

Cyclosporine A가 혈관 반응도에 미치는 영향

연세대학교 의과대학 내과학교실 · 연세대학교 신장질환 연구소

아주대학교 의과대학 신장내과학교실*

한대석 · 김홍수* · 강신욱 · 최규현 · 이호영

연세대학교 의과대학 생리학교실

이 영 호 · 강 복 순

서 론

성공적인 장기이식의 가장 큰 장애물은 숙주의 동종 면역반응이다. 이러한 면역반응을 억제하기 위해서 장기이식 후 면역억제제로 사용되고 있는 azathioprine, 부신피질호르몬 제제, 항임프구 혈청등은 거부반응에 관여하는 면역기전 뿐만 아니라 다른 면역기능도 비선택적으로 억제하는 약제인 반면 최근에 개발된 cyclosporine A(fungal endecapeptide)는 T임파구에 관련된 면역반응만을 선택적으로 억제하고 생체내에서는 B임파구, 다핵 백혈구, 대식세포, 자연살세포등에는 거의 영향을 미치지 않음으로써 다른 약제에 비해 보다 선택적인 면역억제 효과를 가지고 있어서 임상적으로 흔히 사용되고 있다¹⁾. Cyclosporine A는 *Cylindrocarpum lucidum*과 *Trichoderma polysporum* 진균의 추출물로서 1976년도에 Dreyfuss등²⁾에 의해 발견되었으며, 그 이후 Ruegger등³⁾과 Petcher등⁴⁾에 의해 생화학적으로 규명되었고 Borel⁵⁾에 의해 면역억제 기능이 있음이 확인되었다. 또한 피부이식을 포함한 여러가지 실험을 통하여 cyclosporine A가 체액성과 세포성 면역을 억제하지만 주로 T임파구에 선택적이고 가역적인 세포성 면역억제 기능을 갖고 있으며 골수억제나 다른장기의 독성은 없는 것으로 보고되었다⁶⁾. 그러나 cyclosporine A의 선택적이고 강력한 면역억제 작용으로 신장 동종이식과 다른 장기이식의 성공을

이 많이 향상되었음에도 불구하고, 몇가지의 부작용때문에 약제사용에 있어 제한이 되고 있다. 즉, Calne 등⁸⁾은 신이식 후 cyclosporine A를 사용한 환자 중 일부의 환자에서 의외로 cyclosporine A에 의한 심한 신독성이 있음을 보고하였고, 신독성 외에도 고혈압^{7,8)}, 혈전증의 발생 증가⁹⁾ 등이 중요한 부작용으로 문제시되고 있으며, 그외에도 다모증, 치은 비대증, 진전(tremor), 간독성등이 보고되었다¹⁰⁾.

신독성의 양상은 급성인 경우 가역적인 변화로서 신혈관 저항의 증가로 인하여 신혈류량과 사구체 여과율이 감소하며¹¹⁻¹³⁾ 이러한 신혈관 저항의 증가는 주로 구심성 사구체 세동맥에서 발생한다^{12,14,15)}. 만성 신독성은 형태학적 손상과 함께 비가역적인 신기능 저하로 발현되며 주로 세뇨관의 위축, 간질성 섬유화, 그리고 사구체의 허탈(glomerular collapse)과 경화증등이 관찰되는데 이것은 만성적인 허혈성 손상에 의한 것으로 추측되고 있다^{8,16,17)}. 한편, cyclosporine A에 의한 고혈압의 발생 기전에 대해서는 아직도 정확히 규명되지 않았으나 흰쥐의 큰 혈관과 저항 혈관에서 cyclosporine A가 혈관 수축력을 증가¹⁸⁻²¹⁾ 혹은 혈관 이완력을 감소^{19,21-24)}시킨다는 것이 보고되어 cyclosporine A가 직접 혈류역학에 작용하든지 혹은 간접적으로 혈관작용 물질(vasoactive substance)에 대한 혈관 반응력의 변화를 초래하여 고혈압을 유발할 것으로 추측되고 있다²⁵⁾.

한편, cyclosporine A가 혈관에 미치는 작용의 병태생리학적 기전으로는 다음과 같은 가설들이 제시되고 있다. 첫째는 cyclosporine A가 국소 혹은 전신적인 교감신경 활성도를 증가시키고^{26,27)} 시냅스전과 시

이 논문은 1993년도 연세대학교 의과대학 일반과제 연구비 및 세명회 연구비 일부 보조로 이루어졌음

남스후의 혈관 반응을 향상시킨다는 가설이다^{28,29}). 그러나 이 가설은 phentolamine 전처치로도 cyclosporine A에 의한 혈압 반응에 변함이 없고²⁵), cyclosporine A가 흰쥐³⁰ 나 사람³¹⁻³³)에서 혈중 카테콜라민을 증가시키지 않아 그 가능성이 희박하다. 둘째는 cyclosporine A가 renin-angiotensin system을 활성화시켜 혈관이 수축된다는 설이다³⁴). 그러나 사람에서는 혈장내 레닌 활성도가 cyclosporine A 투여 후 변함이 없거나^{8,13,35,36}) 오히려 감소^{35,37,38}) 된다는 점과 angiotensin 전환 효소 억제제를 투여하여도 혈류역학에 변화를 초래하지 않는 점³⁹)등으로 미루어 보아 그 가능성이 적다. 셋째는 cyclosporine A가 혈관을 확장시키는 prostaglandin 즉 prostacyclin(PGI₂)의 생성을 억제하거나^{40,41}) 혹은 강력한 혈관 수축제인 thromboxane A₂의 생성을 촉진시킴으로써^{42,43}) 혈관 수축이 유발된다는 설이다. 그러나 PGI₂의 안정된 대사물인 6-keto-PGF_{1 α} 가 흰쥐와 개에서 오히려 증가된다는 보고^{44,45})와 변함이 없다는 설^{43,46}), 그리고 사람에서도 변함이 없다는 설^{35,47})과 감소된다는 설^{38,48})등으로 매우 다양하며 thromboxane B₂(thromboxane A₂의 안정된 대사물)의 배설도 오히려 감소된다고 보고되고 있다^{38,48}). 또한 Perico등⁴³)이 thromboxane synthase 억제제가 cyclosporine A 투여 후 손상된 신기능을 회복시킨다고 주장하였으나 cyclosporine A에 의한 고혈압에는 전혀 효과가 없었으며⁴⁹), cyclosporine A에 의해 변화된 혈관 반응도에도 효과를 나타내지 못하였다²¹). 따라서 cyclosporine A 투여 후 혈관을 확장 혹은 수축시키는 prostaglandin 사이에 평형이 깨지는지에 대해서는 아직 확실하지 않은 실정이다. 넷째는 cyclosporine A가 혈관 평활근 세포에서 세포내로 Ca⁺⁺의 유입을 자극함으로써 arginine vasopressin-sensitive [Ca⁺⁺]_i pools를 증가시켜 혈관 수축을 유발한다는 것이다⁵⁰). 마지막으로 cyclosporine A가 혈관내 내피세포에 영향을 미침으로써 혈관을 수축시킨다는 가설로 내피세포에서 생성되는 혈관 확장제인 내피성 이완 인자(endothelium derived relaxing factor, EDRF) 즉 nitric oxide(NO)의 유리를 억제하거나^{51,52}) 혹은 내피성 수축 인자(endothelium derived contracting factor, EDCF)의 하나로 알려진 endothelin의 기능을 항진시키거나 생성을 증가시킨다는 가설이다⁵³⁻⁵⁵). 이렇게 cyclosporine

A에 의한 혈관 반응도 변화에 대한 기전은 매우 다양하여 아직도 많은 논란의 대상이 되고 있다.

따라서 본 연구의 목적은 첫째, cyclosporine A에 의한 혈관 반응도 변화의 기전이 혈관 수축력의 증가에 기인하는지 혹은 혈관 이완의 장애에 기인하는지를 관찰하고 둘째, 혈관 반응도의 변화가 cyclosporine A에 의한 혈관 내피세포의 기능장애에 의한 것인지 혹은 혈관 평활근의 장애에 의한 것인지를 조사하고 셋째, cyclosporine A가 혈관 내피세포 혹은 평활근에 미치는 형태학적 변화를 관찰함으로써 cyclosporine A가 혈관 반응도 변화에 미치는 영향과 그 기전을 규명하는데 있다.

