

Urokinase loading Dose와 Maintenance Dose를 위한 연구

순천향의대 천안병원 내과학교실

홍세용 · 양동호 · 신현길 · 김순길 · 오도연

목암 생명공학연구소

김 기 용 · 기 은 경 · 정 광 희

서울대학교 의과대학 약리학교실

신 상 구

서 론

혈전을 용해시킬 목적으로 흔히 사용되는 urokinase의 주 약리작용은 urokinase가 그의 기질인 plasminogen에 작용하여 plasmin을 유리시키고 이는 강력한 섬유소 용해작용을 한다는데 기초한다¹⁾. Urokinase는 t-PA나 prourokinase와 달리 fibrin 선택성이 없어^{2,3)}, 혈전에 부착된 plasminogen뿐 아니라 혈중의 plasminogen과도 같은 정도의 친화력으로 반응하게 되어 소위 therapeutic window에 해당하는 혈중 농도에서도 plasmin이 혈중에 존재하게 된다. 이처럼 효과적인 약물치료를 위해서는 인위적으로 disseminated intravascular coagulation (DIC)와 비슷한 환경을 유도해야 하고 urokinase의 반감기가 수분 내외로 짧아서³⁾ 효과적이면서도 안전한 양을 결정하기가 쉽지 않다. 서양인들의 성서(text book)^{4,5)}에서는 4,400 units/kg을 10~30분에 걸쳐 주입하고 이후 1~3일간 매시간 4,400 unit/kg을 점적 주사 하도록 권장하고 있으나 서양인들을, 대상으로 한 이 양이 동양인에게도 그대로 적용이 될지는 알 수 없다. 일반적으로 약의 용량은 그 약의 치료효과를 양적으로 측정할 수 있을때 쉽게 결정될 수 있다.

이런 측면에서 보면 urokinase의 투여량은 이미 형성된 혈전을 용해시킬 수 있는 양으로 혈중에 적절한 양의

free form plasmin을 형성하는 양이라고 가정할 수 있다. 최근 저자들은 혈중에서 최초로 free form plasmin을 만들기 시작하는 urokinase의 혈중 농도가 5~10 units/ml 사이일 것임을 보고한바 있다⁶⁾. 물론 시험관에서의 효소 반응의 결과를 생체에 바로 적용하기에는 문젯점이 있겠으나 기질(substrate)의 농도가 비교적 일정하고 물리적인 조건들이 일치한다면 plasminogen으로부터 free form plasmin이 형성되는 최소의 urokinase 농도는 큰 차이가 없을 것으로 판단된다. 본 연구의 목적은 urokinase의 적절한 투여량을 산출하기 위하여 혈중에서의 urokinase의 반감기와 청소율(clearance rate) 및 인체내에서의 Apparent volume of distribution (Vd)을 측정하는데에 있다.

대상 및 방법

29세에서 69세 사이의 뇌졸중 환자 6명을 대상으로 하였다. 각 예의 임상적 특징 및 기본적인 검사소견은 Table 1에 요약 하였다.

Urokinase 투여 및 체혈 : 각 예에서 brain CT 결과가 cerebral infarction의 소견을 보이고 신경내과 전문의의 임상적인 판단으로 urokinase 치료의 적응증이 된다고 판단 된 경우에 기준치를 위한 체혈을 한 다음 한국 독십자사에서 시판하는 urokinase 300,000 단위를 5분에 걸쳐 정맥주사 한 후 반대측 팔에서 즉시 체혈하고(0분)이어서 2분, 5분, 10분, 20분, 30분, 40분, 50분, 60분에 체혈하여 2.8% sodium citrate와 1:9의 비로 혼

Table 1. Clinical Characteristics of the Cases

Case	1	2	3	4	5	6
Sex (male/female)	F	F	M	M	M	F
Age (years)	29	55	65	69	56	65
Body weight (kg)	56	60	55	60	57	65
Height (cm)	160	156	167	165	160	155
Brain CT finding	normal	cerebellar-infarction	cerebral-infarction	normal	cerebral-infarction	normal
Underlying disease	mitral heart	unknown	HT	HT	HT	DM
Blood pressure (mmHg)	100/60	150/90	150/100	170/90	180/110	140/90
EBS (mg/dl)	100	93	90	100	85	120
GOT/GPT (unit)	17/17	29/32	31/40	28/40	20/13	25/28
Proteinuria	—	—	—	—	—	—
BUN/creatinine (mg/dl)	11.0/0.7	23.5/0.6	24.4/0.9	11.0&0.6	36.8/1.9	15.4/0.6
Hb/Hct (gm/%)	11.5/35	14.9/46	16.8/51	13.1/48	10.9/34.8	14.4/43.8
Clinical outcome	good-recovery	good-recovery	moderate-disability	good-recovery	expired	good-recovery

HT : hypertension, Normal finding of brain CT suggested lacuna infarction.

