

미숙아 빈혈에 대한 Recombinant Human Erythropoietin의 효과 : 예비연구

영남대학교 의과대학 소아과학교실

이경아 · 신손문 · 박용훈 · 하정옥

서 론

신생아는 출생 후 자궁의 환경에 대한 생리적 적응현상으로 정상 만삭아에서도 첫 수 개월내에 빈혈이 발생되며,^{1,2)} 혈색소 농도가 생후 2-3개월 경에 10g/dL까지 떨어질 수도 있으나 이로 인한 증상은 동반되지 않는다. 그러나 미숙아에서는 빈혈의 정도가 보다 심하고 더 빨리 나타나서 생후 4-8주 경에 수치가 최저치에 도달한다.^{3,4)} 미숙아의 이런 빈혈은 망상적혈구의 감소와 골수의 hypoplasia를 보이며 빈혈의 정도에 비해 EPO의 농도가 낮은 것이 특징이다.⁵⁾ 이는 생후 1-2주 경에 관찰되는 신생아 중환자실에서 치료와 동반된 잦은 채혈에 의한 이차적 빈혈과는 기전이 다르므로 “미숙아 빈혈”이라고 달리 부르고 있다.

미숙아 빈혈의 원인은 아직 확실히 밝혀지지 않았으나 주된 기전은 erythropoietin의 감소에 따라 erythroid marrow의 부적절한 자극으로 적혈구 조혈의 감소에 기인한다고 생각되고 있으며 여러 연구에서 빈혈의 정도에 비해서 부적절하게 EPO의 농도가 낮음이 밝혀져 이를 뒷받침하고 있다.⁶⁻⁸⁾

미숙아 빈혈이 있어도 미숙아에 따라서는 별 증상이 없을 수도 있지만,⁹⁾ 빈맥, 서맥, 무호흡과 성장 부진 등의 증상을 나타내는 경우도 있으며 수혈로써 호전될 수 있다.¹⁰⁻¹²⁾ 그러나, 수혈은 인면역결핍 바이러스, 거대세포 바이러스와, B형

및 C형 간염 바이러스 등의 병원체 전파 위험을 높혀 줄 수 있다.¹³⁾

최근 human erythropoietin gene의 분리와 cloning으로 임상적 응용을 위한 다량의 recombinant human erythropoietin(rHuEPO)생산이 가능해졌고,¹⁴⁾ 만성신부전으로 적절한 EPO생성이 부족하여 빈혈이 발생한 성인과 소아에게 rHuEPO로 치료함으로써 그 효과와 안정성이 증명되었다.¹⁵⁻¹⁶⁾ 또한 미숙아의 골수와 말초혈액내의 erythroid progenitor가 감소되었지만 EPO를 투여할 경우 정상적으로 반응하여 증식하고 분화됨이 in vitro 연구에서 증명되었다.^{19,20)}

이러한 연구들은 배경으로 하여 미숙아의 빈혈을 치료하기 위한 rHuEPO의 이용에 대한 연구가 시작됐으나 아직 연구 결과가 일정치 않고 적절한 용량이나 투여 기간이 확립되지 않은 상태이므로 미숙아 빈혈에 대한 rHuEPO의 치료효과 및 부작용을 알아보고자 본 연구를 시행하였다.

대상 및 방법

1991년 1월부터 1993년 2월까지 2년 1개월간 영남대학교 의과대학 부속병원에서 출생 후 신생아 중환자실에서 치료받은 재태기간 32주 이하의 미숙아 중 원발성 혈액질환, 신천성 기형, 신장, 간장 및 혈액응고 장애가 없고 감염이 없으며 출생 후

채혈량이 7.5mL/kg/week이하이고 수혈받은 경력이 없는 일령 20-30일의 빈혈을 가진 미숙아 12명을 무작위로 rHuEPO투여군과 투여하지 않는 대조군으로 나누어 조사하였다.

빈혈은 생후 3주에 혈구용적율 32% 미만과 4주에 30% 미만으로 정의하였다.

rHuEPO의 투여는 생후 20-30일 사이에 시작하였고, 매회 체중 Kg당 100unit를 1주에 3회씩 4주간 피하주사하였다.

rHuEPO 투여시작과 함께 체중 kg당 3mg의 elemental iron을 매일 경구투여하였고 비타민 E도 출생후 수유가 가능할 때 부터 매일 25unit씩 경구투여하였다. 대조군에게는 rHuEPO는 투여하지 않고 비타민 E와 철분제를 만을 투여하였다.

EPO제제는 Eprex(Cilag A.G. Schaffhausin, Switzerland)를 사용하였으며 생리식염수로 희석하여 1mL당 400units로 만들어 사용했다.

rHuEPO투여 후 활력 징후와, 무호흡 횟수를 측정하였으며, 혈압은 oscillometric type인 Omega 1445(Invivo Research Inc., USA)로 측정하였고 혈색소치 및 혈구용적률은 Coulter counter(coulter electronics, Ins., British)를 이용하여 주 2회 측정하였고 망상적혈구는 new methylene blue 염색법으로 주 2회 측정하였다.

혈청 철과 총 철결합능, ferritin, SGOT, SGPT, BUN, creatintne은 주 1회 측정하였다. 혈청 erythropoietin치는 방사 면역 측정법으로 치료 시작 직전에 측정하였다.

통계학적 검증은 Wilkoxon Rank sum검정법으로

유의수준 $P < 0.05$ 로 검정하였다.

성 적

1. 환자 특성

rHuEPO투여군은 총 8명으로 남아가 6명 여아가 2명이었고 대조군은 총 4명으로 남아가 2명 여아가 2명이었다. 출생시 체중은 rHuEPO투여군이 평균 1504gm(범위 : 1210-1700gm)이었고 대조군은 평균 1545gm(범위 : 1220-1890gm)이었다. 재태연령은 rHuEPO투여군이 평균 31.3주(범위 : $29^{+2}-32^{+1}$ 주), 대조군이 평균 30.5주($27-32^{+1}$)였다. 그리고 연구시작 연령은 rHuEPO투여군이 평균 24.4일, 대조군은 평균 30.5일이었고 헤마토크리트치와 망상 적혈구수는 각각 rhuEPO투여군이 평균 26%, 2.44%였고 대조군에서는 평균 27.6%, 1.38%였다(표1).