재료 및 방법

1. 실험 재료

1) 실험 동물

실험 동물은 체중 200~300g 내외의 수컷 Sprague-Dawley계 흰쥐를 사용하였으며, 실험군은 생리 식염수 투여군(7일간 생리 식염수 투여, 1일 1회, 매회 0.1cc), cyclosporine A의 부형제(vehicle)인 cremophor(polyoxyethylated castor oil) 투여군(7일간 cremophor 투여, 매회 투여량은 cyclosporine A 투여량의 65%), cyclosporine A 투여군으로 분류하였다. Cyclosporine A 투여군에서 cyclosporine A의 양은 각각 15mg/kg, 30mg/kg, 50mg/kg등 3가지 군으로 분류하여 매일 일정한 시간에 7일간 복강내로 투여하였다.

2) 약물

본 실험에 사용한 norepinephrine, acetylcholine chloride, indomethacin, superoxide dismutase, L-arginine, sodium nitroprusside, cremophor등은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였으며 endothelin receptor A 길항제는 Fugisawa Pharmaceuticals Co.(Osaka, Japan)로부터, cyclosporine A는 한국 산도스 주식회사(서울, 한국)로부터 구입하였다.

2. 실험방법

1) 실험동물의 일반적 특성

모든 흰쥐는 약물 투여 전후로 체중과 수축기 혈압

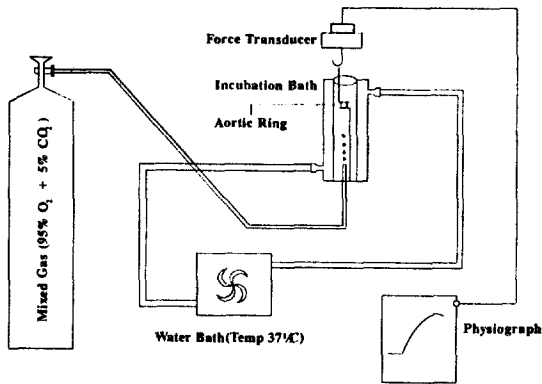


그림 1. 혈관 평활근의 장력 측정 장치. 흰쥐의 대동맥환 내에 L자의 stainless steel hook을 삽입하여 하단은 incubation bath의 바닥에 고정하였고, 상단은 force transducer에 연결하여 혈관 평활근에서 발생하는 등척성 장력을 physiograph에 기록하였다. 실험 기간 동안 incubation bath 내의 온도는 37°C로 일정하게 유지하였으며 혼합 기체(95% O₂+5% CO₂)로 실험 용액을 포화시켰다.

을 측정하였으며, 혈압은 tail cuff plethysmography 방법으로 polygraph Grass model 7(Grass Instrument Co., Quincy, MA, USA)을 이용하여 각각 2번씩 측정하여 그 평균값으로 나타내었다. 약물 투여 종료 후 희생시키기 직전에 심장 천자에 의해 혈액을 채취하여 혈중 요소질소(blood urea nitrogen), 혈청 크레아티닌, 혈중 cyclosporine A 농도(specific antibody, radioimmunoassay method)를 측정하였다.

2) 대동맥환의 제조

흰쥐를 ether 마취 후 흉곽을 열어 하행성 흉부 대동맥을 적출하여 이를 상온에서 혼합기체(95% O₂+5% CO₂)로 포화된 Krebs-Henseleit 용액(K-H 용액, mM: NaCl 118, KCl 4.7, CaCl₂ 2.5, MgSO₄ 1.2, KH₂PO₄ 1.2, NaHCO₃ 25, Disodium salt EDTA 0.026, glucose 11)이 들어있는 petri dish에 담은 상태에서 혈관 주위의 지방과 결체조직을 제거한 후 3~4mm 폭으로 잘라 대동맥환을 만들어 사용하였다. 이때 혈관 내피세포가 손상되지 않도록 주의하였으며, 필요시 일부 혈관의 내피세포를 면봉을 이용하여 제거하여 실험에 사용하였다. 내피세포의 존재 유무는 Furchgott 및 Zawadzki⁵⁶⁾의 방법으로 확인하였다. 즉, 10⁻⁷M의 norepinephrine으로 혈관 수축을 유도하

고 norepinephrine 존재하에 10⁻⁶M의 acetylcholine을 첨가하여 수축된 혈관이 이완하면 내피세포가 존재하는 것으로 간주하고, 수축된 혈관이 이완되지 않거나 오히려 더 수축이 되는 경우는 내피세포가 제거된 것으로 간주하였다.

3) 장력의 측정

대동맥환을 혼합기체가 충분히 공급되고, 온도가 37°C로 유지되는 20ml K-H용액이 들어있는 incubation bath에 담긴 상태에서 L자로 된 2개의 stainless steel hook(직경 0.6mm)을 이용하여 고정하였다. 이때 hook의 한쪽 끝은 incubation bath의 바닥에 고정하였고 다른 한 끝은 force transducer(Myograph F-60, Narco Bio-systems Inc., Houston, TX, USA)에 연결하여 혈관의 등척성 장력을 physiograph(Narco Bio-systems Inc., Houston, TX, USA)에 기록하였다(그림. 1). 약물을 투여하기에 앞서 대동맥환에 1g의 기초 장력을 가하여 약 2시간 동안 온도 및 흥분성이 일정해질 때까지 평형을 유지시켜 대동맥환 제작과정에서 있었던 손상으로부터 회복되도록 하였다. 또한 이 기간 동안 norepinephrine(10⁻⁷M)으로 혈관 수축을 3회 유도하였으며 norepinephrine에 의한 혈관 수축의 크기가 일정해진 후 본 실험을 실시하였다.

(1) Acetylcholine에 의한 혈관 이완력 변화

Cyclosporine A에 의한 내피 의존성 이완(endothelium dependent relaxation)의 변화를 보기 위하여 내피세포가 존재하는 대동맥환과 제거된 대동맥환을 37°C의 incubation bath에서 온도, 흥분성을 평형시킨 후 norepinephrine(10⁻⁷M)으로 수축시켜 혈관 장력의 크기가 일정해졌을 때 incubation bath 내에 acetylcholine 농도가 10⁻⁹M부터 10⁻⁴M까지 되도록 점진적으로 첨가하여 혈관 장력의 이완 정도를 각 실험군별로 비교하였다.

(2) Indomethacin 전처리 상태에서 Acetylcholine에 의한 혈관 이완력 변화

Cyclosporine A에 의한 내피 의존성 이완의 장애가 cyclooxygenase 대사 산물의 일종인 prostaglandin H₂ 혹은 thromboxane A₂와 같은 EDCF 증가에 의한 것인지를 알아보기 위하여 cyclosporine A(30mg/kg)를 투여한 흰쥐의 내피세포가 존재하는 대동맥환을 norepinephrine(10⁻⁷M)으로 수축시킨 후 acetylcho-

line 농도가 10^{-9} M부터 10^{-4} M까지 되도록 점진적으로 첨가하여 혈관 장력의 이완 정도를 관찰하고 3회 K-H용액으로 세척한 다음 cyclooxygenase 억제제인 indomethacin(10^{-5} M)을 30분간 전처리한 후 indomethacin(10^{-5} M)이 계속 존재하는 상태에서 acetylcholine에 의한 혈관 이완의 정도를 비교하였다.

(3) Superoxide Dismutase 전처리 상태에서 Acetylcholine에 의한 혈관 이완력 변화

Cyclosporine A에 의한 내피 의존성 이완의 장애가 EDCF의 일종인 과산화물 음이온의 생성 증가에 의한 것인지를 알아보기 위하여 cyclosporine A(30mg/kg)를 투여한 흰쥐의 내피세포가 존재하는 대동맥환을 norepinephrine(10^{-7} M)으로 수축시킨 후 acetylcholine 농도가 10^{-9} M부터 10^{-4} M까지 되도록 점진적으로 첨가하여 혈관 장력의 이완 정도를 관찰하고 3회 K-H용액으로 세척한 다음 과산화물 음이온의 보집제(scavenger)로 알려진 superoxide dismutase(60 u/ml)를 10분간 전처리한 후 superoxide dismutase(60u/ml)가 계속 존재하는 상태에서 acetylcholine에 의한 혈관 이완의 정도를 비교하였다.

(4) Endothelin Receptor A 길항제 전처리 상태에서 Acetylcholine에 의한 혈관 이완력 변화

Cyclosporine A에 의한 내피 의존성 이완의 장애가 EDCF의 일종인 endothelin의 생성 증가에 의한 것인지를 알아보기 위하여 cyclosporine A(30mg/kg)를 투여한 흰쥐의 내피세포가 존재하는 대동맥환을 norepinephrine(10^{-7} M)으로 수축시킨 후 acetylcholine 농도가 10^{-9} M부터 10^{-4} M까지 되도록 점진적으로 첨가하여 혈관 장력의 이완 정도를 관찰하고 3회 K-H용액으로 세척한 다음 endothelin receptor A 길항제(10^{-7} M)를 40분간 전처리한 후 endothelin receptor A 길항제(10^{-7} M)가 계속 존재하는 상태에서 acetylcholine에 의한 혈관 이완의 정도를 비교하였다.

