

## 랫드에서 EPO(erythropoietin)의 4주간 정맥 반복투여 독성시험

남정석 · 제정환 · 이석만 · 양재만 · 강병철 · 이학모 · 박재학\* · 송동호\*\* · 유선희\*\* · 이영순  
서울대학교 수의과대학 공중보건학실, \*실험동물의학교실, \*\*(주)녹십자

### Four-Week Intravenous Toxicity of EPO(Erythropoietin) in Rats

Jeong-Seok Nam, Jeong-Hwan Che, Suk-Man Lee, Jae-Man Yang, Byeong-Cheol Kang,  
Hak-Mo Lee, Jae-Hak Park\*, Dong-Ho Song\*\*, Sun-Hee Yoo\*\* and Yong-Soon Lee

Department of Public Health and \*Laboratory Animal Medicine, College of  
Veterinary Medicine, Seoul National University

\*\*Korea Green Cross Corporation

(Received February 10, 1997)

(Accepted March 25, 1997)

**ABSTRACT :** Group of 40 male and 40 female Sprague-Dawley rats were given daily intravenous injections of different dosage of Erythropoietin (EPO), 80 IU/kg/day (low dosage group), 400 IU/kg/day (middle dosage group), or 2000 IU/kg/day (high dosage group) for 4 weeks by tail vein according to Established Regulation of Korean National Institute of Safety Research (1994. 4. 14). Appearance, behavior, mortality, and food consumption of rats of treated groups were not affected during the experimental periods. No significant EPO (erythropoietin)-related changes were found in urinalysis, eye examination, hematology, serum chemistry, and organ weight. No histopathological lesions were observed in both control and treatment groups. Our results strongly suggest that no toxic changes were found in rat treated intravenously with EPO (erythropoietin) for 4 weeks.

**Key Words :** Erythropoietin (EPO), Rat.

## I. 서 론

Erythropoietin(EPO)은 주로 후기적아구계 전구세포의 분화단계의 세포에 작용, 그 분화증식을 촉진시켜, 적혈구의 생산을 조절하는 내인성 호르몬으로, 신장에서 생산된다고 생각되는 만큼 그 생산의 저하는 만성 신부전에 합병하는 빈혈의 주원인이라 생각되고 있으며 심각한 조혈장애를 유발한다. 그래서 EPO의 임상적 적용에 관해 많은 관심이 모아져 왔는데 최근에는 신부전 뿐만아니라 azidothymidine이나 HIV와 관련된 빈혈 등의 임상적 치료에 recombinant human EPO의 적용이 다각도로 주목되고 있으며(Fisher, 1993; Yajima 등 1993), 다양한 유전자 재조합 기술을 이용하여 대량생산된 recombinant erythropoietin에 대하여 실시한 안전성시험도 보고되고 있다(Kim 등, 1994; Lim 등, 1994).

따라서 본실험에서는 조혈장애의 치료제로 주목되고 있는 EPO의 안전성 평가의 일환으로 (주)녹십자에서 분리 정제한 recombinant erythropoietin(EPO)에 대하여 랫드에서 정맥내 4주 반복투여 독성실험을 실시하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 시험물질

(주)녹십자에서 분리정제한 erythropoietin(EPO)을 실험에 사용하였다.

### 2. 실험동물

실험동물로는 암·수 각각 랫드(Sprague-Dawley)를 50마리씩을 서울대학교 실험동물 사육장에서 구입하여 약 1주간 순화시킨 후 그 기간중 일반증상을 관찰하여 건강한 동물 암수 각각 40마리씩을 실험에 사용하였다. 실험기간중 사육실 환경조건은 온도  $23 \pm 3^{\circ}\text{C}$ , 상대습도  $50 \pm 10\%$ 로 하였으며, 조명시간은 오전 7시부터 오후 7시까지, 조도는  $150 \sim 200$  Lux로 하였다. 랫드는 랫드용 polycarbonate 상자( $26 \times 42 \times 18$  cm, 명진기계제작)에서 사육하였다. 모든 동물은 공히 사료와 음수를 자유급여하였다.

### 3. 시험군의 구성 · 투여농도 및 용량

임상용량(50 IU/kg B.W.)을 기준으로 의뢰자와 상의하여 저용량 80 IU/kg/day, 중간용량 400 IU/kg/day, 고용량 2000 IU/kg/day로 모두 3개용량을 설정하였으며 매체물질만을 투여하는 음성대조군을 두었고, 임상에서의 투여경로와 동일한 정맥내로 투여하기 위하여 꼬리정맥을 통해 주 7회 4주간 투여하였다.

### 4. 시험항목 및 통계학적 방법

국립보건안전연구원고시 제 94-3호 '의약품 등의 독성 시험기준'(1994. 4. 14)에 따라 모든 시험동물에 대하여 일반증상을 매일 관찰하였고, 정기적으로 체중, 사료섭취량, 물섭취량을 측정하였으며, 또한 모든 동물에 대하여 투여기간 중 1회 채뇨하여 뇨검사를 실시하였고, 부검시 복대동맥을 통하여 채혈하여 혈액학적 및 혈청학적 검사를 실시하였다. 그리고, 부검시 모든 동물의 장기중량을 측정하고 체중에 대한 상대장기 중량비를 구하였고, 장기중량 측정이 끝난 모든 장기는 10% 중성 포르말린액에 고정시킨후 2주 이상의 충분한 고정을 거친 후 파라핀(Fisher, Histomatic Tissue Processor, 166A)에 포매하여 마이크로톰(AO Rotary Microtome)으로 5  $\mu$ m 절편을 만들어 Hematoxylin & Eosin 염색을 하여 관찰하였다.

