

효모에서 발현된 유전자 재조합 탈메치오닌 인간 성장호르몬의 일반 약리작용

이은방[#] · 신국현 · 김운자 · 윤기영 · 천선아 · 채윤정

서울대학교 생약연구소

(Received January 3, 1992)

General Pharmacology of Recombinant Human Growth Hormone without N-Terminal Methionine Expressed in *Saccharomyces cerevisiae*

Eun Bang Lee[#], Kuk Hyun Shin, Oon Ja Kim, Ki Young Yoon,
Seon Ah Cheon and Yun Jung Chae

Natural Products Research Institute, Seoul National University, Seoul 110-460, Korea

Abstract—The general and some other pharmacological actions of growth hormone without N-terminal methionine(rhGH) were investigated in animals. The hormone had no influences on the central nervous system and on body temperature at a high oral dose of 40 IU/kg in animals. It had neither analgesic nor antiepileptic actions at the high doses. In the isolated ileum and trachea of guinea-pig and isolated stomach fundus and uterus of rat, it showed neither contractive nor relaxing effects at a concentration of 1×10^{-3} IU/ml in bath, and no inhibitory action at a dose of 1×10^{-3} IU/ml against the contractions produced by histamine(5×10^{-5} g/ml), serotonin(1×10^{-5} g/ml), acetylcholine(1×10^{-5} g/ml) and oxytocin(5×10^{-3} IU/ml). Furthermore, the intravenous injection of 20 IU/kg rhGH had no influences on the normal blood pressure and respiration in rabbits. These negative results in pharmacological profile are thought that the hormone may not elicit serious side effects. On the other hand, the rhGH exhibited a weak inhibitory action of glucose tolerance in normal rats, significantly lowered the blood glucose contents in adrenalectomized rats 20 min after i.v. administration of 80 IU/kg, and showed a significant inhibitory effect on *in vitro* glycerol release in epinephrine-stimulated epididymal fat pad segments of rats.

Keywords □ Recombinant human growth hormone, pharmacological profile, insulin-like action.

인간 성장호르몬(hGH)은 인간 사체의 뇌하수체로부터 얻어졌으나 1970년대에 그의 치명성 및 퇴행성 신경질환의 유발 사실로 인하여 사용이 중지되고 유전자 재조합 methionyl-rhGH으로 대체되었다.¹⁾ 그러나, 이 methionyl-rhGH은 뇌하수체 유래의 hGH에 비하여 인체에 항원성을 가지므로 이를 어린이에 투여시 30~40%에서 항원을 형성한다고 알려져 있다.²⁾ 따라서 이 methionine이 결여된 재조합 hGH이 생산되어 그 항원성을 낮추고 있다.³⁾ 이미 저자 등은

효모를 host로 하여 생성된 유전자 재조합 인간 성장호르몬(Met-rhGH)의 일반약리작용에 대하여 보고한 바 있으나,⁴⁾ 본 연구에서는 효모 유래의 유전자 재조합 탈메치오닌 인간 성장호르몬(rhGH)의 일반약리작용에 대하여 보고하는 바이다.

실험 재료 및 방법

시료

본 인간성장 호르몬은 효모를 host로 한 유전자 재조합에 의하여 생산된 탈메치오닌 인간 성장호르몬(rhGH)으로서 (주)럭키에서 개발한 제품(LBD-009)

[#]본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

이다. 본 제품은 동결건조하여 vial에 밀봉된 상태로 제공받아 4°C에서 보관하였으며 주사용 증류수에 적당한 농도로 용해시켜 사용하였다.

사용동물 및 사육조건

본 연구소 동물실(22~25°C)에서 분만하여 사육시킨 Sprague-Dawley계의 흰쥐, ddY계의 생쥐, Hartley계의 guinea-pig, New Zealand White계 가토를 사용하였고, 실험실내의 명암은 12시간으로 자동조절시켰으며 사료는 삼양유지(주)의 흰쥐 및 생쥐용 또는 가토용 사료로 급식하였으며 물은 수도수를 자유롭게 섭취토록 하였다.

시약 및 기구

사용한 시약으로서 acetylcholine, epinephrine, histamine, serotonin, insulin, porcine pancreas, albumin(human), glycerokinase, d-glycerophosphate dehydrogenase(Typex), APT, NAD 등은 Sigma Chem. Co.에서 구입하였고, oxytocin은 (주)유한양행, glucose oxidase kit는 (주)영동제약 제품을 사용하였으며 hexobarbital-Na은 hexobarbital(Tokyokasei Co.)로부터 합성하여 사용하였고 기타 약물은 대한약전품 또는 일급시약을 사용하였다.

사용한 기기로서 rotarod 장치 및 운동성 측정의 activity cage는 Ugo Basile사의 제품을 사용하였고 physiograph는 4 channel의 Narco Co. 제품(Model MK IV)을 사용하였으며 체온측정계는 일본 Jyokuhorisseki Tenki사의 digital 전자체온계(Omron MC-III)를 사용하였다. 또 UV spectrophotometer는 Gilford Co.의 Model S-2600을 이용하였다.