(5) L-Arginine 전처리 상태에서 Acetylcholine에 의한 혈관 이완력 변화

Cyclosporine A에 의한 내피 의존성 이완의 장애가 EDRF 즉 NO의 생성 저하에 의한 것인지를 알아보기 위하여 cyclosporine A(30mg/kg)를 투여한 흰쥐의 내피세포가 존재하는 대동맥환을 norepinephrine(10^{-7} M)으로 수축시킨 후 acetylcholine 농도가 10^{-9} M

부터 10^{-4} M까지 되도록 점진적으로 첨가하여 혈관 장력의 이완 정도를 관찰하고 3회 세척한 다음 NO의 기질(substrate)인 L-arginine(100μ M)을 30분간 전처리한 후 L-arginine(100μ M)이 계속 존재하는 상태에서 acetylcholine에 의한 혈관 이완의 정도를 비교하였다.

(6) Sodium Nitroprusside에 의한 혈관 장력 변화의 측정

Cyclosporine A에 의한 내피 비의존성 이완(endothelium independent relaxation)의 변화를 보기 위하여 내피세포가 존재하는 대동맥환과 제거된 대동맥환을 norepinephrine(10^{-7} M)으로 수축시킨 후 혈관 장력의 크기가 일정해졌을 때 incubation bath 내의 sodium nitroprusside의 농도를 10^{-9} M부터 10^{-5} M까지 되도록 점진적으로 첨가하여 혈관 장력의 이완 정도를 각 실험군별로 비교하였다.

(7) Norepinephrine에 의한 혈관 수축력의 변화

Cyclosporine A에 의한 혈관 수축력의 변화를 보기 위하여 cyclosporine A(30mg/kg)를 7일간과 14일간 투여한 흰쥐의 내피세포가 존재하는 대동맥환과 제거된 대동맥환에 norepinephrine의 농도를 10^{-9} M부터 10^{-4} M까지 되도록 점진적으로 첨가하여 혈관 수축력을 각군별로 비교하였다.

4) Cyclosporine A에 의한 혈관 내피세포와 평활근의 형태학적 변화

7일간 cremophor를 투여한 흰쥐와 cyclosporine A(30mg/kg)를 투여한 흰쥐의 신동맥과 대동맥을 적출하여 일부는 광학 현미경 검사를 위해 10% 중성 포르말린에 8시간 이상 고정한 다음 파라핀에 포매하고 $3\sim 5\mu$ m 두께로 박절하여 Hematoxylin-Eosin(H-E) 염색을 시행하였다. 또한 전자현미경적 검사를 위해 혈관조직을 2mm 두께로 절단하여 3% glutaraldehyde 완충용액에 즉시 고정하여 Epon에 포매하였다. Epon 포매 조직을 50nm로 세절하여 초박절편을 만들어 copper grid에 mount하고 uranyl acetate와 lead citrate로 염색하여 전자현미경 Hitachi H-500(Hitachi Ltd., Tokyo, Japan)을 이용하여 혈관 내피세포 및 평활근 세포의 변화를 관찰하였다.

3. 자료분석 및 통계처리

Acetylcholine과 sodium nitroprusside에 의한 혈관

표 1. Cyclosporine A 투여후의 체중 및 혈압의 변동

Group	N	Weight		Blood Pressure	
		Initial (g)	Change (%)	Initial (mmHg)	Final (mmHg)
Saline	30	204	+8.0	116±7*	121±4
Cremophor	55	235	+7.5	124±4	124±1
CSA 15	8	242	-10.7	122±2	125±1
CSA 30	58	235	-13.9	126±2	128±2
CSA 50	12	248	-14.5	128±4	129±5

*: 평균±표준오차

N: 실험 예수

CSA: cyclosporine A

표 2. Cyclosporine A 투여후 혈중요소질소와 혈청 크레아티닌 농도의 비교

Group	N	Blood Urea Nitrogen (mg/dl)	Serum Creatinine (mg/dl)
Saline	10	16.3±3.1*	0.39±0.06
Cremophor	17	17.3±0.8	0.41±0.02
CSA 15	7	28.4±5.5*	0.47±0.08*
CSA 30	20	29.6±2.0*	0.55±0.11*
CSA 50	9	35.5±5.9*	0.53±0.04*

*: 평균±표준오차

*: $p<0.05$ (cremophor 투여군과 비교하였을 경우)

N: 실험 예수

CSA: cyclosporine A

이완의 정도는 norepinephrine(10^{-7} M)으로 유발되는 혈관 최대 수축력에 대한 백분율(%)로서 평균±표준 오차로 나타냈으며, norepinephrine에 의한 혈관 수축력의 변화는 norepinephrine(10^{-4} M)으로 유발되는 혈관 수축력에 대한 백분율로 나타내었다. 각군간의 차이는 Student t-test로 유의성을 검정하였고 p 값이 0.05 이하시 유의한 것으로 간주하였다.

결 과

1. Cyclosporine A 투여 후의 체중 및 혈압의 변동

Cyclosporine A 투여가 흰쥐의 체중변화에 미치는 영향을 관찰한 결과 생리 식염수와 cremophor 투여군에서는 투여전에 비해 투여 7일 후 체중이 각각 8.0%와 7.5% 증가한 반면 cyclosporine A 투여군에서는 15mg/kg군에서 10.7%, 30mg/kg군에서 13.9%, 50mg/kg군에서 14.5%의 체중감소가 있었다.(표 1)

수축기 혈압은 모든 군에서 약물 투여 전에 비하여 약물 투여 종료 후 통계적으로 유의있는 차이가 없었다. 혈중 cyclosporine A의 농도는 15mg/kg군에서 $5,383\pm2,033$ ng/ml, 30mg/kg군에서 $7,135\pm556$ ng/ml, 50mg/kg군에서는 $9,962\pm1,999$ ng/ml로 투여 용량이 증가할수록 specific type의 혈중 cyclosporine A의 농도가 증가되는 양상을 보였으나 각군별로 통계학적인 차이는 없었다.

2. Cyclosporine A 투여 후의 혈중 요소질소와 혈청 크레아티닌 농도의 변화

혈중 요소질소 농도는 생리 식염수와 cremophor 투여군에서는 각각 16.3 ± 3.1 , 17.3 ± 0.8 mg/dl로 비슷한 양상을 나타냈지만, cyclosporine A 15mg/kg, 30mg/kg, 50mg/kg 투여군에서는 각각 28.4 ± 5.5 , 29.6 ± 2.0 , 35.5 ± 5.9 mg/dl로 cremophor 투여군에 비해 통계적으로 유의있게 증가되었으며($p<0.05$, 표 2) cyclosporine A 투여 용량이 증가함에 따라 증가되는 양상이었으나 cyclosporine A 투여군 사이에는 통계학적으로 유의있는 차이는 없었다. 혈청 크레아티닌 농도도 생리 식염수와 cremophor 투여군에서는 각각 0.39 ± 0.06 , 0.41 ± 0.02 mg/dl로 비슷한 양상을 나타냈지만, cyclosporine A 15mg/kg, 30mg/kg, 50mg/kg 투여군에서는 각각 0.47 ± 0.08 , 0.55 ± 0.11 , 0.53 ± 0.04 mg/dl로 cremophor 투여군에 비해 통계적으로 유의있게 증가되었으며($p<0.05$) cyclosporine A 투여 용량이 증가함에 따라 증가되는 양상이었으나 통계학적으로 유의있는 차이는 아니었다.