Table 2. Pharmacokinetic Parameter Estimates Following a 300,000 Unit Urokinase Administration Over 5 Minutes in Six Patients with Cerebral Thrombosis

Case	Vdss (L)	Vc (L)	CL.int (ml/min)	CL (ml/min)	t 1/2 α (min)	t 1/2 β (min)	AUC (unit/ml, min)
1	7.48	3.00	594	184	1.9	31.6	1,524
2	10.24	3.51	857	286	1.6	28.7	979
3	9.30	1.63	563	242	1.3	34.8	897
4*	7.25	7.25	—	252	—	22.7	1,377
5	9.66	5.59	316	135	4.8	53.7	2,328
6	12.82	6.39	943	366	2.1	26.9	989
Mean	9.46	4.56	655	244	2.3	33.1	1,349
SD	2.04	2.18	250	80	1.4	10.9	541

* Best model for this subject was one compartmental model.

함하여 혈장을 분리하였다.

Urokinase의 측정 : 상품화된 enzyme-linked immunosorbent assay kit (American Diagnostica Inc. IMUBIND)를 이용하여 urokinase antigen을 측정하였다. 이 ELISA kit는 두 종류의 monoclonal antibodies를 이용한 double antibody principle에 의한 방법으로 single-chain 및 two-chain 형태의 urokinase를 검출하는 것으로 알려져 있고 60%의 urokinase/plasminogen activator inhibitor-1(PA1-1)의 복합체도 검출되는 것으로 알려져 있다⁷⁾. Normal pooled pla-

sma에 urokinase를 가하여 다양한 농도의 urokinase를 만들고 이들의 값을 이용하여 표준곡선을 작성하였다.

시간경과에 따른 urokinase 값은 two compartment model에 대입하여 반감기, steady state volume of distribution (Vdss), central compartment volume (VC), inter compartmental clearance (CL.int), area under the concentration time curve (ACU)그리고 total body clearance (CL)등을 구하였다.

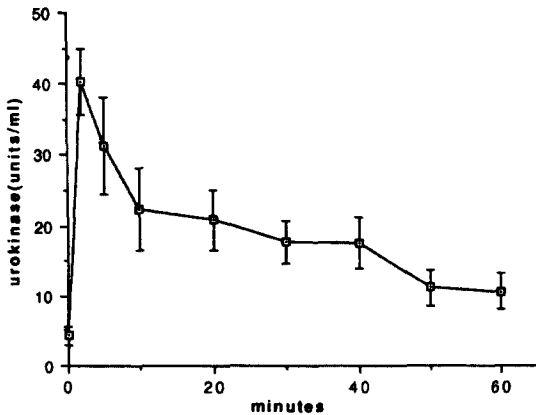


Fig. 1. Time course of urokinase clearance in 6 Korean adults following a bolus injection of 300,000 units. Mean $\pm$ SD

결 과

Urokinase 주사 후 경과에 따른 혈중 농도의 변동을 나타내는 Fig. 1(time-concentration curve)에서 half life는 전반부(distribution phase) 2.3분과 후반부(elimination phase) 33.1분으로 two-compartment disposition을 보이고 있다. Two-compartment model을 이용하여 산출한 pharmacokinetic parameter들을 보면 (Table 1), V_{dss} 는 9.46 ± 2.04 , V_c 는 4.56 ± 2.18 , CL_{int} 는 655 ± 250 ml/min, CL 은 244 ± 80 ml/min, AUC 는 $1,349 \pm 541$ unit/ml·min이었다.

Loading dose: desired concentration $\times V_c$

= 10 units/ml $\times 4,560$ ml = 45,600 units

Maintenance doses: desired concentration $\times CL$

= 10 units/ml $\times 244$ ml/min

= 2,440 units/min

= 146,400 units/hr.

고 찰

저자들은 혈중에서 free form plasmin이 형성될 수 있는 최소의 urokinase 농도가 5~10 units/ml 사이임을 보고한 바 있다⁶⁾. 따라서 효과적인 섬유소 용해를 위해서는 혈중의 urokinase 농도가 10 units/ml 정도 이

야 할 것으로 판단되는데 상한선이 어느 정도일 것인지는 결정하기가 쉽지 않다. 그 이유는 과다한 plasmin에 의한 출혈성 경향을 정확히 예측할 수 있는 지표가 아직은 없기 때문이다. 따라서 free form plasmin을 유리하는 urokinase의 최소의 혈중 농도라고 생각되는 양을 기준으로 계산한 loading dose 및 maintenance dose를 투여하면서 검사방법이 비교적 간단하고 혈중 fibrinogen치를 잘 반영하는 thrombin time 검사를 하면서 양을 조절하는 것이 합리적인 방법으로 생각된다^{4,6)}.

