

## 혈관평활근세포에서 Cyclosporin A에 의한 Nitric Oxide 생성억제를 길항하는 실험적 중재법

경북대학교 의과대학 약리학교실

김 인 겸

= Abstract =

### Experimental Intervention to Reverse Inhibition of Nitric Oxide Production by Cyclosporin A in Rat Aortic Smooth Muscle Cells

In Kyeom Kim

*Department of Pharmacology, School of Medicine, Kyungpook National University  
Taegu 70-422, Korea*

The inhibitory effect of cyclosporin A (CsA) on nitric oxide production is not related to the immunosuppressive action of the drug, but to the renal toxicity and arterial hypertension. In this study the experimental interventions to reverse the inhibition of nitric oxide production by cyclosporin A in rat aortic smooth muscle cells were examined.

CsA inhibited the accumulation of nitrite, the stable end product of nitric oxide, in culture media in a concentration (0.1~100  $\mu\text{g/ml}$ )-dependent manner. The inhibitory effect of CsA on nitrite accumulation were not antagonized by arginine (10 mM), a substrate of nitric oxide synthase, nor by calcium ionophore A23187 (7  $\mu\text{M}$ ). Forskolin, an activator of adenylate cyclase, which enhanced iNOS induction at transcriptional level, completely reversed the inhibitory action of CsA on nitrite accumulation. However, PMA (2 nM) and PDB (50 nM), PKC activators, increased the inhibitory action of CsA on nitrite accumulation.

From these results, it is suggested that cyclic AMP-elevating agents may be candidates of therapeutic agents in prevention and treatment of renal toxicity and arterial hypertension induced by CsA. Among conventional antihypertensive drugs, calcium channel blockers and  $\alpha$ -blockers are preferred to  $\beta$ -blockers.

---

**Key Words:** Cyclosporin A, Nitric oxide synthase, Nitrite, VSMC, Forskolin

---

\*이 연구는 1995년도 경북대학교병원 의학연구소 연구비의 지원으로 이루어졌음.

## 서 론

장기이식술의 눈부신 발달은 면역억제제의 사용을 기본 전제로 하고 있다고 해도 과언이 아니다. 흔히 사용되는 면역억제제로는 cyclosporin A (CsA), prednisolone, azathioprine 등이 있는데, 이 중에서도 CsA는 상대적으로 부작용이 적은 우수한 약제이지만 장기적으로 사용하기 때문에 부작용의 발생은 불가피하다.

CsA의 주된 부작용은 신장독성과 고혈압 유발이나, 신장독성의 기본 기전도 결국은 혈관기능의 이상에 기인한다. CsA는 소동맥을 수축시키고 증식시키며, 나아가 신장괴질혈류와 사구체 여과율을 감소시킨다(Cairns등, 1989)고 한다. 이와 관련된 기전으로는 교감신경계의 활성화(Rego등, 1991; Scherrer등, 1990), 내피세포에서 prostacyclin 생성의 저하(Voss등, 1988; Zoja등, 1986), 혈소판 응집과 미세혈전의 형성(Grace등, 1987), 혈관평활근세포와 혈관사이세포에서의 칼슘 취입(uptake)의 증가(Meyer-Lehnert와 Schrier, 1989), endothelin 합성 증가(Bunchman과 Brookshire, 1991; Brooks등, 1991), nitric oxide를 매개로 하는 혈관이완 반응의 저하(Rego등, 1989; Gallego등, 1993) 등이 알려져 있다. 이 중에서도 흥미로운 사실은 nitric oxide 생성을 저해하는 작용은 면역억제작용과는 무관하며 신장독성이나 고혈압과 같은 부작용 유발과 관련되어 있다(Muhl등, 1993)는 점이다. 이것이 사실이라면 CsA에 의한 nitric oxide 생성 억제를 길항하게 되면 면역억제 작용은 유지하면서 신장독성이나 고혈압과 같은 부작용을 예방할 수 있을 것이다.

현재까지 알려진 CsA의 독성을 감소시킬 수 있는 실험적 치료 중재법에는 칼슘통로 길항제(Brooks등, 1991), 魚油(Elzinga등, 1987), thromboxane 합성저해제(Petric등 1990) 또는 길항제(Perico등), nitric oxide synthase 기질인 L-arginine이 있으나(Gallego등, 1994), 임상적인 유용성도 증명되지 않은 상태(Mason 1989)이며, 세

또 생리학적 연구도 거의 없는 것 같다.

따라서 본 연구에서는 혈관평활근세포에서 interleukin-1 $\beta$ 에 의한 nitric oxide synthase 유전자 발현과 nitrite 생성에 미치는 cyclosporin의 작용을 알아보고, 실험적 치료중재법과 관련된 신호전달과정의 변화가 nitric oxide synthase 유전자 발현과 nitrite 생성에 미치는 영향을 밝혀서 CsA에 의한 면역억제작용은 유지하면서 신장독성이나 고혈압과 같은 부작용을 예방할 수 있는 실험적 치료중재법을 알아보고자 한다.