Table 1. Pretreatment characteristics of study infants

	EPO group (n=8)	Control group (n=4)
Number of patients	8	4
Number of males	6	2
Mean birth weight(gm)	1504	1545
Mean gestational age(wks)	31.3	30.5
Mean age at entry(day)	24.4	29.5
Mean hematocrit(%)	26	27.6
Mean reticulocyte count(%)	2.44	1.38

Table 2. Changes in WBC, hematocrit, hemoglobin, platelet, reticulocyte, serum iron, ferritin and TIBC before and during rHuEPO therapy in the EPO group

Weeks	0	1/2	1	1 1/2	2	2 1/2	3	3 1/2	4
WBC($\times 10^3/mm^3$)	10.1± 1.5	9.0± 2.9	8.3± 2.3	7.4± 2.2	8.2± 1.6	9.3± 4.8	10.5± 4.4	8.1± 3.9	9.7± 4.3
Hemoglobin(g/dl)	8.9± 1.2	8.2± 0.9	7.9± 1.0	7.7± 0.8	7.6± 0.8	8.0± 1.0	7.9± 1.0	7.8± 1.0	8.9± 1.6
Hematocrit(%)	26± 4.9	23.3± 2.0	22.9± 3.0	22.8± 2.4	22.6± 2.1	23.8± 2.8	23.4± 3	22.9± 1.7	26.3± 4.6
Platelet($\times 10^3/mm^3$)	463± 181	413± 226	458± 153	445± 121	466± 182	473± 177	92± 133	457± 133	454± 85
Reticulocyte(%)	2.4± 0.9	5.5± 3.4	7.0± 3.4	5.6± 3.9	8.3± 2.5	9.3± 3.3	9.0± 4.6	6.8± 2.5	7.9± 4.3
Iron(ug/dl)	78.6± 5.2	-	72.4± 21.1	-	69.9± 36.6	-	96.2± 79.9	-	81.0± 16.6
TIBC(ug/dl)	293± 92	-	264± 63	-	308± 58	-	334± 66	-	274± 36
Ferritin(ng/dl)	123± 76	-	170± 136	-	101± 93	-	105± 99	-	61± 24

Table 3. Changes in WBC, hematocrit, hemoglobin, platelet, reticulocyte, serum iron, ferritin and TIBC in the control group

Weeks	0	1/2	1	1 1/2	2	2 1/2	3	3 1/2	4
WBC($\times 10^3/mm^3$)	12.7 \pm 4.3	8.9 \pm 3.0	10.5 \pm 1.6	1.1 \pm 1.6	9.8 \pm 1.6	10.2 \pm 3.1	7.3 \pm 5.8	9.2 \pm 1.6	7.9 \pm 8.2
Hemoglobin(g/dl)	9.5 \pm 0.7	8.1 \pm 0.7	8.2 \pm 0.5	7.7 \pm 0.6	7.3 \pm 0.5	7.6 \pm 0.9	7.6 \pm 0.7	8.2 \pm 1.0	7.8 \pm 0.5
Hematocrit (%)	27.6 \pm 2.8	24.7 \pm 2.5	23.8 \pm 1.4	22.7 \pm 2.0	21.2 \pm 1.1	22.1 \pm 2.3	22.5 \pm 2.1	24.0 \pm 2.7	23.0 \pm 0.9
Platelet($\times 10^3/mm^3$)	339 \pm 99	332 \pm 67	422 \pm 75	466 \pm 96	509 \pm 143	460 \pm 113	422 \pm 92	428 \pm 62	413 \pm 53
Reticulocyte(%)	1.4 \pm 0.8	2.9 \pm 2.0	2.8 \pm 0.5	2.7 \pm 1.9	4.8 \pm 1.8	3.9 \pm 2.7	4.3 \pm 2.5	6.3 \pm 1.5	7.0 \pm 2.4
Iron(ug/dl)	50.5 \pm 27.2	-	74.7 \pm 4.5	-	80 \pm 40	-	124 \pm 89	-	97.0 \pm 17.8
TIBC(ug/dl)	186 \pm 31	-	195 \pm 53	-	255 \pm 39	-	279 \pm 74	-	242 \pm 25
Ferritin(ng/dl)	218 \pm 64	-	190 \pm 69	-	254 \pm 88	-	190 \pm 78	-	122 \pm 56

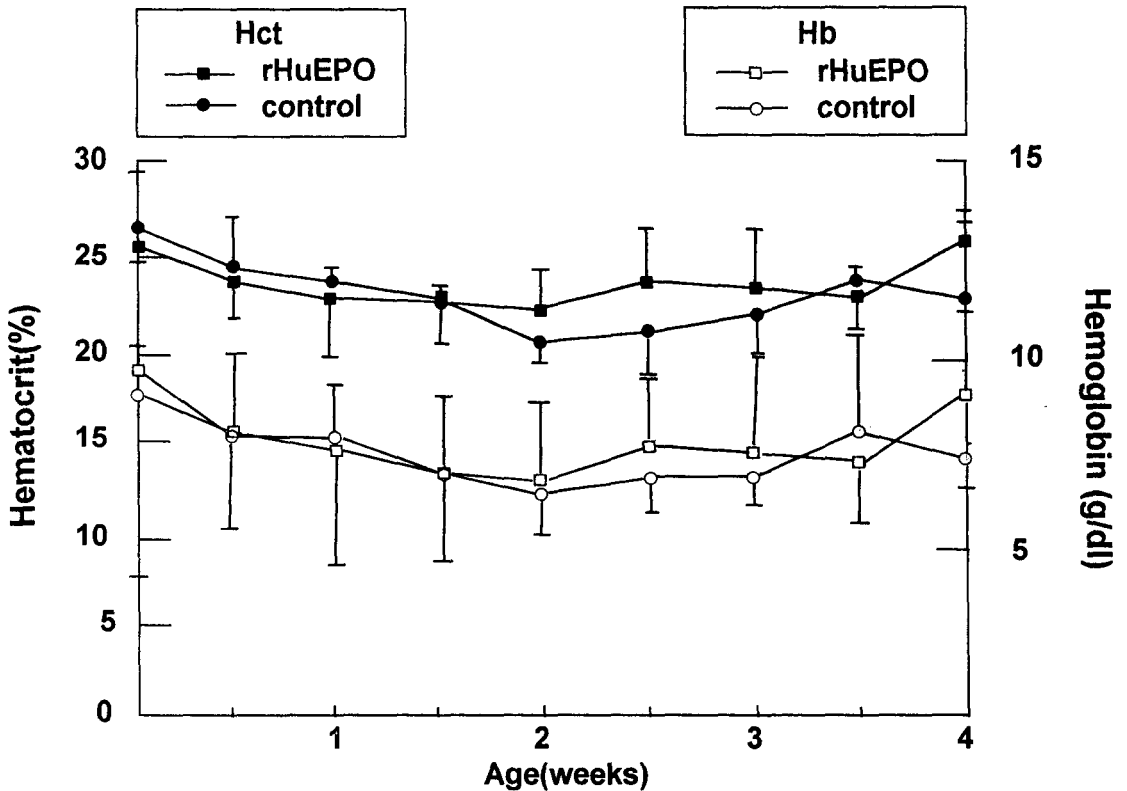


Fig. 1. Comparison of Hemoglobin and hematocrit between the rHuHPO and control groups. (mean \pm SD)