3. Cyclosporine A가 내피 의존성 이완에 미치는 영향

Acetylcholine에 의한 내피 의존성 이완의 변화는 그림 2와 3에 나타난 바와 같다. 그림 2는 cremophor와 cyclosporine A(30mg/kg)를 투여한 흰쥐의 내피세포가 존재하는 대동맥환을 norepinephrine(10^{-7} M)으로 수축을 유도하고, 그 수축 상태가 평형에 도달한 후 acetylcholine을 첨가하여 장력의 변화를 관찰한 전형적인 기록으로 acetylcholine의 농도를 10^{-9} M에서 10^{-4} M까지 점진적으로 증가시키기에 따라 cremophor와 cyclosporine A(30mg/kg)를 투여한 흰쥐의 대동맥환 모두에서 농도 의존적으로 혈관이 이

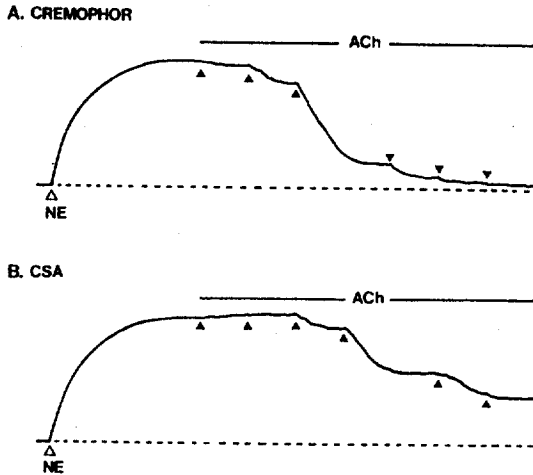


그림 2 Cremophor와 cyclosporine A 투여시 acetylcholine에 의한 내피 의존성 이완의 전형적인 기록. 그림 A는 cremophor, 그림 B는 cyclosporine A(30mg/kg)를 각각 7일간 투여한 흰쥐의 대동맥환을 norepinehrine(NE 10^{-7} M, Δ)으로 혈관 수축을 유도한 후 acetylcholine (ACh, $\blacktriangle$)농도가 각각 10^{-9} M부터 10^{-4} M까지 되도록 점진적으로 첨가하여 각 acetylcholine 농도에 의한 내피 의존성 이완을 관찰한 전형적인 기록임. NE: norepinehrine, ACh: acetylcholine, CSA: cyclosporine A

완되었으나 cyclosporine A를 투여한 흰쥐의 대동맥환에서는 cremophor를 투여한 흰쥐의 대동맥환에 비해 이완되는 정도가 뚜렷이 억제되었다. 그림 3은 혈관의 이완 정도를 각군별로 비교한 결과로 생리 식염수 투여군과 cremophor 투여군간에는 유의있는 차이가 없었으나, cremophor 투여군과 cyclosporine A 투여군을 비교하였을 때에는 cyclosporine A 15mg/kg, 30mg/kg, 50mg/kg 투여군 모두에서 유의있게 혈관 이완이 억제되었다. 즉, acetylcholine(10^{-7} M)에 의한 혈관 이완의 정도가 생리 식염수 투여군과 cremophor 투여군에서 각각 $62.7 \pm 3.2\%$, $59.6 \pm 4.5\%$ 로 나타났는데 반해서 cyclosporine A 투여군에서는 각각 $29.3 \pm 7.2\%$ (15mg/kg), $32.2 \pm 4.8\%$ (30mg/kg), $36.0 \pm 6.7\%$ (50mg/kg)로 나타나 acetylcholine에 의한 내피 의존성 이완의 억제가 뚜렷하였다($p < 0.05$). 그러나 cyclosporine A 투여군간에는 통계적으로 유의있는 차이는 없었다(그림 3-A). 반면에 내피세포가 제거된 대동맥환에서는 생리 식염수 투여군, cremophor 투여군, cyclosporine A(30mg/kg)

투여군 모두 acetylcholine에 의한 혈관 이완이 전혀 일어나지 않았으며 또한 세군 사이에 유의있는 차이를 보이지 않았다(그림 3-B).

4. Indomethacin 전처치 상태시 Acetylcholine에 의한 혈관 이완력 변화

Cyclosporine A 투여시 억제되었던 내피 의존성 이완이 cyclosporine A에 의한 cyclooxygenase 대사 산물의 일종인 prostaglandin H_2 혹은 thromboxane A_2 와 같은 EDCF 증가에 의한 것인지를 알아보기 위하여 cyclosporine A(30mg/kg)를 투여한 흰쥐의 내피세포가 존재하는 대동맥환에서 indomethacin(10^{-5} M)을 전처치하기 전과 후로 acetylcholine에 의한 혈관 이완의 정도를 서로 비교하였는데 그 결과는 그림 4에 나타낸 바와 같다. Cyclosporine A 투여군인 경우 indomethacin으로 전처치한 군과 전처치하지 않은 군 모두 cremophor 투여군에 비해서는 acetylcholine에 의한 혈관 이완의 정도가 유의있게 억제되었으나 indomethacin으로 전처치한 군과 전처치하지 않은 군 사이에서는 acetylcholine의 농도가 10^{-9} M 부터 10^{-5} M까지 증가함에 따른 혈관 이완 정도에는 서로 유의있는 차이가 없었다. 고농도의 acetylcholine(10^{-4} M)에서도 혈관 이완 정도는 indomethacin 전처치 전에는 $79.8 \pm 6.0\%$, 전처치 후에는 $81.8 \pm 4.7\%$ 로 유의있는 차이가 없어서 내피 의존성 이완 장애가 cyclooxygenase 대사 산물의 일종인 thromboxane A_2 혹은 prostaglandin H_2 생성 증가에 의한 것이 아님을 시사하였다.

5. Superoxide Dismutase 전처치 상태시 Acetylcholine에 의한 혈관 이완력 변화

Cyclosporine A 투여시 억제되었던 내피 의존성 이완이 cyclosporine A에 의한 과산화물 음이온과 같은 EDCF 증가에 의한 것인지를 알아보기 위하여 cyclosporine A(30mg/kg)를 투여한 흰쥐의 내피세포가 존재하는 대동맥환에서 superoxide anion의 보집제(scavenger)로 알려진 superoxide dismutase(60u/ml)를 전처치하기 전과 후로 acetylcholine에 의한 혈관 이완의 정도를 서로 비교해 본 결과는 그림 5에 나타낸 바와 같다. Cyclosporine A 투여군인 경우 superoxide dismutase로 전처치한 군과 전처치하지 않

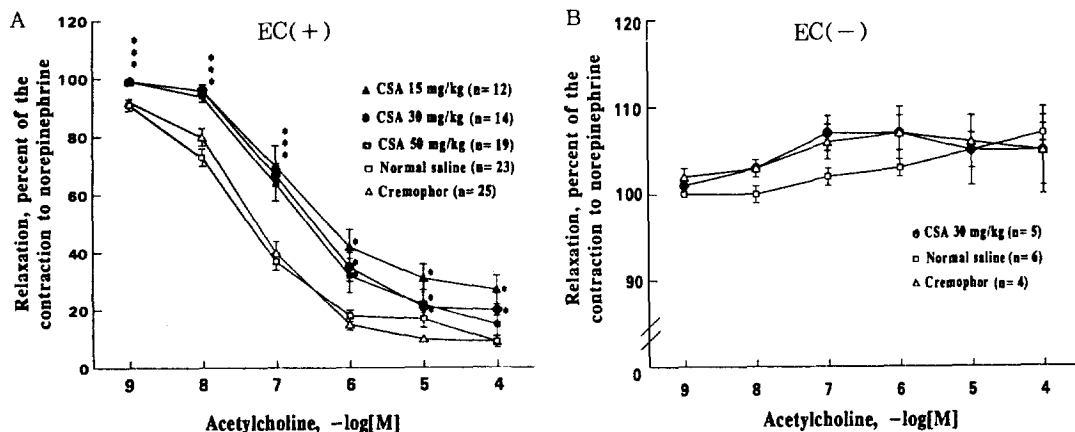


그림 3. Cyclosporine A가 acetylcholine에 의한 내피 의존성 이완에 미치는 영향. 그림 A는 내피세포 존재시, 그림 B는 내피세포 제거시 acetylcholine에 의한 내피 의존성 이완의 결과를 생리 식염수 투여군, cremophor 투여군, 15mg/kg, 30mg/kg, 50mg/kg cyclosporine A 투여군별로 나타낸 것임. 혈관 이완의 정도는 norepinephrine($10^{-7}M$)으로 유발되는 혈관 수축력에 대한 각 acetylcholine농도 때의 수축력의 백분율(%)로 평균 $\pm$ 표준오차로 나타냈으며, n은 실험 예수를 표시한 것임.
*: $p < 0.05$ (cremophor 투여군과 비교하였을 경우), EC: endothelial cell, CSA: cyclosporine A