## 재료 및 방법

### 1) 세포배양

Pentobarbital(50 mg/kg)로 마취된 Sprague-Dawley rat에서 흉부대동맥을 적출한다. 결체조직을 제거한 후 조직을 잘게 썰어 배양접시 위에 깔고루 놓고, 50% FBS와 항생제(penicillin 100  $\mu$ U/ml, streptomycin 100  $\mu$ g/ml, amphotericin 2.5  $\mu$ g/ml)를 포함한 DMEM 배지를 2 ml 첨가한다. 세포배양기(5% CO<sub>2</sub>)에서 하루 밤을 지나고 나서 10% FBS를 포함하는 DMEM 배지를 3~4 ml 보충한다. 5~7일 정도 배양하면 조직 절편으로부터 평활근세포가 나타나오기 시작한다. 배지는 3~4일에 1번 교환한다. 평활근세포의 확인은 myosin에 대한 단일클론항체를 사용하여 면역세포화학적으로 동정한다(정, 1995).

### 2) Nitrite(NO<sub>2</sub><sup>-</sup>)의 정량

세포배양액으로부터 Griess 반응에 의해 NO 대사의 안정한 생성물인 nitrite를 측정할 수 있다. 24-multiwell에 분주한 세포가 뻐뻐해지면 0.1% BSA가 들어있는 DMEM 배지에 LPS나 여러 종류의 세포활성물질을 처리한 후 24시간 동안 배양한다. 이때 필요한 경우에는 CsA를 첨가한다. Griess 반응액(1% sulfanilamide/0.1% naphthylethylenediamine dihydrochloride/2.5% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) 1 volume에 세포배양액 4 volume을 혼합해서 상온에서 10분 동안 반응시킨 다음 543 nm에서 흡광

도를 측정한다(Titertek Multiskan MCC/340). 배양액과 Griess 반응액을 혼합하여 대조값으로 삼고 sodium nitrite 용액의 농도를 희석하여 표준 곡선을 구하였다. 통계적 처리는 분산분석을 시행하였으며 사후검증에서 유의성이 0.01 이하이면 유의한 것으로 판정하였다.

### 3) NOS 유전자발현 검사(RT-PCR)

Primer는 iNOS 및 GAPDH에 대해 흰쥐 혈관 평활근세포 iNOS cDNA(Nunokawa등, 1993), 흰쥐 GAPDH cDNA(250 bp; Yoon등, 1995) 서열에 근거하여 (주)바이오니아에 주문제작하여 사용한다.

혈관평활근세포가 자라고 있는 직경 100 mm의 배양접시에서 배양액을 흡인해 버리고 Ultraspec™-II RNA용액(Biotech lab., INC.) 1 ml를 첨가하여 세포를 용해시킨다. 용해된 세포 내용물을 E-tube에 옮기고 chloroform 200  $\mu$ l를 첨가하여 잘 섞어서 4°C에서 5분간 방치한 후 원심분리(12000 g, 20분)하면 단백질과 DNA는 침전되고 RNA는 상청액에 남는다. 상청액 400  $\mu$ l를 취하여 200  $\mu$ l의 isopropanol과 20  $\mu$ l의 RNATack™ resin을 첨가하여 침전시킨 뒤 찬 알코올(75%) 1 ml로 침전물을 2회 씻어내고 남은 알코올은 증발시킨다. 침전물을 DEPC 처리한 초순수 30  $\mu$ l에 녹여 광전분광광도계(260/280 nm)를 사용하여 RNA를 정량하고 순도를 계산한다.

Stratagene RT-PCR kit를 사용하여 다음과 같이 역전사시킨다. Total RNA 10  $\mu$ g를 DEPC 처리한 초순수로 전체 volume이 19  $\mu$ l가 되게 한 다음 1.5  $\mu$ l의 oligo(dT) primer (100 ng/ $\mu$ l)를 넣은 후 pipette으로 잘 섞는다. 이 반응액을 65°C에서 5분간 반응시킨 후 상온에서 10분 동안 천천히 식혀 oligo(dT) primer가 poly A tail에 붙게 한다. 여기에 2.5  $\mu$ l의 10 X first strand buffer, 1  $\mu$ l의 100 mM dNTP, 0.5  $\mu$ l의 MMLV reverse transcriptase (50U/ $\mu$ l)와 0.5  $\mu$ l의 RNase Block Ribonuclease Inhibitor(40U/ $\mu$ l)의 비율로 미리 섞어둔 혼합액을 넣은 후 37°C에서 60분 동

안 반응시킨다. 역전사 효소를 불활성화시키고 template RNA와 cDNA를 분리시키기 위해 94°C에서 5분간 열을 가한 후 얼음에 꽂아 둔다.