2. 헤마토크리트, 혈색소치

rHuEPO투여군은 평균 헤마토크리트와 혈색소치가 치료 시작전 26%, 9g/dL에서 치료 시작후 4주에 26.3%, 8.9g/dL로 차이가 없었고, 대조군

에서도 평균 헤마토크리트치와 혈색소치가 치료 시작전 27.6%, 9.5g/dL에서 치료 시작후 4주에 23%, 7.8g/dL로 통계학적으로 유의성있는 차이는 없었으며 두 군간의 비교에서도 차이는 없었다(표 2, 3, 그림1).

3. 망상 적혈구수

평균 망상 적혈구수는 rHuEPO투여군에서 치료 시작전 2.44%에서 치료 시작후 4주때 7.92%까지 증가되었으며, 대조군에서는 1.38%에서 7.0%까지 증가되었다. 두 군에서 모두 망상 적혈구수의 증가를 보이나 rHuEPO투여군에서는 망상 적혈구치가 보다 일찍 증가되어 투여 1주때 7.0%, 2주때

8.25%, 2½주때 9.28%로 1주에서 3주 사이에 가장 높은 증가율을 보였다. 그러나, 대조군에서는 보다 서서히 증가되어 3½주가 되어야 6.3%로 증가됨을 보여주었으나 1주에서 3주사이에서 두 군간의 통계학적 유의성은 없었다. 그리고 치료 4주에서 rHuEPO투여군과 대조군이 각각 7.9%과 7.0%로 비슷했다(표 2,3, 그림 2).

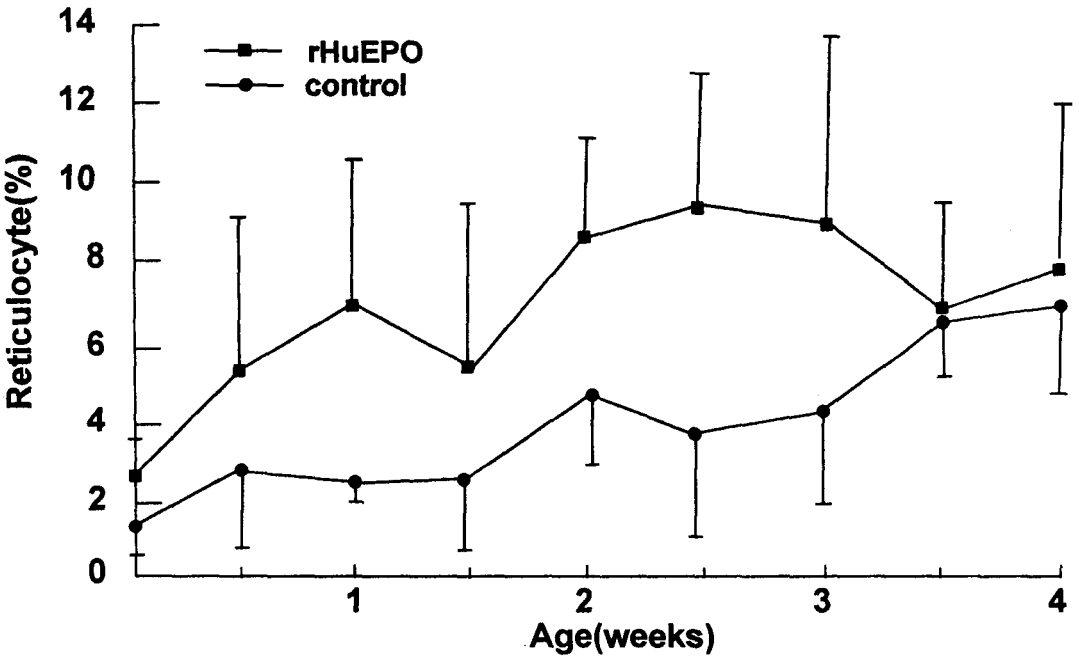


Fig. 2. Comparison of percentage of reticulocytes between the rHuEPO and control groups. (mean±SD)

4. Erythropoietin 측정치

rHuEPO투여군에서 치료 시작전 erythropoietin치는 평균 13.3 mU/mL(범위 : 1.0-36.5 mU/mL)이었고, 대조군에서는 평균 11.1mU/mL(범위 : 7.1-15.7mU/mL)로 비슷한 수치를 보였고 이는 각각 빈혈이 없는 성인의 정상 EPO치의 범위에 속했다.

5. 백혈구수와 혈소판수

평균 혈소판수는 rHuEPO투여군과 대조군에서 각각 치료 시작 전과 후의 차이가 없이 정상 수치를 보였고 두 군사이에서도 통계학적으로 유의한 차이는 없었다. 그리고, 백혈구수는 rHuEPO투여군에서는 치료 시작전 $10.1 \times 10^3/mm^3$, 치료 1½주에 $7.41 \times 10^3/mm^3$ 로 일시적인 감소가 있었고 치료완료 후 $9.7 \times 10^3/mm^3$ 로 치료 시작 전과 비슷했다. 특히 절대 호중구수가 $1000/mm^3$ 이하인 환아는 없었다. 대조군에서는 백혈구수가 치료 시작전 12.

