

부신피질호르몬이 혈장 Erythropoietin 활성화에 미치는 영향*

가톨릭대학 의학부 약리학교실

조규철 · 이상복 · 이덕희 · 이종화

=Abstract=

Effect of Adrenocortical Hormone on Plasma Erythropoietin

Kyu Chul Cho, Sang Bok Lee, Duck Hee Lee and Jong Hka Lee

Department of Pharmacology, Catholic Medical College, Seoul, Korea

This study was undertaken to determine if the adrenocortical hormone was concerned on erythropoietic function, especially on the production of erythropoietin in the kidney. Erythropoietin titers in plasma measured in each group of mice: 1) hypertransfused mice treated with the plasma of rats pretreated with hydrocortisone, dexamethasone, fludrocortisone and DOCA 2) hypertransfused mice treated with the plasma of the rat pretreated with aldosterone antagonist and adrenocortical hormone concomitantly. Erythropoietin level in plasma were measured by the modification of DeGowin's method.

The results of the experiment were summerised as follows:

- 1) No significant changes of erythropoietin titers were observed in hypertransfused mice treated with the plasma of rats pretreated with hydrocortisone and dexamethasone respectively.
- 2) Erythropoietin titers increased significantly in hypertransfused mice treated with the plasma of rats pretreated with fludrocortisone and DOCA respectively, compared with control.
- 3) No significant changes of erythropoietin titers were observed in hypertransfused mice treated with the plasma of rats pretreated with spironolactone and triamterene respectively, compared with control.
- 4) Erythropoietin titers slightly increased in hypertransfused mice treated with the plasma of rats pretreated with spironolactone or triamterene, and fludrocortisone concomitantly and also with spironolactone or triamterene and DOCA.

머 리 말

부신피질호르몬제제는 소염제로서 각종 질환에 널리 사용되고 있으나, 이 약물들을 사용시 일어날 수 있는 부작용 또한 많은 문제를 안겨주고 있다. 이러한 부신피질호르몬제제의 많은 합성품이 개발되고 있는 요즘 이들의 약리작용 가운데 조혈기능에 관해서는 별로 알려져 있지 않다.

glucocorticoids가 호산구 및 임파구는 감소시키며 호

* 본 논문은 1973년도 동아 자연 과학 장려금에 의하여 연구되었음.

중성백혈구는 증가시키는 작용이 있음은 잘 알려진 사실이며(Goodman & Gilman, 1970), 부신피질호르몬이 적혈구 생성에 관계하리라는 보고로는 흰쥐에서 양측 부신을 적출하였을 때 약간의 빈혈을 초래함과 동시에 혈액량 및 혈압이 저하된다고 하였으며(Craft, 1941; Gordon, 1954; Van Dyke et al: 1954), 본교실에서는 fludrocortisone이 조혈인자활성을 촉진시킨다고 보고한 바 있다(유명열, 1973).

임상적인 증례로서는 부신피질기능이 항진된 Cushing씨 증후군 환자들 가운데 간혹 가벼운 적혈구 과다증(polycythemia)이 발생하는 반면에 부신피질기능에 장애가 있는 Addison's disease 환자들에서는 자주 빈

혈이 동반된다고 한다(Daughaday et al: 1948). 이러한 사실들로 미루어 볼 때 부신피질호르몬이 조혈작용에 관여하리라는 것을 암시하고 있으나 확실하지는 않다. 최근 prednisolone이 erythropoietin(이하 Ep라고 약칭함) 활성에 별다른 영향을 끼치지 않는다는 보고가 있는(Jepson et al, 1967) 반면에 methylprednisolone은 Ep 활성을 억제한다는 보고가 있어(Gordon, 1967), 부신피질호르몬의 조혈기능에 대한 작용은 그 보고가 일치하지 않으며 또한 그 기전도 밝혀져 있지 않다.

저자는 임상적으로 빈번하게 사용되고 있는 부신피질호르몬제제를 계속적으로 사용하거나 또는 과량사용시에 발생할 수 있는 부작용으로서, 조혈기능에 어떠한 영향을 미치는가를 추구하는 일련으로, 부신피질호르몬이 Ep 활성에 미치는 영향을 규명하고자 본 실험을 시도하였다.

재료 및 방법

1. 재 료

실험 동물로는 일정한 사료로 2주일 이상 사육한 체중 120~150 g의 흰쥐를 암수 구별없이 사용하였으며, 마우스는 체중 18~20 g의 스타마우스(RCL-JCL)를 사용하였다. 사용된 약물은 hydrocortisone acetate (Chas pfizer & Co., Inc., U.S.A.), dexamethasone sodium phosphate (Decadron phosphate; Merck Sharp & Dohme, West Point, Pennsylvania, U.S.A.), fludrocortisone acetate (Squibb & Sons, E.R., N.Y., U.S.A.) 및 desoxycorticosterone acetate (Percorten® acetate: Ciba pharm. Co., N.J., U.S.A.)을 사용하였고, 전처치 약제로는 spironolactone (Aldactone; Searle & Co., G.D. Chicago, Illinois, U.S.A.) 및 triamterene (Dyrenium; Smith Kline & French Laboratories, Philadelphia, U.S.A.)를 사용하였다. 또한 사용된 erythropoietin(이하 Ep라고 약칭함)은 erythropoietin standard A (sheep plasma Ep 1 unit/mg)이며, ^{59}Fe 는 ^{59}Fe -ferric citrate (The Radio Chemical Center, Amersham, England)이었다. 그리고 방사능측정은 Well-type scintillation counter (Model 181 B Nuclear, Chicago U.S.A.)로 측정하였다.

