

랫드에서 인체 재조합 적혈구 조혈인자, rHuEPO의 13주 정맥투여 아만성독성에 관한 연구

김형식 · 궤승준 · 천선아 · 박현선 · 한하수 · 임소영 · 안미영 · 김원배* · 김병문*
안병옥* · 홍성렬** · 이병무

성균관대학교 약학대학, *동아제약(주)연구소, **성균관대학교 생명과학대학

Toxicity of Recombinant Human Erythropoietin (rHuEPO) in Rats for 13 Weeks

Hyung-Sik Kim, Seung-Jun Kwack, Sun-Ah Chun, Hyun-Sun Park, So-Young Lim,
Ha-Su Han, Mi-Young Ahn, Won-Bae Kim*, Byoung-Moon Kim*,
Byoung-Ok Ahn*, Sung-Youl Hong** and Byung-Mu Lee

Division of Toxicology, School of Pharmacy, Sungkyunkwan University, Kyunggi-Do,
Suwon 440-746, Korea

*Dong-A Pharm. Co., LTD., 47-5, Sanggal-Ri, Kiheung-Up, Yongin-Gun,
Kyunggi-Do, 449-900, Korea

**Department of Genetic Engineering, Sungkyunkwan University,
Kyunggi-Do, Suwon 440-746, Korea

(Received May 23, 1998)

(Accepted July 27, 1998)

ABSTRACT : A recombinant human erythropoietin (rHuEPO) was administered intravenously at dosage levels of 0, 100, 500, and 2500 IU/kg/day for a period of 13 weeks. There were no observed clinical signs and deaths related to treatment in all groups tested. Decreases in body weight gain and food consumption were observed only in males of 2,500 IU/kg group after 2 weeks. In hematological parameters, erythrocyte content, hematocrit values and hemoglobin concentration were dose-dependently increased in rHuEPO treated groups. The ratio between kidney weight and whole body weight was significantly increased in females of 500 and 2,500 IU/kg groups. The spleen weight was also increased in both sexes of 500 and 2,500 IU/kg groups. However, the absolute weight change of other organs was not observed. In histopathological examinations, the renal tubular basophilia was observed only in males and females of 2,500 IU/kg groups. From these results, it is concluded that the no-observed adverse effect level (NOAEL) of rHuEPO is 100 IU/kg in rats in the present study.

Key Words : Recombinant human erythropoietin, NOAEL

I. 서 론

유전자재조합 인체 erythropoietin(rHuEPO)은 내분비성 성장호르몬인 glycoprotein의 일종으로 erythropoiesis 증가를 유도한다. Erythropoietin은 대부분 신장의 peritubular 세포에서 생합성되어 순환계로 분비되며 일부는 간과 macrophage에서도 합성된다(Erslev 등, 1980). 일반적으로 erythrocytes의 생성 및 분화는 erythropoiesis에 의해 이루어지며 이와같은 과정에 의해 조직으로

산소공급을 원활하게 유지시켜 준다. 또한 조직의 hypoxia에 의한 빈혈시 erythropoietin이 erythrocytes 분화를 유도한다. 인체 erythropoietin은 분자량이 30.4 KD으로 적혈구 원적세포인 erythroid burst-forming units(BFU-E)와 erythroid colony-forming units(CFU-E)의 분화와 증식을 촉진한다(Davis 등, 1987). Erythropoietin은 대부분 신장에서 생성된 후 순환계로 분비된다. 따라서 신부전성 빈혈은 erythropoietin의 상대적인 결핍에 의해 유도된다고 할 수 있다. 현재, erythropoietin제제는 만성신장 부전과 관련된 빈혈 및 혈우병환자에게 효과가 있는 것으로 보고되어 있으며

**To whom correspondence should be addressed

HIV환자에서 2차적으로 유발되는 빈혈 등에도 효과가 있는 것으로 보고되어 있다(Winearls, 1988; Evans 등, 1990). 또한 암환자에서 cisplatin투여에 의해 유도된 만성 신질환에 의한 빈혈치료 등에 다양하게 이용되고 있다(Holley 등, 1994; Cascinu 등, 1995).

현재 유전자재조합 기술의 발달에 따라 많은 종류의 생물학적 제제가 개발되어 있으나 이들 제제는 대부분 수입에 의존하고 있어 고가의 의약품에 속하며 또한 장기간의 치료가 요구되므로 그 사용에 제약이 많다. 따라서 보다 저렴한 가격으로 효능이 우수한 rHuEPO 제제의 개발은 우리나라 의약분야에서 매우 시급한 과제 중 하나이다. 본 연구에 사용된 rHuEPO는 동아제약(주)에서 유전자재조합 기술에 의해 생산된 제제이다. 따라서 본 제제에 대한 전임상시험의 일환으로서 랫드에 대한 13주 정맥투여 아만성독성시험을 실시하여 그 안전성을 평가하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시험물질

시험물질인 rHuEPO(10,000 IU/ml)는 무색, 무취의 액체로 동아제약(주)으로부터 공급받은후 즉시 -20°C에서 보관하였다.

2. 실험동물

Sprague-Dawley 랫드(체중 160~170 g)를 해은무역(주)으로부터 구입하여 2주간 순화사육한 후 건강한 동물에 대하여 체중을 측정하고 평균체중에 가까운 개체를 선택하여 무작위법을 이용, 군분리를 실시하였다. 실험동물실 환경조건은 실내온도 $23 \pm 1^\circ\text{C}$, 상대습도 $55 \pm 5\%$, 배기 10~18회/hr으로 하였으며, 자동으로 12시간씩 명암을 주기적으로 조정하였다. 조도는 200~300 Lux로 하였다. 모든 실험동물은 폴리카보네이트 사육상자(280 W × 420 L × 170 H mm)에서 사육하였으며 사료는 삼양실험동물용사료를 구입하여 자유공급 하였으며, 음용수는 멸균수도수를 자유섭취시켰다.

3. 시험군의 구성, 투여농도 및 용량

순화기간 중 건강하다고 판정된 시험동물에 대하여 4개의 시험군을 설정하였다. rHuEPO의 투여용량은 2,500 IU/kg을 고용량군으로 하고 500 IU/kg 및 100 IU/kg의 3 용량군과 용매대조군을 설정하여 1군당 암,

수 각각 12마리로 하였다. 본 시험물질의 투여용량은 임상용량의 2, 10, 50배이다. 시험물질의 조제는 매일 투여직전에 희석용 완충액에 희석하였다. 투여는 미정맥으로 1일 1회 13주간 투여하였으며 투여량 (1 ml/kg)은 투여직전의 체중에 따라 산출하였다.