PCR은 25  $\mu$ l의 역전사 반응액 중 2  $\mu$ l를 취하여 멸균된 500  $\mu$ l microcentrifuge tube에 옮긴 다음 5  $\mu$ l의 10 × Taq DNA polymerase buffer, 0.4  $\mu$ l의 100 mM dNTP, 1.5  $\mu$ l의 primer set (100 pmole/ $\mu$ l), 4  $\mu$ l의 MgCl<sub>2</sub>와 1.25 unit의 Taq DNA polymerase (Promega)의 비율로 미리 섞어둔 혼합액을 차례로 넣고 멸균된 물로 전체 volume이 25  $\mu$ l가 되게 한 다음 PCR 동안에 수분의 증발을 방지하기 위해 mineral oil 한 방울을 그위를 덮어둔다. PCR은 DNA thermal cycler (Perkin-Elmer Cetus)를 이용하여 94°C, 1분; 60°C, 1분; 72°C, 1.5분의 조건에서 30회 반복한다.

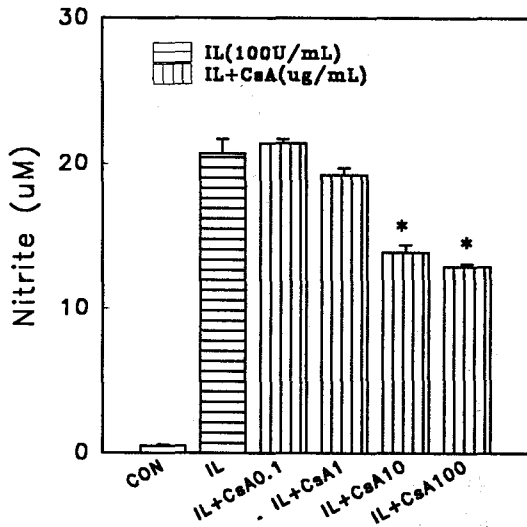
## 결 과

### 1) IL-1 $\beta$ 에 의한 nitrite 생성에 대한 CsA의 억제작용

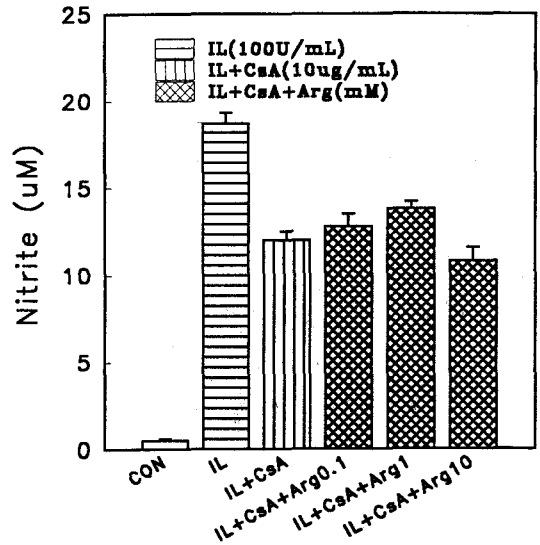
혈관평활근세포에 IL-1 $\beta$  (100 U/mL)를 처치후 24시간 배양하면 nitrite생성 (20.7 $\pm$ 1.0  $\mu$ M; 평균 $\pm$ 표준오차, n=4)이 현저히 증가된다. 이 때 CsA (0.1~100  $\mu$ g/ml)를 첨가해 주면 IL-1 $\beta$ 에 의한 nitrite 생성을 용량 의존적으로 억제시켰다 (Fig. 1).

### 2) Nitrite 생성에 대한 Arginine 및 A23187의 효과

혈관평활근세포에 IL-1 $\beta$  (100 U/mL)를 처치후 24시간 배양하면 nitrite생성이 현저히 증가된다. 이 때 CsA(10  $\mu$ g/ml)를 첨가해 주면 IL-1 $\beta$ 에 의한 nitrite 생성이 억제된다. 이때 배양액에 기질인 arginine(10 mM)을 첨가해 주거나, calcium ionophore A23187 (7  $\mu$ M)을 처치 하더라도 CsA에 의한 nitrite 생성 억제 작용은 길항되지 않았다 (Fig. 2, 3).



**Fig. 1.** Effect of CsA on IL-1 $\beta$ -stimulated nitrite production. Subconfluent VSMC were incubated with the indicated concentrations of CsA in the absence or presence of IL-1 $\beta$  (100 U/ml) for 24h. The medium was removed and used for nitrite determination. Results are means  $\pm$  S.E.M. of 4 experiments. \* P<0.01 vs IL alone.



**Fig. 2.** Effect of arginine on the inhibitory effect of CsA on nitrite accumulation stimulated by IL-1 $\beta$  (100 U/ml). Subconfluent VSMC were incubated with the indicated concentrations of arginine in the absence or presence of IL-1 $\beta$  and/or CsA (10  $\mu$ g/ml) for 24h. The medium was removed and used for nitrite determination. Results are means  $\pm$  S.E.M. of 4 experiments.

