

지연성재조합사람성장호르몬의 보관안정성과 그것에 의한 확장형심근증의 치료효과

김진선, 라현수, 함수웅, 강기찬

위대한 령도자 김정일동지께서는 다음과 같이 교시하시였다.

《현시기 질병과의 투쟁에서 중요한것은 심장혈관계통질병, 암성질병, 물질대사질병을 비롯하여 병걸린률과 노동능력상실률이 높은 질병을 미리막기 위한 대책을 바로세우는것입니다.》(《김정일선집》 증보판 제11권 72페이지)

사람성장호르몬은 몸안에서 연골세포분화와 연골기질세포의 증식을 자극하고 단백질 합성을 촉진하며 기름질대사를 조절하여 혈중콜레스테롤농도 및 저밀도기름단백질의 함량을 낮추고 유리기름산의 농도를 높인다.

이것을 성장호르몬의 분비기능이 없거나 약한 어린이들에게 적용하는 경우 키를 크게 하며 중년기이후의 사람들인 경우에는 심근증을 비롯한 심장혈관계통질병, 뼈성감증, 운동시 관절부위아픔, 근육위축, 고지혈증, 복부비만증과 같은 질병치료에도 리용되고있다. [4, 5]

그러나 사람성장호르몬의 체내에서의 반감기가 매우 짧으므로 세계적으로 수식, 미세교감, 자극응답성겔, 리포솜피복기술과 같은 약물수송계를 리용한 안정성과 효과성을 높이기 위한 연구[6-8]가 진행되고있다.

우리는 재조합사람성장호르몬(rhGH)을 리포솜화하여 만든 지연성재조합사람성장호르몬(SR-rhGH)에 대한 지연효과를 검토[1-3]한데 기초하여 그것의 보관안정성과 확장형심근증(특발성 및 허혈성)환자들에 대한 치료효과를 검토하였다.

재료 및 방법

보관안정성과 확장형심근증치료효과판정은 리포솜에 rhGH을 봉입시켜 제조한 SR-rhGH 주사약(2U/mL)을 리용하여 진행하였다.[2]

SR-rhGH의 보관안정성은 -20°C , 4°C 와 방온도(25°C)에서 방치시간에 따르는 산화지수, 봉입률, 평균립자크기와 같은 특성변화를 관찰하는 방법으로 진행하였다.

SR-rhGH에 의한 확장형심근증치료효과판정은 심부전환자 100명(연구조 60명, 대조조 40명)을 대상으로 2017년 5월부터 2018년 6월까지 기간에 김일성종합대학 평양의학대학병원 순환기내과학강좌와 김만유병원 고혈압과에서 진행하였다.

대조조는 심부전의 일반약(강심제, 리노제, 혈관확장제, β -차단제)치료를, 연구조는 심부전의 일반약치료와 함께 SR-rhGH주사(0.05U/kg 으로 1일에 1회씩 3~5일 간격으로 근육주사)를 결합하여 30일동안 치료하고 자각증상과 심장초음파검사지표들을 분석하여 SR-rhGH 효과를 판정하였다.

결과 및 논의

1) 보관기간과 온도에 따른 SR-rhGH의 특성변화

SR-rhGH를 -20 , 4°C 와 방온도(25°C)에서 방치하면서 보관기간에 따른 산화지수, 봉입률, 평균립자크기를 측정하였다.(표 1)

표 1. 보관기간과 온도에 따른 SR-rhGH리포솜의 특성변화

지 표		보관기간/개월								
		0	3	6	9	12	15	18	21	24
산화지수(OD ₂₃₃)	−20℃	0.11	0.11			0.11				0.11
	4℃	0.11	0.13	0.12	0.21	0.21	0.26	0.33	0.37	0.40
	방온도	0.11	0.14	0.18	0.25	0.28	0.38	0.43	0.56	0.72
봉입률/%	−20℃	75.2	75.1			75.2				75.2
	4℃	75.2	74.7	74.3	74.4	72.1	70.9	70.3	69.2	67.5
	방온도	75.2	72.4	72.0	70.9	68.6	65.2	62.8	60.1	56.7
평균립자크기/nm	−20℃	100	100			100				100
	4℃	90	90	90	90	90	90	100	100	100
	방온도	100	110	120	155	160	180	180	200	210

표 1에서 보는바와 같이 -20°C 에서 보관하였을 때 SR-rhGH의 산화지수와 봉입률, 립자크기는 2년이 지나도 변하지 않았다. 그러나 4°C 와 방온도에서 보관하는 경우 시간이 지남에 따라 산화지수값과 립자크기는 커지고 단백질봉입률은 떨어졌는데 -20°C 에서 보관할 때에 비하여 산화지수는 각각 3.6, 6.4배로 높아졌고 평균립자크기는 방온도에서 2배이상으로 높아졌으며 리포솜에 의한 단백질의 봉입률은 4°C 와 방온도에서 -20°C 의 75.2%로부터 각각 67.5, 56.7%로 낮아졌다. 이것은 처리온도가 높을수록 리포솜을 이루는 링기름질들의 과산화가 더 강하게 진행되며 이때 생성되는 히드록시라디칼종들이 리포솜막의 안정성을 낮추고 리포솜의 봉입률에 영향을 준다는 선행자료[5]와 비교적 일치한다.