4. 관찰항목

1) 증상관찰, 체중, 사료섭취량 및 물섭취량
증상은 매일 시험물질 투여후 일정시간마다 관찰하였다. 체중은 시험 시작전과 시험기간동안에는 주당 3회 측정하였으며, 사료 및 물섭취량은 매일 측정후 1일간의 평균섭취량을 합하여 군당 평균섭취량으로 산출하였다.

2) 안과학적검사

모든 동물에 대하여 시험물질 투여전과 시험물질 투여후부터는 주당 1회 및 부검전에 검안경을 사용하여 육안적으로 검사하였다.

3) 혈액학적검사

13주간 투여종료 후에 모든 동물에 대하여 ether로 마취하고 복대동맥으로부터 채혈하여 EDTA-3K로 항응고처리된 bottle에 취한 후 coulter counter를 이용하여 적혈구수, hemoglobin량, hematocrit치, 평균적혈구 헤모글로빈양(MCH), 평균적혈구용적(MCV), 평균적혈구혈색소농도(MCHC), 백혈구수 및 혈소판수 등을 측정하였으며, 혈액응고시간을 측정하기위해 따로 sodium citrate로 항응고 처리한 혈액으로부터 프로트롬빈시간(prothrombin time)과 활성화 부분 트롬보플라스틴(activated partial thromboplastin time)을 측정하였다.

4) 혈액생화학적검사

혈액학적검사와 동시에 혈청을 분취하여 총단백, albumin, 혈당, 총콜레스테롤, triglyceride, 요소질소, creatinine, 총 bilirubin, aspartate transaminase(AST), alanine transaminase(ALT), alkaline phosphatase(ALP), lactic dehydrogenase(LDH), sodium, potassium 및 calcium에 대하여 측정하였다.

5) 육안적부검조건

시험물질 투여종료 후 모든 동물을 ether로 마취하여 방혈치사시켜 부검하고 동시에 주요장기(심장, 간장, 비장, 신장, 췌장, 위, 폐, 부신, 정소, 난소, 뇌, 전립선, 뇌하수체)에 대하여 외견상의 이상소견을 관찰하였다.

6) 장기중량의 변화

시험종료 후 주요장기(심장, 간장, 비장, 신장, 췌장, 위, 폐, 부신, 정소, 난소)에 대하여 중량을 측정하였다. 또한 체중에 대한 상대중량을 측정하였다.

7) 뇨검사

시험물질 투여종료 후 1군당 5마리를 선별하여 24시간 동안의 신선뇨를 채뇨한 후 (약 4~5 ml), 색조, pH, 당, 단백질, ketone체, bilirubin, nitrite 및 urobilinogen 등을 측정하였다.

8) 병리조직학적검사

투여기간종료 후 모든 동물을 부검하여 전신의 주요 장기를 적출한후 10% 중성완충 포르말린액에 고정하였다. 먼저 고용량군 및 대조군에 대해 피부, 유선, 상피소체, 혀, 식도, 방광, 자궁, 질, 안구, 입파절, 타액선, 골, 골수, 흉선, 기관, 폐 및 기관지, 심장, 갑상선, 위, 십이지장, 소장, 대장, 간장, 췌장, 비장, 신장, 부신, 정낭, 전립선, 정소, 난소, 뇌, 하수체, 척수, 및 부속기관을 검사하고 고용량군에서 유의한 변화가 인정된 장기에 대해 중용량군과 저용량군으로 확대검사하였다.

5. 통계학적검사

체중, 혈액학적검사, 혈액생화학적검사 및 장기중량에 대해서는 ANOVA 분석에 따라 검정을 하고, Dunnet's test에 의해 투여군과 대조군간의 유의차를 검정하였다.

III. 결 과

1. 증상관찰, 체중, 사료섭취량 및 물섭취량

모든 투여군에서 시험기간 중 사망동물은 없었다 (Table 1). 시험물질 투여 개시 후 일정시간 마다 관찰한 임상증상에서는 용매대조군과 비교할 때 외견상의 뚜렷한 차이점은 관찰되지 않았다. 그러나, 시험개시 후 9주부터는 수컷 고용량투여군의 2마리에서 활동성 저하 및 탈모증상이 관찰되었다. 이들 동물의 체중증가는 현저하게 억제되었으며 이와같은 경향은 시험종료시까지 계속되었다. 또한, 시험개시 후 4주부터 용매대조군과 시험물질투여군의 일부동물에서 투여부위에 충혈이 관찰되었으며, 피부혈관의 확장이 관찰되었다. 이들 소견은 시험기간 중 일부는 점차 소실하였거나 재발하는 경향이 있었다(Table 2).

시험기간 중 체중의 변화는 암컷의 고용량군에서 시험개시 후 4주부터 용매대조군에 비해 점차 감소하

Table 1. Mortality of Sprague-Dawley rats treated with rHuEPO for 13 weeks

Sex	Dosage (U/kg)	Weeks														Mortality		
		Start	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13			
Male	Control ^a	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	100	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	500	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	2,500	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
Female	Control	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	100	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	500	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	2,500	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10

^aControl: Treated with rHuEPO dilution buffer.

Table 2. Clinical signs of Sprague-Dawley rats treated intravenously with rHuEPO for 13 weeks

Sex	Dosage (U/kg)	Animal numbers with clinical sign																
		(Hours)					(Weeks)											
		2	4	8	16	24	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Male	Control ^a	0/10 ^b	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	100	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	500	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	2,500	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	2/10 ^c	2/10	2/10	2/10	2/10	2/10	2/10	2/10	2/10	2/10	2/10	2/10
Female	Control	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	100	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	500	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	2,500	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10

^aControl: Treated with rHuEPO dilution buffer.

^b0/10: no clinical signs were observed in 10 animals treated with rHu-EPO.

^c2/10: At 2,500 U/kg, decrease of body weight and eye pallor were observed.

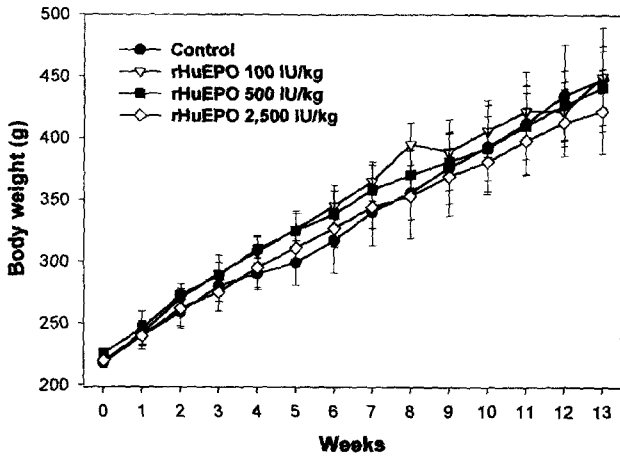


Fig. 1. Body weight changes in Sprague-Dawley male rats intravenously treated with rHuEPO for 13 weeks.