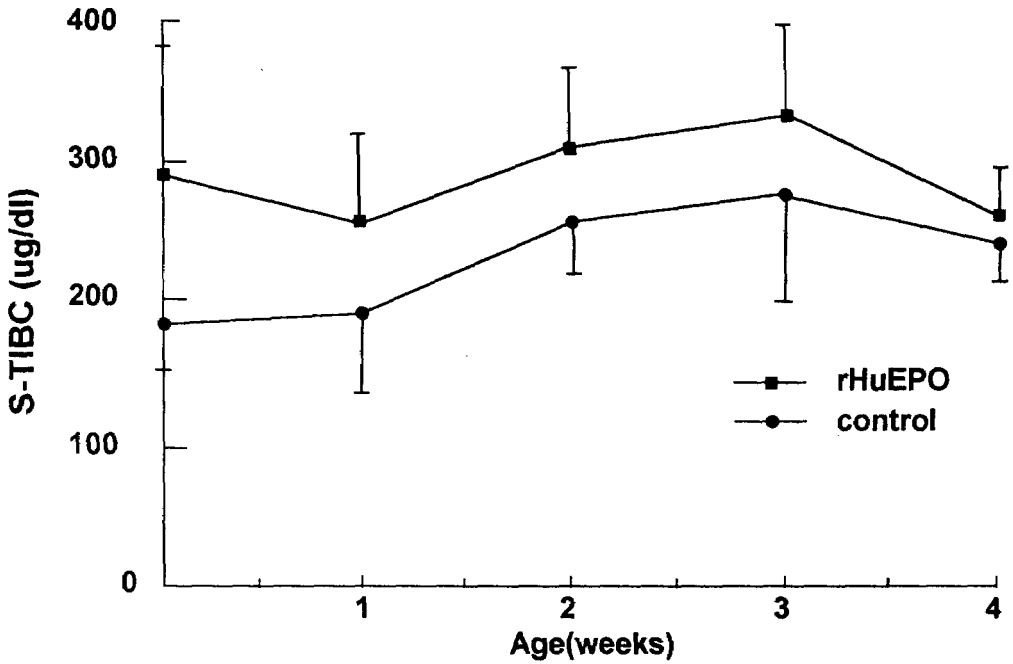


Fig. 3. Comparison of serum total iron binding capacity(S-TIBC) between the rHuHPO and control groups. (mean±SD)

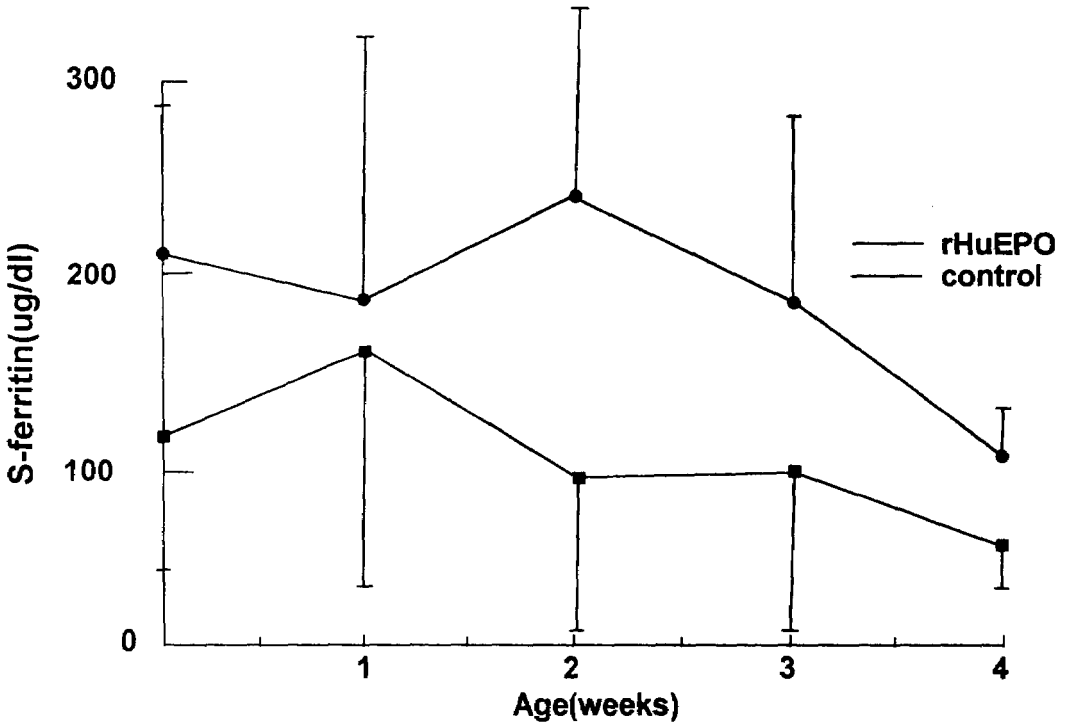


Fig. 4. Comparison of serum ferritin levels between the rHuHPO and control groups. (mean±SD)

$7 \times 10^3/\text{mm}^3$ 에서 치료 4주째 $7.9 \times 10^3/\text{mm}^3$ 로 오히려 감소되었다. 그러나 rHuEPO투여군에서의 일시적인 백혈구 감소와 대조군에서 치료 4주째 백혈구 감소는 통계학적인 유의성이 없었다(표 2, 3).

6. 혈청 iron, ferritin, TIBC

혈청 철은 rHuEPO투여군에서 치료 시작시부터 치료 2주째까지 약간씩 감소하다가 2주 이후부터 다시 증가하는 경향을 보였으나 계속 정상 범위를 유지하였고 대조군에서는 혈청 철이 계속적으로 조금씩 증가하였으나 역시 정상 범위에 속했다. 두 군에서 모두 통계학적인 유의성은 없었다. 그리고 혈청 ferritin은 치료 2주와 3주에 대조군에 비해 rHuEPO투여군에서 낮았으며(245ng/dL vs 101 ng/dL, 190 ng/dL vs 105 ng/dL), 총 철결합능(TIBC)은 치료 기간중 두 군에서 모두 약간의 증가를 보였으나 이러한 차이들은 통계학적 유의성은 없었다(표 2, 3, 그림 2).

7. 임상적 및 생화학적 변화

체중의 변화는 rHuEPO투여군에서는 치료 시작 전 평균 1775gm에서 4주에 2744gm으로 증가되었고 대조군에서는 치료 시작전 1531gm에서 치료 4주에 2323gm으로 증가되어 두 군간의 몸무게 증가의 차이는 없었다. 심박동수와 호흡수는 치료기간동안 계속 정상범위를 유지하였고, 고혈압은 발생하지 않았으며, SGOT, SGPT, BUN 및 creatinine 등으로 추적한 간기능과 신장기능도 치료기간 동안 계속 정상을 유지하였다.

피하주사부위의 홍반, 열감이나 부종 등의 특별한 국소적인 부작용은 생기지 않았다.