각이한 온도에서 2년동안 보관한 SR-rhGH의 SDS-PAGE결과는 그림과 같다.

그림에서 보는바와 같이 리포솜에 봉입된 rhGH는 2년후에도 분해되지 않았다. 이것은 리포솜이 rhGH를 안정하게 봉입하고있으며 봉입된 rhGH역시 시간이 지남에 따라 분해가 거의 일어나지 않는 안정한 단백질이라는것을 보여준다. 따라서 SR-rhGH는 -20 , 4°C 에서 2년동안 보관하면서 안전하게 리용할수 있다.

1 2 3 4 5

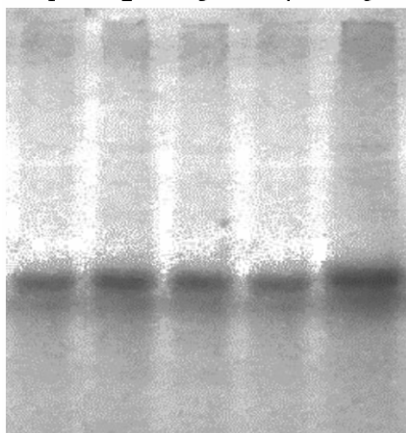


그림. 각이한 온도에서 보관한 SR-rhGH의 SDS-PAGE상

1-처리전 SR-rhGH, 2- -20°C 에서 2년 보관한 SR-rhGH, 3- 4°C 에서 2년 보관한 SR-rhGH, 4-방온도에서 2년 보관한 SR-rhGH, 5-rhGH표품(WHO)

2) SR-rhGH에 의한 확장형심근증의 치료효과

SR-rhGH가 환자의 자각증상에 미치는 영향 확장형심근증(특발성 및 허혈성)환자 100명에 대하여 대조조(40명)는 심부전의 일반약치료를, 연구조(60명)는 심부전의 일반약치료와 함께 SR-rhGH주사를 결합하여 30일동안 치료하면서 숨차기, 가슴답답한 감, 심계항진, 맥없기, 복부팽만감과 같은 자각증상에서의 변화를 관찰하였다.(표 2)

표 2. SR-rhGH로 치료한 환자들에서 자각증상의 변화

구분	숨차기	가슴답답한 감	심계항진	맥없기	복부팽만감	총유효률/%
대조조 (n=40)	치료전 36	38	36	34	36	71
치료후	32	32	30	26	32	
연구조 (n=60)	치료전 56	50	46	54	46	73
치료후	47	40	41	48	38	

표 2에서 보는바와 같이 SR-rhGH로 치료한 연구조와 대조조사이에 자각증상에서의 유효성차는 인정되지 않았다.

SR-rhGH가 환자들의 심장초음파지표 및 심장수축기능에 미치는 영향 SR-rhGH가 심장재구축에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 심부전환자에게 SR-rhGH주사약을 주사한 경우 좌심방경(LAD), 좌심실수축말기경(ESD), 좌심실확장말기경(EDD), 확장기말중격두께(IVSTD), 확장기말후벽두께(PWTD)에서의 변화를 측정하였다.(표 3)

표 3. SR-rhGH가 환자들의 심장초음파지표들에 미치는 영향

지표 구분	LAD /cm	ESD /cm	EDD /cm	IVSTD /cm	PWTD /cm
대조조 (n=40)	치료전 4.06±1.02	5.23±1.32	6.24±0.86	0.81±0.12	0.85±0.21
치료후	4.01±0.92	4.81±0.92*	6.0±0.67	0.85±0.18	0.86±0.21
연구조 (n=60)	치료전 4.08±0.83	5.25±1.13	6.33±1.03	0.88±0.16	0.75±0.14
치료후	3.86±0.77*, **	4.56±1.04*, **	5.58±0.95*, **	0.9±0.16	0.79±0.13

* $p<0.05$ (치료전과 비교), ** $p<0.05$ (대조조와 비교)

표 3에서 보는바와 같이 SR-rhGH주사제를 주사한 경우 환자들의 좌심방경(LAD), 좌심실수축말기경(ESD), 좌심실확장말기경(EDD)이 대조조에 비하여 유의성있게 개선되었다는 것을 알수 있다.

다음 SR-rhGH를 주사한 후 확장형심근증(특발성 및 허혈성)환자 60명에 대한 심장수축기능을 관찰하였다.(표 4)

표 4에서 보는바와 같이 SR-rhGH로 치료하는 경우 EF(구출률)은 (50.65±15.86)%로서 대조조에 비하여 현저하게 높아졌다.