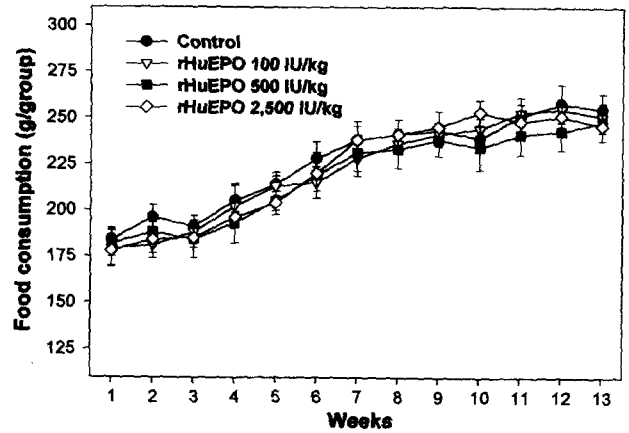


Fig. 3. Food consumption of Sprague-Dawley male rats intravenously treated with rHuEPO for 13 weeks. Data indicate the total food intake per group.

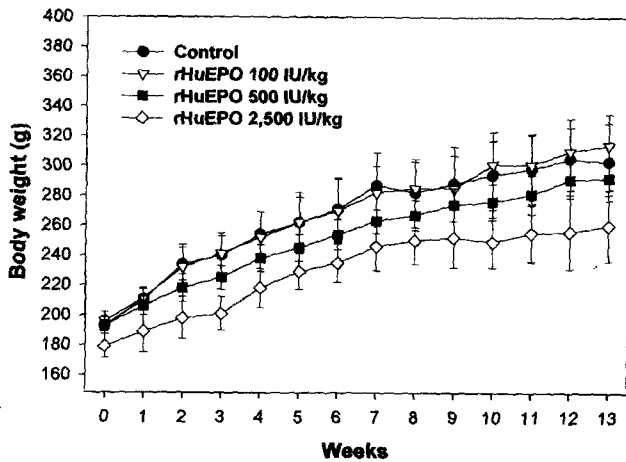


Fig. 2. Body weight changes in Sprague-Dawley female rats intravenously treated with rHuEPO for 13 weeks.

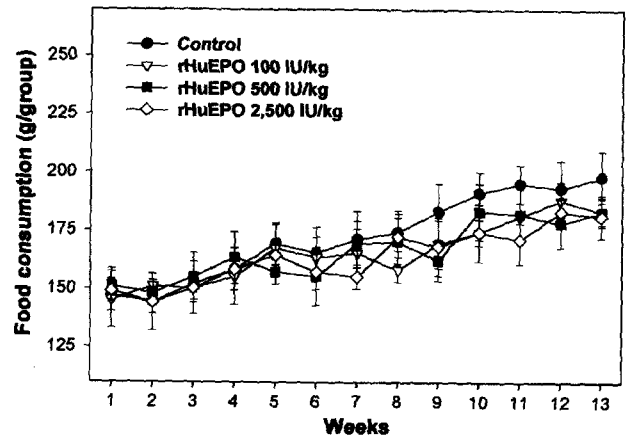


Fig. 4. Food consumption of Sprague-Dawley female rats intravenously treated with rHuEPO for 13 weeks.

는 경향을 나타내었다. 이와같은 경향은 최종일까지 지속되었으나 통계학적 유의성은 없었다. 기타 시험물질 투여군에서는 모두 용매대조군과 유사한 경향을 나타냈다(Figs. 1, 2). 평균사료섭취량은 전체 시험기간 중 시험물질 투여군과 대조군간의 유의성 있는 변화를 나타내지 않았다(Figs. 3, 4). 또한 물섭취량에 있어서도 군간 유의적인 차이는 없었다(Data not present).

2. 안과학적검사

전체 시험기간 동안 시험물질 투여 후 정기적으로 관찰한 안과학적 소견에서 대조군과 약물투여군간의 차이점은 발견할 수 없었다. 다만 시험물질 투여후 9주부터 수컷 고용량투여군의 2마리에서 안구색소의 창백이 관찰되었다.

3. 혈액학적검사

시험물질을 랫드에 13주간 투여 후 분석한 혈액학적 소견에서는 WBC 값이 암컷의 저용량군과 중간용량군에서 대조군보다 유의성있게 증가하였으며($P < 0.05$), 수컷에서는 모든 시험물질투여군에서 대조군보다 전반적으로 증가하였으나 유의성은 없었다. 적혈구수(RBC)의 변화에 있어서는 수컷과 암컷의 모든 투여군에서 대조군에 비해 용량의존적으로 유의성 있게 증가하였다($P < 0.01$). 특히 암컷의 고용량군과 중간용량군에서는 수컷에서보다 현저하게 증가하였다. 또한, 헤모글로빈 수치는 수컷과 암컷의 저용량군, 중용량군 및 고용량군에서 모두 대조군보다 유의성있게 증가하였으며, 헤마토크리트치도 수컷과 암컷의 저용량군, 중용량군 및 고용량군에서 모두 유의성있게 증가하였다($P < 0.01$). MCV 및 MCHC치는 모든 시험물질 투여군에

서 대조군과 거의 유사하였다. PLT값은 수컷의 저용량군과 중용량군에서 대조군에 비해 감소하는 경향을 나타냈으나 고용량군에서는 변화가 없었다. 또한 암컷의 모든 시험물질 투여군에서는 대조군과 유사하였다.

시험물질 투여에 의한 프로트롬빈시간의 변화에 있어서는 수컷과 암컷의 모든 시험물질 투여군에서 대조군에 비해 약간 증가하였으며, 활성화 부분 프로트롬빈시간은 수컷의 저용량군 및 암컷의 저용량군과 중용량군에서 유의성있게 증가하였으나 고용량군에서는 유의성 있는 차이를 보이지 않았다(Table 3).

4. 혈액생화학적검사

시험물질 투여에 의한 혈액생화학적 소견 결과는 Table 4에서 보는 바와 같다. 총단백질함량 변화는 대조군과 비교하여 모든 시험물질 투여군에서 유의성 있는 차이를 나타내지는 않았다. 또한 albumin량에 있어서도 시험물질투여군과 대조군 모두 정상적인 범위내에 속하였다. Aspartate aminotransferase(AST)는 암컷의 중용량군과 고용량군에서 대조군에 비해 유의하게 증가하였다($P<0.05$). 수컷의 모든 투여군에서는 대조군보다 약간 증가하였으나 유의성은 없었다. 또한 alanine aminotransferase(ALT)의 함량은 암컷의 중용량군과 고용량군에서 대조군에 비해 유의성 있게 증가하였으며 대체적으로 AST의 활성변화와 유사한 결과를 나타내었다. 그러나 이들 변화는 모두 정상적인 범위

내에 속하였다. ALP는 암컷의 중용량군과 고용량군에서 대조군보다 약간 증가하였으나 유의성은 없었으며, 수컷의 모든 투여군에서는 대조군과 거의 유사하였다.