Enzyme과 substrate의 반응이라는 측면에서 볼 때 상황에 따라서는 기질인 plasminogen의 농도가 효소인 urokinase의 활성도에 미치는 영향도 고려되어야 할 것이다. 물론 Michaelis-Menten 법칙에 따르는 반응에서는 효소의 농도는 기질에 비하여 아주 적어서 효소와 결합된 기질의 농도는 전체 기질에 비해 무시해도 좋을 만큼 소량이며 기질의 농도는 효소 반응에 영향을 미치지 않는다고 가정하고 있으나⁸⁾ 다량의 urokinase를 주입할 때에는 특히 주입 초기(distribution phase)에 intravenous administration의 route가 되는 혈관 내에서는 plasminogen의 농도가 urokinase의 활성도에 영향을 미칠 수도 있을 것으로 생각된다. Urokinase one units는 약 10 ng이고 분자량이 50,000이다⁹⁾. Plasminogen의 혈중 농도는 2 u Mole 정도여서¹⁰⁾ Urokinase 10 units/ml (2 n Mole)일 때 효소와 기질의 비는 약 1:1,000이 되며 urokinase가 100 units/ml (20 n Mole)일 때는 1:100 정도가 되어 plasminogen의 농도는 urokinase에 비하여 항상 높다고 할 수 있다. 그러나 urokinase와 plasminogen의 반응 속도를 복합적으로 나타내는 K_{cat} 는 1 sec^{-1} 로 알려지고 있어¹¹⁾ urokinase 농도가 10 units/ml일 때는 15분에, 100 units/ml에서는 1분 40초 내에 모든 plasminogen이 plasmin으로 변하게 될 것이다.

순환 혈중의 plasminogen 감소에 따른 분비양상에 대하여는 알려진 바가 많지 않으나 plasminogen의 소모가 진행중일 때도 다소간에 간장으로 부터의 분비는 계속될 것바 plasminogen activator 주입에 따른 plasminogen 분비의 변동에 대하여 좀더 상세한 연구가 있어야 할 것으로 생각된다.

Urokinase의 반감기가 전반부는 2.3분, 후반부는 33.1분으로 이원화(biexponential, two-compartment)되어 있어 two compartment model (Fig. 2)을

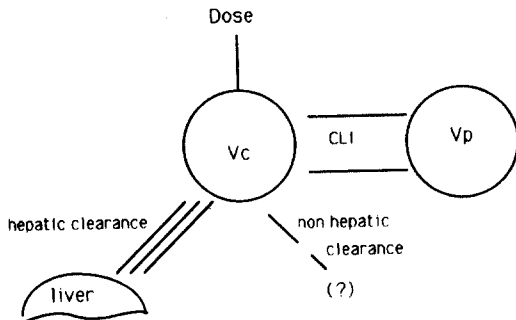


Fig. 2. Two compartment model for kinetics of urokinase distribution and elimination. UK is cleared up mainly by hepatic circulation. Vc: central compartment volume, Vp: peripheral compartment volume, CLi: inter compartment clearance.

이용하여 pharmacokinetic parameter를 구하였다. 본 연구에서는 체중에 따라서 urokinase의 양을 달리하지는 않았지만 대상 예들이 55~65 kg 사이의 성인이어서 체중 변동이 결과에 미치는 영향은 많지 않을 것으로 판단된다. 일단 형성된 free form plasmin의 대사에 대하여서는 잘 알려지지 않으나 anti plasmin과의 결합이 plasmin 대사에 중요한 역할을 하는데¹³⁾ 이는 acute phase reactant 특징을 갖고 분비되는 것으로 알려져 있어 urokinase의 pharmacodynamics를 좀더 정확히 이해하기 위해서는 antiplasmin의 분비의 역동학적 특징에 대한 연구가 뒤따라야 할 것이다¹⁴⁾.

요 약

저자들은 two chain urokinase의 loading dose 및 maintenance dose를 결정하기 위하여 성인 뇌졸중 환자 6예를 대상으로 urokinase 300,000 units를 주입하고(IV boluse), 60분간 혈중 urokinase의 변동을 관찰하여 two compartment model을 이용한 pharmacokinetic study를 하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

체중이 55~65 kg 정도이고 간 기능이 정상인 한국인 성인에서 urokinase의 Vc (central compartment volume)은 4.56 L 이었고 반감기는 distribution phase에서 2.3분, elimination phase에서 33.1분이었다. Total body clearance (CL)은 244/min이었고 area under the concentration time curve (AUC)는 1,349

units/ml, min 이었다.