실험방법

1. 중추신경계에 미치는 영향

Rotarod 시험—Dunham 등⁵⁾의 방법원리에 따라서 실시하였다. 즉 선택된 체중 20~24g의 숫컷 생쥐 10마리를 1군으로 하여 시료 20 및 40 IU/kg을 피하주사하고 20분 후에 본 실험을 실시하여 1분 이내에 떨어지는 생쥐를 계수하였다. 대조약물로는 chlorpromazine을 사용하였다.

운동성 시험—Activity cage의 바닥에 전류가 흐르는 철봉이 있어서 마우스의 운동에 따라서 활동횟수가 기록되는 기기를 이용하여 Nahorski 등⁶⁾의 방법에

따라서, 생쥐를 cage에 넣어 30분간 적응시킨 후, 시료 20 및 40 IU/kg씩을 피하주사하고 30분 후부터 10분 간씩 30분 동안의 운동성을 측정하였다. 대조약물은 caffeine을 사용하였다.

Hexobarbital-Na 수면시간에 미치는 영향—이 시료 20 및 40 IU/kg를 체중 22~25g의 1군 8마리의 숫컷 생쥐 피하에 주사하고 20분 후에 hexobarbital-Na 70 mg/kg을 복강에 투여하여 정향 반사가 상실되는 시간을 측정하였다. 대조약물은 chlorpromazine을 주사하였다.

2. 정상체온에 미치는 영향

체중 100~120g의 숫컷 흰쥐의 체온을 digital 전자체온계로 측정된 후 30분만에 약물을 주사하고, 일정시간 간격으로 체온을 측정하였다. 대조약물은 aminopyrine을 사용하여 실시하였고 1군 6마리를 사용하였다.

3. 진통작용

Whittle의 초산에 의한 writhing 증상 억제법⁷⁾에 준하여 실시하였다. 즉, 체중 20~25g의 숫컷 생쥐 1군 7마리에 시료 20 및 40 IU/kg을 피하주사하고 30분 후에 0.7% 초산-생리식염액 0.1 ml/10g을 복강내에 주사한 다음, 10분 후부터 10분간 writhing 증상의 발생수를 측정하였다. 이때에 대조약물은 aminopyrine을 사용하였다.

4. 항경련작용

Strychnine 경련 억제—6마리의 생쥐를 1군으로 하여 시료 20 및 40 IU/kg을 피하주사하고 Araki 등⁸⁾의 방법에 따라서 30분 후에 strychnine nitrate 1.5 mg/kg을 피하주사한 후 30분간 강직성 경련에 의한 마우스의 사망수를 계수하였다. 이때에 대조약물로서는 diallylbarbiturate를 투여하였다.

Pentylene-tetrazole 경련 억제—8마리의 생쥐를 1군으로 하여 시료 20 및 40 IU/kg을 피하주사하고 Swinyard 등⁹⁾의 방법에 따라서 1시간 후에 pentylene-tetrazole 85 mg/kg을 피하주사하여 1시간 동안 간대성 경련의 유무를 관찰하였다. 이때에 대조약물은 diallylbarbiturate를 투여하였다.

5. 적출장기에 대한 작용

Guinea-pig 적출 회장에 대한 작용—24시간 절식

시킨 체중 300g 내외의 숫컷 guinea-pig의 회장을 적출하여 상법에 의하여 실시하였다. 영양액은 Locke-Ringer액을 사용하였고 수욕의 온도는 32°C로 하였으며 영양액에의 주입가스는 carbogen을 사용하였다.

흰쥐의 적출 fundus 절편에 대한 작용—체중 150g 내외의 암컷 흰쥐를 24시간 절식시킨 후 Vane 등의 방법¹⁰⁾에 따라서 위를 적출하여 fundus 절편을 만들어 표본으로 사용하여 상기와 같은 조건에서 실시하였다.

Guinea-pig 적출기관 평활근에 대한 작용—체중 300g 내외의 guinea-pig 기관근을 Takagi 등의 방법¹¹⁾으로 연결하여 표본으로 사용하였고 상기와 같은 조건에서 실시하였다.

흰쥐의 적출 자궁에 대한 작용—체중 150g 내외의 암컷 흰쥐에 diethylstilbestrol 0.1 mg/kg을 면실유에 현탁하여 피하주사하고 24시간 후에 자궁을 적출하여 표본을 만들고 상기와 같은 조건에서 상법에 따라 실시하였다.

6. 가토의 혈압 및 호흡에 미치는 영향

체중 2.0 kg 내외의 숫컷 가토를 urethane 1.5 g/kg을 피하주사하여 마취시키고, 경동맥압(mmHg), 맥박수(rate/min), 호흡심도 호흡수(rate/min)를 상법에 의하여 관찰하였다.