2. 방 법

실험은 크게 두 가지 그룹으로 나누어 행하였다. 첫 번째는 과수혈마우스에 corticosterone (mineral corti-

coid 및 glucocorticoid)으로 처치한 흰쥐에서 얻은 혈장을 투여하였을 때의 적혈구철침취율에 대한 실험 및 두 번째는 항부신피질호르몬제제(spironolactone 및 triamterene)를 전처치한 후 corticosterone을 투여한 흰쥐혈장을 과수혈마우스에 투여하였을 때의 적혈구철침취율에 대한 실험으로 나누어 관찰하였다.

가) 부신피질호르몬의 Ep 활성에 대한 영향

과수혈마우스에 glucocorticoid 및 mineral corticoid로 처치한 흰쥐혈장을 투여하였을 때에 적혈구철침취율에 대한 영향을 관찰하기 위하여 한군을 5~8마리의 과수혈 마우스로 하여 다음과 같이 나누어 실험을 행하였다.

- 1) 생리적 식염수 투여군
- 2) 정상 흰쥐혈장 투여군
- 3) hydrocortisone 혈장 투여군
- 4) dexamethasone 혈장 투여군
- 5) fludrocortisone 혈장 투여군
- 6) DOCA 혈장 투여군
- 7) Ep 투여군

과수혈마우스에 투여할 혈장을 얻고자 흰쥐 5마리를 한군으로하여 생리적 식염수 및 각종 부신피질호르몬을 투여하였다. 즉 정상 흰쥐 혈장투여군은 생리적 식염수 0.2 ml씩을, hydrocortisone 혈장투여군은 hydrocortisone acetate 40 mg씩을, dexamethasone 혈장투여군은 dexamethasone sodium phosphate 10 mg씩을, fludrocortisone 혈장 투여군은 fludrocortisone acetate를 0.5 mg씩 및 1.0 mg씩을 각각 흰쥐체중 100 g당 용량으로 하여 1일 1회, 2일간 투여하였으며, 모든 약물은 생리적 식염수 0.2 ml에 용해하여 투여하였다. 또한 Ep는 흰쥐 체중 100 g당 0.125 unit씩 및 0.250 unit씩을 각각 1일 1회, 2일간 투여하였다. 생리적 식염수 및 부신피질호르몬을 투여한 모든 흰쥐는 마지막 주사 후 24시간 경과시 각군을 모두 ether로 마취하여 심장천자로 전혈액을 채취한 후 혈장을 분리하여 같은 약물을 투여한 흰쥐의 혈장은 함께 합하여 Ep 측정시까지 -20°C 이하에 보관하였다가 사용하였다.

Erythropoietin (Ep)의 생물학적 검정법 :

본 실험에 사용된 마우스 중(RCL-JCL)과 환경조건에 맞도록 DeGowin 등 (1962)의 방법을 다음과 같이 개선하여 행하였다. 즉 donor 마우스에서 심장천자로 얻은 혈액을 모아서 5회에 걸쳐 생리적 식염수로 세척하면서 원심분리하여 농축된 혈구만을 얻어 다시 생리적 식염수를 넣어 80%로 희석한 다음 마우스들에게 1일 0.9 ml씩, 2일간 복강내에 주사하여 과수혈마우스를 만들었다. 그 후 4일간 휴식한 다음에 Ep 활성을 측정

하고자 앞의 가에서 얻은 각종 부신피질호르몬으로 처리한 각 군의 흰쥐혈장을 과수혈마우스에게 각각 1 ml 씩 피하 주사하였으며, 정상 흰쥐혈장투여군은 정상 흰쥐혈장 1 ml 씩을 그리고 대조군인 생리적 식염수투여군은 생리적 식염수 1 ml 씩을 각각 과수혈마우스에게 피하주사 한 후 48시간 경과시 방사능 ^{59}Fe 0.2 μc 를 각군 과수혈마우스에 복강내로 주사한 다음, 다시 48시간 경과후 ether 로 마취하여 심장 천자로 0.5 ml 씩의 혈액을 채취하여 방사능 계수측정에 사용하였다. 이때 모든 과수혈마우스는 hematocrit 치를 측정하였으며 55% 이하의 hematocrit 치를 나타내는 과수혈마우스의 값은 실험에서 제외하였다. 과수혈마우스의 철섭취율의 계산은 마우스전혈액량을 체중의 7%로 간주하여 아래와 같은 식에 의하여 산출하였다.

% ^{59}Fe incorporation

$$\frac{\text{마우스 체중(g)} \times 0.07 \times \text{CPM/ml in blood sample}}{\text{CPM injected}} \times 100$$

(CPM: 1분간의 방사선 계수)

한편 부신피질호르몬으로 전처리한 흰쥐혈장을 투여한 과수혈마우스군 가운데 적혈구철섭취율이 증가된 군에서의 골수상의 변화를 관찰하고자, 흰쥐의 양측 대퇴골에서 골수조직의 도말표본을 작성하였으며, 이 도말표본의 작성은 소량의 혈장과 골수조직을 혼합하여 슬라이드위에 도말하여 Giemsa 염색법으로 염색한 후 검경하였다.