본 실험에서 얻은 측정치의 통계학적 분석은 통계처리 computer program인 SAS(Statistical Analysis System)를 이용하여, non-parametric one way Kruskal-Wallis test를 실시하였고 유의성을 검정하였다.

용량에 따른 경향을 조사하기 위해 Terpstra-Jonckheere test를 실시하였고 또한, 병리조직학적으로 관찰

된 병변의 분석은  $\chi^2$ (Chi-square) 검정을 실시하였다.

## III. 결 과

### 1. 임상증상

저용량 80 IU/kg/day, 중간용량 400 IU/kg/day, 고용량 2000 IU/kg/day 및 대조군투여 전기간동안 시험물질 투여 때문으로 여겨지는 임상증상을 관찰하지 못하였다.

### 2. 사망률

저용량 80 IU/kg/day, 중간용량 400 IU/kg/day, 고용량 2000 IU/kg/day에서 시험기간중 사망 동물을 관찰할 수 없었으며, 대조군에서도 사망 동물은 없었다.

### 3. 체중변화(Figs. 1 and 2)

대조군 및 투여군 모두에서 유의할 만한 체중 변화를 관찰할 수 없었다.

### 4. 사료 및 음수섭취량 변화(Figs. 3, 4, 5 and 6)

대조군 및 투여군 모두에서 유의할 만한 사료 및 음수섭취량 변화를 관찰할 수 없었다.

### 5. 뇨검사 소견(Table 1)

대조군 및 투여군 모두에서 유의할 만한 이상을 나타내지 않았다.

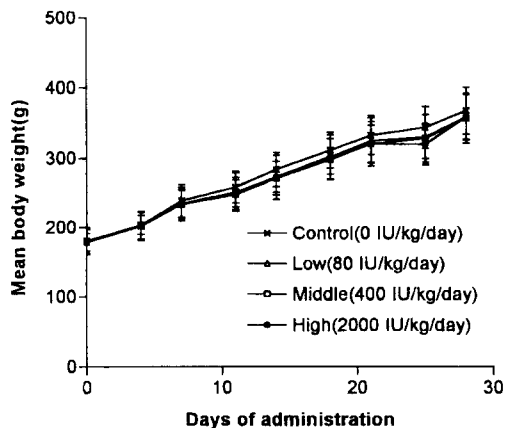


Fig. 1. Mean body weight changes in male rats intravenously injected with Erythropoietin (EPO). Each value represented the mean  $\pm$  S.D. of 10 rats.

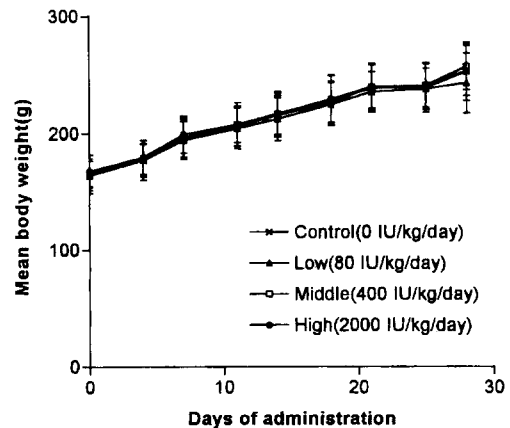


Fig. 2. Mean body weight changes in female rats intravenously injected with Erythropoietin (EPO). Each value represented the mean  $\pm$  S.D. of 10 rats.

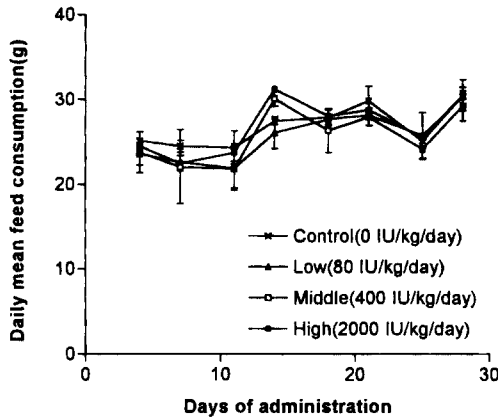


Fig. 3. Daily mean feed consumption in male rats intravenously injected with Erythropoietin (EPO). Each value represented the mean  $\pm$  S.D. of 10 rats.

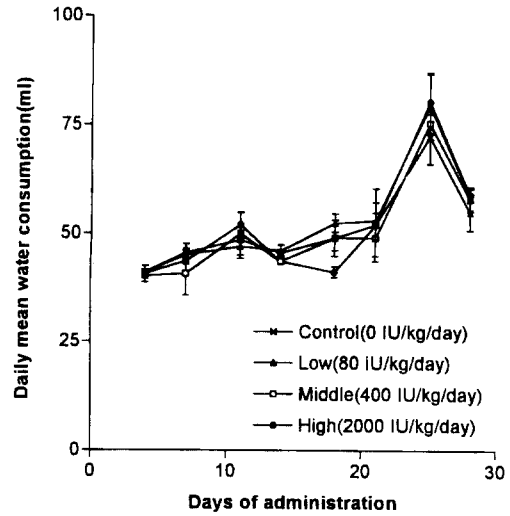


Fig. 5. Daily mean water consumption in male rats intravenously injected with Erythropoietin (EPO). Each value represented the mean  $\pm$  SD of 10 rats.