### 3) Nitrite 생성에 대한 Forskolin의 효과

혈관평활근세포에 IL-1 $\beta$  (100 U/mL)를 처치후 24시간 배양하면 nitrite 생성이 현저히 증가된다. 이때 CsA (10  $\mu$ g/ml)를 첨가해 주면 IL-1 $\beta$ 에 의한 nitrite 생성이 억제된다. 이때 배양액에 adenylate cyclase 활성제인 forskolin(0.1~10  $\mu$ M)을 첨가해 주면 CsA에 의한 nitrite 생성 억제 작용을 용량 의존적으로 길항시켰다(Fig. 4).

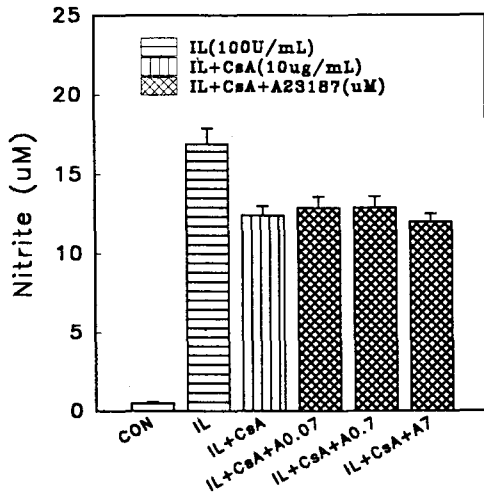
### 4) 역전사 중합효소 연쇄반응법

혈관평활근세포에 IL-1 $\beta$  (100U/mL)를 1.5, 3, 6, 12, 24시간 처치후 RNA를 추출하여 iNOS mRNA를 역전사 중합효소 연쇄반응법으로 확인해본 결과 1.5시간 부터 발현되기 시작하여 3시간째에는 최대치에 달하였다(자료 제시 없음). 따라서 IL-1 $\beta$  (100 U/mL), IL-1 $\beta$ +CsA (10  $\mu$ g/mL),

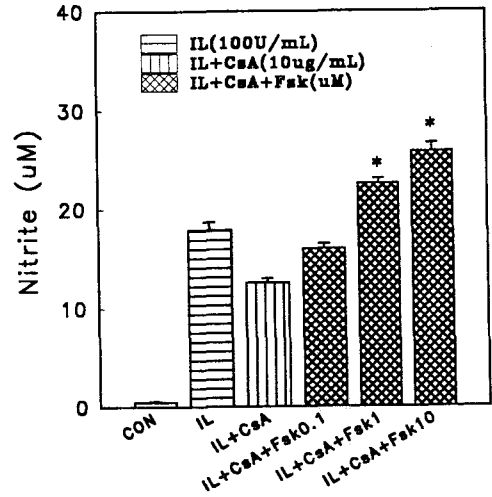
IL-1 $\beta$ +CsA (100  $\mu$ g/mL), IL-1 $\beta$ +CsA (10  $\mu$ g/mL)+forskolin (1  $\mu$ M), IL-1 $\beta$ +CsA (10  $\mu$ g/mL)+forskolin (10  $\mu$ M)를 6시간 처치한 혈관평활근세포에서 RNA를 추출하여 iNOS mRNA를 역전사 중합효소 연쇄반응법으로 확인해본 결과 혈관평활근세포에 IL-1 $\beta$  (100 U/mL)를 처치하면 iNOS mRNA 전사가 유도되었다. CsA (0.1~100  $\mu$ g/ml)를 첨가해주었을 때 iNOS mRNA 전사가 눈에 띄게 억제되지 않았으나 forskolin은 iNOS mRNA 전사를 현저히 증가시켰다(Fig. 5).

### 5) Nitrite 생성에 대한 PMA 및 PDB의 효과

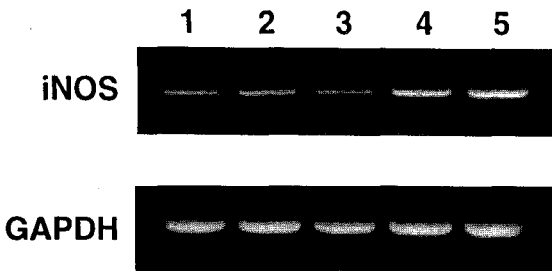
혈관평활근세포에 IL-1 $\beta$  (100 U/mL)를 처치후 24시간 배양하면 nitrite 생성이 현저히 증가된다. 이때 CsA (10  $\mu$ g/ml)를 첨가해주면 IL-1 $\beta$ 에 의



**Fig. 3.** Effect of A23187 on the inhibitory effect of CsA on nitrite accumulation stimulated by IL-1 $\beta$  (100 U/ml). Subconfluent VSMC were incubated with the indicated concentrations of A23187 in the absence or presence of IL-1 $\beta$  and/or CsA (10  $\mu$ g/ml) for 24h. The medium was removed and used for nitrite determination. Results are means  $\pm$  S.E.M. of 4 experiments.