표 4. SR-rhGH가 환자들의 심장수축기능에 미치는 영향

구분	구출률 EF/%	
	치료전	치료후
대조조(n=40)	33.60±20.27	43.13±15.04*
연구조(n=60)	35.11±15.48	50.65±15.86*, **

* $p<0.05$ (치료전과 비교), ** $p<0.05$ (대조조와 비교)

SR-rhGH를 주사한 환자들의 혈액학적지표 SR-rhGH를 주사한 후 환자들의 GPT, GOT, WBC, RBC, Th와 같은 혈액학적지표를 검사하였다.(표 5)

표 5. SR-rhGH를 주사한 환자들의 혈액학적지표

구분	GPT	GOT	WBC	RBC($\times 10^4$)	Th($\times 10^4$)
대조조(n=20)	41.5 \pm 3.2	50.2 \pm 4.2	6 300 \pm 243	385 \pm 76	16 \pm 0.9
연구조(n=30)	42.8 \pm 3.2	52.4 \pm 6.2	6 500 \pm 132	367 \pm 85	15 \pm 1.2

표 5에서 보는바와 같이 SR-rhGH를 주사한 연구조의 혈액학적지표를 검사한 결과 대조조와 유의한 차이가 인정되지 않았다.

한편 확장형심근증(특발성 및 허혈성)환자 100명중 SR-rhGH를 30일동안 주사하여 치료한 연구조 60명과 대조조 40명을 대상으로 비교한데 의하면 3개월, 6개월후 연구조에서는 심부전에 의한 재입원환자가 한명도 없었으나 대조조에서는 재입원률이 3개월후에 10%, 6개월후에는 15%였다.

맺 는 말

1) 2년동안 보관하였을 때 SR-rhGH의 산화지수값은 -20°C 에서 0.11, 4°C 에서 0.40 그리고 방온도에서 0.72로서 -20°C 에서 가장 낮았으며 리포솜에 의한 단백질의 봉입률은 -20°C 에서 75.2%, 4°C 에서 67.5%, 방온도에서 56.7%였다. SR-rhGH립자크기는 -20°C 와 4°C 에서 큰 변화가 없었으나 방온도에서는 2배이상 커졌으며 2년후에도 리포솜rhGH는 분해되지 않았다.

2) 확장형심근증(특발성 및 허혈성)환자에게 심부전의 일반약물치료와 SR-rhGH주사를 결합하여 30일동안 치료하는 경우 심장초음파지표들과 심장수축기능이 유의하게 개선되고 3개월, 6개월후 심부전에 의한 재입원률이 0%였으나 일반약물치료한 대조조에서 재입원률이 3개월후에는 10%, 6개월후에는 15%였다.

참 고 문 헌

- [1] 강현숙; 생물공학학회지, 2, 36, 주체100(2011).
- [2] 김옥희 등; 생물학, 2, 19, 주체106(2017).
- [3] 김옥희 등; 생물학, 3, 64, 주체106(2017).
- [4] Sorina Mihail et al.; Cardian Juornal of Cardiology, 31, 752, 2015.
- [5] A. Jostle et al.; Clin. Endocrinol., 62, 5, 623, 2005.
- [6] Omar Mohd Atrouse; Pakistan Journal of Biological Sciences, 5, 9, 948, 2002.
- [7] K. R. Whiteman et al.; J. Liposome Res., 11, 153, 2001.
- [8] Yong-Zhuo Huang et al.; Bio. Pharm. Bull., 28, 2, 387, 2005.

주체108(2019)년 7월 5일 원고접수

Study on the Storage Stability of the Sustained Releasing Recombinant Human Growth Hormone and Their Therapeutic Effect for Cardiomyopathia Dilatativa

Kim Jin Son, Ra Hyon Su, Ham Su Ung and Kang Ki Chan

We examined the storage stability of the sustained releasing recombinant human growth hormone(SR-rhGH) and their therapeutic effect for cardiomyopathia dilatativa patients.

When SR-rhGH had been stored for 2 years, their oxidative index value was 0.11 at -20°C , 0.4 at 4°C , and 0.72 at the room temperature. The encapsulation ratio of the protein into the liposome was 75.2% at -20°C , 67.5% at 4°C and 56.7% at the room temperature. There was no significant difference in the particle size of SR-rhGH at -20°C and 4°C . The particle size of SR-rhGH has got 2 times large at the room temperature, and then there was no significant cleavage of the encapsulated recombinant hGH after 2 years.

The cardiosonic indexes and the cardiocontract functions of the patients with cardiomyopathia dilatativa were improved significantly when treated by SR-rhGH with the common therapeutic medicine for the heart failure for 1 month and no patients revisited the clinic within 6 months.

Key words: cardiomyopathia, sustained releasing recombinant human growth hormone, SR-rhGH