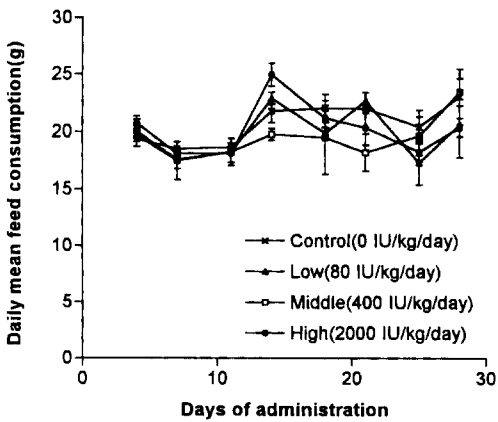


Fig. 4. Daily mean feed consumption in female rats intravenously injected with Erythropoietin (EPO). Each value represented the mean  $\pm$  S.D. of 10 rats.

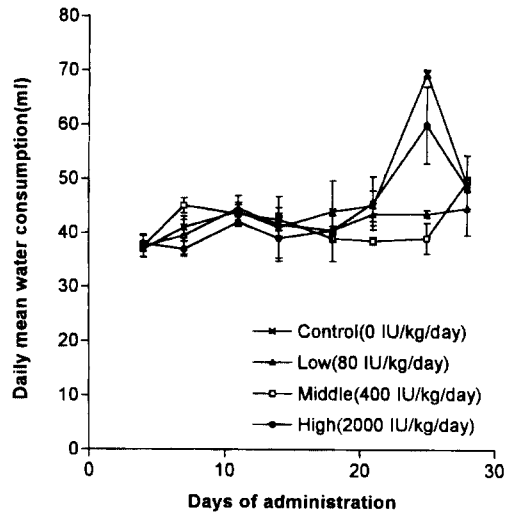


Fig. 6. Daily mean water consumption in female rats intravenously injected with Erythropoietin (EPO). Each value represented the mean  $\pm$  SD of 10 rats.

6. 안검사

대조군 및 투여군 모두에서 유의할 만한 이상을 나타내지 않았다.

7. Prothrombin time(PT) 및 Partial thromboplastin time(PTT)(Table 2)

PT, PTT time 검사 소견에서 고용량·중간용량군이 대조군보다 유의성 있는 감소를 보였다.

8. 혈액학적 및 혈청 생화학적 검사 소견 (Tables 2, 3 and 4)

부검시의 혈액학적 검사소견으로는 대조군과 비교하여 수컷 고용량군에서 leukocyte, RBC(Red Blood

Cell), hemoglobin, hematocrit, MCV(mean corpuscular volume)이 유의성 있는 증가를 보였고, MCHC(mean corpuscular hemoglobin concentration), platelet가 유의성 있는 감소를 보였다. 그리고, 수컷 중간용량군에서는 platelet의 유의성 있는 감소와 leukocyte의 유의성 있는 증가를 보였다. 또한 수컷 저용량군에서는 hematocrit, MCV의 유의성 있는 감소와 MCHC의 유의성 있는 증가를 보였다. 한편, 암컷 고용량군에서는 RBC, hemoglobin, hematocrit, MCV, MCH(mean corpuscular hemoglobin)가 유의성 있는 증가를 보였고, MCHC, platelet의 유의성 있는 감소를 보였다. 그리고 암컷 중간용량군에서는 MCV, MCH가 유의성 있는 증가를 보

**Table 1.** Urinalysis in rats intravenously treated with EPO (erythropoietin)

Parameter	\Sex	Male				Female			
	\Group	Control	Low	Middle	High	Control	Low	Middle	High
	\Dose(IU/kg/day)	0	80	400	2000	0	80	400	2000
	\No. of animal	5	5	5	5	5	5	5	5
Nitrite		-	-	-	-	-	-	-	-
		-	-	-	-	-	-	-	-
		-	-	-	-	-	-	-	-
		-	-	-	-	-	-	-	-
Urobilinogen (Ehrlich unit/dl)		0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
		0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
		0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
		0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
		0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Protein (mg/dl)		+(30)	++(100)	+(30)	+(30)	±	±	+(30)	-
		++(100)	++(100)	++(100)	+(30)	-	+(30)	+(30)	-
		+(30)	++(100)	-	++(100)	-	-	+(30)	-
		+(30)	+(30)	-	++(100)	-	+(30)	±	+(30)
		-	+(30)	-	-	-	+(30)	+(30)	+(30)
pH		6.5	6.5	7	6	6	6.5	6	6.5
		7.5	6.5	6.5	6.5	6.5	6	7.5	6.5
		6.5	6.5	6.5	7.5	6.5	8	6	6.5
		6.5	6.5	6.5	7	6.5	6.5	6	6
		7	6.5	7	6.5	6.5	6	6	6
Blood Urea		-	-	-	-	-	-	-	-
		-	-	-	-	-	-	-	-
		-	-	-	-	-	-	-	-
		-	-	-	-	-	-	-	-
		1.030	1.030	1.030	1.030	1.025	1.030	1.030	1.030
Gravity		1.025	1.030	1.030	1.030	1.030	1.030	1.030	1.030
		1.030	1.030	1.030	1.030	1.030	1.010	1.030	1.030
		1.030	1.030	1.030	1.030	1.030	1.030	1.030	1.030
		1.030	1.030	1.030	1.030	1.030	1.030	1.030	1.030
		1.030	1.030	1.030	1.030	1.030	1.030	1.030	1.030
Ketone body (mg/dl)		-	-	-	±(5)	-	-	-	-
		±(5)	±(5)	-	±(5)	-	-	-	-
		±(5)	-	+(15)	++(40)	-	-	-	-
		-	±(5)	-	-	-	-	-	-
		-	+(15)	-	-	-	-	-	-
Bilirubin		-	-	-	-	-	-	-	-
		-	-	-	-	-	-	-	-
		-	-	-	-	-	-	-	-
		-	-	-	-	-	-	-	-
		-	-	-	-	-	-	-	-
Glucose (g/dl)		-	-	-	-	-	-	-	-
		-	-	-	-	-	-	-	-
		-	-	-	-	-	-	-	-
		-	-	-	-	-	-	-	-
		-	-	-	-	-	-	-	-