LDH는 암컷의 고용량군과 수컷의 중용량군 및 고용량군에서 대조군에 비해 유의성있게 감소하였다. Glucose치는 수컷과 암컷의 모든 시험물질투여군에서 용량의존적으로 감소하였다. 특히 수컷과 암컷의 중용량군과 고용량군에서는 유의성있는 감소를 나타내었다($P<0.05$, $P<0.01$). 총 cholesterol 및 bilirubin치는 수컷과 암컷에서 약간 증가하는 경향을 나타냈으나 유의성은 없었다. BUN치는 수컷과 암컷의 모든 투여군에서 용량의존적으로 증가하는 경향을 보였으나 대조군과 비교하여 유의성은 없었다. Triglyceride는 암컷의 고용량군에서만 대조군에 비해 유의성 있게 증가하였다. Uric acid는 암컷의 중용량군과 고용량군에서만 유의성있는 증가를 보였으나 모두 정상적인 범주내에 속하였다. 기타 K, Na, Ca 및 creatinine 등은 대조군과 시험물질 투여군간에 경미한 차이를 나타냈으나 모두 정상적인 범위 내에 속하였다. 또한 용량 의존적인 변화를 나타내지 않아 독성학적 측면에서 중요성이 없는 것으로 간주되었다.

5. 육안적 부검소견

시험물질을 13주간 투여 후의 육안적 해부소견에서는 수컷과 암컷의 모든 시험물질 투여군에서 비장의 비

Table 3. Hematological findings of male and female rats treated intravenously with rHuEPO for 13 weeks

Dosage (U/kg)	Item	Unit	Control ^a	100	500	2,500
Male	WBC	$10^3/\text{mm}^3$	12.1±2.1	13.1±3.1	15.6±5.0	15.1±8.0
	RBC	$10^9/\text{mm}^3$	7.7±0.4	10.4±1.0*	11.0±1.8*	11.5±2.4*
	Hgb	g/dl	14.3±0.8	19.9±1.9*	21.3±4.5**	23.1±2.7**
	Hct	%	39.7±1.9	60.0±6.0**	63.3±10.6**	49.2±19.4**
	MCV	fl	51.8±1.4	54.7±1.4	57.4±1.4	54.7±1.6
	MCH	pg	18.7±0.6	19.1±0.4	19.1±2.0	19.4±1.8
	MCHC	g/dl	36.1±0.9	34.9±0.5	33.3±3.0	35.1±2.6
	PLT	$10^7/\text{mm}^3$	991.8±165.1	750.4±217.5*	846.3±339.5	914.3±259.3
	Lymphocyte	%	80.8±2.1	68.2±6.1*	65.8±6.3*	75.9±8.4*
	PT	Sec	17.5±1.2	20.7±4.2	18.7±3.2	20.2±3.1
	PTT	Sec	25.0±1.3	32.6±5.2*	28.5±4.7	28.6±3.0
	Female	WBC	$10^3/\text{mm}^3$	7.8±1.5	11.9±1.8*	12.4±2.2
RBC		$10^9/\text{mm}^3$	6.6±0.3	9.6±1.3*	11.6±1.2*	12.9±1.8**
Hgb		g/dl	13.2±0.5	19.9±2.6*	23.9±1.7*	23.3±1.7*
Hct		%	37.0±1.3	57.7±7.8**	68.6±6.2**	61.5±11.0**
MCV		fl	56.6±1.4	60.1±1.2	60.3±4.1	57.1±4.6
MCH		pg	20.1±0.6	20.8±1.2	21.0±2.6	19.7±1.2
MCHC		g/dl	34.5±3.1	34.6±1.7	34.6±2.0	34.1±1.6
PLT		$10^7/\text{mm}^3$	662.3±237.6	667.8±102.8	654.3±234.0	639.3±212.7
Lymphocyte		%	87.2±2.7	80.7±3.7*	78.1±4.7*	90.2±2.6
PT		Sec	14.8±1.6	18.8±3.8	20.2±4.8	20.1±4.8
PTT		Sed	24.8±1.4	32.1±4.9*	36.3±4.1*	31.8±5.0

^aControl: Treated with rHuEPO dilution buffer.

Each value represents mean±S.D.

Statistically significant from control (* $P<0.05$, ** $P<0.01$).

Table 4. Biochemical serum values of male and female rats treated intravenously with rHuEPO for 13 weeks

Dosage (U/kg)	Item	Unit	Control ^a	100	500	2,500
Male	Total protein	g/dL	6.9±0.3	6.7±0.3	6.9±0.5	6.5±0.6
	Albumin	g/dL	3.5±0.1	3.5±0.1	3.6±0.2	3.5±0.1
	AST	IU/L	119.9±19.4	110.2±21.6	158.2±59.9	147.6±70.5
	ALT	IU/L	49.6±45.8	48.1±8.2	51.1±10.8	52.0±9.4
	LDH	IU/L	622.8±90.7	518.7±155.6	284.8±69.0**	307.6±77.8*
	ALP	IU/L	238.3±84.4	186.8±41.3	188.0±64.5	192.1±77.7
	Glucose	mg/dL	193.4±15.1	180.9±8.4	164.1±17.8*	163.0±32.7*
	Cholesterol	mg/dL	34.8±3.5	31.9±5.3	36.7±6.3	35.0±9.3
	Bilirubin	mg/dL	0.6±0.1	0.7±0.1	0.9±0.3	0.7±0.3
	BUN	mg/dL	16.9±1.1	18.4±2.0	20.5±3.5	21.9±7.1
	Creatine	mg/dL	0.3±0.1	0.4±0.1	0.4±0.1	0.5±0.1
	Triglyceride	mg/dL	73.3±23.4	72.2±28.1	63.3±17.5	81.7±41.9
	Uric acid	mg/dL	1.5±0.2	1.4±0.2	2.1±0.9	1.8±0.8
	K	nmol/L	5.0±0.4	5.6±0.2	6.2±1.8*	5.6±1.5
	Na	nmol/L	146.3±1.4	145.7±1.8	147.6±2.9	145.3±2.7
	Ca	nmol/L	10.4±0.3	10.7±0.2	10.7±0.5	10.6±0.5
	Cl	nmol/L	113.0±1.7	113.2±1.2	107.9±2.2	111.0±2.2
Phos.	mg/L	7.3±0.6	7.2±0.5	7.9±0.9	6.9±0.8	
Female	Total protein	g/dL	7.2±0.3	7.0±0.2	7.2±0.3	7.4±0.6
	Albumin	g/dL	3.7±0.2	3.7±0.1	3.7±0.1	3.7±0.2
	AST	IU/L	90.7±10.6	113.9±23.0	153.5±31.6*	191.5±68.7*
	ALT	IU/L	38.1±6.4	40.7±5.1	44.0±3.9*	49.2±15.0
	LDH	IU/L	508.2±183.1	554.2±117.6	449.7±114.0	391.1±134.4*
	ALP	IU/L	104.8±39.9	89.2±8.8	108.4±34.4	144.4±28.8
	Glucose	mg/dL	171.0±12.9	162.7±22.2	149.3±25.9*	113.8±47.1*
	Cholesterol	mg/dL	40.6±7.5	37.8±8.8	36.0±6.0	40.8±8.0
	Bilirubin	mg/dL	0.6±0.1	0.7±0.1	0.8±0.2	1.1±0.5
	BUN	mg/dL	15.1±2.7	17.1±3.2	16.3±1.8	22.0±4.2*
	Creatine	mg/dL	0.5±0.1	0.5±0.1	0.5±0.1	0.5±0.1
	Triglyceride	mg/dL	30.0±7.5	36.7±8.8	39.4±8.9	91.3±45.7*
	Uric acid	mg/dL	1.5±0.3	1.8±0.2	2.5±0.6*	2.9±1.4*
	K	nmol/L	4.3±0.4	5.1±0.3	6.4±0.8*	6.1±1.6*
	Na	nmol/L	145.1±2.3	143.3±1.5	145.5±5.9	150.5±5.9
	Ca	nmol/L	10.9±0.2	10.7±0.2	10.6±0.2	10.8±0.3
	Cl	nmol/L	111.7±2.5	112.2±1.8	114.4±5.1	111.9±2.2
Phos.	mg/L	5.9±0.5	6.5±0.4	7.0±0.6*	6.3±1.0	