**Fig. 4.** Effect of forskolin on the inhibitory effect of CsA on nitrite accumulation stimulated by IL-1 $\beta$  (100 U/ml). Subconfluent VSMC were incubated with the indicated concentrations of forskolin in the absence or presence of IL-1 $\beta$  and/or CsA (10  $\mu$ g/ml) for 24h. The medium was removed and used for nitrite determination. Results are means  $\pm$  S.E.M. of 4 experiments. \* P < 0.01 vs IL+CsA.



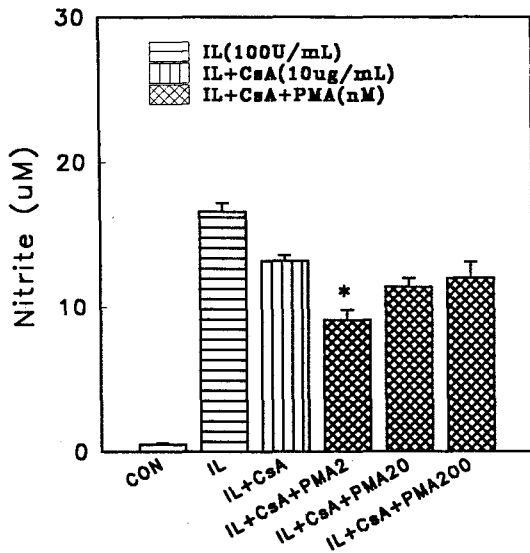
**Fig. 5.** Reversal of the inhibitory effect of CsA on iNOS mRNA expression stimulated by IL-1 $\beta$  (100 U/ml) in VSMC. Subconfluent VSMC were incubated with the indicated concentrations of forskolin in the absence or presence of IL-1 $\beta$  and/or CsA (10  $\mu$ g/ml) for 24h. Twenty  $\mu$ g of total RNA was reverse transcribed and amplified by RT-PCR. Similar results were obtained from three independent experiments. Lane 1, IL-1 $\beta$  (100 U/mL); lane 2, IL-1 $\beta$ +CsA (10  $\mu$ g/mL); lane 3, IL-1 $\beta$ +CsA (10  $\mu$ g/mL); lane 4, IL-1 $\beta$ +CsA (10  $\mu$ g/mL)+forskolin (1  $\mu$ M); lane 5, IL-1 $\beta$ +CsA (10  $\mu$ g/mL)+forskolin (10  $\mu$ M).

한 nitrite 생성이 억제된다. 이때 배양액에 PKC 활성제인 PMA (2 nM)나 PDB (5 nM)를 첨가해 주면 CsA에 의한 nitrite 생성 억제 작용은 유의하게 증가되었다(Fig. 6, 7). 그 이외의 농도에서는 유의한 차이가 없었다.

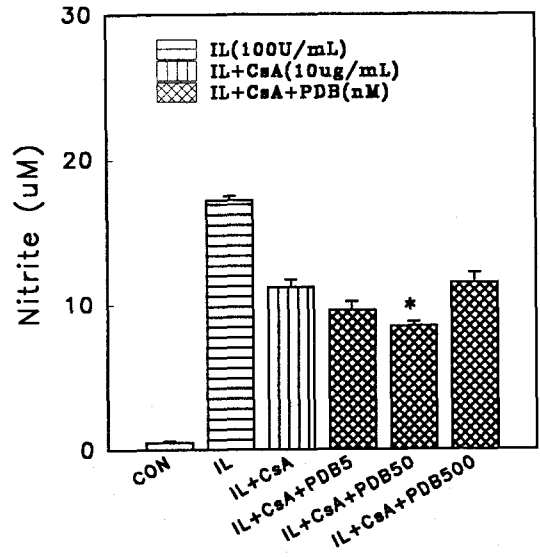
## 고 찰

CsA는 배양된 혈관평활근세포에서 IL-1 $\beta$ 에 의한 nitrite 생성을 억제시켰는데 이러한 사실은 Marumo (1995)의 결과와 일치한다. 또한 CsA는 혈관평활근세포 외에도 신장의 혈관사이세포 (Mühl등, 1993), 대식세포에서 유래한 종양세포 L929 (Fast등, 1993), 간과 뇌 (민등, 1995)에서도 iNOS 또는 nitric oxide의 생성을 억제시킨다는 보고가 있다.

그런데 CsA이 nitric oxide 생성을 저해하는 작



**Fig. 6.** Effect of PMA on the inhibitory effect of CsA on nitrite accumulation stimulated by IL-1 $\beta$  (100 U/ml). Subconfluent VSMC were incubated with the indicated concentrations of PMA in the absence or presence of IL-1 $\beta$  and/or CsA (10  $\mu$ g/ml) for 24h. The medium was removed and used for nitrite determination. Results are means  $\pm$  S.E.M. of 4 experiments. \* P < 0.01 vs IL+CsA.



**Fig. 7.** Effect of PDB on the inhibitory effect of CsA on nitrite accumulation stimulated by IL-1 $\beta$  (100 U/ml). Subconfluent VSMC were incubated with the indicated concentrations of PDB in the absence or presence of IL-1 and/or CsA (10  $\mu$ g/ml) for 24h. The medium was removed and used for nitrite determination. Results are means  $\pm$  S.E.M. of 4 experiments. \* P < 0.01 vs IL+CsA.