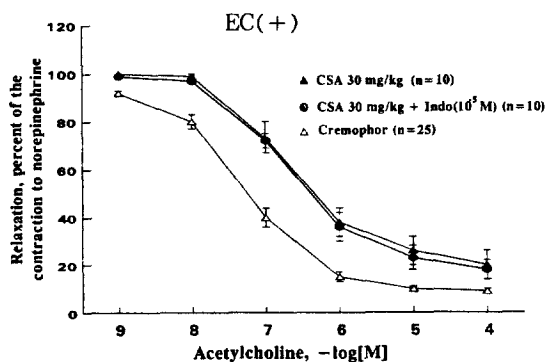


그림 4. Indomethacin 전처치 상태시 cyclosporine A가 acetylcholine에 의한 혈관 이완력에 미치는 영향. Cyclosporine A (30mg/kg)를 투여한 흰쥐에서 내피세포가 존재하는 대동맥환을 acetylcholine을 투여하여 이완되는 정도와 indomethacin($10^{-5}M$)을 30분간 전처치한 후 indomethacin($10^{-5}M$) 존재하에 acetylcholine에 의한 혈관 이완의 정도를 서로 비교해본 결과임. 혈관 이완의 정도는 norepinephrine($10^{-7}M$)으로 유발되는 혈관 수축력에 대한 각 acetylcholine 농도 때의 수축력의 백분율(%)로 평균 $\pm$ 표준오차로 나타냈으며, n은 실험 예수를 표시함.
EC: endothelial cell, CSA: cyclosporine A, Indo: indomethacin

은 군 모두 cremophor 투여군에 비해서는 acetylcholine에 의한 혈관 이완의 정도가 유의있게 억제되었으나 superoxide dismutase로 전처치한 군과 전처치

지 않은 군 사이에서는 acetylcholine의 농도가 $10^{-9}M$ 부터 $10^{-4}M$ 까지 증가함에 따른 혈관 이완 정도는 서로 유의있는 차이가 없어 내피 의존성 이완 장애가 과산화물 음이온의 생성 증가에 의한 것이 아님을 시사하였다.

6. Endothelin Receptor A 길항제 전처치 상태 시 Acetylcholine에 의한 혈관 이완력 변화

Cyclosporine A 투여시 억제되었던 내피 의존성 이완이 cyclosporine A에 의한 endothelin과 같은 EDCF증가에 의한 것인지를 알아보기 위하여 cyclosporine A(30mg/kg)를 투여한 흰쥐의 내피세포가 존재하는 대동맥환에서 endothelin receptor A 길항제($10^{-7}M$)를 전처치하기 전과 후로 acetylcholine에 의한 혈관 이완의 정도를 서로 비교해본 결과는 그림 6에 나타낸 바와 같다. Cyclosporine A 투여군인 경우 endothelin receptor A 길항제로 전처치한 군과 전처치하지 않은 군 모두 cremophor 투여군에 비해서는 acetylcholine에 의한 혈관 이완의 정도가 유의있게 억제되었으나 endothelin receptor A 길항제로 전처치한 군과 전처치하지 않은 군 사이에서는 acetylcholine의 농도가 $10^{-9}M$ 부터 $10^{-4}M$ 까지 증가함에 따른 혈관 이완 정도는 서로 유의있는 차이가 없어 내피 의존성 이완 장애가 endothelin의 생성 증가에 의한 것이

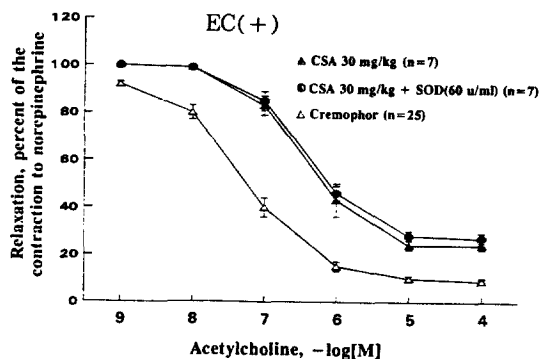


그림 5. Superoxide dismutase 전처리 상태에서 cyclosporine A가 acetylcholine에 의한 혈관 이완력에 미치는 영향. Cyclosporine A(30mg/kg)를 투여한 흰쥐에서 내피세포가 존재하는 대동맥환을 acetylcholine을 투여하여 이완되는 정도와 superoxide dismutase(60u/ml)를 10분간 전처리한 후 superoxide dismutase(60u/ml) 존재하에 acetylcholine에 의한 혈관 이완의 정도를 서로 비교해본 결과임. 혈관 이완의 정도는 norepinephrine(10^{-7} M)으로 유발되는 혈관 수축력에 대한 각 acetylcholine 농도 때의 수축력의 백분율(%)로 평균 $\pm$ 표준오차로 나타냈으며, n은 실험 예수를 표시함. EC: endothelial cell, CSA: cyclosporine A, SOD: superoxide dismutase

아님을 시사하였다.

7. L-Arginine 전처리 상태에서 Acetylcholine에 의한 혈관 이완력 변화

Cyclosporine A 투여시 억제되었던 내피 의존성 이완이 cyclosporine A에 의한 EDRF 즉 NO의 생성 저하에 의한 것인지를 알아보기 위하여 cyclosporine A(30mg/kg)를 투여한 흰쥐의 내피세포가 존재하는 대동맥환을 acetylcholine을 투여하여 이완되는 정도와 NO의 기질(substrate)로 알려진 L-arginine(100μ M)을 전처리시킨 후 acetylcholine에 의한 혈관 이완의 정도를 서로 비교해본 결과는 그림 7에 나타낸 바와 같다. Cyclosporine A를 투여한 경우 L-arginine으로 전처리하기전 acetylcholine의 농도가 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} M까지 증가함에 따른 내피 의존성 이완은 각각 0, 0, 14.6 ± 3.9 , 51.4 ± 5.4 , 63.7 ± 4.2 , $73.8 \pm 4.5\%$ 인데 비하여 L-arginine으로 전처리한 후에는 각각 0.8 ± 0.4 , 5.1 ± 1.3 , 32.2 ± 5.1 , 64.2 ± 4.0 , 79.8 ± 2.9 , $83.3 \pm 3.4\%$ 로 통계적으로 유의있는 차이는 아니었지만 11예 모두에서 일률적으로 회

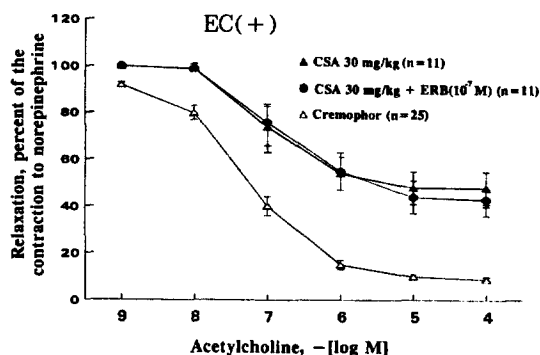


그림 6. Endothelin receptor A blocker(ERB) 전처리 상태에서 cyclosporine A가 acetylcholine에 의한 혈관 이완력에 미치는 영향. Cyclosporine A(30mg/kg)를 투여한 흰쥐에서 내피세포가 존재하는 대동맥환을 acetylcholine을 투여하여 이완되는 정도와 endothelin receptor A blocker(10^{-7} M) 존재하에 acetylcholine에 의한 혈관 이완의 정도를 서로 비교해본 결과임. 혈관 이완의 정도는 norepinephrine(10^{-7} M)으로 유발되는 혈관 수축력에 대한 각 acetylcholine 농도 때의 수축력의 백분율(%)로 평균 $\pm$ 표준오차로 나타냈으며, n은 실험 예수를 표시함. EC: endothelial cell, CSA: cyclosporine A, ERB: endothelin receptor A blocker

복되는 양상은 뚜렷하였다(그림 7-A). 이러한 L-arginine의 전처리 효과가 cyclosporine A 투여군에서만 나타나는 특수한 현상인지를 알아보기 위하여 cremophor 투여군에서 L-arginine으로 전처리 전과 후의 acetylcholine에 의한 내피 의존성 이완을 서로 비교한 결과 L-arginine으로 전처리하기 전 acetylcholine의 농도를 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} M까지 투여함에 따라 혈관 이완의 정도는 각각 9.3 ± 1.5 , 19.4 ± 2.8 , 67.1 ± 7.4 , 87.5 ± 3.8 , 95.4 ± 1.5 , $95.4 \pm 1.5\%$ 이었으며 L-arginine으로 전처리한 후에는 각각 7.5 ± 1.7 , 21.9 ± 4.0 , 61.5 ± 5.3 , 86.1 ± 2.3 , 92.4 ± 2.3 , $96.7 \pm 1.7\%$ 로 혈관 이완에는 차이가 없었다(그림 7-B). 따라서 L-arginine의 전처리 효과가 cyclosporine A 투여군에서만 나타나는 특수한 현상임을 알 수 있었다.