^aControl: Treated with rHuEPO dilution buffer.

Each value represents mean ± S.D.

Statistically significant from control (*P<0.05, **P<0.01).

대가 관찰되었으며 그에 따라 충혈 및 출혈로 보이는 소견이 일부 동물에서 관찰되었다. 또한 폐의 해부소견에서는 수컷과 암컷의 대조군에서 각각 1예, 수컷과 암컷의 저용량군, 중용량군, 및 고용량군에서 각각 1-2예 pneumonia 소견이 관찰되었다. 수컷의 저용량군에서 우측 신장의 비대가 현저하였으며 중양으로 인정되는 소견이 1예 관찰되었다(Table 5). 이외의 다른 주요 장기에서는 모두 특징적인 이상소견은 보이지 않았다.

6. 장기중량의 변화

시험물질 투여에 의한 장기중량의 변화는 절대중량과 체중에 대한 상대중량으로 나타내었다. 절대중량 변화에서는 수컷의 저용량군에서 우측 신장이 대조군에 비해 유의성 있게 증가하였다(P<0.05). 비장의 중량은 수컷 및 암컷의 중용량군과 고용량군에서는 모두 유의성 있는 증가를 나타내었다(P<0.05, P<0.01). 기타 다른 장기에서는 대조군과 비교하여 경미한 차이를 보

였으나 모두 정상적인 범위내에 속하였다(Table 6).

체중에 대한 각 장기의 상대중량 변화에서는 절대중량 변화와 유사한 경향을 나타내었다. 다만 수컷과 암컷의 고용량군에서 간장의 중량이 대조군보다 유의성 있게 증가하였다(P<0.05). 또한 암컷의 고용량군에서는 좌측 신장의 중량이 유의성 있게 증가하였다(P<0.05). 심장과 폐의 상대중량은 암컷의 고용량군에서 유의성 있게 증가하였다(P<0.05). 비장의 중량 변화는 절대중량 변화와 유사하게 용량의존적인 증가를 나타내었으며, 암컷과 수컷의 중용량군과 고용량군에서 유의성 있는 증가를 나타내었다(P<0.05, P<0.01). 기타 장기의 체중에 대한 상대중량 변화에서는 대조군과 거의 유사하였다(Table 7).

7. 뇨검사

뇨분석은 13주간 시험물질 투여후 각 군당 5마리에 대하여 측정하였다. 뇨의 pH는 모든 시험군에서 6.0-

Table 5. Microscopic findings of Sprague-Dawley rats treated intravenously with rHuEPO for 13 weeks

Dosage (U/kg)	Organs	Unit:g				
		Control ^a	100	500	2,500	
Male	Adrenal gland	R.	0	0	0	0
		L.	0	0	0	0
	Kidney	R.	0	1 ^c	1 ^c	3 ^c
		L.	0	1 ^c	1 ^c	3 ^c
	Heart	0	0	0	0	
	Liver	0	0	0	0	
	Lung	1	2	2	2	
	Spleen	0	0	0	4	
	Testis	R.	0	0	0	0
		L.	0	0	0	0
	Stomach	0	0	0	0	
	Pancreas	0	0	0	0	
	Thymus	0	0	0	0	
	Female	Adrenal gland	R.	0	0	0
L.			0	0	0	0
Kidney		R.	0	1 ^b	1 ^c	3 ^c
		L.	0	1 ^c	1 ^c	3 ^c
Heart		0	0	0	0	
Liver		0	0	0	0	
Lung		1	2	1	1	
Spleen		0	0	0	6	
Testis		R.	0	0	0	0
		L.	0	0	0	0
Stomach		0	0	0	0	
Pancreas		0	0	0	0	
Thymus		0	0	0	0	

^aControl: Treated with rHuEPO dilution buffer.Kidney: ^bneoplasia (Wilms' tumor); ^ccongestion, Lung: pneumonia, Spleen: congestion.

7.0의 범위에 속하였다. 단백질은 수컷의 고용량군 2예와 암컷의 중용량군 및 고용량군에서 각각 2예가 75 mg/dl로 높은 수치를 나타내었다. 또한 glucose치는 수컷의 저용량군과 중용량군에서 각각 1예가 50 mg/dl의 범위에 속하였으며, 기타 다른 시험군에서는 모두 정상이었다. Ketone체는 수컷의 대조군 및 고용량군에서 각각 1예가 5 mg/dl의 수치를 나타내었으며 암컷의 대조군, 저용량군 및 고용량군에서 각각 1예가 5 mg/dl의 수치를 나타내었다. Bilirubin치는 암컷의 저용량군과 중용량군에서 각각 1예가 1 mg/dl의 수치를 나타내었다. 이들 변화는 용량의존성이 없었으며 모두 정상범위에 속하여 시험물질에 기인한 소견으로 인정되지 않았다. 이외의 다른 항목들은 모두 대조군과 유사하였다 (Table 8).