였고, eosinophil, MCHC, platelet가 유의성 있는 감소를 보였다. 또한 암컷 저용량군에서는 MCH의 유의성 있는 증가와 platelet의 유의성 있는 감소를 보였다.

부검시의 혈청 생화학적 검사소견으로는 대조군과 비교하여 수컷 고용량군에서는 liver toxicity의 지표인 ALP(Alkaline Phosphatase), ALT(Alanine Transamin-

ase), total bilirubin, total protein이 유의성 있는 증가를 보였고, renal toxicity의 지표인 electrolyte(calcium, chloride), BUN(Blood urea Nitrogen)이 유의성 있는 증가를 보였다. 그리고, glucose, triglyceride, albumin이 유의성 있는 증가를 보였고, potassium은 유의성 있는 감소를 보였다. 수컷 중간용량군에서는 ALP, total bi-

**Table 2.** Prothrombin time and thromboplastin time of rats intravenously treated with EPO (erythropoietin) (unit: second)

Sex	\Group		Control	Low	Middle	High
	\Dose(IU/kg/day)		0	80	400	2000
	\No. of animal		10	10	10	10
Male	PT	Mean ± S.D.	26.20 <sup>a</sup> ± 1.32	28.00 ± 1.83	20.00* ± 1.63	22.10* ± 3.00
	PTT	Mean ± S.D.	33.70 ± 2.98	33.50 ± 4.30	25.30* ± 2.41	25.80* ± 3.85
Female	PT	Mean ± S.D.	26.50 ± 1.35	26.70 ± 3.83	20.00* ± 1.56	23.90* ± 3.21
	PTT	Mean ± S.D.	36.80 ± 2.30	37.50 ± 3.75	24.70* ± 2.41	25.40* ± 1.43

<sup>a</sup> Values were expressed as mean ± S.D., \* Significantly different from control group(p<0.05).

lirubin, calcium, chloride, BUN, glucose, albumin, potassium이 유의성 있는 증가를 보였고, AST(Aspartate Transaminase)가 유의성 있는 감소를 보였다. 또한 수컷 저용량군에서는 chloride가 유의성 있는 증가를 보였고, potassium, cholesterol이 유의성 있는 감소를 보였다. 한편 암컷 고용량군에서는 ALT, ALP, total bilirubin, total protein이 유의성 있는 증가를 보였고, electrolyte(calcium, chloride), BUN이 유의성 있는 증가를 보였다. 그리고, glucose, triglyceride, albumin이 유의성 있는 증가를 보였다. 그리고, 암컷 중간용량군에서는 ALT, ALP, calcium, glucose가 유의성 있는 증가를 보였고, chloride가 유의성 있는 감소를 보였다. 또한 암컷 저용량군에서는 inorganic phosphorous가 유의성 있는 증가를 보였고, triglyceride, potassium이 유의성 있는 감소를 보였다.

#### 9. 절대장기무게 및 체중에 대한 각 장기의 상대중량비(Tables 5 and 6)

수컷 고용량군에서 liver, spleen, adrenal gland(left), 수컷 중간 용량군에서 liver 및 spleen에 대한 절대장기무게가 대조군에 비하여 유의성 있는 증가를 보였고, 수컷 저용량군에서 testis(left)에서 절대장기무게가 대조군에 비하여 유의성 있는 감소를 보였다.

그리고, 암컷 고용량군에서 liver, spleen, adrenal gland(right), ovary(right & left), 중간용량군에서 body weight, liver, spleen에 대한 절대장기무게가 대조군에 비하여 유의성 있는 증가를 보였다.

수컷 고용량군에서 liver와 spleen, 수컷 중간용량군에서 liver에 대한 체중에 대한 상대중량비가 대조군에 비하여 유의성 있는 증가를 보였다. 그리고, 암컷 고용량군에서 heart와 brain에 대한 체중에 대한 상대중량비가 대조군에 비하여 유의성 있는 감소를 보였고, liver에 대해서는 유의성 있는 증가를 보였다. 한편, 암컷 중간용량군에서 heart, brain, adrenal gland(left)에 대한 체중에 대한 상대중량비가 대조군에 비하여 유의성 있

는 감소를 보였고, liver, ovary(left)에 대한 체중에 대한 상대중량비는 유의성 있는 증가를 보였다.