7. 부신 적출 흰쥐의 혈당에 미치는 영향

부신 적출 흰쥐에 시료를 정맥주사하고, 시료 투여후 20분 간격으로 4시간 까지 안정맥으로부터 혈액을 채취한 다음, 혈청을 얻고 혈청의 glucose 함량을 측정하여 대조군과 비교하였다. 부신을 적출한 흰쥐에 있어서 부신적출 후 4일간 생리식염수를 공급하면서 안정화시키고 제 5일째에 실험을 실시하였다. 부신적출 흰쥐의 대조군에는 2 mg의 albumin을 함유한 생리식염수 1 ml/씩을, 시료투여군은 상기용액에 시료를 용해시켜서 80 IU/kg씩을 정맥으로 투여하였다. 대조약물로서는 insulin 2.5 IU/kg을 사용하였으며 시료의 경우와 동일한 방법으로 투여하였다. glucose의 정량은 glucose oxidase법¹²⁾에 의하여 측정하였다.

8. 흰쥐의 내당작용 시험

검체의 내당작용은 Kulakowski 등의 방법¹³⁾에 준하여 측정하였다. 즉, 하룻밤 절식시킨 흰쥐에 insulin

5 IU/kg 또는 본 시료를 40 IU/kg씩 정맥주사하고, 즉시 glucose 500 mg/kg씩을 복강내 주사한 다음, 일정시간 간격으로 3시간까지 안정맥으로부터 채혈하여 혈청을 얻고, 혈청내의 glucose 함량을 glucose oxidase법¹²⁾으로 측정하여 대조군의 그것과 비교하였다.

9. 지방분해 작용에 미치는 영향

흰쥐의 부고환지방육(epididymal fat pad, EFP)의 지방분해에 의하여 생성되는 glycerol의 양을 지표로 검토하였다.¹⁴⁾ 즉, 정상 흰쥐를 치사시킨 후 즉시 EFP를 적출하고 145~160 mg씩을 3 ml의 Krebs-Ringer bicarbonate buffer(pH 7.4) 용액이 들어 있는 25 ml 삼각후라스크에 취하고 37°C에서 2시간 incubation하고 incubation medium 100 μ l씩을 취하여 glycerol을 정량하였다. 이때 glycerol 유리의 positive 대조군용 약물로서 insulin 0.1 mIU/ml 및 epinephrine 0.1 μ g/ml씩을 가하여 주었다. incubation medium의 glycerol 정량은 Wieland의 UV method¹⁵⁾에 의하여 실시하였다.

실험 결과

1. 중추신경계에 미치는 영향

본 실험결과는 Table I에 표시하였다. 즉, Rotarod 시험에서 rhGH 20 및 40 IU/kg의 피하투여시에 생쥐의 낙하시간이 대조군에 비하여 유의성 있는 차이를 인정할 수 없었다. 그러나 대조약물인 chlorpromazine 2 mg/kg의 투여에 의하여서는 유의성 있는 단축을 나타냈다. 또 운동성 시험에서도 같은 용량의 rhGH의 투여에 의하여 아무 영향을 미치지 아니하였고, caffeine 10 mg/kg의 투여시에는 대조군에 비하여 유의성 있는 흥분작용을 관찰할 수 있었다. Hexobarbital 수면작용에 미치는 영향은 20 및 40 IU/kg 투여시에 연장 혹은 단축효과를 인정할 수 없었고 chlorpromazine 1 mg/kg 투여시에는 연장효과를 인정할 수 있었다.

2. 정상 체온에 미치는 영향

이 결과도 Table I에 표시한 바와 같다. 시료 20 및 40 IU/kg을 피하주사하였을 때에, 대조군의 체온에 비하여 아무 영향을 나타내지 아니하였으나 aminopyrine

Table I—The pharmacological profile of rhGH in animals

Effect	Method	animal	Drug	Dose ^{a)}	Response ^{b)}
				(IU or mg/kg, s.c.)	
1. CNS	(1) Rotarod test	mouse	rhGH	20	—
				40	—
				chlorpromazine	2
	(2) Locomotor activity	mouse	rhGH	20	—
				40	—
				caffeine	10
(3) Hexobarbital sleeping time	mouse	rhGH	20	—	
			40	—	
			chlorpromazine	1	+
2. Body temperature	(1) Rectal temperature	rat	rhGH	20	—
				40	—
				aminopyrine	70
3. Analgesic	(1) Writhing test	mouse	rhGH	20	—
				40	—
				aminopyrine	50
4. Antiepileptic	(1) Strychnine mortality test	mouse	rhGH	20	—
				40	—
				diallylbarbiturate	60
	(2) Pentylenetetrazole induced convulsion test	mouse	rhGH	20	—
				40	—
			diallylbarbiturate	40	+

^{a)}The units of rhGH and reference drugs are IU/kg and mg/kg, respectively.