나) Fludrocortisone 및 DOCA 의 Ep 촉진작용에 대한 spironolactone 및 triamterene 의 영향

부신피질호르몬의 조혈인자 촉진작용의 기전을 추구하고자 항알도스테론 제제인 spironolactone 및 triamterene 의 영향을 다음과 같이 관찰하였다.

- 1) 정상흰쥐혈장 투여군
- 2) Spironolactone 혈장 투여군
- 3) Triamterene 혈장 투여군
- 4) Fludrocortisone 혈장 투여군
- 5) Spironolactone 및 fludrocortisone 병합혈장투여군
- 6) Triamterene 및 fludrocortisone 병합혈장 투여군
- 7) DOCA 혈장 투여군
- 8) Spironolactone 및 DOCA 병합혈장 투여군
- 9) Triamterene 및 DOCA 병합혈장 투여군

앞의 가)와 같은 방법으로 과수혈마우스에게 부신피질호르몬을 투여하기전에 항알도스테론제제를 전처리하였다. 즉 spironolactone 및 triamterene 을 흰쥐체중 100 g 당 각각 50 mg 씩을 polyethylene tubing (PE=18, Intramedic®; Clay-Adams, Inc., N.Y., U.S.

A.)을 사용하여 경구 투여하였다. 먼저 spironolactone 및 triamterene 을 1일 1회, 3일동안 투여하였으며 경구 투여 2일째부터 생리적 식염수 및 각종 부신피질호르몬을 1일 1회, 2일간 근육주사 하였다.

정상흰쥐혈장 투여군, fludrocortisone 혈장 투여군 및 DOCA 혈장 투여군은 앞의 가)의 방법과 동일하였으며, spironolactone 혈장 투여군 및 triamterene 혈장 투여군은 흰쥐체중 100 g 당 spironolactone 50 mg 및 triamterene 50 mg 씩을 1일 1회, 3일간 투여하였다. spironolactone 및 triamterene 전처리한 후 fludrocortisone 및 DOCA 를 투여하여 얻은 혈장 군은 spironolactone 및 triamterene 을 흰쥐 체중 100 g 당 각각 50 mg 씩을 1일 1회, 3일간 투여함과 동시에 경구투여 2일째부터 fludrocortisone 및 DOCA 을 각각 1.0 mg 씩 및 10 mg 씩을 1일 1회, 2일간 근육주사 하였다. 모든 약물은 0.2 ml 의 생리적 식염수에 용해하여 사용하였으며, 마지막 주사후 24시간 경과시 각 군을 모두 ether 로 마취하여 심장천자로 전혈액을 채취한 다음에 같은 약물군의 혈액을 모아 혈장을 분리, 각 군별로 분류하여 Ep 측정시까지 -20°C 이하에서 보관하였다. Ep 생물학적 검정법은 앞서 가)와 같은 방법으로 하여 과수혈마우스의 철섭취율을 계산하였다.

성 적

가) 부신피질호르몬의 Ep 활성에 대한 영향

Hematocrit 치가 58~74%되는 과수혈마우스를 사용한 각종부신피질호르몬의 Ep 활성에 대한 실험에서 먼저 생리적 식염수 투여군의 평균 적혈구 철섭취율은 $0.38 \pm 0.04\%$ 이었고, 정상흰쥐혈장투여군의 평균 적혈구 철섭취율은 $0.40 \pm 0.08\%$ 이었으며 hydrocortisone(40 mg) 및 dexamethasone(1mg) 혈장 투여군의 평균 적혈구 철섭취율은 각각 $0.34 \pm 0.04\%$ 및 $0.44 \pm 0.05\%$ 로서 생리적 식염수 투여군이나 정상흰쥐 혈장 투여군에 비하여 별다른 차이를 보이지 않았다. 한편 fludrocortisone (0.5 mg) 혈장 투여군의 평균 적혈구철섭취율은 $0.7 \pm 0.10\%$ 로 생리적 식염수 투여군이나 정상흰쥐혈장 투여군의 평균적혈구철 섭취율과 비교할 때 유의한 증가를 보였는데 ($P < 0.02$), 이것은 Ep 0.125 unit 투여군의 평균적혈구철섭취율인 $1.39 \pm 0.49\%$ 보다 낮은 수치를 보임으로써 Ep 0.125 unit 보다 적게 생성됨을 알 수 있으며, fludrocortisone (1.0 mg) 혈장 투여군의 평균적혈구철섭취율은 $2.0 \pm 0.50\%$ 로 약물투여군 가운데 가장 높은 수치를 보였으며 ($P < 0.01$), 이것은 Ep 0.250 unit 의 평균적혈구섭취율인 $2.43 \pm 0.66\%$

Table 1. Effects of the plasma of fludrocortisone and DOCA pretreated rats on RBC-⁵⁹Fe incorporation in hypertransfused mice

Drugs pretreated (dose/B. Wt. 100g)	No. of mice	Mean hematocrit(%)	⁵⁹ Fe incorporation(%)
Saline	8	67.2	0.38±0.04
Normal plasma	8	67.7	0.40±0.08
Hydrocortisone-plasma 40.0 mg	6	68.8	0.34±0.04
Dexamethasone-plasma 1.0 mg	6	64.5	0.44±0.05
Fludrocortisone-plasma 0.5 mg	6	69.6	0.70±0.10*
	6	65.2	2.00±0.50**
DOCA-plasma 5.0 mg	6	69.8	0.90±0.15*
	6	63.0	1.30±0.36*
Erythropoietin 0.125 u	5	67.9	1.39±0.49**
	5	69.5	2.43±0.66**

Mean±S.E.