이를 근거로 하였을때 시험관에서 free form plasmin을 유리하는 urokinase의 최소 농도인 10 units/ml을 유지하기 위해서는 loading dose로 45,610 units를 maintenance dose로 시간당 146,400 units를 주입하는 것이 적절할 것으로 판단되었으며 이는 외국 성서^{4,5)}에서 추천하는 시간당 4,400 units/kg($60\text{ kg} \times 4,400 = 264,00\text{ units}$)에 비하여 약 절반 정도에 해당 하는 양이다. 이렇게 차이가 나는 이유는 명확하지 않으나 본 연구에서 desired concentration으로 사용한 10 units/ml은 소위 therapeutic window의 lower margin에 해당되기 때문일 것으로 생각되며 therapeutic window의 upper margin을 규명하기 위한 연구가 뒤따라야 할 것으로 사료된다.

= Abstract =

A Pharmacokinetic Study on the Loading Dose and Maintenance Dose for Urokinase During Intravenous Administration

S.Y. Hong, M.D., D.H. Yang, M.D.
H.K. Shin, M.D., S.K. Kim, M.D.
and D.Y. Oh, M.D.

Department of Internal Medicine, Soonchunhyang University, Chunan Hospital, Chunan, Korea

K.Y. Kim, M.D., E.K. Ki, M.D. and K.H. Jung, M.D.
Department of Biochemistry, Mogam Biotechnology

S.G. Shin, M.D.

Department of Clinical Pharmacology, Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea

A Pharmacokinetic study was performed for two-chain UK (M.W.53,000) in 6 Korean adults with body weight between 55~65 kg Following intravenous administration of 300,000 units of UK, concentration declined rapidly. The half life showed two-compartment disposition with mean initial and terminal half-lives of 2.3 and 33.1 minutes. Total body clearance was about 244 ml/min and the steady state volume of distribution (Vdss) was 9.46L.

In conjunction with our previous finding that free form plasmin begin to form at a urokinase concentra-

tion of 5~10 units/ml, our results suggests that the loading dose and maintenance dose of urokinase during systemic intravenous administration should be about 45, 610 unit and 146,400 unit/hr in a Korean adult.

Key Words: Urokinase, Pharmacokinetics study.
Loading dose, Maintenance dose

REFERENCES

- 1) Victor JM, Serrery S: *Thrombolytic therapy: Current status. N Engl J Med* 318:1512, 1988
- 2) Korninger C, Collen D: *Studies on the specific fibrinolytic effect of human extrinsic (tissue-type) plasminogen activator in human blood and in various animal species in vitro. Thromb Haemost* 46:561, 1981
- 3) Fletcher AP, Alkjaersig N, Sherry S, Genton X, Hirsh J, Bachmann F: *The development of urokinase as a thrombolytic agent: Maintenance of a sustained thrombolytic state in man by its intravenous administration. J Lab Clin Med* 65:713, 1965
- 4) Robert I Handin: *Anticoagulant, Fibrinolytic and antiplatelet therapy. In TR Harrison eds, Principle of Internal Medicine. 12th eds, Mc Graw-Hill inc, new York, 1991, p 1513*
- 5) Hermes A Kontos: *Vascular disease of the limbs. In JB Wyngaarden, LH Smith eds, Cecil Text book of Medicine. 18th eds, WB Saunders Co, Philadelphia, 1988, p 387*
- 6) Hong SY, Yang DH, Shin HK, Shin SH, Cho YO, Kim SK, Oh DY: *The urokinase concentration and the plasmin concentration in the plasma. Korean J of Internal Medicine (in Press)*
- 7) Binnema DJ, van Iersel JJJ, Dooijewaard, G: *Quantification of urokinase antigen in plasma and culture media by use of an ELISA. Throm Res* 43: 589, 1986
- 8) Lubert Stryer eds. *Biochemistry: 2nd eds p 103 -131, 1981, Sanfrancisco.*
- 9) Fedor Bachman: *Plasminogen activators. In Robert W Colman et all eds, Hemostasis and thrombosis, 2nd eds, P 327, J.B. Lippincott Co, philadelphia, 1987*
- 10) Kenneth C Robbins: *The plasminogen-plasminenzyme system. In Robert W Colman et all eds, Hemostasis and thrombosis, 2nd eds, p 340, J.B. Lippincott Co, Philadelphia 1987*
- 11) Collen D, Zamarron C, Lijnen HR, Hoylaerts M: *Activation of plasminogen by jpro-urokinase. J Bio Chem* 261:1259, 1986
- 12) Kim YS, Oh DY, Hong SY: *The change of euglobulin fibrinolytic activity during urokinase infusion. The Korean J Internal Medicine* 38:546, 1990
- 13) Kluft C: *Studies on the fibrinolytic system in human plasma: Quantitative determination of plasminogen activators. Thromb Haemost* 41:365, 1979
- 14) Aoki N, Harpel PC: *Inhibitors of the fibrinolytic enzyme system. Semin Throm Hemost* 10:24, 1984