gordon, 1960). 십이지장출혈증으로 일어나는 만성 빈혈에서는 혈색소 농도가 4 gm/100 ml 이하일 때에 오줌 속에, 5 gm/100 ml 이하일 때에 혈장 속에 적혈구조혈인자가 나타나고 검출될 수 있는

역가를 가진다고 한다 (Van Dyke et al., 1961).

이 논문은 혈액은행에 피를 팔기를 오랫동안 되풀이한 만성 실험성 빈혈자 혈장에 역가 높은 적혈구조혈인자의 발생이 없음을 보고하는 것이다.

### 실험 방법

적혈구조혈인자의 농축 방법은 혈장을 산성화-자비(acidification-boiling) 법 (Gnrney et al., 1957)을 사용하였다. 즉 집합 혼합 (pooled) 빈혈 혈장을 0.1 N HCl로 pH 5.5로 하여 10분 동안 끓이고 곧 얼음물로 빨리 식힌 것을 0.1 N NaOH로 처리하여 pH 7.5로 만들어 저장하고 이것을 그때 그때 사용하였다. 사람의 빈혈 혈장은 혈액은행에 피를 팔기를 2-3년 동안이나 했으며 또한 일주에 두번 까지도 채혈을 허용하여 만성 실험성 혈구감소성 경상혈량증 (oligocythemic normovolemia, 남기용 등, 1959) 상태에 있는 20세대 남자로부터 얻었다.

이들의 혈액상은 표 1과 같았다. 빈혈자 1번 내지

Table 1. Hematologic data of chronic post-hemorrhagic anemic men

No.	Age, yr	Red cell count, $\frac{\text{million}}{\text{cu. mm}}$	Hematocrit	Hb, gm %
1	27	3.4	22.5	7.0
2	26	3.0	19.5	6.2
3	26	2.9	19.5	6.0
4	24	3.2	21.1	5.0
5	29	2.8	17.4	4.6
6	26	3.9	23.1	6.3
7	24	3.6	30	8.0
8	28	3.9	31	8.4

Table 2. Erythropoietic activity of plasma from chronic post-hemorrhagic anemic men and phenylhydrazine administered rabbits

		Distilled water, acidified-boiled, pH 7.5, 8 ml/kg, 5 days. 2 rats	Rabbit anemic plasma. 8 ml/kg, 7 days. 6 rats	Human anemic plasma, pooled 3 plasmas. 7 ml/kg, 7 days 5 rats	Human anemic plasma, pooled 3 plasmas, 15ml/kg, 8 days. 7 rats
Control	Hemoglobin, gm %	14.8	13.0 (0.64)	13.3 (0.39)	13.7 (0.24)
	Red blood cell, million/mm <sup>3</sup>	5.40	4.75 (1.90)	4.18 (0.45)	6.96 (0.11)
	Reticulocyte, %	1.9	1.38 (0.68)	1.01 (0.12)	1.73 (0.072)
	Body weight, gm.	205			
After injection	Hemoglobin, gm %	9.5	13.5 (0.44)	13.2 (0.37)	12.9 (0.41)
	Red blood cell, million/mm <sup>3</sup>	4.20	6.50 (2.32)	4.38 (0.36)	6.69 (0.28)
	Reticulocyte, %	2.0	2.30 (0.55)	1.00 (0.01)	1.37 (0.22)
	Body weight, gm.	195			

Values are Mean  $\pm$  (S.D.)

4 번과 5 번 내지 8 번의 각각 네 사람 혈장을 집합 혼합하여 두 개의 적혈구조혈인자 혈장을(갑 혈장 및 을 혈장) 만들었다.

토끼 3 마리에 웨닐히드라진(phenylhydrazine) 2% 용액을 0.7 ml/kg의 비율로 8 일 동안 주사하여 빈혈을 유발시킨 혈장을 산성화-자비법으로 처리하여 적혈구조혈인자(토끼 빈혈 혈장)를 얻었다.

흰쥐를 사용하여 적혈구조혈인자의 생물학적 검정을 하였는데 농축된 빈혈 혈장을 매일 7-10 ml/kg의 비율로 8 일 동안 피하주사한 후 혈색소 농도, 적혈구수, 망상적혈구수(reticulocytes count)등을 검색하여 적혈구조혈인자 작용을 판단하였다. 따로이 대조 실험으로 증류수를 산성화-자비법으로 처리한 것을 매일 8 ml/kg의 비율로 흰쥐 두 마리에 6 일 동안 주사하여 같은 검색을 하였다.

### 실험 성적 및 고찰

사람의 빈혈 혈장을 각각 흰쥐에 주사한(갑 혈장은

매일 10 ml/kg의 비율로 5 마리에, 을 혈장은 매일 7 ml/kg의 비율로 7 마리에 주사) 성적, 토끼빈혈 혈장을 6 마리 흰쥐에 매일 8 ml/kg의 비율로 주사한 성적 및 증류수를 2 마리 흰쥐에 매일 8 ml/kg의 비율로 주사한 성적을 표 2에 보인다.

산성화-자비법의 대조 실험으로 증류수를 같은 방법으로 처리하여 8 ml/kg의 비율로 5 일 동안 주사한 두 마리 흰쥐에서는 적혈구조혈 작용의 촉진은 없었으며 혈액 소견은 도리어 적혈구조혈 작용이 저하되는 것 같은 인상을 나타냈다.