*p<0.02

**p<0.01

Rats received I.M. injection once a day for 2 days and were killed 48 hours later.

Mice whose hematocrit values were less than 55% at the end of the experiment were eliminated.

Plasma of each group was obtained from 5 rats treated with several adrenocortical hormone.

Table 2. Differential cell counts of femoral bone marrow of rats treated with fludrocortisone, DOCA and erythropoietin

Drugs treated (dose/B. Wt. 100 g)	No. of rats	M/E** ratio	Erythroid (%)			
			PN	BN	PO-N	OR-N
Saline	7	3.57±1.42	0.6	8.0	29.2	62.2
Fludrocortisone (1 mg)	6	1.86±0.96*	4.2	12.5	38.7	44.6
DOCA (10 mg)	6	2.52±1.21	3.6	10.9	33.1	52.4
Erythropoietin (0.25 u)	5	1.42±0.39*	4.8	15.2	42.2	37.8

Mean±S.D.

*p<0.001

**; A ratio of granulocyte to nucleated red cells

PN: Pronormoblast

BN: Basophilic normoblast

PO-N: polychromatic normoblast

OR-N: orthochromatic normoblast

보다는 적지만, Ep 0.125 unité 보다는 많은 Ep를 생성시킨 것을 나타내며 대체로 흰쥐혈장 1ml에 약 0.2 unit의 Ep를 생성하였다고 볼 수가 있다.

한편 DOCA (5 mg) 혈장투여군 및 DOCA (10 mg) 혈장투여군에서의 평균적혈구섭취율은 각각 0.9±0.15% 및 1.3±0.36%로서 (P<0.02), Ep 0.125 unit 보다는 Ep를 생성함을 보였다(표 1 및 그림 1 참조).

한편 fludrocortisone (1 mg) 투여군 및 DOCA (10 mg)투여군의 흰쥐골수 표본에서의 골수상의 변화는 아래와 같았다(표 2 참조).

즉 생리적 식염수만 투여한 흰쥐군에서의 과립백혈구와 유핵적혈구의 평균비율이 3.57±1.42인데 비하여 fludrocortisone (1 mg)투여군에서는 1.86±0.96으로서 (P<0.001), 이것은 Ep 0.250 unit 투여군의 1.42±0.39 보다는 덜 감소된 경향을 보였으나, 이들은 대조군에

비하여 적혈구계의 세포들이 현저하게 증가됨을 나타내며, 한편 DOCA (10 mg)투여군에서의 과립백혈구와 유핵 적혈구의 평균비는 2.52±1.21로서 fludrocortisone 투여군 보다 덜 감소된 경향을 보였지만 대조군에 비하면 약간의 적혈구 계세포들의 상승을 볼 수 있으나 유의한 증가는 아니었다. 이들 약물 및 Ep 투여군에서의 각종 적혈구계 세포의 출현율을 보면, 생리적 식염수 투여군에서는 전적아구 0.6%, 호염기성 적아구 8.0%, 다염성성적아구 29.2% 및 정염성적아구 62.2%의 비율을 보였고, fludrocortisone 1 mg 투여군에서는 전적아구, 호염기성적아구, 다염성적아구 및 정염성적아구의 비율이 4.2% : 12.5% : 38.7% : 35.6%였으며, DOCA 10 mg 투여군에서는 3.6% : 10.9% : 33.1% : 52.4%이었고, Ep 0.250 unit 투여군에서는 4.8% : 15.2% : 42.2% : 37.8%의 비율을 보였다. 따라서 flud-

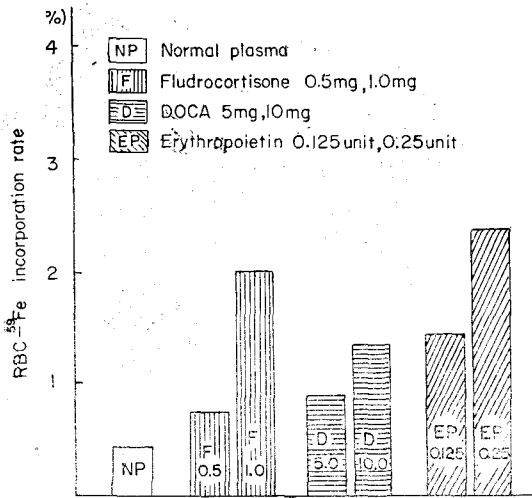


Fig. 1. Comparison of indirect effects of fludrocortisone, DOCA and erythropoietin on RBC-⁵⁹Fe incorporation in erythrocytes hypertransfused mice. (fludrocortisone 0.5 mg, 1.0mg/100 g of rat body weight, DOCA 5mg, 10mg/100 g of rat body weight & erythropoietin 0.125 unit, 0.250 unit/100 g of rat body weight).