8. Cyclosporine A가 내피 비의존성 이완에 미치는 영향

대동맥환에서의 sodium nitroprusside에 의한 내피 비의존성 이완은 생리 식염수 투여군이나 cremophor

—한대석 외 6인 : Cyclosporine A가 혈관 반응도에 미치는 영향—

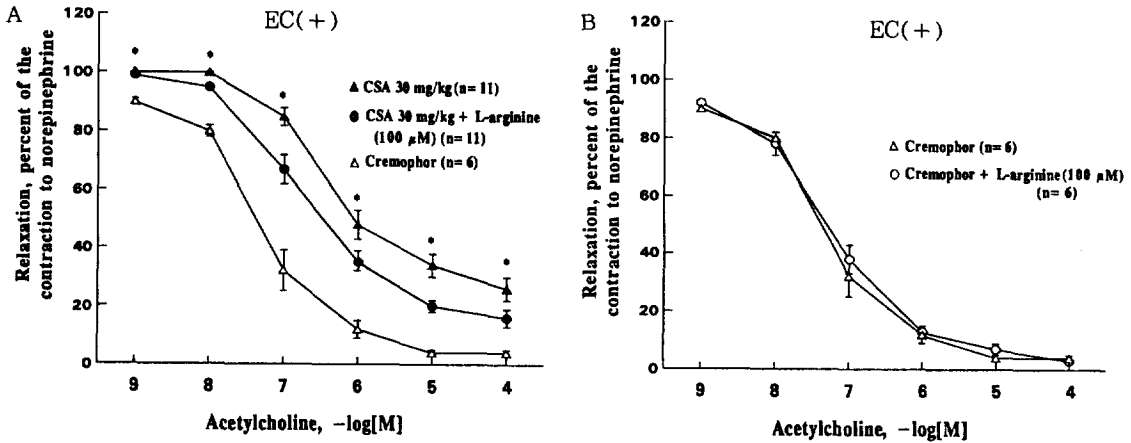


그림 7. L-Arginine 전처치 상태에서 cyclosporine A가 acetylcholine에 의한 혈관 이완력에 미치는 영향. 그림 A는 cyclosporine A(30mg/kg)를 투여한 흰쥐, 그림 B는 cremophor를 투여한 흰쥐에서 각각 내피세포가 존재하는 대동맥환을 acetylcholine을 투여하여 이완되는 정도와 L-arginine(100 μ M)을 30분간 전처치한 후 L-arginine(100 μ M) 존재하에 acetylcholine에 의한 혈관 이완의 정도를 서로 비교해본 결과임. 혈관 이완의 정도는 norepinephrine(10^{-7} M)으로 유발되는 혈관 수축력에 대한 각 acetylcholine농도 때의 수축력의 백분율(%)로 평균 $\pm$ 표준오차로 나타냈으며, n은 실험 예수를 표시함.

*: $p < 0.05$ (cremophor 투여군과 비교하였을 경우), EC: endothelial cell, CSA: cyclosporine A

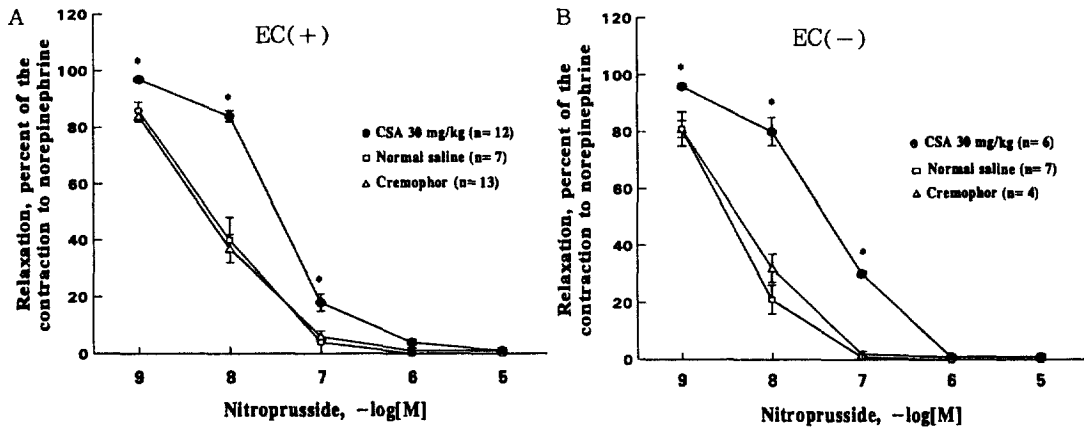


그림 8. Cyclosporine A가 nitroprusside에 의한 내피 비의존성 이완에 미치는 영향. 그림 A는 혈관 내피세포 존재 시, B는 혈관 내피세포 제거 시 nitroprusside에 의한 내피 비의존성 이완의 결과를 생리 식염수 투여군, cremophor 투여군, cyclosporine A(30mg/kg) 투여군별로 나타낸 것임. 혈관 이완의 정도는 norepinephrine (10^{-7} M)으로 유발되는 혈관 수축력에 대한 각 nitroprusside농도 때의 수축력의 백분율(%)로 평균 $\pm$ 표준오차로 나타냈으며, n은 실험 예수를 표시함.

*: $p < 0.05$ (cremophor 투여군과 비교하였을 경우), EC: endothelial cell, CSA: cyclosporine A

투여군에 비해 cyclosporine A(30mg/kg) 투여군에서 유의하게 억제되었다(그림 8). 즉, 내피세포가 존재하는 경우 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} M sodium nitroprusside에 의한 혈관 이완은 cremophor 투여군에서 각각 15.6 ± 2.4 , 62.6 ± 5.7 , 93.0 ± 2.8 % 인데 비하여 cyclosporine A 투여군에서는 각각 2.7 ± 1.2 , 15.2 ± 2.3 ,

81.7 ± 3.6 %로 cyclosporine A 투여군에서 cremophor 투여군에 비해 혈관 이완 정도가 유의있게 억제되었다($p < 0.05$). 그러나 10^{-6} 과 10^{-5} M 같은 고농도에서는 의미있는 차이를 보이지 않았다(그림 8-A). 이러한 양상은 내피세포가 제거된 대동맥환에서도 비슷하였는데 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} M sodium nitroprusside에