고 찰

신생아들은 출생시에 정상적으로 성인에 비해 많은 적혈구를 갖고 있다가 점차 적혈구수와 혈

색소치가 감소되어 생후 2-3개월에는 혈색소치가 10-11g/dL까지 떨어지는데 이는 자궁의 환경에 대한 생리적 적응현상으로 보고 있다.¹²⁾ 그러나 미숙아, 특히 재태기간이 32주 이하인 경우에는 혈색소치의 감소가 보다 빨리 나타나고 빈혈의 상태도 더 심하게 되어 생후 4-8주째 혈색소치가 7-9g/dL까지 낮아지기도 한다.³⁴⁾ 이러한 미숙아 빈혈의 기전은 여러가지로 설명되고 있으나 아직 확실하게 정립되지는 않았다. 1500gm이하의 미숙아에서는 총 적혈구량 자체가 적고 출생 3주 후부터의 급격하고 빠른 성장으로 세포외(혈장)량이 급증하게 되나 적혈구의 생산이 이에 비례해서 증가되지 못하여 혈구 회석 상태가 초래된다.²¹⁾ 또, 태아 적혈구의 수명(60-80일)이 성인의 적혈구 수명(120일)보다 짧아 출생 후 빨리 파괴가 된다.²²⁾

그리고, Gallagher 등⁵⁾은 중한 상태의 미숙아가 출생 첫 몇 주 동안 잦은 수혈을 받음으로써 fetal hemoglobin(Hb F)이 adult hemoglobin(Hb A)으로 대체되고 Hb A는 Hb F보다 쉽게 산소와 해리되어 조직으로 산소를 넘겨줌으로써 EPO생산을 증가시키기 위한 저산소적 자극을 감소시키게 됨으로써 미숙아 빈혈이 초래된다고 하였으며, Stockman 등⁶⁾은 해마토크리치치가 같아도 Hb F보다 Hb A의 농도가 높은 환아일수록 EPO치가 낮음을 보여 주었다.

그러나 무엇보다도 중요한 기전으로 생각되는 것은 EPO농도가 떨어져 골수의 적혈구 조혈기능이 저하되는 것이다. EPO는 erythropoiesis의 주된 호르몬적 조절자로서 주로 신피질에서 생성되며 신장의 조직으로 간에서도 생성이 되는데 특히 태아시기에는 간에서의 생성이 두드러진다.²³⁾ EPO의 작용은 BFU-E(burst forming units-erythroid)와 CFU-E(colony forming units-erythroid)로 불리는 erthroid progenitors의 증식과 분화를 유도하여 적혈구 생성을 증식시키고, 또한 적혈구 생성의 말기에서도 globin messenger RNA synthesis을 유도하고 개개의 적혈구내의 헤모글로빈 농도도 증가시킨다(그림 5).²³⁾

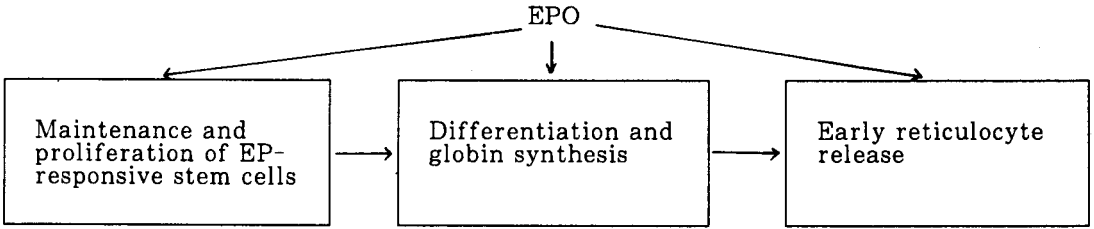


Fig. 5. Sites where EPO acts to increase the oxygen-carrying capacity of the circulating red cell pool.

출생시 미숙아의 EPO치는 꽤 다양하나 대부분 정상 성인보다 높다. 그러나 출생후 첫 1개월동안 EPO치는 급격히 떨어져서 정상 성인보다 낮아지게 되고, 출생 후 2개월 동안에는 혈액소치가 성인의 2/3이하로 떨어져도 EPO치는 빈혈이 없는 성인보다 높지 못하다. 이에 비해 성인 빈혈 환자의 EPO치는 정상보다 10-100배로 높다.²⁴⁾ Stockman 등⁴⁾은 미숙아의 EPO치가 빈혈의 정도에 비례해서 기대되는 EPO치보다 10-100배나 낮다고 했고, 중심정맥산소분압과 EPO농도의 역비례 관계를 증명함으로써 미숙아에서 저산소증에 대한 EPO의 반응이 감소되어 있음을 밝혔다.⁷⁾

그리고 Dallman²⁵⁾에 의하면 저산소증에 대한 간의 산소 감지기의 반응이 감소되어 있어 간에 의한 EPO생산으로 부터 신장에 의한 EPO 생산까지의 전환이 늦어진 것이 빈혈의 정도에 비해 EPO치가 부적절하게 낮은 이유라고 하였다.

EPO이외에도 다른 중요한 적혈구 조혈의 성장 인자가 존재한다. In vitro에서 primitive erythroid progenitors(BFU)가 정적모구의 clones으로 성숙 되는데 관여하는 성장인자들을 보통 총괄적으로 BPA(burst promoting activity)라고 하는데 interleukin(IL)-3, GM-CSF(granulocyte-macrophage colony-stimulating factor)가 이에 해당하는 인자들이다.²⁶⁾ 아직 정립되지는 않았으나 IL-6과 IL-9 등도 BPA에 속한다고 한다. 그러나 이러한 BPA의 부족이 미숙아 빈혈의 발생기전에 영향을 미치는가에 대한 연구도 되어졌으나, Ohls 등²⁶⁾에 의하면 빈혈이 있는 미숙아의 혈청내 BPA 농도는 정상 성인이나 제대혈에서의 농도보다 높았으며 anti-CM-GSF antibody, anti-IL-3 antibody 그리고 두 가지 항체를 같이 혈청으로 투여했을때 어느 경

우에서도 BPA는 없어지지 않아서 이러한 결과는 빈혈이 있는 미숙아에게도 BPA는 분명히 존재하고 또한 빈혈의 원인은 적혈구 조혈의 성장인자의 부족이 아니라 EPO의 부족으로 인해 생긴다는 결과를 얻었다.

Shannon 등²⁰⁾도 빈혈이 있는 미숙아에서도 erythroid burst forming units가 존재하고 rHuEPO 투여시 정상적으로 분화와 증식을 함으로써 부적절한 EPO의 생성이 미숙아 빈혈의 원인이라고 하였고, Rhondeau 등¹⁹⁾에 의하면 역시 미숙아 빈혈 상태에서 rHuEPO에 대한 CFU-E의 반응은 정상 성인이나 제대혈에서의 반응에 비해서 보다 높았다고 밝혔으며, Emmerson 등²⁷⁾도 빈혈이 있는 미숙아에서의 circulating erythroid progenitor (BFU-E)는 건강한 성인보다 4.4배나 많았고 빈혈이 없는 미숙아 보다 2배나 많았으며 rHuEPO에 대한 반응도 더 좋았다고 했다.