#### 10. 병리조직검사 소견

고용량군에서 spleen과 bone marrow에서 megakaryocytes와 erythroblastes의 현저한 증가가 나타났고, 그외의 장기에서, 대조군 및 모든 투여용량군에서 특이할 만한 조직병리학적 소견은 인정되지 않았다.

#### IV. 고찰 및 결론

랫드에서 EPO(erythropoietin)의 1개월 반복투여에 대한 독성을 조사하기 위하여 국립보건안전연구원고시 제 94-3호 "의약품등의 독성시험기준(1994년 4월 14일)"에 따라 인체 예상투여용량인 50 IU/kg를 기준으로 저용량 80 IU/kg/day, 중간용량 400 IU/kg/day, 고용량 2000 IU/kg/day을 1일 1회, 주 7회, 28일간 연속 투여하여 얻은 결과를 종합하여 보면 아래와 같다(국립보건안전연구원 1994).

시험기간중 사망 동물은 없었으며 체중변화, 음수 및 사료섭취량 변화를 비롯한 특이한 임상증상을 나타내지 않았고, 뇨검사, 안검사 결과 EPO(erythropoietin) 투여군에서 특이할 만한 변화는 없었다. 부검시의 PT, PTT time의 검사소견에서는 고용량·중간용량군이 대조군보다 유의성 있는 감소를 보였으나, 랫드의 일반적인 생리치 범위를 넘어서는 변화라고는 인정할 수 없었다.

부검시의 혈청 생화학적 검사소견으로는 대조군과 비교하여 고용량군에서 liver toxicity와 renal toxicity의 지표가 유의성 있는 증가를 보였다. 그러나 liver와 kidney에 대한 병리조직학적 검사소견은 특이할 만한 병변을 관찰할 수 없었다.

부검시의 혈액 생화학적 검사결과는 대조군과 비교하여 고용량군에서 RBC, hemoglobin, hematocrit치가 유의성 있는 증가를 보였고, 병리조직학적 검사소견도

Table 3. Hematological values of rats intravenously treated with EPO (erythropoietin)

Parameter	Sex								
	Male			Female					
	\Group \Dose(IU/kg/day) \No. of animal	Control 0 9	Low 80 10	Middle 400 9	High 2000 10	Control 0 9	Low 80 9	Middle 400 9	High 2000 8
Neutrophil ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )		2.01 $\pm$ 0.67	2.19 $\pm$ 0.51	2.33 $\pm$ 0.58	2.19 $\pm$ 0.74	1.69 $\pm$ 0.47	3.87 $\pm$ 6.85	1.59 $\pm$ 0.26	1.72 $\pm$ 0.53
Lymphocyte ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )		10.26 $\pm$ 1.41	10.20 $\pm$ 1.99	11.63 $\pm$ 2.71	12.33 $\pm$ 2.24	8.68 $\pm$ 2.55	7.53 $\pm$ 2.55	7.84 $\pm$ 2.83	9.40 $\pm$ 1.43
Monocyte ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )		0.51 $\pm$ 0.10	0.47 $\pm$ 0.09	0.50 $\pm$ 0.14	0.62 $\pm$ 0.23	0.36 $\pm$ 0.14	0.39 $\pm$ 0.20	0.39 $\pm$ 0.10	0.44 $\pm$ 0.24
Eosinophil ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )		0.12 $\pm$ 0.06	0.14 $\pm$ 0.06	0.14 $\pm$ 0.05	0.10 $\pm$ 0.04	0.14 $\pm$ 0.06	0.11 $\pm$ 0.04	0.08 $\pm$ 0.03	0.10 $\pm$ 0.06
Basophil ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )		0.06 $\pm$ 0.02	0.06 $\pm$ 0.02	0.07 $\pm$ 0.04	0.08 $\pm$ 0.03	0.04 $\pm$ 0.02	0.04 $\pm$ 0.03	0.04 $\pm$ 0.02	0.06 $\pm$ 0.01
Leukocyte ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )		13.33 $\pm$ 2.07	13.50 $\pm$ 2.23	15.18 $\pm$ 3.05	15.73 $\pm$ 2.76	11.24 $\pm$ 2.89	12.49 $\pm$ 5.78	10.31 $\pm$ 2.97	12.11 $\pm$ 1.58
WBC ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )		7.64 $\pm$ 0.27	7.57 $\pm$ 0.47	7.55 $\pm$ 0.40	8.95 $\pm$ 0.32	7.46 $\pm$ 0.24	7.40 $\pm$ 0.36	7.24 $\pm$ 0.26	9.04 $\pm$ 0.63
RBC ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )		14.96 $\pm$ 0.51	14.62 $\pm$ 0.56	14.97 $\pm$ 0.53	17.53 $\pm$ 0.76	14.46 $\pm$ 0.47	14.74 $\pm$ 0.36	14.44 $\pm$ 0.61	18.35 $\pm$ 1.01
HGB (g/dl)		42.57 $\pm$ 1.10	40.68 $\pm$ 2.01	42.96 $\pm$ 1.72	51.74 $\pm$ 2.17	39.16 $\pm$ 1.00	39.40 $\pm$ 1.44	40.37 $\pm$ 1.95	52.21 $\pm$ 3.18
HCT (%)		55.74 $\pm$ 2.09	53.79 $\pm$ 1.13	56.96 $\pm$ 2.13	57.82 $\pm$ 1.84	52.47 $\pm$ 1.11	53.32 $\pm$ 1.96	55.72 $\pm$ 1.39	57.79 $\pm$ 1.02
MCV (fL)		19.58 $\pm$ 0.80	19.33 $\pm$ 0.57	19.88 $\pm$ 0.73	19.61 $\pm$ 0.70	19.37 $\pm$ 0.38	19.96 $\pm$ 0.60	19.96 $\pm$ 0.50	20.35 $\pm$ 0.44
MCH (pg)		35.11 $\pm$ 0.61	35.95 $\pm$ 0.53	34.88 $\pm$ 0.41	33.89 $\pm$ 0.61	36.93 $\pm$ 0.57	37.47 $\pm$ 0.82	35.82 $\pm$ 0.37	35.18 $\pm$ 0.28
MCHC (g/dl)		959.56 $\pm$ 127.84	942.30 $\pm$ 94.96	799.44 $\pm$ 133.72	645.20 $\pm$ 146.30	941.78 $\pm$ 155.42	830.44 $\pm$ 122.27	811.00 $\pm$ 72.40	632.25 $\pm$ 80.66
PLT ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )									