8. 병리조직학적검사

육안적 해부소견에서 이상이 있었던 결과와 유사하게 수컷과 암컷의 대조군 및 약물투여군에서 각각 1-2예에서 폐 pneumonia 소견이 관찰되었다. 또한 암컷의 저용량군에서 우측 신장에 Wilms' tumor가 관찰되었다. 기타 다른 장기에서는 대조군과 비교할 때 시험

Table 6. Absolute organ weight of Sprague-Dawley rats treated intravenously with rHuEPO for 13 weeks

Dosage (U/kg)	Organs	Unit:g				
		Control ^a	100	500	2,500	
Male	Adrenal gland	R.	0.04±0.01	0.04±0.01	0.04±0.01	0.04±0.01
		L.	0.04±0.01	0.04±0.01	0.04±0.01	0.04±0.01
	Kidney	R.	1.52±0.03	1.60±0.09*	1.46±0.09	1.56±0.19
		L.	1.49±0.06	1.38±0.45	1.47±0.09	1.57±0.16
	Heart	1.36±0.05	1.41±0.11	1.42±0.13	1.46±0.17	
	Liver	13.37±0.79	13.41±0.83	13.22±1.14	13.63±2.79	
	Lung	2.03±0.09	1.87±0.15	2.07±0.13	2.00±0.22	
	Spleen	0.95±0.09	0.97±0.11	1.54±0.21**	2.01±0.94**	
	Testis	R.	1.54±0.13	1.46±0.07	1.40±0.10	1.41±0.14
		L.	1.52±0.13	1.45±0.09	1.40±0.10	1.40±0.13
	Stomach	1.62±0.17	1.75±0.15	1.79±0.20	1.79±0.25	
	Pancreas	0.78±0.12	0.89±0.17	0.87±0.15	0.98±0.44	
	Thymus	0.42±0.06	0.39±0.07	0.35±0.05	0.33±0.05	
	Female	Adrenal gland	R.	0.03±0.01	0.03±0.01	0.03±0.01
L.			0.04±0.01	0.04±0.01	0.03±0.01	0.04±0.01
Kidney		R.	0.95±0.31	1.06±0.08*	1.05±0.06	0.99±0.03
		L.	1.05±0.09	1.03±0.09	1.02±0.06	1.01±0.05
Heart		0.97±0.08	0.80±0.13	1.02±0.05	1.04±0.09	
Liver		8.63±0.75	8.77±0.95	9.17±0.52	8.75±1.50	
Lung		1.44±0.10	1.64±0.15	1.54±0.09	1.49±0.18	
Spleen		0.81±0.13	0.85±0.10	1.21±0.23*	2.09±0.43**	
Testis		R.	0.06±0.01	0.06±0.01	0.06±0.01	0.06±0.01
		L.	0.06±0.01	0.06±0.01	0.06±0.01	0.06±0.01
Stomach		1.52±0.16	1.55±0.14	1.52±0.20	1.60±0.31	
Pancreas		0.68±0.40	0.52±0.10	0.52±0.10	0.47±0.06	
Thymus		0.33±0.04	0.39±0.07	0.36±0.05	0.30±0.08	

^aControl: Treated with rHuEPO dilution buffer.

Each value represents mean ± S.D.

Statistically significant from control (*P<0.05, **P<0.01).

Table 7. Relative organ weight of Sprague-Dawley rats treated intravenously with rHuEPO for 13 weeks

Dosage (U/kg)	Organs	Unit:g			
		Control ^a	100	500	2,500
Male	Adrenal gland R.	0.008±0.001	0.009±0.001	0.009±0.002	0.010±0.002
	L.	0.008±0.002	0.008±0.002	0.008±0.001	0.009±0.001
	Kidney R.	0.341±0.036	0.355±0.033	0.331±0.020	0.371±0.049
	L.	0.335±0.033	0.324±0.066	0.334±0.088	0.373±0.049
	Heart	0.306±0.029	0.320±0.044	0.323±0.025	0.348±0.049
	Liver	2.978±0.225	3.035±0.319	2.998±0.174	3.216±0.565*
	Lung	0.458±0.050	0.453±0.039	0.448±0.081	0.477±0.074
	Spleen	0.214±0.021	0.222±0.035	0.350±0.044*	0.475±0.223*
	Testis R.	0.345±0.043	0.328±0.039	0.317±0.032	0.335±0.029
	L.	0.342±0.041	0.328±0.043	0.319±0.035	0.332±0.032
	Stomach	0.366±0.059	0.375±0.039	0.409±0.058	0.424±0.059
	Pancreas	0.176±0.036	0.171±0.027	0.200±0.043	0.237±0.121
	Thymus	0.094±0.014	0.092±0.016	0.080±0.012	0.079±0.012
Female	Adrenal gland R.	0.011±0.002	0.010±0.003	0.010±0.003	0.013±0.002
	L.	0.012±0.003	0.011±0.003	0.010±0.003	0.014±0.002
	Kidney R.	0.345±0.031	0.313±0.081	0.335±0.078	0.382±0.045
	L.	0.347±0.035	0.307±0.079	0.326±0.076	0.391±0.047*
	Heart	0.322±0.027	0.227±0.058	0.325±0.076	0.405±0.074*
	Liver	2.858±0.246	2.585±0.667	2.910±0.661	3.352±0.478*
	Lung	0.477±0.046	0.492±0.126	0.491±0.107	0.572±0.062*
	Spleen	0.270±0.055	0.255±0.069	0.386±0.124*	0.798±0.132*
	Testis R.	0.021±0.003	0.017±0.005	0.017±0.005	0.061±0.003
	L.	0.020±0.003	0.017±0.005	0.017±0.005	0.015±0.004
	Stomach	0.501±0.047	0.457±0.115	0.486±0.134	0.618±0.133*
	Pancreas	0.223±0.114	0.156±0.046	0.163±0.053	0.182±0.025
	Thymus	0.113±0.017	0.107±0.029	0.115±0.030	0.116±0.024

^aControl: Treated with rHuEPO dilution buffer.

Each value represents mean ± S.D.

Statistically significant from control (*P<0.05, **P<0.01).