1985년 human EPO gene의 분리와 cloning으로 다량의 rHuEPO의 생성이 가능해졌다.¹⁴⁾

그리고, 만성 신부전으로 인한 빈혈이 초래된 성인과 어린이에게 rHuEPO으로 치료함으로써 그 효과와 안정성이 증명되었다.¹⁵⁻¹⁸⁾

이러한 연구들을 배경으로 미숙아 빈혈의 치료를 위해 rHuEPO을 이용한 치료에 높은 기대를 갖게 되었으며 rHuEPO치료가 미숙아 빈혈을 교정하거나 안정화시키는데 유효하다는 연구 결과들이 보고 되었다. 이 연구들에 의하면 rHuEPO 치료동안 망상 적혈구수의 증가를 보였고 주로 망상 적혈구의 증가는 치료 초기에 (1주-3주) 급격하게 나타났으며 헤마토크리트의 증가도 보였다. 빈맥, 서맥, 빈호흡등의 증상도 감소하였다.²⁷⁻³³⁾

Shannon 등³⁴⁾에 의하면 성장울, 헤마토크리트

치, 평균 망상 적혈구수와 수혈의 필요성이 대조군과 rHuEPO투여군 사이에서 유의있는 차이가 없어 주당 200 unit/kg의 rHuEPO 치료 용량이 미숙아에서는 부적절하다고 하였고, Eschbach 등¹⁶⁾은 빠른 성장율을 보이면서 안정된 혈구용적률을 유지하기에 충분한 적혈구 생산의 자극을 위해서는 주당 450unit/kg의 rHuEPO가 필요하다고 했다. George 등³⁵⁾은 체중당 100 또는 250unit의 rHuEPO를 혈관내 주입했을 때 neonatal animal에서 혈청 EPO농도의 최고치는 성인보다 2.5배나 낮다고 보고했고, Ruth 등³⁶⁾은 출생시 EPO치가 높은 영아의 혈청에서 EPO의 소실이 빠르다고 하여 rHuEPO투여량 증가가 필요함을 뒷받침한다.

그리고 Shannon 등³⁴⁾은 EPO치료시 치료 초기에 망상 적혈구수가 빨리 증가되었다가 치료 후기에 더 이상의 증가가 없는 이유가 in vitro 에서 BFU-E는 EPO에 대한 감수성이 CFU-E보다 적어서 BFU-E의 배양시 적당한 성장을 위해서는 CFU-E보다 더 높은 농도의 EPO를 필요로 하기 때문에 rHuEPO용량이 CFU-E의 분화와 증식은 시킬 수 있었으나 BFU-E까지 증식, 분화시키기에는 부적당했기 때문으로 보았고 rHuEPO의 용량을 더 늘린다면 CFU-E도 증식과 분화가 되므로 망상 적혈구수의 증가가 더 오래 나타났을 것이라고 했다. 또한 rHuEPO치료 시작후 혈청 철과 ferritin, 혈청 transferrin 포화도의 감소가 관찰되었고,^{27,27)} 망상 적혈구의 빠른 증가 시기와 동시에 혈청철의 감소가 된다는 것은 순환하고 있는 철과 저장철이 증가하고 있는 적혈구 pool로 빠르게 동원되고 있음을 반영하였다.^{5,18)} 따라서 철분부족이 rHuEPO에 의한 적혈구 조혈을 제한하는 중요한 원인이 되고 있는데,²⁹⁾ 이는 미숙아 자체가 원래 저장철이 적은 상태에서 rHuEPO에 의한 적혈구 조혈에 이용되는 철의 요구량이 증가하기 때문이다.

만성 신부전 환자에서도 rHuEPO에 반응하지 않는 가장 많은 이유가 철분결핍이라고 한다.¹⁶⁾

그러므로 rHuEPO치료에 대한 보다 충분한 효과를 얻기 위해서는 적절한 양의 철분공급이 같이 있어야 한다. 그러나, 지나친 철분공급이 tocopherol

의 흡수를 방해하고 비타민 E 결핍에 의한 용혈을 유발한다는 점을 고려해야 한다.³⁷⁾

본 연구에서는 망상적혈구수가 rHuEPO투여군에서 투여 1주에서 3주 사이에 가장 급격하고 신속한 증가를 보여 대조군에 비해 치료 초기에 망상적혈구의 증가 경향을 관찰할 수 있었으나 통계학적으로 유의한 차이가 없었으며 망상적혈구, 헤마토크리트 및 혈색소치에 있어서 대조군과 rHuEPO투여군과의 사이에 차이가 없었던 것은 rHuEPO투여 용량이 적절하지 않았을 가능성이 많고 치료 시작전에 비해 치료 4주때 망상적혈구가 두 군에서 모두 증가되는 경향이 있었던 점과 혈구용적률의 증가가 관찰되지 않은 것은 철분 결핍의 가능성으로 생각할 수도 있으나 혈청 ferritin이 치료 동안 계속 정상 범위내에 있었으므로 철분 결핍으로 보기는 힘들고 아마 비교적 잦은 채혈로 인한 것이라는 가능성을 배제할 수 없었다.

따라서 rHuEPO투여 용량과 철분의 경우투여량을 더 증가시키거나 좀 더 많은 미숙아를 연구대상으로 하고 채혈량의 최소화를 위해 더 노력했다면 좀 더 확실하고 다른 결과를 얻을 수 있었으리라 추측된다.

그리고 성인이나 소아를 대상으로 한 rHuEPO의 치료에서는 과립구 수의 변화가 없었으나,¹⁵⁻¹⁸⁾ 미숙아에서는 치료 시작 후기에 일시적인 과립구 감소가 보고되었는데,³¹⁾ rHuEPO가 직접적으로 과립구 감소를 초래하는지는 확실하지 않다. rHuEPO으로 치료 시작전에 이미 과립구 감소가 있는 미숙아도 있었고 모세혈관으로 채혈한 blood로 정상범위를 정한 WBC치는 정맥으로 채혈한 경우보다도 높다.³⁸⁾ 그리고 Halperin 등²⁹⁾은 과립구 감소의 기전이 확실치는 않으나 granulopoiesis에 대한 EPO의 직접적인 효과라기 보다는 가속화된 적혈구 생성시기에 일치하여 일어난 생리적인 반응으로 설명하였다. 그러나, 최근에는 rHuEPO이 in vitro에서 granulocyte-monocyte progenitors의 증식과 분화에 음성효과를 가진다는 보고도 있다.³⁹⁾

치료 시작 초기에 혈소판의 증가가 동물실험에서 보고되었는데 이는 rHuEPO의 megakaryocyto-

poiesis의 직접적인 효과로 인한 것이라 했다.²⁷⁾ 그러나, 성인이나 소아를 대상으로 한 연구에서는 혈소판의 변화가 동물실험에서 볼 수 있는 정도는 아니며,¹⁸⁾ Schloesser 등⁴⁰⁾에 의하면 철분 부족시 혈소판의 증가가 보고되어 rHuEPO치료동안 혈소판의 증가는 철의 급격한 감소로 초래되는 현상으로 볼 수도 있다. 본 연구에서는 EPO투여군에서의 한 미숙아가 치료 2 1/2 주에 패혈증으로 인해 혈소판 감소가 있었고 그의 다른 미숙아에서는 의의있는 혈소판 증가는 없었고 치료 시작 후 일시적이고 미약한 정도의 백혈구 감소는 있었으나 통계학적으로 유의성은 없었다.