용은 면역억제작용과는 무관하다는 것이 이들 몇몇 연구자들에 의해 제기되었는데 (Mühl등, 1993; Marumo등, 1995), 이들이 제시한 몇 가지 이유는 다음과 같다. 첫째, 면역억제작용이 전혀 없는 cyclosporin H도 IL-1 $\beta$ 에 의한 nitrite 생성을 용량 의존적으로 억제시킨다. 둘째, IL-1 $\beta$ 에 의한 nitrite 생성을 억제시키는데 필요한 용량(IC<sub>50</sub>)은 calcineurin(calmodulin-dependent protein phosphatase 2B)을 억제시키는데 필요한 용량(IC<sub>50</sub>)보다 훨씬 높다. 셋째, 같은 면역억제제인 rapamycin이나 FK506은 IL-1 $\beta$ 에 의한 nitrite 생성을 억제시키지 못한다는 것 등이다. 이들의 주장을 뒷받침할 수 있는 것으로 CsA를 사용한 환자에서 보다 FK506을 사용한 환자에서 고혈압 발생이 적다는 임상적 보고(Fung등, 1991; Textor등, 1993)는 주목을 끌만하다.

최근에 이들 연구자들은 Electrophoretic Mobility Shift Assays를 통해 이에 대한 해답을 좀 더 명확히 제시했다 (Kunz등, 1995). 즉 CsA가 면역억제작용을 나타내는 기전은 T세포에서 세포내 수용체인 cyclophilin과 결합체를 형성하여 calcineurin을 억제함으로써 전사인자 NF-AT의 활성화를 막아 interleukin-2와 같은 cytokine의 합성을 억제하기 때문이다. 그러나 신장의 혈관사이세포에서 IL-1 $\beta$ 에 의해 iNOS가 유도될 때는 전사인자 NF B가 관여하는데, 이것이 비면역세포에서 CsA의 표적이 된다(Kunz등, 1995).

이것이 사실이라면 CsA에 의한 nitric oxide 생성 억제를 길항하게 되면 면역억제작용은 유지하면서 신장독성이나 고혈압과 같은 부작용은 예방할 수 있을 것이다. 배양액에 기질인 arginine(10 mM)을 첨가해주어도 CsA에 의한 nitrite 생성

억제 작용은 길항되지 않았는데(Fig. 2), iNOS에 의한 nitric oxide의 생성은 전사 단계에서 조절되기 때문일 것이다(Nathan, 1992). 실제로 arginine에 대한 iNOS의 Km 값은 2~5  $\mu$ M으로서(Lyons등, 1992), 실험에서 사용한 농도는 이보다 1000배 이상 높은 농도이다.

배양액에 calcium ionophore (7  $\mu$ M)를 첨가해 주어 세포내에 칼슘의 유입을 증가시키더라도 CsA에 의한 nitrite 생성 억제 작용은 길항되지 않았는데(Fig. 3), CsA이 일반적인 면역억제작용을 나타내는 기전은 T세포에서 calcineurin과 같은 칼슘 의존성 효소를 억제하는 것인데 비해(Fruman등, 1994), CsA이 IL-1 $\beta$ 에 의한 nitrite 생성을 억제시키는 경로는 칼슘 의존성과는 무관함을 시사한다.

Adenylate cyclase 활성화제인 forskolin은 iNOS mRNA 전사를 증가시켜 CsA에 의한 nitrite 생성 억제작용을 완전히 역전시켰다. cAMP생성을 증가시키는 약제들은 혈관평활근세포(Koide등, 1993), 혈관내피세포(Durieutrautmann등, 1993), 혈관사이세포(Mühl등, 1994) 등에서 단독적으로 혹은 cytokines과 상승적으로 전사 단계에서 iNOS 유도를 증가시켰다. cAMP생성을 증가시키는 약제들이 iNOS mRNA 전사를 유도하는 신호 전달과정은 cytokines의 신호전달과정과는 별개일 것으로 보고 있다(Kunz등, 1995).

그러나 PKC 활성화제인 PMA (200 nM)나 PDB (500 nM)는 CsA에 의한 nitrite 생성 억제작용을 길항하지 못했다. 오히려 PMA 2 nM에서나 PDB 50 nM에서는 CsA에 의한 nitrite 생성이 더욱 억제되었는데, 이것은 Nakayama등(1994)의 보고와도 일치한다. PMA와 PDB의 용량에 차이가 나는 것은 두 약제의 효력차이에 기인하는 것으로 보이며, 용량 의존적으로 나타나지 않은 것은 PKC isozyme중 특정한 아형만 관련되어 있기 때문일 것이다(Mühl & Pfeilschifter, 1994).

이상의 결과로 미루어보아 기존의 고혈압 치료제 중에서 CsA에 의한 고혈압을 치료할 약제를 선택한다면 cAMP생성을 억제하는  $\beta$ -길항제보다

는 Ca통로차단제나 PKC 활성을 억제하는  $\alpha$ -길항제가 더 유익하리라 사료된다.