Table 8. Urinalysis of Sprague-Dawley rats treated intravenously with rHuEPO for 13 weeks

Sex	Dosage	No. of animals	Male				Female			
			Control ^a	100	500	2,500	Control	100	500	2,500
			5	5	5	5	5	5	5	5
Specific gravity	1.010	3	1	4	4	2	3	2	4	
	1.015	2	3	0	1	1	0	2	1	
	1.020	0	1	1	0	2	2	1	0	
	1.025	0	0	0	0	0	0	0	0	
	1.030	0	0	0	0	0	0	0	0	
pH	6.0	0	0	1	0	1	1	1	0	
	6.5	3	4	4	3	4	3	3	4	
	7.0	2	1	0	2	0	1	1	1	
	7.5	0	0	0	0	0	0	0	0	
Protein	8.0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	-	2	1	1	0	2	1	1	1	
	25 mg/dl	3	2	3	3	3	3	1	1	
	50	0	2	1	0	0	1	1	0	
Glucose	75	0	0	0	2	0	0	2	2	
	normal	5	4	4	5	5	5	5	5	
	50 mg/dl	0	1	1	0	0	0	0	0	
Ketone	100 mg/dl	0	0	0	0	0	0	0	0	
	-	4	5	5	4	4	4	5	4	
	5 mg/dl	1	0	0	1	1	1	0	1	
Urobilinogen	10 mg/dl	0	0	0	0	0	0	0	0	
	normal	5	5	5	5	5	5	5	5	
	1 mg/dl	0	0	0	0	0	0	0	0	
Bilirubin	4 mg/dl	0	0	0	0	0	0	0	0	
	-	5	5	5	5	5	4	4	5	
	1 mg/dl	0	0	0	0	0	1	1	0	
Nitrite	5 mg/dl	0	0	0	0	0	0	0	0	
	-	5	5	5	5	5	5	5	5	
	+	0	0	0	0	0	0	0	0	

^aControl: Treated with rHu-EPO dilution buffer.

Table 9. Histopathological findings in Sprague-Dawley male rats treated intravenously with rHuEPO for 13 weeks

Sex Dosage No. of animals	Male															
	Control ^a				100				500				2,500			
	10				10				10				10			
	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++
Kidney																
Chronic nephritis	10	0	0	0	9	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
Pyelonephritis	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
Calcification in renal tubuli	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
Pyelitis	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
Liver																
Vasculitis	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
Necrosis	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
Lung																
Pneumonia	9	1	0	0	8	2	0	0	8	2	0	0	8	2	0	0
Foamy cells	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
Spleen																
Hemosiderosis	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
Extramedullary hematopoiesis	10	0	0	0	10	2	4	4	2	0	2	6	0	2	4	4
Testis																
	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
Stomach																
	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
Pancreas																
	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
Thymus																
Agonal hemorrhage	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0

-. normal, +: Slight, ++: Moderate, +++: Severe.

^aControl: Treated with rHu-EPO dilution buffer.

물질 투여에 의한 직접적인 결과라고 인정되는 소견은 없었다. 반면에 시험물질 투여와 관련된 반응이 비장과 신장에서 발견되었다. 비장에서는 수컷과 암컷의 고용량투여군에서 조혈세포의 현저한 증가가 관찰되었으며, 또한 거대적아구의 형성이 보였다. 그러나 수컷과 암컷의 일부 고용량군에서는 오히려 이들 현상이 반전된 것을 볼 수 있었다. 그외의 장기에서는 비정상적인 이상소견은 보이지 않았다(Table 9).

III. 고 찰

본 시험은 유전자 재조합 인체 erythropoietin(이하 rHu-EPO)의 랫드에 대한 13주 아만성독성을 평가하기 위하여 국립보건안전연구원 고시 제 94-3호 '의약품 등의 독성시험기준'에 따라 실시하였다(National Institute of Safety Research, 1994). 시험물질 투여 후 임상증상에서는 용매대조군과 비교할 때 외견상의 뚜렷한 차이 점은 관찰되지 않았으나, 시험개시후 9주부터는 수컷 고용량군 일부에서 활동성저하 및 탈모증상이 관찰되

었다. 이들 동물의 체중증가는 현저하게 억제되었으며 이와같은 경향은 시험종료시까지 계속되었다. 시험기간중 암컷의 고용량군에서 시험개시후 4주부터 용매대조군에 비해 체중의 증가량이 점차 감소하는 경향을 나타내었다. 이와같은 현상은 시험물질 투여에 의한 영향이라기보다는 시험물질 투여시 stress가 체중증가를 억제한 것이라고 사료되었다.

혈액학적 소견에서는 시험물질 고유의 약리작용에 의한 지표인 적혈구수, 헤모글로빈 및 헤마토크리트치가 수컷과 암컷의 모든 시험물질 투여군에서 유의성있게 증가하였다. MCH는 적혈구수에 대한 hemoglobin 농도로 암컷의 고용량투여군에서 감소하였으나 유의성은 없었으며 기타 다른 투여군에서도 대조군과 유의성있는 차이를 나타내지는 않았다. MCH의 감소는 hemoglobin 농도와 적혈구수의 불균형에 의해서 나타날 수 있다. 일반적으로 hemoglobin 농도의 저하에 의한 것이라기보다는 적혈구수의 증가에 의해 일어난다. 따라서 암컷의 고용량군에서 나타난 감소현상은 상대적으로 과도한 적혈구수의 증가가 MCH수치에 영향을

Table 10. Histopathological findings in Sprague-Dawley female rats treated intravenously with rHuEPO for 13 weeks

Sex Dosage No. of animals	Female															
	Control ^a				100				500				2,500			
	10				10				10				10			
	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++
Kidney																
Chronic nephritis	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
Pyelonephritis	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
Calcification in renal tubuli	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
Pyelitis	10	0	0	0	9	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
Liver																
Vasculitis	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
Necrosis	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
Lung																
Penumonia	9	1	0	0	8	2	0	0	9	1	0	0	9	1	0	0
Foamy cells	10	0	0	0	9	0	0	1	10	0	0	0	10	0	0	0
Spleen																
Hemosiderosis	10	0	0	0	9	0	1	0	8	0	2	0	8	0	2	0
Extramedullary hematopoiesis	9	1	0	0	3	2	2	5	0	0	6	4	0	2	5	3
Testis																
	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
Stomach																
	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
Pancrease																
	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
Thymus																
Agonal hemorrhage	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0

-: normal, +: Slight, ++: Moderate, +++: Severe.
^aControl: Treated with rHu-EPO dilution buffer.

준 것으로 사료된다. 이와같은 결과는 Mino 등(1990)의 보고에서와 같이 rHuEPO 투여에 의해 나타나는 일 반적인 약리현상으로 평가되었다. 혈액생화학적 소견 으로 AST는 암컷의 중용량군과 고용량군에서 대조군 에 비해 유의하게 증가하였다(P<0.05). 수컷의 모든 투 여군에서는 대조군보다 약간 증가하였으나 유의성은 없었다. LDH는 암컷의 고용량군과 수컷의 중용량군 및 고용량군에서 대조군에 비해 유의성있게 감소하였 다. 이 효소의 감소는 혈장 glucose의 감소와 유사한 결과를 나타내었다. Glucose치는 수컷과 암컷의 모든 시험물질투여군에서 용량의존적으로 감소하였다. 이와 같은 혈중 glucose의 감소는 적혈구수의 증가에 따라 상대적으로 glucose 소비를 증가시켜 혈중 glucose 농 도가 감소되었기 때문이라고 사료되며, 또한 rHuEPO 투여에 의해 유도된 growth hormone이 insulin growth factor의 분비를 활성화시켜 상대적으로 혈중 glucose 치를 저하시킨 것으로 사료된다. 이 결과는 본시험물 질인 rHuEPO를 30일간 정맥투여한 Kim 등(1996)의 보고와 일치하였으며, Kokot 등(1995)의 실험결과와도

일치였다. Lim 등(1994)은 실험동물인 랫드에 rHu-EPO를 4주 동안 매일 반복투여할 때 혈중 glucose 함 량이 무처리 대조군에 비해 유의성있게 증가하였다고 보고한 바 있다. 이 결과는 rHuEPO의 부형제로 이용 되는 albumin이 혈중 glucose를 증가시킨 것으로 평가 하였으며, 용매대조로 albumin을 투여한 시험군에서도 혈중 glucose 함량이 높게 나타난 결과와 일치하였다고 보고한 바 있다.