본 연구에서는 시행하지 않았으나 rHuEPO의 치료 후 골수 검사상에서 rHuEPO치료는 수혈을 받는 경우보다 모든 erythroid progenitor가 차지하는 비율과 erythroid activity가 높았으나 다른 nonerythroid cell pool에는 큰 차이가 없었다고 한다.³¹⁾

그리고 만성 신부전 성인에서 사용될 때 가장 흔하게 나타나는 부작용인 고혈압 및 드물게 보이는 고칼륨증과 혈청 요소 증가, 일시적인 flu-like syndrome은 미숙아를 대상으로 한 연구에서는 보고 된 바가 없다.^{16,17)} 그리고 대조군보다는 EPO투여군에서 수혈의 필요가 적어 Shannon 등³⁴⁾의 연구에서는 10명의 EPO군이 총 250mL의 수혈을 받았고 4명의 대조군이 267mL의 수혈을 받았다. 그러나, 성장 속도나 체중 증가율에 차이가 보고된 경우도 없었다.

따라서 미숙아 빈혈시 rHuEPO의 투여가 빈혈의 치료에 유용하고 앞으로 보다 많은 임상적 적용을 위해서는 적절한 용량 및 투여 방법, 투여 시기 등이 더욱 연구 되어져야 할 과제로 생각된다.

요 약

1991년 1월부터 1993년 2월까지 영남대학교 의과대학 부속병원에서 출생하여 신생아 중환자실에서 치료 받았던 12명의 미숙아를 대상으로 무작위로 대조군과 rHuEPO투여군으로 나누어 체

중 kg당 100unit의 rHuEPO를 1주간 3회씩 4주동안 피하주사하고 rHuEPO투여 시작과 같이 체중 kg당 3mg의 elemental iron을 매일 경구투여 하였고 출생 후 수유가 가능할 때 부터 25unit씩의 비타민 E를 매일 경구투여 하였다. 망상적혈구, 혈색소치, 백혈구수, 혈소판수, 혈청 철, ferritin, 총철결합능, erythropoietin농도, 활력징후, 체중, 간기능, 신장기능 및 피하주사부 위의 국소 부작용을 비교해 본 결과 치료 시작전 erythropoietin의 농도는 대조군과 rHuEPO투여군 사이에 차이는 없었으며 모두 정상 범위에 속했고 rHuEPO투여군에서는 치료 1주에서 3주 사이에 급격한 망상적혈구의 경향이 관찰되었고 전반적으로 혈색소치, 백혈구수, 혈소판수, 혈청 철, ferritin, TIBC등에서는 차이가 없었다. 그리고 체중증가 및 활력증상, 간기능, 신장기능에서도 대조군과 rHuEPO투여군 사이에서 차이가 없었고 rHuEPO 투여 기간 동안 계속 정상적으로 유지되었다.

결론적으로 우리의 연구에서는 rHuEPO치료로 뚜렷한 혈색소치 및 헤마토크리의 증가를 볼 수 없었지만 망상적혈구가 치료 초기에 증가되는 경향이 관찰되었고 치료로 인한 특이할 만한 부작용이 없었으므로 첫째, 치료 기간 중의 예견할 수 없이 발생하는 패혈증, 무시할 수 없는 체혈량과 spontaneous endogenous erythropoietin생산이 rHuEPO의 반응에 미치는 영향, 둘째, rHuEPO의 가장 높은 효과를 얻기 위한 보다 적절한 투여용량, 기간 및 rHuEPO의 투여를 출생 후부터 바로 예방 목적으로 할 것인지 또는 출생 몇 주 후부터 rescue therapy로 할 것인지 투여 시작 시기, 셋째, 용량의 증가 및 감소에 동반되는 부작용의 정도등을 고려해서 앞으로 더 많은 미숙아를 대상으로 지속적인 연구를 한다면 rHuEPO를 이용해 더욱 더 활발하고 효과적으로 미숙아 빈혈을 치료 할 수 있으리라 기대한다.