^{b)}The significant difference at a level of $p < 0.05$ is represented as positive result.

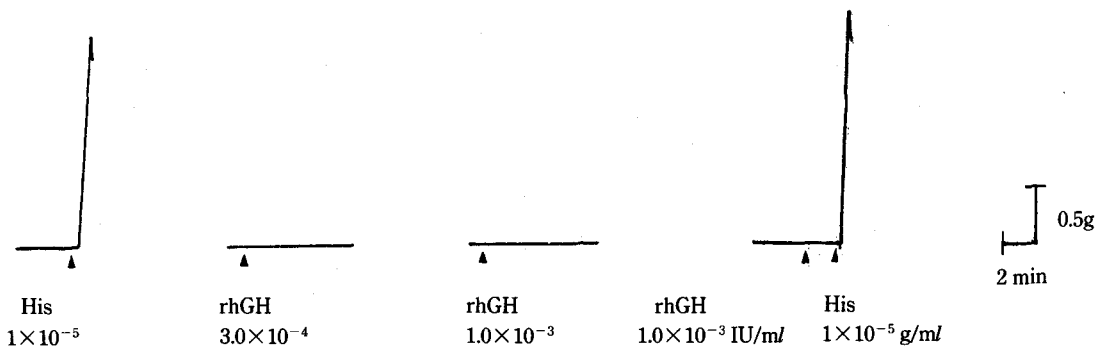


Fig. 1—Effect of rhGH on the guinea-pig ileum.

70 mg/kg의 투여시에는 유의성 있는 체온 하강을 관찰할 수 있었다.

3. 진통작용 및 항경련작용

이 결과는 Table I에 표시한 바와 같다. 즉 시료 20 및 40 IU/kg을 피하주사하였을 때에, writhing의 억제작용이 나타나지 아니하였고 aminopyrine의 투

여시에는 유의성 있는 억제작용을 나타내었다. 또 시료 20 및 40 IU/kg씩을 피하주사하였을 때에, strychnine 및 pentylenetetrazole에 의하여 유발된 경련에 대하여 억제효과를 인정할 수 없었으며, 대조약물인 diallylbarbiturate의 투여시에는 두 경련반응에 있어서 대조군에 비하여 유의성 있는 억제효과를 인정할 수 있었다.

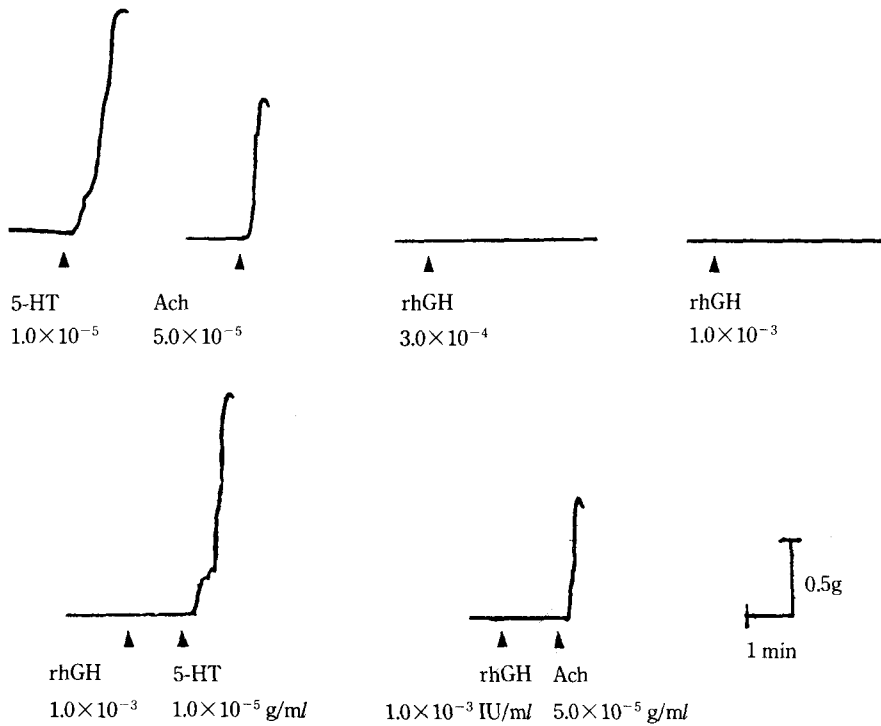


Fig. 2—Effect of rhGH on the rat fundus.