ocortisone (1 mg) 투여군 및 Ep 투여군에서는 대조군에 비하여 전적아구, 호염기성적아구 및 다엽성적아구 등의 미숙형이 현저한 증가를 보인 반면, 성숙형인 정염성적아구는 오히려 감소를 보였다. 한편 DOCA (10 mg) 투여군은 fludrocortisone 투여군이나 Ep 투여군 보다는 약간 낮은 전적아구, 호염기성적아구 및 다엽성

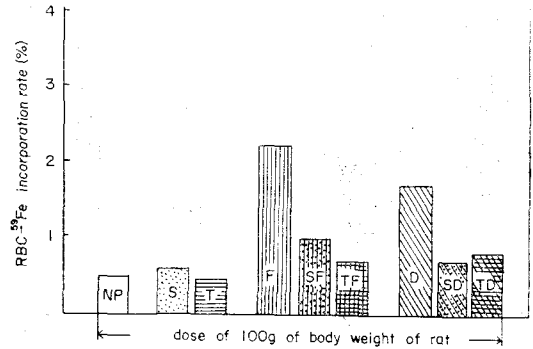


Fig. 2. The influence of antialdosterone drug on erythropoietic function of corticoids.

NP: normal plasma
 S: spironolactone 50 mg
 T: triamterene 50 mg
 F: fludrocortisone 1 mg
 SF: spiro. 50 mg+fludro. 1 mg
 TF: triam. 50 mg+fludro. 1 mg
 D: DOCA 10 mg
 SD: spirono. 50 mg+DOCA 10 mg
 TD: triam. 50 mg+DOCA 10 mg

적아구의 증가를 보였으나 대조군에 비하여 비교적 높은 증가를 보였다.

나) Fludrocortisone 및 DOCA의 Ep 촉진작용에 대한 Spiro lactone 및 Triamterene의 영향

정상 흰쥐혈장 투여군의 평균적혈구철침투율은 0.39

Table 3. Effects of spironolactone and triamterene on erythropoietic action of fludrocortisone and DOCA

Drugs pretreated (dose/B. Wt. 100 g)	No. of mice	Mean hematocrit(%)	⁵⁹ Fe incorporation (%)
Normal plasma	6	66.2	0.39±0.07
Spironolactone-plasma (50 mg)	5	65.3	0.42±0.10
Triamterene-plasma (50 mg)	5	68.2	0.35±0.08
Fludrocortisone-plasma (1 mg)	6	67.4	2.21±0.54**
Spiro. +Fludro. -plasma	6	63.2	1.01±0.18*
Triam. +Fludro. -plasma	6	68.7	0.73±0.13*
DOCA-plasma (10 mg)	6	65.0	1.78±0.36**
Spiro. +DOCA -plasma	6	66.4	0.72±0.11*
Triam. +DOCA -plasma	6	67.2	0.84±0.13*

Mean±S.E.

**p<0.01

*p<0.02

Spironolactone and triamterene were treated orally for 3 days, fludrocortisone and DOCA were also injected intramuscularly once a day for 2 days.

$\pm 0.07\%$ 이었고, spironolactone 및 triamterene 단독 투여군에서는 각각 $0.42 \pm 0.10\%$ 및 $0.35 \pm 0.08\%$ 로서 대조군과 차이가 없었다.

fludrocortisone 혈장 투여군에서는 평균적 혈구철섭취율이 $2.21 \pm 0.54\%$ 로서 뚜렷이 증가됨을 보이고 있으며, ($P < 0.01$), fludrocortisone 과 spironolactone 및 triamterene 병합혈장투여군에서의 평균적 혈구철섭취율은 각각 $1.01 \pm 0.18\%$ 및 $0.73 \pm 0.13\%$ 로서 fludrocortisone 의 조절인자 촉진작용을 어느 정도 억제하고 있다. 한편 DOCA 혈장투여군에서의 평균적혈구철섭취율은 $1.78 \pm 0.36\%$ 로서 대조군에 비하여 훨씬 상승된 수치를 보였고, ($P < 0.01$), DOCA 와 spironolactone 및 triamterene 의 병합투여시의 평균적혈구철섭취율은 $0.72 \pm 0.11\%$ 및 $0.84 \pm 0.13\%$ 로서 DOCA 단독투여시 보다 낮은 수치를 보여 DOCA 의 조절인자 촉진작용을 차단시킴을 나타내었다(표 3 참조 및 그림 2 참조).

고 찰

조절인자에 관하여 일찍이 Carnot 와 Deflandre (1906)는 조직의 저산소 조건에서 적혈구의 생성이 증가되는 것은, 골수에 대해 산소의 직접적인 작용이 아니라, 골수밖에서 혈관에 의하여 생성되어서, 혈액에 의해 운반되는 세밀한 체액성인자에 의하여 조절되는 것이라고 시사한 이래, 많은 학자들의 업적을 통하여 Ep 의 존재가 확실하여졌다(Reissmann, 1950; Grant, 1955; Gordon et al, 1959). 즉 Erslev (1953)는 정상적인 동물에게 빈혈을 일으킨 동물의 농축된 혈장을 주사하였을 때 reticulocytosis (網狀赤血球過多症)가 일어났다고 보고하였으며, 이후 많은 학자도 이 사실을 확인 하였다.