\*Values were expressed as mean  $\pm$  S.D., \*significantly different from control group ( $p < 0.05$ ), WBC, white blood cell; RBC, red blood cell; HGB, hemoglobin; HCT, hematocrit; MCV, mean corpuscular volume; MCH, mean corpuscular hemoglobin; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration; PLT, platelet.

Table 4. Serum biochemical values of rats intravenously treated with EPO (erythropoietin)

Parameter	Sex								
	Male			Female					
	\Group \Dose(IU/kg/day) \No. of animal	Control 0 10	Low 80 10	Middle 400 10	High 2000 10	Control 0 10	Low 80 10	Middle 400 10	High 2000 10
ALT(u/l)		49.89 $\pm$ 8.85	46.10 $\pm$ 5.92	45.60 $\pm$ 6.55	58.00 $\pm$ 10.11	35.60 $\pm$ 5.31	37.22 $\pm$ 11.79	49.50 $\pm$ 8.13	48.60 $\pm$ 6.08
AST(u/l)		291.33 $\pm$ 50.50	267.00 $\pm$ 35.25	233.67 $\pm$ 34.89	260.80 $\pm$ 68.92	221.44 $\pm$ 54.15	216.11 $\pm$ 32.51	186.50 $\pm$ 26.06	209.44 $\pm$ 21.94
CHOL(mg/dl)		74.11 $\pm$ 6.23	60.70 $\pm$ 7.09	77.20 $\pm$ 8.48	71.20 $\pm$ 9.50	80.70 $\pm$ 17.17	71.67 $\pm$ 18.41	78.20 $\pm$ 13.97	81.80 $\pm$ 9.86
GLU(mg/dl)		34.11 $\pm$ 10.49	52.20 $\pm$ 20.22	99.00 $\pm$ 33.98	94.80 $\pm$ 26.52	62.30 $\pm$ 14.94	51.25 $\pm$ 14.72	112.40 $\pm$ 20.83	91.50 $\pm$ 9.87
P(meq/dl)		10.34 $\pm$ 1.32	9.58 $\pm$ 0.73	10.40 $\pm$ 1.18	10.06 $\pm$ 1.23	7.94 $\pm$ 0.55	9.47 $\pm$ 2.13	8.77 $\pm$ 0.97	8.69 $\pm$ 1.11
TB (mg/dl)		0.38 $\pm$ 0.09	0.33 $\pm$ 0.08	0.56 $\pm$ 0.23	0.69 $\pm$ 0.20	0.43 $\pm$ 0.07	0.43 $\pm$ 0.14	0.48 $\pm$ 0.10	0.71 $\pm$ 0.18
TP(g/dl)		6.34 $\pm$ 0.16	6.47 $\pm$ 0.24	6.64 $\pm$ 0.31	6.67 $\pm$ 0.44	6.77 $\pm$ 0.33	6.81 $\pm$ 0.28	6.54 $\pm$ 0.24	7.08 $\pm$ 0.26
TG(mg/dl)		89.11 $\pm$ 36.59	75.40 $\pm$ 18.99	102.40 $\pm$ 51.26	148.20 $\pm$ 45.72	62.20 $\pm$ 17.52	43.44 $\pm$ 11.52	69.80 $\pm$ 20.69	102.70 $\pm$ 22.10
ALP(u/l)		136.22 $\pm$ 25.04	179.60 $\pm$ 34.43	278.20 $\pm$ 128.45	347.80 $\pm$ 84.75	98.50 $\pm$ 19.60	117.33 $\pm$ 81.85	196.80 $\pm$ 40.39	258.20 $\pm$ 71.26
Ca <sup>++</sup> (mg/dl)		8.38 $\pm$ 0.35	8.51 $\pm$ 0.37	9.01 $\pm$ 0.36	8.99 $\pm$ 0.47	8.36 $\pm$ 0.32	8.40 $\pm$ 0.30	9.32 $\pm$ 0.64	9.16 $\pm$ 0.49
Cl <sup>-</sup> (meq/dl)		98.78 $\pm$ 4.38	103.00 $\pm$ 5.03	104.70 $\pm$ 1.57	106.10 $\pm$ 2.85	102.20 $\pm$ 1.62	103.33 $\pm$ 3.61	97.30 $\pm$ 5.60	107.30 $\pm$ 2.26
CREAT(mg/dl)		0.81 $\pm$ 0.09	0.76 $\pm$ 0.05	0.88 $\pm$ 0.06	0.87 $\pm$ 0.09	0.87 $\pm$ 0.07	0.81 $\pm$ 0.09	0.81 $\pm$ 0.07	0.89 $\pm$ 0.06
BUN(mg/dl)		14.67 $\pm$ 2.29	15.90 $\pm$ 1.29	19.40 $\pm$ 3.69	21.30 $\pm$ 1.42	19.00 $\pm$ 1.89	17.56 $\pm$ 3.57	20.10 $\pm$ 2.13	23.50 $\pm$ 2.01
K(meq/l)		19.57 $\pm$ 2.58	16.42 $\pm$ 1.74	21.52 $\pm$ 1.49	12.22 $\pm$ 1.34	17.91 $\pm$ 2.31	15.67 $\pm$ 2.56	18.97 $\pm$ 1.37	19.98 $\pm$ 3.04
Albumin(g/dl)		3.39 $\pm$ 0.47	3.56 $\pm$ 0.34	3.73 $\pm$ 0.19	3.74 $\pm$ 0.22	3.55 $\pm$ 0.49	3.42 $\pm$ 0.64	3.30 $\pm$ 0.73	4.10 $\pm$ 0.22