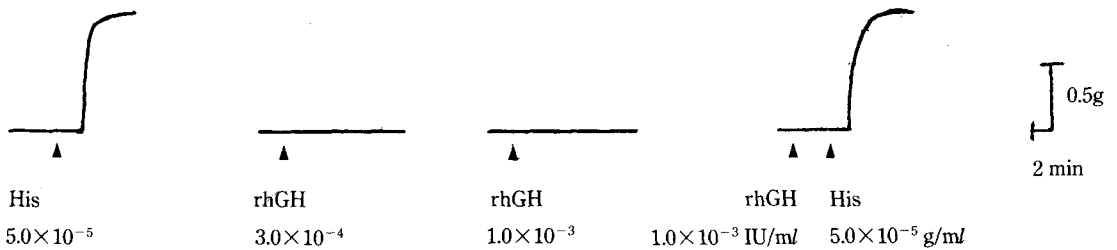


Fig. 3—Effect of rhGH on the guinea-pig trachea.

4. 적출장기에 대한 작용

Guinea-Pig 회장에 대한 작용—본 실험의 결과는 Fig. 1에 표시하였다. rhGH 3×10^{-4} 및 1×10^{-3} IU/ml의 농도에서 회장에 직접작용이 없었으며 histamine 1×10^{-5} g/ml에 의한 수축을 rhGH 1×10^{-3} IU/ml의 전처치에 의하여 길항하지 못하였다.

흰쥐의 적출 Fundus 절편에 대한 작용—본 결과는 Fig. 2에 표시한 바와 같이 rhGH 1×10^{-3} IU/ml의 고농도에서도 직접작용이 없었으며 5-HT 1×10^{-5} g/ml 또는 acetylcholine 5×10^{-5} g/ml에 의한 수축에 대하여 rhGH 1×10^{-3} IU/ml의 전처치도 전연 길항을

나타내지 못하였다.

Guinea-Pig 기관 평활근에 대한 작용—Fig. 3에 표시한 바와 같이 rhGH 3×10^{-4} 및 1×10^{-3} IU/ml의 농도에서 기관평활근에 아무런 영향이 없었으며 histamine 5×10^{-5} g/ml에 의한 수축을 길항하지 아니하였다.

흰쥐의 자궁근에 대한 작용—에스트로젠을 전처치한 흰쥐의 자궁근은 rhGH 1×10^{-3} IU/ml의 농도에서 수축 혹은 이완작용이 없었으며 oxytocin 5×10^{-3} IU/ml에 의한 수축에 대하여 rhGH 1×10^{-3} IU/ml의 전처치는 길항작용을 나타내지 아니하였다(Fig. 4).

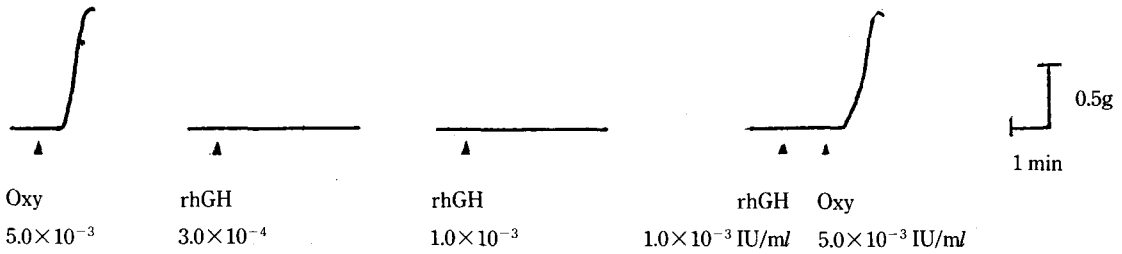


Fig. 4—Effect of rhGH on the rat uterus.

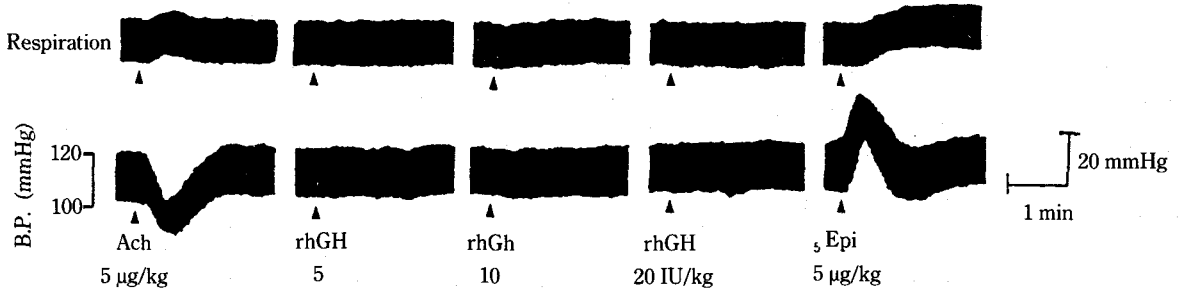


Fig. 5—Effect of rhGH on respiration and blood pressure in rabbit.