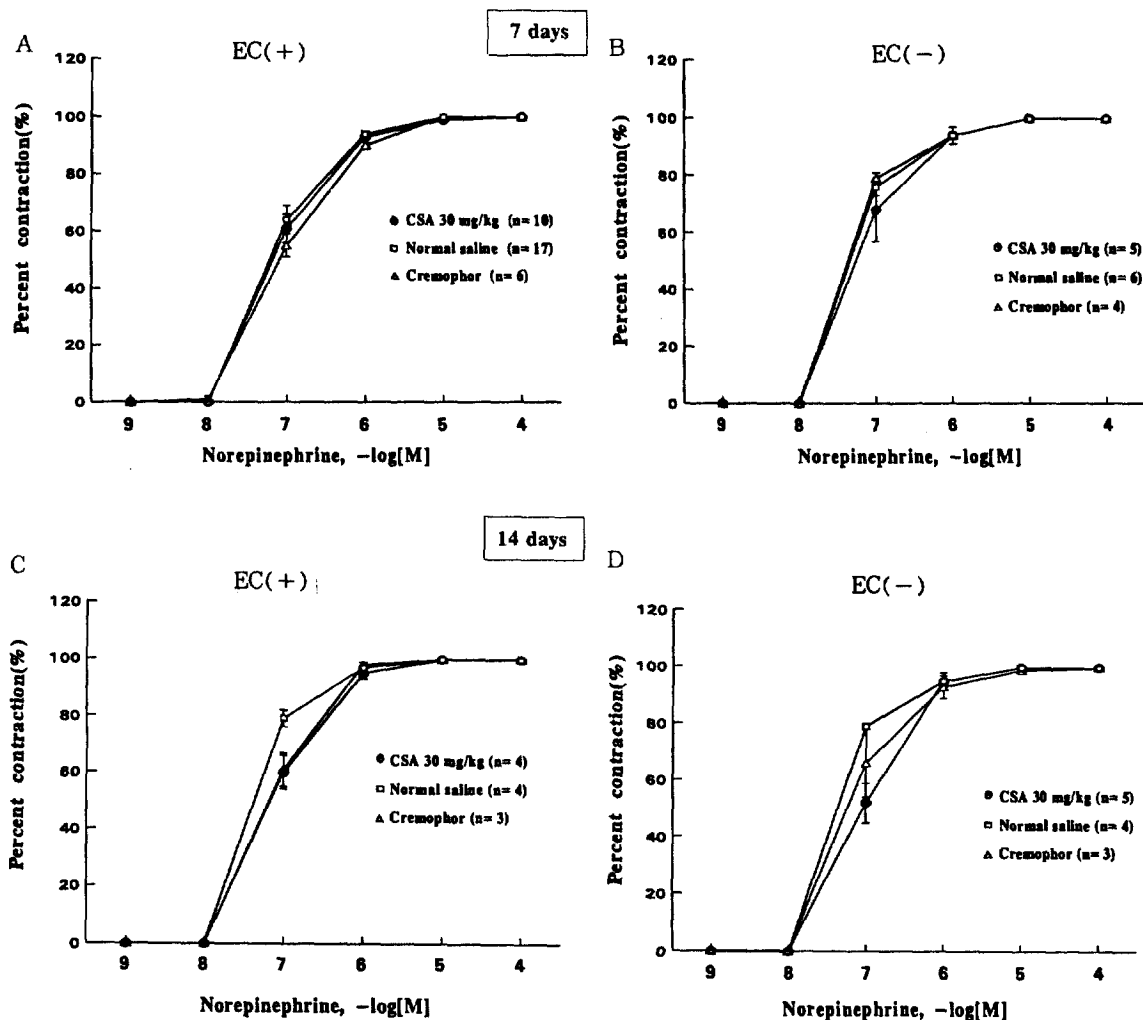


그림 9. Cyclosporine A가 norepinephrine에 의한 혈관 평활근 수축력에 미치는 영향. 상단의 두개의 그림은 cyclosporine A(30mg/kg)를 7일간 투여한 흰쥐에서 내피세포가 존재하는(A) 또는 제거된(B) 대동맥환의 결과이며, 하단의 두개의 그림은 cyclosporine A(30mg/kg)를 14일간 투여한 흰쥐에서 내피세포가 존재하는(C) 또는 제거된(D) 대동맥환의 결과로 대동맥환의 평활근 수축력의 변화를 보기 위하여 norepinephrine을 10⁻⁹M부터 10⁻⁴M까지 되도록 점진적으로 첨가하여 혈관 수축력을 각 군별로 비교한 결과임. 혈관 수축력의 정도는 norepinephrine(10⁻⁴M)으로 유발되는 혈관 수축력에 대한 각 norepinephrine 농도 때의 수축력의 백분율(%)로 평균±표준오차로 나타냈으며, n은 실험 예수를 표시함. EC: endothelial cell, CSA: cyclosporine A

의한 혈관 이완은 cremophor 투여군에서 각각 18.4 ± 6.0, 67.9 ± 5.4, 98.0 ± 1.2% 인데 비해 cyclosporine A 투여군에서는 각각 3.4 ± 1.9, 19.3 ± 6.5, 69.6 ± 4.5%로 cyclosporine A 투여군에서 cremophor 투여군에 비해 각각의 농도에서 혈관 이완 정도가 유의 있게 억제되었다($p < 0.05$)(그림 8-B).

9. Cyclosporine A가 Norepinephrine에 의한 혈관 평활근 수축력에 미치는 영향

Cyclosporine A 투여시 norepinephrine에 의한 혈관 평활근 수축력의 변화를 보기 위하여 내피세포가 존재하는 대동맥환과 제거된 대동맥환에 norepinephrine의 농도를 10⁻⁹M부터 10⁻⁴M까지 되도록 점진적으

그림 10. Cremophor와 cyclosporine A를 7일간 투여한 흰쥐의 신동맥의 광학 현미경 소견. 그림 A는 cremophor, 그림 B는 cyclosporine A(30mg/kg)를 투여한 경우로 cyclosporine A를 투여한 신동맥 혈관 내벽에 다수의 염증세포(▲)들이 관찰되고 있으며 드물게 내피세포가 기저막으로부터 박리된 것이 관찰됨.(H-E 염색, 그림 A×1,000, 그림 B×400).

로 첨가하여 혈관 수축력을 각 군별로 비교한 결과 cyclosporine A(30mg/kg)를 7일간 투여한 내피세포가 존재하는 대동맥환에서는 생리 식염수 투여군이나 cremophor 투여군에 비해 통계적으로 유의있는 차이를 보이지 않았으며(그림 9-A), 내피세포가 제거된 대동맥환에서도 유의있는 차이는 없었다(그림 9-B). Cyclosporine A를 14일간 투여 후 동일한 실험을 실시한 결과 내피세포가 존재하는 대동맥환에서는 10^{-7} M norepinephrine에서 cremophor, cyclosporine A 투여군에서 각각 61.8 ± 6.4 , $60.0 \pm 6.8\%$ 의 혈관 수축력을 나타내어 통계적으로 유의있는 차이는 보이지 않았으며(그림 9-C), 또한 내피세포가 제거된 대동맥환에서도 10^{-7} M norepinephrine에 의한 혈관 수축력이 cremophor, cyclosporine A 투여군에서 각각 66.6 ± 12.7 , $52.9 \pm 7.0\%$ 로 나타나 유의있는 차이가 없었다(그림 9-D).

10. Cyclosporine A에 의한 혈관 내피세포와 혈관 평활근의 형태학적 변화

광학 현미경 검사상 cremophor를 7일간 투여한 흰

쥐의 신동맥이나 대동맥의 내피세포와 평활근의 병리 조직학적인 변화는 찾아볼 수 없었으나 cyclosporine A(30mg/kg)를 7일간 투여한 신동맥의 일부에서는 내피세포의 기저막으로부터 박리와 함께 염증세포들이 혈관 내벽에 출현하는 것을 관찰할 수 있었으며(그림 10), 대동맥에서는 부분적으로 내피세포가 입방형 모양으로의 변화 및 세포질성 공포(cytoplasmic vacuole)가 관찰되었다(그림 11). 그러나 혈관 평활근의 형태학적인 차이는 관찰되지 않았다. 전자 현미경 검사상 cremophor 투여군에서는 신동맥과 대동맥 혈관 내피세포가 모두 편평한 모양을 한 정상적인 소견을 보이고 있었으나(그림 12) cyclosporine A를 투여한 대동맥에서는 내피세포내에 세포질성 공포와 phagolysosome의 출현등이 뚜렷이 관찰되었고(그림 13), 내피세포의 기저막으로부터의 박리(그림 14-A)도 관찰되었다. 신동맥에서는 내피세포들의 모양이 커지면서 입방형 모양으로 변하는 것이 관찰되었다(그림 14-B). 한편, 혈관 평활근 세포는 cremophor 투여군과 비교하여 볼 때 큰 변화가 없었다.

그림 11. Cremophor와 cyclosporine A를 7일간 투여한 흰쥐의 대동맥의 광학 현미경 소견. 그림 A는 cremophor, 그림 B는 cyclosporine A(30mg/kg)를 투여한 경우로 cremophor를 투여한 경우에는 대동맥의 내피세포 모양이 편평한 모양을 하고 있는 반면 cyclosporine A를 투여한 흰쥐의 대동맥에서는 내피세포들의 모양이 입방형으로 변했으며 내피세포내에 세포질성 공포가 관찰됨. (H-E 염색, 그림 A $\times 1,000$, 그림 B $\times 400$).

고 찰

Cyclosporine A가 갖고 있는 다른 면역억제제와 독특한 차이는 cyclosporine A가 면역반응에 관여하는 세포에 세포독성 효과를 유발하는 것이 아니라 세포산물의 생성을 억제함으로써 과도한 면역반응을 억제시키는 기능을 갖고 있다는 점이다. 즉, cyclosporine A는 주로 T 보조세포로부터 lymphokine(주로 interleukin-2)의 생성을 억제함으로써 T 세포와 B 세포의 성숙에 필요한 자극을 차단하는 것이다⁵⁶⁾. 이러한 선택적인 면역억제 효과를 갖고 있는 cyclosporine A는 신장을 비롯한 각종 장기 이식 후 중요한 면역억제제로 임상에서 흔히 사용되고 있으며 또한 최근에는 cyclosporine A가 포도막염, 제1형 당뇨병, 류마티스성 관절염, 원발성 담즙성 간경변, 전선 그리고 신증후군등과 같은 질환에서도 효과적인 보조적 치료약제로 사용되고 있다^{57, 58)}. 그러나 cyclosporine A에 의한 여러가지 부작용으로 인하여 약제 사용에 있어 제한이

되고 있으며 그 중 가장 중요한 것이 신독성과 고혈압이나^{59, 60)} 아직 신독성과 고혈압의 병태생리학적 발생 기전에 대해서는 정확한 정설이 없다. 따라서 본 연구에서는 cyclosporine A가 혈관 반응도에 미치는 영향과 아울러 그 기전을 알아보려고 하였다.