시험물질을 13주간 투여 후의 육안적 해부소견에서 는 수컷과 암컷의 모든 시험물질 투여군에서 비장의 비대가 관찰되었으며 그에 따라 총혈 및 출혈로 보이 는 소견이 일부 동물에서 관찰되었다. 이것은 대조군 에서는 전혀 보이지 않은 소견이므로 시험물질 투여에 의해 조혈세포의 현저한 증가에 따라 유발된 것으로 사료된다. 장기중량변화에서, 절대중량 변화에서는 수 컷의 저용량군에서 우측 신장이 대조군에 비해 유의성 있게 증가하였다. 또한 비장의 중량은 수컷과 암컷의 중용량군과 고용량군에서는 모두 유의성있는 증가를 나타내었다. 이것은 rHuEPO 투여에 의해 조혈세포의

현저한 증가에 의한 원인으로 사료되었다. 또한 상대증량 변화는 절대증량변화와 유사한 경향을 나타내었다. 다만 수컷과 암컷의 고용량군에서 간장의 증량이 대조군보다 유의성 있게 증가하였다($P < 0.05$). 이들 장기의 체중에 대한 상대증량 변화는 모두 시험물질 투여에 의해 상대적으로 증가된 혈류량에 의한 원인으로 사료되며 시험물질에 의한 직접적인 독성증상으로는 판단되지 않았다. 이 결과는 본시험물질인 rHuEPO를 30일간 정맥투여한 Kim 등(1996)의 보고와 일치하는 것으로 나타났다.

조직학적 소견에서는 암컷의 저용량군에서 우측 신장에 Wilms' tumor가 관찰되었다. 기타 다른 장기에서는 대조군과 비교할 때 시험물질 투여에 의한 직접적인 결과라고 인정되는 소견은 없었다. 또한, 비장에서는 수컷과 암컷의 고용량투여군에서 조혈세포의 현저한 증가가 관찰되었으며, 거대적아구의 형성이 보였다. 그러나 수컷과 암컷의 일부 고용량군에서는 오히려 이들 현상이 반전된 것을 볼 수 있었다. 이것은 시험물질을 고용량으로 장기간 투여할 때 오히려 적혈구생성 전구세포의 증식에 억제적으로 반응함에 따라 기인된 것으로 사료된다. 이들 결과는 일부 고용량군에서 혈액의 점도가 매우 낮았으며, 안구색소의 창백과도 일치하는 것이었다. 그러나 Sevitt 등(1973)은 과량의 erythropoietin 투여에 의해 과도한 적혈구수의 증가가 혈액의 점도를 상승하여 심장과 신장의 미세혈관에서 혈전을 유발하였다고 보고한 바 있다. 본 연구에서도 고용량 투여군에서 대조군에 비해 육안적으로 관찰한 혈액의 점도가 증가된 것으로 나타났다.

이상의 결과로 보아 랫드에 대한 rHu-EPO의 13주간 반복정맥투여 아만성독성시험에서 일부 조혈작용과 관련된 항목에서 변화가 관찰되었으나 시험물질에 의한 직접적인 독성증상으로 인정되는 소견은 관찰되지 않아 본 시험계에서 rHu-EPO의 무영향량은 100 IU/kg/day 이상인 것으로 판단되었다.

참고문헌

- Cascinu, S., Del Ferro, E., Fedeli, A., Ligi, M., Alessandroni, P. and Catalano, G. (1995): Recombinant human erythropoietin treatment in elderly cancer patients with cisplatin-associated anemia. *Oncology*, **52**, 422-426.
- Davis, J.M., Arakawa, R., Strickland, T.W. and Yphantis, D.A. (1987): Characterization of recombinant human erythropoietin production in Chinese hamster ovary cells. *Biochemistry*, **26**, 2633-2638.
- Evans, R.W., Rader, B., Manninen, D.L. and the Cooperative Multicenter EPO Clinical Trial Group (1990): The quality of life of hemodialysis recipients treated with recombinant human erythropoietin. *JAMA*, **263**, 825-830.
- Erslev, A.J., Caro, J., Kansu, E. and Silver, R. (1980): Renal and extrarenal erythropoietin production in anemic rats. *Br. J. Haematol.*, **45**, 65-72.
- Holley, J.L., Nolan, T.A. and Piraino, B. (1992): Recombinant human erythropoietin in a patient with multiple myeloma and end-stage renal disease. *Clin. Nephrol.*, **37**, 145-147.
- Kim, H.S., Kwack, S.J., Chun, S.A., Lim, S.Y., Park, H.S., Hong, C.Y., Kim, W.B., Ahn, B.O. and Lee, B.M. (1996): Subacute intravenous study of recombinant human erythropoietin (rHuEPO) in rats. *Korean J. Toxicol.*, **12**, 309-318.
- Kokot, F., Nieszporek, T., Wiecek, A., Marcinkowski, W., Rudka, R. and Trembecki, J. (1994): Influence of long-term erythropoietin treatment on insulin, glucagon, pancreatic polypeptide, and gastrin secretion in haemodialysed patients. *Nephrol. Dial. Transplant.*, **9**, 35-39.
- Lim, D.M., Jeong, S.M., Cho, H.J., Kim, D.H., Park, K.H., Oh, M.S. and Kim, H.S. (1994): Acute toxicity of recombinant human erythropoietin. *Korean J. Toxicol.*, **10**, 237-241.
- Mino, T., Ohmura, T., Hiraoka, Y., Sugino, T. and Hayashi, H. (1990): General Pharmacological studies of erythropoietin (TYB-5220). *藥理と治療*, **18**, 953-971.
- National Institute of Safety Research (1994): Toxicity test guideline for safety evaluation of drugs for human use, No. 94-3 Korea.
- Sevitt, S. (1973): Vascularization of deep-vein thrombi. *J. Pathol.*, **111**, 1-11.
- Winearls, C.G. (1988): Treatment of the anemia of chronic renal failure with recombinant human erythropoietin. *Drugs*, **38**, 342-345.