Ep 생산을 촉진하는 가장 기본적인 요인이 저산소증으로서, Ep 는 phenylhydrazine 같은 용혈제를 투여하거나, 사혈로 인한 빈혈, 고산지대의 환경에의 폭로, 또는 cobalt 주사 등에 의하여 그 생산이 촉진됨이 보고되어 왔다(Fisher et al., 1964; Levy et al., 1950). 최근에 그 주 생산장소가 신장의 Juxtaglomerular cell 로 알려져 있으며(Jacobson et al, 1957; Fisher et al, 1962), 그밖의 많은 학자들의 Ep 의 주생산장소가 신장이라는 데 의견이 일치할 보이고 있다(Naets 1958; 中尾 et al, 1960 & 1963; Kuratowska et al, 1961; Fisher et al, 1961; Kuratowska et al, 1962). 그러나 Erslev (1958) 와 Jacobson (1962)은 신장이외의 장기에서도 약간의

Ep 를 생산할 수 있다고 보고한 바가 있다. Gordon 과 Zanjani (1971)들은 신장추출물에서 조절에 관계하는 물질을 renal erythropoietic factor(REF)라 하였으며 이 REF 를 활성화하기 위하여는 혈장중에 어떤 인자가 필요하다고 하였는데 이것은 아마도 간에서 생산되리라고 추측되는 globulin 이라고 하였다.

한편 Ep 의 측정방법에 있어서도 초기에는 말초혈액 가운데 출현하는 망상적혈구 및 적혈구수로 평가하던 방법 (Carnot & Deflandre, 1906)으로부터 발전되어 근래에는 bioassay 방법으로서 굵긴 흰쥐에 있어 적혈구의 방사능 철섭취율을 측정하거나 (Fried, 1957), 과수혈흰쥐에서의 방사능철섭취율을 측정하거나(Garcia et al, 1961) 또는 과수혈마우스에 있어서 적혈구의 방사능철섭취율을 측정하는 (DeGowin et al, 1962) 방법 등이 있다.

본 실험에서는 DeGowin 들의 방법인 마우스 방법을 개선하여 사용하였다(이상복, 1971).

조절작용이 일어나는 기전으로 크게 몇 가지 경로를 생각할 수 있는데, 첫째로 신장의 Juxtaglomerular cell 에서 Ep 생산을 촉진하거나, 둘째로는 조절장기에 대하여 직접적으로 작용하여 조절작용에 관여하거나, 셋째로는 그 밖의 어떤 계열의 체내대사 과정에 관여하여 이차적으로 조절작용을 나타내는 데 이들은 단독 또는 2가지 이상이 동시에 일어나서 조절작용을 나타낼 것으로 추측된다.

과수혈마우스에 fludrocortisone 및 그밖의 수종의 부신피질호르몬을 투여한 흰쥐혈장을 투여하여 얻은 결과는 fludrocortisone 투여군 및 DOCA 투여군에서는 뚜렷하게 적혈구철섭취율을 증가하였다. 즉 fludrocortisone 투여한 과수혈 마우스에서는 Ep 가 약 0.2 unit 정도로 생성방출 되었으며, DOCA 혈장을 투여한 군에서는 약 0.12 unit 정도의 Ep 가 생성되었다. 또한 fludrotisone 및 DOCA 을 투여한 흰쥐의 골수소견에서도 적혈구계세포의 증가를 관찰할 수 있었다. 유명열 (1973)은 정상마우스에게 fludrocortisone 및 수종의 glucocorticoids 을 투여하였을 때 fludrocortisone 을 투여한군에서만 적혈구철섭취율이 증가됨을 관찰한 후 이의기전 추구로서 과수혈마우스에 직접 fludrocortisone 을 투여하였을 때에는 적혈구철섭취율이 증가되지 않음을 보고하였는데 이것은 fludrocortisone 이 골수 세포에 직접적으로 작용하여 Ep 를 생산하지 않음을 시사해 준다.