5. 가토의 혈압 및 호흡에 미치는 영향

본 실험의 결과를 Fig. 5에 표시하였다. 가토의 정상혈압에 대하여 rhGH 5~20 IU/kg의 정맥내 주사는 아무런 영향이 없었다. acetylcholine 5 µg/kg의 투여는 일시적인 강하를 나타내고 epinephrine 5 µg/kg 투여시는 일시적인 상승을 나타내었다. 호흡에 있어서도 rhGH 20 IU/kg의 투여에도 별 영향이 없었다. 또한 그림에 나타내지 아니하였으나 맥박수와 호흡수에서 rhGH 20 IU/kg의 투여는 아무런 영향을 나타내지 아니하였다.

6. 부신적출 흰쥐의 혈당에 미치는 영향

rhGH의 투여가 부신적출 흰쥐의 혈당에 미치는 효과를 측정된 결과를 Table II에 표시하였다.

시료 투여 직전의 흰쥐 혈청내의 평균 혈당농도는 113.4 mg/dl이었으며 saline만을 투여한 대조군에 있어서는 혈당농도에 별 변동을 나타내지 않은 반면, rhGH 80 IU/kg을 정맥내 투여하였을 때, 시료 투여 20분만에 시료 투여전의 혈청 glucose 농도에 비하여 약 20%의 감소로서 유의성 있는 차이를 나타내었다. 시료투여 40분 및 60분 후에는 혈당농도가 대조군

Table II—Effects of rhGH and insulin on blood glucose level of adrenalectomized rats

Treatment	Dose (IU/kg, i.v.)	No. of animals	Serum glucose (mg/dl, M± S.E.)				
			20	40	60	120	240(min)
Control	—	6	117.6± 4.7	120.6± 11.1	119.5± 10.2	119.7± 4.5	114.5± 12.6
rhGH	80	5	91.5± 2.5*	113.9± 6.5	117.6± 4.4	74.2± 4.1*	117.4± 9.1
Insulin	2.5	6	61.8± 3.3*	74.9± 11.0*	104.2± 7.5	82.4± 3.7*	108.0± 4.4

Adrenalectomy was performed on animals of 140~150 g body weight by lumbodorsal approach under ether anesthesia. After operation, the rats received 0.9% NaCl as drinking fluid for four days and the experiments were carried out on the 5th day.

Insulin and rhGH were administered i.v. in 1 ml of 0.9% NaCl containing 2 mg of human albumin.

At indicated time intervals, blood samples were obtained from ocular vein and their glucose levels were measured by glucose oxidase method.

Significantly different from glucose concentration of the zero time control(113.4± 2.0, n=15): *p<0.001

Table III—Effects of rhGH and insulin on glucose tolerance in fasted rats

Treatment	Dose (IU/kg, i.v.)	No. of animals	Serum glucose (mg/dl, M± S.E.)			
			30	60	120	180(min)
Control	—	5	153.8± 7.3	121.9± 5.3	106.0± 8.1	130.3± 3.1
rhGH	40	5	153.1± 5.9	140.7± 7.9	123.8± 7.4	112.7± 7.0
Insulin	5	5	20.9± 2.9*	68.0± 12.7	98.8± 3.5	99.3± 5.5

Immediately after i.v. injection in rats fasted overnight with hormones, the animals were injected with glucose (500 mg/kg, i.p.). At the indicated time intervals, blood samples were obtained from ocular vein for the determination of serum glucose levels.

Significantly different from glucose concentration of the zero time control(51.4± 2.0, n=12): *p<0.001

Table IV—Effects of rhGH and insulin on epinephrine-induced lipolysis in rat adipose tissue

Treatment	Concentration in medium (mIU/ml)	Glycerol release (μmoles/100 mg pad/2 hr)
Control (normal)	—	0.52± 0.07 ^{a)}
rhGH	2000	0.35± 0.11
Insulin	0.1	0.36± 0.10
Epinephrine added control	—	1.07± 0.10
Epinephrine and rhGH	2000	0.48± 0.00*
Epinephrine and Insulin	0.1	0.47± 0.04*

Epididymal fat pads from rats (145~155 mg) were incubated for 2 hr at 37°C in 3 ml of Krebs/Ringer/bicarbonate buffer (pH 7.4) in the presence or absence of the hormones.

The pads were shaken at 100 cpm in an open air.

Glycerol released was measured on 0.5 ml aliquot of the incubation medium by enzymatic method of O.H. Wieland. The data are mean± S.E. of 5 determinations.

Significantly different from the epinephrine (0.1 μg/ml) added control: *p<0.001

수준으로 회복되었으나 120분만에는 다시 유의성 있는 감소를 보였다.

이는 대조약물인 insulin 2.5 IU/kg를 투여하였을 때에도 유사한 양상을 보여, 투여 후 20분과 40분만에 각각 45 및 34%의 유의성 있는 억제를 보이다가 60분만에는 회복되었고 120분만에는 다시 유의성 있는 감소를 보였다.