\*Values were expressed as mean  $\pm$  S.D., \*Significantly different from control group ( $p < 0.05$ ), ALT, alanine transaminase; AST, aspartate transaminase; CHOL, cholesterol; GLU, glucose; P, Inorganic Phosphorous; TB, total bilirubin; TP, total protein; TG, triglyceride; ALP, alkaline phosphatase; Ca<sup>++</sup>, calcium; CL, chloride; CREAT, creatinine; BUN, blood urea nitrogen; K, potassium; ALB, albumin.

**Table 5.** Absolute organ weights of rats intravenously treated with EPO(erythropoietin) (unit : g)

Variable	\Sex	Male						Female										
		\Group		Low		Middle		High		Control		Low		Middle		High		
		\Dose(IU/kg/day)	\No. of animal	80	10	400	10	2000	10	0	10	80	10	400	10	2000	10	
Body Weight(kg)		344.99 <sup>a</sup> ±31.87	346.63±30.10	350.09±26.49	361.73±34.98	227.89 <sup>a</sup> ±25.52	237.88±21.89	261.87 <sup>a</sup> ±21.61	262.05 <sup>a</sup> ±20.76									
Heart		1.34±0.15	1.33±0.12	1.38±0.25	1.37±0.15	0.99±0.10	0.97±0.11	1.02±0.11	0.97±0.12									
Liver		9.75±1.50	9.94±1.06	13.11 <sup>*</sup> ±2.52	14.55 <sup>*</sup> ±1.78	7.04±0.61	7.00±0.62	11.13 <sup>*</sup> ±1.32	11.40 <sup>*</sup> ±1.13									
Spleen		0.71±0.09	0.73±0.08	0.84 <sup>*</sup> ±0.16	0.90 <sup>*</sup> ±0.09	0.56±0.09	0.62±0.18	0.73 <sup>*</sup> ±0.14	0.78 <sup>*</sup> ±0.15									
Brain		2.02±0.10	2.02±0.17	2.00±0.35	2.08±0.13	1.98±0.12	2.00±0.07	1.97±0.06	1.95±0.09									
Adrenal gland(left)		0.04±0.01	0.04±0.01	0.03±0.00	0.05 <sup>*</sup> ±0.01	0.04±0.01	0.04±0.01	0.03±0.01	0.04±0.01									
Adrenal gland(right)		0.04±0.01	0.03±0.01	0.04±0.01	0.04±0.01	0.03±0.01	0.04±0.01	0.04±0.01	0.05 <sup>*</sup> ±0.01									
Salivary gland		0.91±0.27	0.91±0.30	0.83±0.17	0.94±0.18	0.71±0.24	0.57±0.20	0.73±0.23	0.70±0.11									
Lung		2.18±0.38	2.42±0.33	2.42±0.38	2.14±0.57	1.79±0.30	1.98±0.35	2.22±0.75	1.96±0.25									
Kidney left		1.35±0.13	1.40±0.13	1.46±0.20	1.47±0.18	0.92±0.08	0.85±0.26	1.03±0.14	1.04±0.12									
Kidney right		1.37±0.12	1.43±0.12	1.44±0.23	1.44±0.16	0.95±0.11	0.95±0.08	1.05±0.15	1.06±0.12									
Testis/Ovary(left)		1.55±0.18	1.26 <sup>*</sup> ±0.42	1.53±0.10	1.52±0.14	0.06±0.01	0.06±0.01	0.08±0.02	0.09 <sup>*</sup> ±0.04									
Testis/Ovary(right)		1.54±0.17	1.36±0.38	1.53±0.11	1.56±0.18	0.07±0.01	0.06±0.01	0.08±0.02	0.09 <sup>*</sup> ±0.02									

<sup>a</sup>Values were expressed as mean ± S.D., <sup>\*</sup>Significantly different from control group(p<0.05).