그러나 그외의 체내 어떤 계열의 대사과정에 관여하여 이차적으로 Ep 가 생산될 수 있는 가능성이 있으나

본 실험에서 과수혈마우스에 fludrocortisone 혈장 및 DOCA 혈장을 투여한 군에서는 적혈구철섭취율이 현저히 증가된 것으로 미루어 보아 이들은 주로 Ep 생산을 자극하여 일어나는 것으로 간주되어 체내의 어떤 대사 과정에 관여하여 이차적으로 Ep 생산을 촉진하는 작용은 그 작용이 미약하거나 거의 관련되지 않는다고 생각된다. 또한 항알도스테론제제를 전치치한 후, fludrocortisone 및 DOCA 을 투여하여 얻은 혈장을 주사한 과수혈마우스에서 적혈구철섭취율이 fludrocortisone 혈장 및 DOCA 혈장을 단독으로 투여한 군보다 약간 낮은 적혈구철섭취율을 나타낸 것으로 미루어 보아 fludrocortisone 및 DOCA 의 Ep 생성기전의 일부가 spironolactone 및 triamterene 에 전치치에 의하여 약간 차단됨을 알 수 있는데 이것은 spironolactone 및 triamterene 이 부신피질호르몬의 길항제로서 이들이 glucocorticoids 또는 DOCA 의 Na^+ transport 를 차단하는 작용이 있는 바 이 작용으로 인하여 fludrocortisone 및 DOCA 와 Ep 생산촉진 작용이 약간 저해 됐다고 생각된다. 가장 기본적인 요건이 저산소증임을 생각할 때 fludrocortisone 및 DOCA 투여로 신세뇨관에 국소적인 저산소증을 야기하여 이로 인해 juxtaglomerular cell 이 자극되어 Ep 생산이 촉진되지 않았나 추측된다. 또한 fludrocortisone 은 소염작용 및 Na 이온 저류작용이 glucocorticoids 가운데 가장 강력한데, 특히 Na 이온의 저류작용은 hydrocortisone 의 약 100배 정도로 강력하며 DOCA 는 mineral corticoid 가운데 가장 강력한 Na 이온 저류작용이 있어 cortisone 의 약 100배 정도의 강력함을 나타내어 두 물질이 근위세뇨관에서 강력하게 Na 이온의 능동적 이동을 형성, 산소 소비량을 야기하여 Ep 생산을 촉진한 것으로 생각된다. 이상의 고찰을 통하여 볼 때, hydrocortisone 이나 dexamethasone 는 Ep 생성촉진을 볼 수 없었으나 fludrocortisone 및 DOCA 에 있어서는 뚜렷한 Ep 생성촉진을 관찰할 수 있었으며, 이러한 Ep 생산촉진 결과는 fludrocortisone 이나 DOCA 투여로 신세뇨관에 Na^+ 의 능동적 이동을 촉진시켜 국소적인 저산소증을 야기하며 이로 인하여 juxta-glomerular cell 이 자극되어 Ep 생산이 촉진되지 않았나 추측된다.

맺 음 말

부신피질호르몬의 조절작용에 대한 영향을 규명하고자 크게 두 그룹으로 나누어 관찰하였다. 첫번째는 각종 부신피질호르몬제제를 흰쥐에 투여하여 얻은 혈장

을 과수혈마우스에 투여하였으며, 두번째로는 흰쥐에 항알도스테론제제를 전치치한후 부신피질호르몬을 투여하여 얻은 혈장을 과수혈마우스에 투여하였을 때의 적혈구철섭취율을 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

- 1) hydrocortisone 및 dexamethasone 을 흰쥐에 투여하여 얻은 혈장을 과수혈마우스에 투여하였을 때 혈장 erythropoietin 활성은 대조군과 별다른 변동을 보이지 않았다.
- 2) 흰쥐 체중 100 g 당 fludrocortisone 0.5 mg 및 1.0 mg 을 2일간 근육주사한 후에 얻은 혈장을 과수혈마우스에 투여시 혈장 erythropoietin 활성은 각각 평균 $0.7 \pm 0.1\%$ 및 $2.0 \pm 0.5\%$ 로 정상혈장 투여군의 $0.40 \pm 0.27\%$ 에 비하여 매우 유의한 증가를 보였다.
- 3) 흰쥐 체중 100 g 당 DOCA 5.0 mg 및 10.0 mg 을 2일간 근육주사하여 얻은 혈장을 과수혈마우스에 투여시 혈장 erythropoietin 활성은 각각평균 $0.90 \pm 0.15\%$ 및 $1.30 \pm 0.36\%$ 으로 정상혈장 투여군의 $0.40 \pm 0.27\%$ 에 비하여 유의한 증가를 보였다.
- 4) Spironolactone 및 triamterene 을 흰쥐체중 100 g 당 각각 50 mg 을 경구적으로 3일간 투여하여 얻은 혈장을 과수혈마우스에 투여시 혈장 erythropoietin 활성은 정상 혈장 투여군과 별다른 변동을 볼 수 없었다.
- 5) Spiroolactone 및 triamterene 을 전치치한 후 fludrocortisone 을 근육주사하여 얻은 혈장을 과수혈마우스에 투여시 혈장 erythropoietin 활성은 각각 평균 $1.01 \pm 0.18\%$ 및 $0.73 \pm 0.13\%$ 로서 fludrocortisone 단독 투여군의 $2.21 \pm 0.54\%$ 에 비하여 약간 감소를 보였다.

또한 spironolactone 및 triameterene 을 전치 치하고 DOCA 를 2일간 근육주사하여 얻은 흰쥐 혈장을 과수혈마우스에 투여시 각각 평균 $0.72 \pm 0.11\%$ 및 $0.84 \pm 0.13\%$ 로 DOCA 혈장단독 투여군의 $1.78 \pm 0.36\%$ 에 비하여 약간의 감소를 보였다.

인 용 문 헌

Carnot, P. & Deflandre, C.: *Sur l'activit  hemopoi tique du s rum an cours de la r g n ration du sang. Compt. Rend. Acad. Sci.* **143**, 432, cited from Gordon, A.S. (1959). *Hematopietin Physiol. Rev.* **39**, 1-40, 1906.

