

CHO 세포에서 생산된 재조합 Erythropoietin (EPO)의 약효

김석준 · 하병집 · 이동억 · 오명석 · 김달현 · 박관하 · 김현수*

제일제당(주) 종합연구소

Efficacy of Recombinant Erythropoietin from CHO Cells

Suk Joon KIM, Byung Jhip HA, Dong Eok LEE, Myung Suk OH, Dal Hyun KIM, Kwan Ha PARK and Hyun Su KIM*

R&D Center, Cheil Foods & Chemicals Inc., 522-1 Dokpyung-ri, Majang-myun, Ichon-gun, Kyunggi-do 467-810, Korea

(Received October 28, 1994; accepted November 29, 1994)

Abstract—*In vivo* activity of recombinant human erythropoietin (rh-EPO) has been examined using polycythemic model in mice and acute hemorrhage model in rats. The number of reticulocytes in blood stream was increased after a single injection of rh-EPO depending on the dosage of rh-EPO in polycythemia model. It seemed that optimal dose of rh-EPO for polycythemic mice was around 1-10 U/kg. Rh-EPO also showed the effectiveness for increase of reticulocyte numbers both in male and female rats after bleeding. The number of reticulocytes and the change of hemoglobin concentration in the blood stream of normal rats has been examined after injection of rh-EPO. The maximum value of reticulocyte was observed on the 6th day of the injection in these normal rats. In addition, the increase of reticulocyte and the concentration of hemoglobin were dependent on the dosage of rh-EPO. The increase of hemoglobin concentration was continued to the 9th day after injection. In this study, the efficacy of rh-EPO was confirmed in both mice and rats.

Keywords □ rh-EPO, CHO cells, polycythemic mice, rat, hemorrhage

에리스로포이에틴(EPO)은 신장에서 생성되는 당단백질 호르몬으로서 적혈구 전구세포의 분열과 분화를 촉진한다. EPO는 태아 때에는 간에서 생성되지만, 출생후 6주가 지나면 신장에서 만들어지기 시작한다(Fisher, 1993). 적혈구의 주요기능은 산소 운반으로 조직의 산소 요구도는 적혈구 생성과 밀접한 연관이 있다. 정상시의 혈중 EPO 농도는 100~200 pg/ml을 유지하나 저산소 상태가 되면 1000배 이상으로 증가하여 적혈구 생성을 자극한다(Schuster 등, 1989).

80년대에 들어와 EPO 유전자가 클로닝되고 유전자 서열이 밝혀짐으로써 재조합 EPO가 만들어지면서 대량 생산이 가능해졌다(Jacobs 등, 1985; Lin 등, 1985). EPO는 165개의 아미노산으로 구성되어 있으며 약 30, 400 Da의 분자량을 갖는다. 아미노산 성분만으로 계산된 분자량은 18,398이며(Jacobs 등, 1985), 나머지는 글리코실레이션에 의한 당 성분이다. 당 성분의 40%를 시알

릭산이 차지하는데(Dorsal, 1985) 이 시알릭산이 제거되어도 EPO의 체외활성은 남아 있으나 체내에서의 수명은 단축된다(Goldwasser, 1974). 따라서, 재조합 DNA 기술로 만들어진 재조합 EPO는 신장성 빈혈, 만성 빈혈, 조산에 의한 빈혈, 화학적·방사성 치료 후의 혈액 회복 등에 사용될 수 있으나(Fisher, 1993), 약효를 제대로 나타내기 위해서는 글리코실레이션이 적절하게 이루어져야 한다.

본 연구에서 사용한 EPO는 제일제당(주)에서 생산한 recombinant human EPO(rh-EPO)로서 SV40 어얼리프 로모터의 조절을 받도록 재조합 플라스미드를 제조하여 Chinese Hamster Ovary(CHO) 세포에서 발현한 것이다. 본 연구의 목적은 이 rh-EPO가 생물학적인 활성을 갖는지의 여부를 mouse와 rat를 대상으로 확인하는 것이다. EPO의 활성을 연구하기 위하여, EPO는 병리적 상황을 결정짓는 혈액학적 요소들의 회복에 관여할 수 있으므로, 적혈구 조절을 방해하는 혈액의 특별한 병리적 상황(다혈구혈증)을 유도하기도 한다. 본 실험에서는 polycythe-

* To whom correspondence should be addressed.

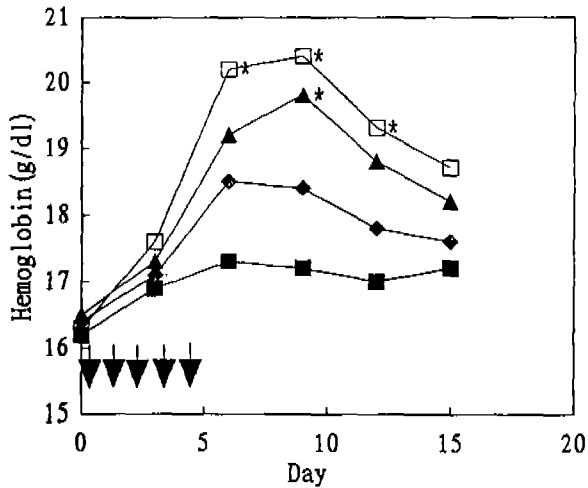


Fig. 3. Effect of rh-EPO on hemoglobin concentration in normal rats. *: Significantly different from control group ($p < 0.05$). ■: control; ◆: 50 U/kg; ▲: 250 U/kg; □: 1250 U/kg; arrows: point of EPO injection. The x-axis represents the days after 1st EPO injection.

참고문헌

Dorsal, M. S., Wang, F. F. and Goldwasser, E. (1985). The

role of carbohydrate in erythropoietin action. *Endocrinol.* **116**, 2293-2299.

Fisher, J. W. (1993). Recent advances in erythropoietin research. *Prog. Drug. Res.* **41**, 293-311.

Goldwasser, E., Kung, C. K-H, Eliason, J. (1974). On the mechanism of erythropoietin-induced differentiation. *J. Biol. Chem.* **249**, 4202-4206.

Jacobs, K., Shoemaker, C., Rudersdorf, R., Neill, S. D., Kaufman, R. J., Mufson, A., Seehra, J., Jones, S. S., Hewick, R., Fritsch, E. F., Kawakita, M., Shimizu, T. and Miyake, T. (1985). Isolation and characterization of genomic and cDNA clones of human erythropoietin. *Nature* **313**, 806-810.

Levine, E. A., Rosen, A. L., Sehgal, L. R., Gould, S. A., Egrie, J. C., Sehgal, H. L. and Moss, G. S. (1989). Treatment of acute postoperative anaemia with recombinant human erythropoietin. *J. of Trauma.* **29**, 1134-1140.

Lin, F. K., Suggs, S., Lin, C. H., Browne, J. K., Smalling, R., Egrie, J. C., Chen, K. K., Fox, G. M., Martin, F., Stabinsky, Z., Badrawi, S. M., Lai, P. H. and Goldwasser, E. (1985). Cloning and expression of the human erythropoietin gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **82**, 7580-7584.

Schuster, S. J., Badiavas, E. V., Costa-Giomi, P., Weinmann, R., Erslev, A. J. and Caro, J. (1989). Stimulation of erythropoietin gene transcription during hypoxia and cobalt exposure. *Blood* **73**, 13-16.