## 결 론

Cyclosporin A (CsA)에 의한 nitric oxide 생성억제 작용은 면역억제작용과는 무관하며 신장독성이나 고혈압과 같은 부작용 유발과 관련되어 있다고 한다. 따라서 본 연구에서는 CsA에 의한 nitric oxide 생성억제를 길항할 수 있는 실험적 치료중재법을 찾고자 한다.

배양된 혈관평활근세포에서 CsA는 interleukin-1 $\beta$ 에 의한 nitrite 생성을 농도(0.1~100  $\mu$ g/ml) 의존적으로 억제시켰다. CsA에 의한 nitrite 생성 억제 작용은 배양액에 기질인 arginine (10 mM)을 첨가해주거나, calcium ionophore A23187을 처치 하더라도 길항되지 않았다. Adenylate cyclase 활성화제인 forskolin은 iNOS mRNA 전사를 증가시켜 CsA에 의한 nitrite 생성 억제작용을 완전히 역전시켰다. 그러나 PKC 활성화제인 PMA (2 nM)나 PDB (50 nM)는 특정한 농도에서 CsA에 의한 nitrite 생성 억제를 증가시켰다.

이상의 결과로 미루어보아 cAMP를 증가시키는 약제는 CsA에 의한 고혈압이나 신장독성의 예방 및 치료제로 사용될 수 있을 것 같다. 또 기존의 고혈압 치료제 중에서는 cAMP생성을 억제하는  $\beta$ -길항제보다는 Ca통로차단제나  $\alpha$ -길항제가 더 유익하리라 사료된다.

## 감사의 글

훌륭한 솜씨로 세포배양 및 동정, nitrite 정량, RT-PCR을 도와준 정현주 선생에게 고마움을 표한다.

## 참 고 문 헌

민병우, 한형수, 박정숙, 김중영: 면역억제제가 *lipopolysaccharide*에 의한 생쥐의 간 및 뇌조직의

- nitric oxide synthase* 활성도의 변화에 미치는 영향. 대한약리학잡지 31(2): 233-239, 1995
- 윤기성, 전재복, 김도원, 정상립, 김문규: *Lipopolysaccharide*가 배양 각질형성세포 및 말초혈액 단핵구의 *Cytokines* 유전자 발현에 미치는 영향. 경북의대지 36(4): 591-603, 1995
- 정재균: 선천성 고혈압 흰쥐와 정상혈압 흰쥐의 혈관 평활근세포의 성장특성, 경북대학교 의학석사 학위논문, 1995
- Brooks DP, Ohlstein EH, Contino LC, Storer B, Puller M, Cattabiano M and Nambi P: *Effect of nifedipine on cyclosporine A-induced nephrotoxicity, urinary endothelin excretion and renal endothelin receptor number. Eur J Pharmacol* 194: 115-117, 1991
- Bunchman TE and Brookshire A: *Cyclosporine-induced synthesis of ET-1 by cultured-human endothelial cells. J Clin Invest* 88: 310-314, 1991
- Cairns HS, Fairbanks LD, Westwick J and Neild GH: *Cyclosporin therapy in vivo attenuates the response to vasodilators in the isolated perfused kidney of the rabbit. Br J Pharmacol* 98: 463-468, 1989
- Durieutrautmann O, Federici C, Creminon C, Foignantchaverot N, Roux F, Claire M, Strosberg AD and Couraud PO: *Nitric oxide and endothelin secretion by brain microvessel endothelial cells: regulation by cyclic nucleotides. J Cell Physiol* 155: 104-111, 1993
- Elzinga L, Kelley VE, Houghton DC and Bennet WM: *Modification of experimental nephrotoxicity with fish oil as the vehicle for cyclosporine. Transplantation* 43: 271-275, 1987
- Fast DJ, Lynch, RC and Leu RW: *Cyclosporin A inhibits nitric oxide production by L929 cells in response to tumor necrosis factor and interferon- $\gamma$ . J Interferon Res* 13: 235-240, 1993
- Fruman DA, Burakoff SJ and Bierer BE: *Immunophilins in protein folding and immunosuppression. FASEB J* 8: 391-400, 1994
- Fung JJ, Alessiani M, Abu-Elmagd K, Todo S, Shapiro R, Tzakis A, Van Thiel D, Armitage J, Jain A, McCauley J, Selby R and Starzl TE: *Adverse effects associated with the use of FK506. Transplant Proc* 23: 3105-3108, 1991
- Gallego MJ, Lopez Farre A, Riesco A, Monton M, Grandes S, Barat A, Hernando L, Casado S and Caramelo C: *Blockade of endothelium-dependent responses in conscious rats by cyclosporine A: effect of L-Arg. Am J Physiol* 264: H708-H714, 1993
- Gallego MJ, Garcia Villalon A, Lopez Farre A, Garcia JL, Garron MP, Casado S, Hernando L and Caramelo C: *Mechanisms of the endothelial toxicity of cyclosporin A: role of nitric oxide, cGMP, and Ca<sup>2+</sup>. Cir Res* 74, 477-484, 1994
- Grace AA, Barradas MA, Mikhailidis DP, Jeremy JY, Moorehead JF, Sweny PS and Danadona P: *Cyclosporin enhances platelet aggregation. Kidney Int* 32: 889-895, 1987
- Koide M, Kawahara Y, Nakayama I, Tsuda T and Yokoyama M: *Cyclic AMP-elevating agents induce an inducible type of nitric oxide synthase in cultured vascular smooth muscle cells: synergism with the induction elicited by inflammatory cytokines. J Biol Chem* 268: 24959-24966, 1993
- Kunz D, Walker G, Eberhardt W, Nitsch D and Pfeilschifter J: *Interleukin 1-induced expression of nitric oxide synthase in rat renal mesangial cells is suppressed by cyclosporin A. Biochem Biophys Res Commun* 216(2): 438-446, 1995
- Lyons, CR, Orloff GJ and Cunningham JM: *Molecular Cloning and Functional Expression of an inducible nitric oxide synthase from a murine macrophage cell line. J Biol Chem* 267(9): 6370-6374, 1992
- Marumo T, Nakaki T, Hishikawa K, Suzuki H, Kato R and Saruta T: *Cyclosporin A inhibits nitric oxide synthase induction in vascular smooth muscle cells. Hypert* 25[part 2]: 764-768, 1995
- Mason J: *Pathophysiology and toxicology of cyclosporine in humans and animals. Pharmacol*