참 고 문 헌

1. Schulman I: The anemia of prematurity. J

- Pediatr 54 : 663-672, 1959.
2. O'Brian RT, Pearson HA : Physiological anemia of the newborn infant. *J Pediatr* 79 : 132-138, 1971.
 3. Stockman JA : Anemia of prematurity. *Clin Perinatol* 4 : 239-245, 1977.
 4. Stockman JA, Garcia JF, Oski FA : The anemia of prematurity : factors governing the erythropoietin response. *N Engl J Med* 296 : 647-650, 1977.
 5. Gallagher PG, Ehrenkranz RA : Erythropoietin therapy for anemia of prematurity. *Clin Perinatol* 20 : 169-191, 1993.
 6. Brown MS, Phibbs RH, Garcia JF, Dallman PR : Postnatal changes in erythropoietin levels in untransfused premature infant. *J Pediatr* 103 : 612-617, 1983.
 7. Stockman JA, Graeber JE, Clark DA : Anemia of prematurity determinants of the erythropoietin response. *J Pediatr* 105 : 786-792, 1984.
 8. Brown MS, Garcia JF, Phibbs RH, Dallman PR : Decreased response of plasma immunoreactive erythropoietin to "available oxygen" in anemia of prematurity. *J Pediatr* 105 : 793-798, 1984.
 9. Keyes WG, Donohue PK, Spivak JL, Jones MD Jr, Oski FA : Assessing the need for transfusion of premature infants and the role of hematocrit, clinical signs, and erythropoietin level. *Pediatrics* 84 : 412-417, 1989.
 10. Stockman JA, Clark DA : Weight gain : A response to transfusion in selected preterm infants. *Am J Dis Child* 138 : 828-830, 1984.
 11. Dear P : Blood transfusion in the preterm infant. *Arch Dis Child* 59 : 296-298, 1984.
 12. DeMaio JG, Harris MC, Spitzer AR : The response of apnea of prematurity to transfusion therapy. *Pediatr Res.* 20 : 389A, 1986.
 13. Blajchman MA, Sherdan D, Rawls WE : Risks associate with blood transfusion in newborn infants. *Clin Perinatol* 11 : 403-415, 1984.
 14. Jacobs K, Shoemaker C, Rudersdorf R : Isolation and characterization of genomic and cDNA clones of human erythropoietin. *Nature* 313 : 806-810, 1985.
 15. Winearls CG, Pippard MJ, Downing MR, Oliver DO, Reid C, Cotes PM : Effect of human erythropoietin derived from recombinant DNA on the anemia of patients maintained by chronic hemodialysis. *Lancet* 2 : 1175-1178, 1986.
 16. Eschbach JW, Earoe JC, Downing MR, Browne JK, Adamson JW : Correction of the anemia of end-stage renal disease with recombinant human erythropoietin. *N Engl J Med* 316 : 73-78, 1987.
 17. Casati S, Passerini P, Campise MR : Benefits and risks of protracted treatment with human recombinant erythropoietin patients having hemodialysis. *Br Med J* 295 : 1017-1020, 1987.
 18. Sinai-Trieman L, Salusky IB, Fine RN : Use of subcutaneous recombinant human erythropoietin children undergoing continuous cycling peritoneal dialysis. *J Pediatr* 114 : 550-554, 1989.
 19. Rhondeau SM, Christensen RD, Ross MP, Rothstein G, Simmos MA : Responsiveness to recombinant human erythropoietin of marrow erythroid progenitors from infants with the anemia of prematurity. *J Pediatr* 112 : 935-940, 1988.
 20. Shannon KM, Naylor GS, Torkildson JC : Circulation erythroid progenitors in the anemia of prematurity. *N Engl J Med* 317 : 728-733, 1987.
 21. Blanchette V, Zipursky A : Neonatal hematology. In Avery GB : *Neonatology. Pathophysiology*.

- siology and management of the newborn. JB Lippincott, Philadelphia, 1987, pp 638-686.
22. Pearson HA : Life-span of the fetal red blood cell. *J Pediatr* 70 : 166-180, 1967.
 23. Powell JS, Adamson JW : Hematopoiesis. In Seldin DW, Giebisch G : The kidney. physiology and pathophysiology. Raven press, New York, 1985, pp 847-866.
 24. Brown MS, Rhibbs RH : Postnatal changes in erythropoietin levels in untransfused premature infants. *J Pediatr* 103 : 612-617, 1983.
 25. Dallman PR : Erythropoietin and the anemia of prematurity. *J Pediatr* 105 : 756-757, 1984.
 26. Ohls RK, Liechty KW, Turner MC : Erythroid "burst promoting" activity in serum of patients with the anemia of prematurity. *J Pediatr* 116 : 786-789, 1990.
 27. Halperin DS, Wacker P, Lacourt G : Effect of recombinant human erythropoietin in infants with the anemia of prematurity : a pilot study *J Pediatr* 116 : 779-786, 1990.
 28. Bechensteen AG, Halvorsen S : Erythropoietin, protein, and iron supplementation and the prevention of anemia of prematurity. *Arch Dis child* 69 : 19-23, 1993.
 29. Halperin DS : Use of recombinant erythropoietin in treatment of the anemia of prematurity. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 13 : 351-363, 1991.
 30. Shannon KM, Mentzer WC : Enhancement of erythropoiesis by recombinant human erythropoietin in low birth weight infants : A pilot study. *J Pediatr* 12 : 586-592, 1992.
 31. Halperin DS, Wacker P, Lacourt G : Effect of recombinant human erythropoietin in infants with the anemia of prematurity. *J Pediatr* 116 : 779-786, 1990.
 32. Messer J, Haddad J : Early treatment of premature infants with recombinant human erythropoietin. *Pediatrics* 92 : 519-523, 1993.
 33. Beck D, Masserey E, Meyer M, Calame A : Weekly intravenous administration of recombinant human erythropoietin in infants with the anemia of prematurity. *Eur J Pediatr* 150 : 767-772, 1991.
 34. Schannon KM, Mentzer WC, Abels RI : Recombinant human erythropoietin in the anemia of prematurity : results of a placebo-controlled pilot study. *J Pediatr* 118 : 949-955, 1991.
 35. George JW, Bracco, Shannon KW : Response of rhesus monkeys to recombinant human erythropoietin : comparison of adults and infants(abstract). *Pediatr Res* 25 : 269A, 1989.
 36. Ruth V, Widness JA, Clemons G, Raivol KO : Postnatal changes in serum immunoreactive erythropoietin in relation to hypoxia before and after birth. *J Pediatr* 116 : 950-954, 1990.
 37. Melhorn DK, Gross S : Vitamin E-dependent anemia in the premature infant. I. Effects of large doses of medicinal iron. *J Pediatr* 79 : 569-580, 1971.
 38. Christenses RD, Rothstein G : Pitfalls in the interpretation of leukocyte counts of newborn infants. *Am J Clin Pathol* 72 : 608-611, 1979.
 39. Christensen RD, Koenig JM, Viskochil DH, Rothstein G : Down-modulation of neutrophil production by erythropoietin in human hematopoietic clones. *Blood* 74 : 817-822, 1989.
 40. Scholoeser LL, Kipp MA, Wenzel FJ : Thrombocytosis in iron-deficiency anemia. *J Lab Clin Med* 66 : 107-114, 1965.

- Abstract -

Effect of Recombinant Human Erythropoietin in the Anemia of Prematurity : a Pilot Study

Kyung Ah Lee, Soon Moon Shin, Yong Hoon Park, Jeong Ok Hah

*Department of Pediatrics
College of Medicine, Yeungnam University
Taegu, Korea*

The recent availability of recombinant human erythropoietin has opened new perspectives in the management of a variety of anemias. Clinical trials have been initiated in several countries using different approaches and methodology. We randomly assigned twelve premature infants (gestational age < 32 week) at high risk of requiring erythrocyte transfusion for anemia of prematurity with either subcutaneous recombinant human erythropoietin or a placebo. Treatment with rHuEPO was initiated at a dose of 100 units/kg day for 3 days a week. All patients were given supplemental oral iron therapy at a dose of 3 mg/kg per day, as tolerated and oral vitamin E at a dose of 25 units per day.

Treated and control babies did not differ with respect to weight, hematocrit, overall mean reticulocyte count or rate of growth respectively. However, reticulocyte counts increased earlier in patients given rHuEPO.

We conclude that rHuEPO administration is safe and feasible at the dose studied.

Key Words : Anemia of prematurity, Erythropoietin