토끼를 웨닐히드라진 주사로 빈혈을 유발하고 이것으로부터 얻은 혈장을 6 마리 흰쥐에 8 ml/kg의 비율로 7 일 동안 주사한 경우에는 적혈구조혈이 왕성하여 지고 토끼 혈장에 역가 높은 적혈구조혈인자가 있음이 증명되었다. 즉 토끼의 혈액 소견이 주사전에 혈색소 농도가 13.0 gm/100 ml, 적혈구수가 4.75 million/mm<sup>3</sup>, 망상적혈구수가 1.38%이었는데 비하여, 빈혈 혈장 주사 후에는 혈색소 농도가 13.5 gm/100 ml, 적혈구수가

6.50 million/mm<sup>3</sup>, 및 망상적혈구수가 2.30%로 각각 증가하여 적혈구조혈 활동의 촉진이 증명되었다.

실험적으로 얻는 적혈구조혈인자 가운데 가장 역가 높은 것은 토끼에 웨닐히드라진을 투여하여 거의 빈사 상태에 이르렀을 때에 채집하는 혈장이라고 하는데 (Lowy et al., 1959; Finch et al., 1959), 우리의 빈혈 토끼에 역가 높은 적혈구조혈인자가 발생되었음이 증명되었던 것이다.

그러나 혈액은행에 피를 팔기를 되풀이한 6 사람의 혈장을 각각 3 사람씩 집합 혼합하여 같은 방법으로 처리한 혈장을 흰쥐에 각각 7ml/kg 또는 두배인 15ml/kg의 비율로 주사한 실험에서는 적혈구조혈 활동의 촉진은 찾아볼 수 없었다. 즉 두 무리 흰쥐의 혈액 소견은 빈혈·혈장 주사 전후에 아무런 변동이 없었다. 이러한 사실은 만성으로 오랜 세월을 두고 실험이 반복된 빈혈자에서는 역가 높은 적혈구조혈인자의 발생은 없음을 가리킨다고 해석할 수 있다. 심이지장층에 감염된 사람에서 혈색소 농도가 4 gm/100 ml 이하인 경우에만 혈장에서 적혈구조혈인자가 검출된다는 보고 (Van Dyke et al., 1961), 재생불량성 빈혈 (Van Dyke et al., 1957)에서 및 Cooley씨 빈혈자 (Winkert and Gordon, 1960)에서는 강력한 적혈구조혈인자의 발생이 증명된 보고 등으로 미루어 일차성 혈액 질환이 아닌 단순한 실험만으로는 역가 높은 적혈구조혈인자의 발생은 없다고 하겠다. 우리의 빈혈 대상자의 혈색소 농도는 표 1과 같이 4.6—8.4 gm/100 ml 사이에 있었으므로 웨닐히드라진으로 토끼에 유발되는 것 같은 빈사 상태의 중독한 빈혈은 아니었으며, 따라서 적혈구조혈인자의 발생은 거의 없었다고 할 수 있겠다.

### 결 론

혈액은행에 피를 팔기를 오랫동안 되풀이한 만성 실험 빈혈자 혈장을 산성화—자비법으로 농축하고 흰쥐에 주사하여 적혈구조혈인자가 있는가를 보았다. 흰쥐의 혈색소 농도, 적혈구수 및 망상적혈구수 등의 변화를 적혈구조혈 작용의 표시로 검색하였는데, 빈혈 혈장 주사 후 이들에 변화가 없었다. 즉 단순한 실험을 되풀이하여서는 역가 높은 적혈구조혈인자는 발생하지 않았다.

### REFERENCES

Contopoulos, A.N., J.H. Lawrence, R.D. McCombs,

and M.E. Simpson: *Erythropoietic activity in the plasma of polycythemic patients. Clin. Res. Proc.* 5:30, 1957.

Finch, C.A., M.L. Hanson, and D.M. Donohue: *Kinetics of erythropoiesis. A comparison of response to anemia induced by phenylhydrazine and by blood loss. Am. J. Physiol.* 197:761, 1959.

Gurney, C.W., E. Goldwasser, and C. Pan: *Studies on erythropoiesis. VI. Erythropoietin in human plasma. J. Lab. Clin. Med.* 50:534, 1957.

Lowy, P.H., G. Keighley, H. Borsook, and A. Graybiel: *On the erythropoietic principle in the blood of rabbits made severely anemic with phenylhydrazine. Blood* 14:262, 1959.

Naets, J.P.: *Erythropoietic activity in plasma and urine of dogs after bleeding. Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 102:387, 1959.

南基鏞, 金完泰, 鄭永銖, 崔德瓊: *Blood volume of chronic post-hemorrhagic anemic men. 서울대학교 논문집, 의약계,* 8:158, 1959.

Pillero, S.J., P.T. Medici, B. Pansky, A.L. Luhby, and A.S. Gordon: *Erythropoietic stimulating effects of plasma extracts from human subjects. Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 93:302, 1956.

Van Dyke, D.C., J.F. Garcia, and J.H. Lawrence: *Concentration of highly potent erythropoietic activity from urine of anemic patients. Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 96:541, 1957.

Van Dyke, D.C., M. Layrisse, J.H. Lawrence, J.F. Garcia, and M. Pollycove: *Relation between severity of anemia and erythropoietin titer in human beings. Blood* 18:187, 1961.

Winkert, J., A.S. Gordon, P.T. Medici, S.J. Pillero, A.L. Luhby, and M. Tannenbaum: *Erythropoietic stimulating activity of urine from anemic human subjects. Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 97:191, 1958.

Winkert, J.W. and A.S. Gordon: *Biological assay of human urinary erythropoietic stimulating factor. Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 104:713, 1960.