**Table 6.** Relative organ weights of rats intravenously treated with EPO(erythropoietin). (unit : %)

Variable	\Sex	Male						Female										
		\Group		Low		Middle		High		Control		Low		Middle		High		
		\Dose(IU/kg/day)	\No. of animal	80	10	400	10	2000	10	0	10	80	10	400	10	2000	10	
Heart		0.39 <sup>a</sup> ±0.07	0.38±0.06	0.40±0.07	0.38±0.03	0.44 <sup>a</sup> ±0.08	0.41±0.05	0.39 <sup>a</sup> ±0.04	0.37 <sup>a</sup> ±0.03									
Liver		2.87±0.68	2.90±0.51	3.75 <sup>*</sup> ±0.68	4.02 <sup>*</sup> ±0.24	3.11±0.37	2.96±0.33	4.25 <sup>*</sup> ±0.37	4.35 <sup>*</sup> ±0.21									
Spleen		0.21±0.04	0.21±0.03	0.24±0.03	0.25 <sup>*</sup> ±0.03	0.25±0.04	0.30±0.08	0.28±0.05	0.30±0.05									
Brain		0.59±0.06	0.59±0.08	0.57±0.11	0.58±0.06	0.88±0.10	0.84±0.07	0.76 <sup>*</sup> ±0.06	0.75 <sup>*</sup> ±0.06									
Adrenal gland(left)		0.01±0.00	0.01±0.00	0.01±0.00	0.01±0.00	0.02±0.00	0.02±0.00	0.01 <sup>*</sup> ±0.00	0.02±0.00									
Adrenal gland(right)		0.01±0.00	0.01±0.00	0.01±0.00	0.01±0.00	0.01±0.00	0.02±0.00	0.01±0.00	0.02±0.01									
Salivary gland		0.27±0.10	0.27±0.09	0.24±0.05	0.26±0.05	0.31±0.10	0.24±0.07	0.28±0.08	0.27±0.05									
Lung		0.64±0.13	0.71±0.14	0.70±0.15	0.59±0.14	0.79±0.12	0.84±0.17	0.84±0.27	0.75±0.06									
Kidney (left)		0.40±0.07	0.41±0.07	0.42±0.05	0.40±0.02	0.41±0.05	0.36±0.12	0.39±0.04	0.40±0.04									
Kidney (right)		0.40±0.06	0.42±0.07	0.41±0.06	0.40±0.03	0.42±0.06	0.40±0.03	0.40±0.05	0.40±0.04									
Testis/Ovary(left)		0.45±0.08	0.37±0.14	0.44±0.06	0.42±0.04	0.02±0.00	0.03±0.01	0.03 <sup>*</sup> ±0.0	0.04±0.01									
Testis/Ovary(right)		0.45±0.08	0.40±0.13	0.44±0.06	0.43±0.05	0.03±0.01	0.03±0.01	0.03±0.01	0.03±0.01									

<sup>a</sup>Values were expressed as mean ± S.D., <sup>\*</sup>Significantly different from control group(p<0.05).

spleen과 bone marrow에서 megakaryocyte와 erythroblast의 현저한 증가를 보이고, liver와 spleen에 대한 질 대장기무게 및 체중에 대한 상대증량비도 증가를 보였는데, 이는 James(1993), Kazuo 등(1990)이 주장한 erythropoietin이 후기적아구계 전구세포의 분화단계의 세포에 작용, 그 분화증식을 촉진시켜 조혈작용을 유발한다는 결과와 일치함으로 시험물질인 EPO(erythropoietin)의 약리작용으로 사료된다.

그러므로 랫드에서 4주간 EPO(erythropoietin) 정맥내 연속투여는 최고 2000 IU/kg/day까지 독성을 나타내지 않는 것으로 사료된다.

### 참고문헌

- Fisher J.W. (1993): Recent advances in erythropoietin research. pp. 293~311 in ; Progress in Drug Research, Vol. 41. eds. Ernst Jucker, Birkhauser Verlag Basel, Switzerland pp. 293~311.
- James W. and Fisher J.W. (1993): Recent advances in erythropoietin research. pp.293~311. : Progress in Drug Research, Vol. 41. eds. Ernst Jucker, Birkhauser Verlag Basel, Switzerland.
- Kazuo Okumura, Shoichi Aoki, Takako Sugino, Tomoko Ono, Naoki Nagano and Yoshiko Iba(1990) : Metabolic fate of erythropoietin(TYB-5220). *藥理と治療* **18** : 953-971.
- Kim D.H., Lim D.M., Cho H.J., Park K.H., Ha B.J. and Kim H.S. (1994): Subacute toxicity of recombinant human erythropoietin in rats. *Korean J. Toxicol.* **10** : 243~254.
- 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.
- Yajima N, Kurata Y, Imai E, Sawai T and Takeshita Y (1993): Genotoxicity of genetic recombinant human erythropoietin in a novel test system. *Mutagenesis.* **8**(3): 231~236.
- 국립보건안전연구원 (1994): 의약품 등의 독성시험 기준(국립보건안전연구원 고시 제94-3호)