- Rev* 42: 423-434, 1989
- Meyer-Lehnert H and Schrier RW: *Potential mechanism of cyclosporin A-induced vascular smooth muscle contraction. Hypertension* 13: 352-360, 1989
- Mühl H, Kunz D, Rob P and Pfeilschifter J: *Cyclosporin derivatives inhibit interleukin I beta induction of nitric oxide synthase in renal mesangial cells. E J Pharmacol* 249: 95-100, 1993
- Mühl H, Kunz D and Pfeilschifter J: *Expression of nitric oxide synthase in rat glomerular mesangial cells mediated by cyclic AMP. Br J Pharmacol* 112: 1-8, 1994
- Mühl H and Pfeilschifter J: *Possible role of protein kinase C epsilon isoenzyme in inhibition of interleukin-1 beta induction of nitric oxide synthase in rat renal mesangial cells. Biochem J* 303[Pt 2]: 607-612, 1994
- Nakayama I, Kawahara Y, Tsuda T, Okuda M and Yokoyama M: *Angiotensin II inhibits cytokine stimulated inducible nitric oxide synthase expression in vascular smooth muscle cells. J Biol Chem* 269(15): 11628-11633, 1994
- Nathan C: *Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. FASEB J* 6: 3051-3064, 1992
- Nunokawa Y, Ishida N and Tanaka S: *Cloning of inducible nitric oxide synthase in rat vascular smooth muscle cells. Biochem Biophys Res Commun* 181: 852-7, 1993
- Perico N, Rossini M, Imberti O, Maranchini B, Plata Cornejo R, Gaspari F, Bertani T and Remuzzi G: *Thromboxane receptor blockade attenuates chronic cyclosporine nephrotoxicity and improves survival on rats with renal isograft. J Am Soc Nephrol* 2: 1398-1404, 1992
- Petric R, Freeman D, Wallace C, McDonald J, Stoller C and Keown P: *Modulation of experimental cyclosporine nephrotoxicity by inhibition of thromboxane synthesis. Transplantation* 50: 558-563, 1990
- Rego A, Vargas R, Wroblewska B, Foegh ML and Ramwell PW: *Attenuation of vascular relaxation and cyclic GMP responses by cyclosporin A. J Pharmacol Exp Ther* 252: 165-170, 1989
- Rego A, Vargas R, Seedabarum C, Kawahara M, Foegh ML and Ramwell PW: *Systemic vascular effects of CyA treatment in normotensive rats. J Pharmacol Exp Ther* 259: 905-915, 1991
- Scherrer V, Vissing SF and Morgan BJ: *Cyclosporin-induced sympathetic activation after heart transplantation. N Engl J Med* 323: 693-699, 1990
- Textor SC, Wiesner R, Wilson DJ, Porayko M, Romero JC, Burnett JJ, Gores G, Hay E, Dickson ER and Krom RA: *Systemic and renal hemodynamic differences between FK506 and cyclosporine in liver transplant recipients. Transplantation* 55: 1332-1339, 1993
- Voss BL, Hamilton KK, Scott Samara EN and McKee PA: *Cyclosporine suppression of endothelial prostacyclin generation: a possible mechanism for nephrotoxicity. Transplantation* 45: 793-796, 1988
- Zoja C, Furci L, Ghilardi F, Zinio P, Benigni A and Remuzzi G: *Cyclosporin-induced endothelial cell injury. Lab Invest* 55: 455-461, 1986