Crafts, R.C.: *The effects of endocrines on the formed elements of the blood. I. The effects of hypophysectomy, thyroidectomy and adrenal-*

- ectomy on the blood of the female rat. *Endocrinology* **29**, 606-611, 1941.
- Daughaday, W.H., Williams, R.H. & Daland, G.A.: *The effects of endocrinopathies on the blood. Blood* **3**, 1342-1366, 1948.
- DeGowin, R.L., Hofstra, D. & Gurney, C.W.: A comparison of erythropoietin bioassays. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **110**, 48-51, 1962.
- Erslev, A.J.: Humoral regulation of red cell production. *Blood* **8**, 349-359, 1953.
- Erslev, A.J.: Erythropoietic function in uremic rabbits. *Arch. Int. Med.* **101**, 406-417, 1958.
- Fisher J.W. & Birdwell B.J.: The production of an erythropoietic factor by the in situ perfused kidney. *Acta Haemat.* **26**, 224-237, 1961.
- Fisher, J.W., Rho, B.L., Charles, C. & Nightingale, W.O.: Influence of cobalt, sheep erythropoiesis in bone marrow of isolated perfused hind limb of dogs. *Blood* **23**, 87-92, 1964.
- Fisher, J.W., Sanzari, N.P., Birdwell, B.J. & Crook, J.J.: The Role of the Kidney in Erythropoietin Production. *Erythropoiesis* p. 78, New York, Grune & Stratton, Inc., 1962.
- Fried, W., Plzak, L.F., Jacobson, L.O. & Goldwasser, E.: Studies on erythropoiesis, Factors controlling erythropoietin production. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **94**, 237-243, 1957.
- Garcia, J.F. & Van Dyke, D.C.: Response of the rats of various ages to erythropoietin. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **106**, 585-588, 1961.
- Goodman, L.S. & Gilman, A.: *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 4th ed. p. 1622-1623, London & Toronto, The Macmillan Co.
- Gordon, A.S.: Endocrine influences upon the formed elements of blood and-forming organs Recent *Prog. Hormone Res.* **10**, 339-394, 1954.
- Gordon, A.S.: Mechanisms of prednisolone action in erythropoiesis. *Endocrinology* **81**, 363-368, 1967.
- Gordon, A.S. Winkert, B.S., Dernfest, J & Siegel, C.D.: Studies on the actions and properties of the circulatory erythropoietic stimulatory factor. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **77**, 650-658, 1959.
- Gordon, A.S. & Zanjani, E.D.: Studies on the renal erythropoietic factor (REF). *Kidney Hormones*, p. 295-329, N.Y. & London, Academic Press., 1971.
- Grant, W.C.: The influence of anoxia of lactating rats and mice on blood of their normal offspring. **10**, 334-346, 1955.
- Jacobson, L.O.: Sites of formation of erythropoietin-Erythropoiesis p. 69-75, N.Y., Grune & Stratton, Inc., 1962.
- Jacobson, L.O., Goldwasser, E., Fried, W. & Plzak, L.F.: Studies on erythropoietin VII. The role of the kidney in the production of erythropoietin. *Trans. Assoc. Amer. Physiol.* **70**, 305-308, 1957.
- Jepson, J.H. & Lowenstein, L.: The effects of testosterone adrenal steroids and prolactin on erythropoiesis. *Acta Haematol.* **38**, 292-299, 1967.
- Kuratowska, Z & Lewartowski, B.: Studies on the active principle released by the hypoxic kidney into Tyrode's solution. *Erythropoiesis* p. 101-108, New York, Grune & Stratton, Inc., 1962.
- Kuratowska, Z., Lewartowski, B & Michalak, E.: Studies on production of erythropoietin by isolated perfused organs. *Blood* **18**, 527-539, 1961.
- 이상복, 이덕희, 이흥범 : 인삼이 조혈기능에 미치는 영향, *최신의학* v. 13, p. 91, 1971.
- Levy, H., Levison, & Vuand, S.L.: The effects of cobalt on the activity of certain enzymes in homogenates of rat tissue. *Arch. Biochem.* **27**, 34-42, 1950.
- Naets, J.P.: Erythropoiesis in nephrectomized dogs. *Nature* **181**, 1134-1147, 1958.
- 中尾喜久, 岡一明, 高久史磨, 平山島邦猛, 田中英雄, 今村貞司, 柳沼碧 : 造血促進因子に関する研究, 特に腎と造血因子 *日本薬理学雑誌* **23**, 526-532, 1960.
- 中尾喜久 : 造血因子 *日本薬学会總會(第16回) 學術講演全集* 1, p. 561-569, 東京, 日本醫書出版協會, 1963.
- Reissmann, K.R.: Studies of the mechanism of erythropoietic stimulation in parabiotic rats during hypoxia. *Blood* **5**, 327-379, 1950.
- 유명열 : Glucocorticosteroid의 적혈구 생성기능에 대한 작용, *가톨릭의학부 논문집* 제24집, p. 151-159, 1973.
- Van Dyke, D.C., Contropoulos, A.N., Williams, B.S., Simpson, M.E., Lawrence, J.H. & Evans, H.H.: Hormonal factors influencing erythropoiesis. *Acta Haemat.* **11**, 203-222, 1954,