7. 흰쥐의 내당작용에 미치는 영향

정상 흰쥐에 glucose를 투여하여 혈당량을 과부하시켰을 때에, rhGH에 내당에 미치는 효과를 검토한 결과를 Table III에 표시하였다. 대조약물인 insulin 5 IU/kg를 정맥주사하고, 즉시 glucose 500 mg/kg을 복강내 투여 후 경시적으로 혈당량을 측정한 결과 시료 투여 30분만에 시료 투여 전의 대조군에 비하여 59%의 현저한 혈당 강하 효과가 나타났으나, 당부하시의 대조군에서는 30분만에 정상혈당에 비하여 100%의 혈당상승을 보였으며 서서히 감소하였으나 180

분까지도 높은 혈당치를 나타내었다.

한편 rhGH 40 IU/kg 투여의 경우는 당부하 대조군과 유사하게 시료투여 30분부터 120분까지도 현저한 혈당 상승을 보였으며 당부하 대조군 보다도 더 높은 혈당농도를 나타낸 것으로 보아, 오히려 내당 저하작용의 경향이 있음을 알 수 있었다. 이와 같은 결과는 rhGH가 insulin과는 그 작용기전에 차이가 있을 것으로 추정할 수 있다.

8. Epinephrine 유발 지방분해에 미치는 영향

rhGH의 지방분해작용 억제여부를 부고환 지방 pad를 *in vitro*에서 incubation할 때의 glycerol의 유리효과를 지표로 검토한 결과를 Table IV에 표시하였다. rhGH 및 insulin만을 각각 2 IU/ml 및 0.1 mIU/ml씩 incubation medium에 가하여 2시간 incubation 하였을 때 medium에 유리되는 glycerol의 basal level이 normal control의 값에 비하여 각각 33% 및 31% 저하되는 경향이나 유의성은 없었다.

한편 epinephrine을 0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 씩 가해서 incubation 했을 경우의 대조군은 저장대조군에 비하여 약 106%의 glycerol 유리의 증가를 보였으며 이때 2 IU/ml의 rhGH를 incubation medium에 가한 결과, glycerol 유리의 현저한 억제효과(55%)를 나타내었다. insulin 0.1 mIU/ml을 가했을 경우도 rhGH를 가했을 경우와 유사하게 현저한 glycerol 유리 억제효과(56%)를 보였다. 이상의 결과로 rhGH는 epinephrine 유발 지방분해를 강력하게 억제함이 입증되었으며 이는 insulin과 그 작용이 유사함을 알 수 있었다.

고찰 및 결론

hGH는 191개의 아미노산을 가진 단백질로 구성되어 있으나 여러 개의 변형이 있어 29 Kd hGH이 존재하고¹⁶⁾ 일부 desamino-hGH도 존재한다.¹⁷⁾ 그러나 유전공학기법으로 생성된 rhGH은 hGH을 암호화하는 cDNA가 대장균이나 효모에서 발현된 후, N-말단의 메치오닌기를 포함하고 있다.¹⁸⁾ 이에 (주)럭키에서 이 메치오닌기를 제거하여 항원성을 줄이려고 시도된 것이다. 이 rhGH는 메치오닌이 존재하는 rhGH와 그 효능에 있어서 동등한 것으로 보고되어 있다.¹⁹⁾

본 시료는 rotarod 시험, locomotor activity 및 hexobarbital-Na 수면작용시험 등의 중추신경계에 대한 작용시험에서 전연 영향을 미치지 않았으며, 흰쥐의 정상체온에도 영향이 전무하였고, writhing 시험에 있어서 writhing을 억제하지 않아서 진통작용이 없음을 알 수 있었다. 또 strychnine과 pentylenetetrazole로 유발된 경련에 대한 억제작용도 인정되지 아니하였다. 각종 적출장관, 즉, guinea-pig 회장과 기관근, 흰쥐 위의 fundus근, 자궁근에 대하여 본 시료는 직접적인 수축이나 이완작용이 없었으며 acetylcholine, histamine, serotonin 및 oxytocin에 의한 수축을 길항하지 아니하였다. 또한 본 시료를 가토의 동맥에 투여하였을 때, 혈압 및 호흡에 전연 영향을 인정할 수 없었다.

본 검체는 정상 흰쥐에서 내당능의 저하효과의 경향이 인정되었으며 흰쥐의 부신을 적출하여 부신피질호르몬의 영향으로 인한 역조절효과를 배제한 상태에서 실험한 바, 비교적 높은 용량에서 혈당 강하 작용이 있음이 입증되었으므로, 후자와 같은 현상은

insulin 양 작용의 하나로 생각된다. 또한 초기단계에서 epinephrine 유발 지방분해에 대한 현저한 억제작용이 입증되었으므로 insulin이나 growth hormone이 지방분해를 early phase에서는 억제한다는 실험결과와 부합되며^{20,21)} 본 검체의 insulin 양 작용의 기전의 하나로 인정된다.

이상의 결과로 보아, 탈메치오닌 rhGH는 실험동물에서 상기에서 열거한 일반 약리작용을 발현하지 아니하였고, 약한 내당능의 저하효과와 insulin양 혈당강하작용과 epinephrine 유발 지방분해의 억제작용이 있다는 사실을 확인하였다.

문 헌

- 1) Kuret, J.A. and Murad, F.: Adenohypophyseal hormones and related substances. In *Goodman and Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics*, 8th ed. (Gilman, A.G. et al. eds), Pergamon Press, Inc., p.1341(1991).
- 2) Marshak, D.R. and Liu, D.T.(eds.): *Banbury Report 29: Therapeutic Peptides and Proteins: Assessing the new technologies*. Cold Harbor Lab., New York, p.1 (1988).
- 3) Gay, G.L., Mckeown, K.A., Jones, A.J.S., Seeburg, P.H. and Heyneker, H.L.: *Pseudomonas aeruginosa* secretes and correctly processes human growth hormone. *Biotechnology* 2, 161(1984).
- 4) 이은방, 신국현, 정명숙, 김운자, 윤기영, 김정근: 효모에서 발현된 유전자 재 조합 인간 성장호르몬의 일반 약리작용. *약학회지* 34, 439(1990).
- 5) Dunham, N.W., Miya, T.S. and Edwards, C.D.: Pharmacological activity of a series of basic esters mono- and dialkyl malonic acid. *J. Am. Pharm. Assoc.*, 46, 208(1957).
- 6) Nahorski, S.R.: Behavioral sensitivity to apomorphine following cerebral dopaminergic denervation by 6-hydroxydopamine. *Psychopharmacologia* 42, 159(1959).
- 7) Whittle, B.A.: The use of changes in capillary permeability in mice to distinguish between narcotic and non-narcotic analgesics. *Brit. J. Pharmacol.*, 22, 246(1964).
- 8) Araki, Y. and Ueki, S.: Changes in sensitivity to convulsion in mice with olfactory bulb ablation. *Jap. J. Pharmacol.*, 22, 447(1972).

- 9) Swinyard, E.A., Brow, W.C. and Goodman, L.S.: Comparative assays of antiepileptic drugs in mice and rats. *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, **106**, 319 (1952).
- 10) Vane, J.R.: A sensitive method for the assay of 5-hydroxytryptamine, *Brit. J. Pharmacol.*, **12**, 344 (1957).
- 11) 粕谷 豊 : 醫藥品研究法, 伴義 雄 等 編, 朝倉書店, 東京, p.256(1968).
- 12) Cawleey, L.P., Spear, F.E. and Kendall, R.: Ultra-microchemical analysis of blood glucose with glucose oxidase. *Am. J. Clin. Pathol.*, **32**, 195(1956).
- 13) Kulakowski, E.C. and Maturo, J.: Hypoglycemic properties of taurine: Not mediated by enhanced insulin release. *Biochem. Pharmac.*, **33**, 2835(1984).
- 14) Underwood, I.E., hintz, R.L., Voina, S.J. and Vanwyk, J.J.: Human somatomedin, the growth hormone-dependent sulfation factor, is anti-lipolytic. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **35**, 194(1972).
- 15) Wieland, O.H.: *Method of Enzymatic Analysis*, 3rd Ed., Verlag Chemie, Weinheim, Vol. 6, p.540(1984).
- 16) Kostyo, J.L., Skottner, A., Brostedt, P., Roos, R., Cameron, C.M., Forsman, A., Fryklund, L., Adamafio, N.A. and Skoog, B.: Biological characterization of a sulfoxide and a desamino derivative of biosynthetic human growth hormone. *Biochem. Biophys. Acta*, **925**, 314(1987).
- 17) Becker, G.W., Tackitt, P.M., Bromer, W.W., Lefebber, D.S. and Riggan, R.M.: Isolation and characterization of a sulfoxide and a desamino derivative of biosynthetic human growth hormone. *Biotech. Appl. Biochem.*, **20**, 326(1988).
- 18) Olson, K.C., Fenno, J., Lin, N., Harkins, R.N., Snider, C., Kohr, W.H., Ross, M.J., Fodge, D., Prender, G. and Stebbing, N.: Purified human growth hormone from *E. Coli* is biologically active. *Nature* **293**, 408(1981).
- 19) Moore, J.A., Rudman, C.G. MacLachlan, N.J., Fuller, G.B. Burrnett, B. and Frane, J.W.: Equivalent potency and pharmacokinetics of recombinant human growth hormone with or without an N-terminal methionine. *Endocrinol.*, **122**, 2920(1988).
- 20) Birnbaum, R.S. and Goodman, H.M.: Studies on the mechanism of the antilipolytic effect of growth hormone. *Endocrinol.*, **99**, 1336(1976).
- 21) Goodman, H.M.: The effects of growth hormone on the lipolytic response of adipose tissue to theophylline. *Endocrinol.*, **82**, 1027(1968).