본 실험의 결과, cyclosporine A는 혈관 반응도의 현저한 변화를 초래하는데 주로 acetylcholine에 의한 내피 의존성 이완과 nitroprusside에 의한 내피 비의존성 이완을 억제시키는 반면 norepinephrine에 의한 혈관 수축력에는 영향이 없었다.

Cyclosporine A를 투여한 실험 동물에서 acetylcholine에 의한 내피 의존성 이완이 저하됨은 다른 연구자들에 의해 보고되었으나 그 기전은 확실하지 않다^{23, 24, 51, 52)}. Cyclosporine A에 의한 내피 의존성 이완 장애의 원인이 cyclosporine A가 혈관을 확장시키는 prostaglandin 즉 prostacyclin(PGI₂)의 생성을 억제하거나^{40, 41)} 혹은 강력한 혈관 수축제인 thromboxane A₂ 혹은 prostaglandin H₂의 생성을 촉진시킴으로써^{24, 42, 43)} 유발된다는 설등 혈관을 이완 혹은 수축시키는

그림 12 Cremophor를 7일간 투여한 흰쥐의 신동맥과 대동맥 내피세포의 전자 현미경 소견. 그림 A는 신동맥, 그림 B는 대동맥의 내피세포(EC) 소견으로 모두 편평한 모양을 한 정상적인 내피세포 소견임. EC: endothelial cell, L: lumen, EL: elastic lamina(그림 A×6,240, 그림 B×14,240).

prostaglandin계의 평형에 변화를 유발하여 혈관 반응도의 변화를 초래한다는 보고들이 있으나, 본 실험에서는 cyclooxygenase 억제제인 indomethacin으로 cyclosporine A를 투여한 흰쥐의 대동맥환을 전처치한 후에도 억제되었던 acetylcholine에 의한 내피 의존성 이완이 회복되지 않아 thromboxane A₂, prostaglandin H₂의 생성 증가에 의한 것이 아님을 시사하였다. 이러한 성적은 cyclosporine A(30mg/kg/day)를 5일간 투여한 흰쥐의 대동맥환을 이용하여 혈관의 장력을 측정할 점에서 본 연구와 유사한 실험을 한 Bossaller등²³⁾의 성적과, 또한 토끼의 격리 관류 시(isolated perfused kidney)에서 cyclosporine A의 영향을 관류압을 측정하여 보고한 Monaco등⁶¹⁾의 성적과도 일치하며, 또한 신장 이식을 받은 사람에서 thromboxane synthase 억제제를 7일간 투여한 후 투여 전과 후에 신기능에는 차이를 보이지 않아 cyclosporine A에 의한 신기능의 손상이 thromboxane에 의한 것이 아님을 시사한 Weir등⁶²⁾의 보고와도 유사하다.

한편, xanthine/xanthine oxidase와 같은 과산화물 생성 계통(superoxide radical generating system)에 의한 EDRF 즉 NO가 급속히 파괴되고⁶³⁾ superoxide

dismutase는 과산화물 음이온에 의한 NO의 파괴를 방지할 수 있다는 점⁶⁴⁾과 고콜레스테롤혈증 토끼에서의 acetylcholine에 의한 내피 의존성 이완 장애의 일부가 과산화물 음이온의 생성 증가에 의한 것이라는 보고⁶⁵⁾를 근거로 하여 superoxide dismutase(60u/ml)를 10분간 전처치시키기 전후로 acetylcholine에 의한 혈관 이완의 정도를 서로 비교해본 결과 혈관 이완 정도에는 차이가 없었다. 이러한 성적은 cyclosporine A 투여로 억제된 acetylcholine에 의한 내피 의존성 이완은 EDCF의 일종으로 알려진 과산화물 음이온의 생성 증가에 의한 것은 아님을 시사하는 것으로 사료된다.

Kon등⁵³⁾은 cyclosporine A가 흰쥐에서 신혈관의 수축과 사구체의 기능 이상을 일으키는 기전은 cyclosporine A가 내피세포로부터 EDCF의 일종이며 강력한 혈관 수축제로 알려진 endothelin의 유리를 증가시켜 유발된다고 보고하였으며, 또한 Fogo등⁶⁶⁾은 흰쥐에서 endothelin receptor 길항제를 미리 투여한 후 cyclosporine A를 투여하였을 때에는 cyclosporine A에 의한 사구체의 저관류(hypoperfusion)를 예방할 수 있다고 보고하여 cyclosporine A에 의한 신혈관 수축의 기전이 endothelin에 의한 것임을 시사

그림 13. Cyclosporine A를 7일간 투여한 흰쥐의 대동맥 내피세포의 전자 현미경 소견. 그림 A와 B는 모두 cyclosporine A(30mg/kg)를 투여한 흰쥐의 대동맥 내피세포 소견으로 그림 A에서는 내피세포(EC)내에 다수의 세포질성 공포(V)가 관찰되며 그림 B에서는 세포질성 공포(V)와 함께 phagolysosome(P)이 관찰됨. EC:endothelial cell, V: cytoplasmic vacuole, P: phagolysosome, L: lumen (그림 A×18,000, 그림 B×33,600).

하였으나 본 연구에서는 endothelin receptor A 길항제(10^{-7} M)를 40분간 전처치시키기 전후로 acetylcholine에 의한 혈관 이완의 정도를 서로 비교해본 결과 혈관 이완 정도에는 차이가 없어 cyclosporine A에 의한 신혈관 수축의 기전이 endothelin에 의한 것이 아닐 것으로 추측되나 이 문제는 추후 실험 방법을 달리하여 연구해볼 필요가 있다고 생각된다.

그러나 cyclosporine A 투여시 억제되었던 acetylcholine에 의한 내피 의존성 이완이 indomethacin이나 superoxide dismutase 전처치 후에도 변화가 없었던 반면 NO의 기질로 알려진 L-arginine으로 전처치한 후에는 cremophor 투여군과는 달리 회복되는 양상을 보이는 것으로 미루어 cyclosporine A가 acetylcholine에 의한 내피 의존성 이완을 억제시키는 기전이 내피세포내에서의 L-arginine으로부터 EDRF인 NO의 생성과정에 장애를 초래하였을 것으로 추측된다. NO는 내피세포에서 생성되는 강력한 혈관 이완제인 동시에 혈소판의 기능을 억제하는 물질로 알려져 있으며^{67,68)}, L-arginine의 guanidino nitrogen으로부터 생성되어 soluble guanylate cyclase를 활성화하여 혈관 평활근내의 c-GMP를 증가시킴으로써 결국 혈관 이완을 유발한다⁶⁹⁾. 따라서 cyclosporine A가 ace-

tylcholine에 의한 내피 의존성 이완을 억제하는 기전은 cyclosporine A가 내피세포내 사용 가능한 L-arginine을 감소시켰거나 혹은 L-arginine의 대사에 관여하는 NO synthase의 활성도를 감소시켜 발생되었을 것이라는 가설을 제시할 수 있다. 그러나 L-arginine 전처치 후 acetylcholine에 의한 내피 의존성 이완이 완전히 회복되지는 않는 것으로 미루어보아 이러한 기전 뿐만 아니라 또 다른 기전이 존재하거나 혹은 내피 의존성 이완에 관여하는 기전 중 일부는 이미 비가역적인 손상을 받았을 것으로 추측할 수 있다. 따라서 추후 L-arginine으로부터 NO형성 단계들 중 cyclosporine A에 의하여 이론적으로 영향을 미칠 수 있는 단계들 즉, 내피세포의 L-arginine의 흡수, NO synthase의 활성도, NADPH나 Ca^{++} -calmodulin complex와 같은 cofactor들의 가용성, NO 신호를 guanylate cyclase로 전달하는 과정, NO의 대사 과정에 대한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

한편 cremophor 투여군에서는 cyclosporine A 투여군과는 다르게 L-arginine으로 전처치하여도 acetylcholine에 의한 내피 의존성 이완에는 변화를 보이지 않았는데 이것은 정상 흰쥐와 토끼의 큰 혈관과 저항 혈관을 사용한 다른 보고들과 일치하며^{69,70)} 이러한

그림 14. Cyclosporine A를 7일간 투여한 흰쥐의 대동맥과 신피세포의 전자 현미경 소견. 그림 A와 B는 모두 cyclosporine A(30mg/kg)를 투여한 경우로 그림 A는 흰쥐의 대동맥 내피세포 소견으로 내피세포(EC)가 elastic lamina (EL)로부터 박리되는 것이 관찰되고 있으며, 그림 B는 신피세포의 내피세포 소견으로 내피세포 모양이 입방형으로 변한 것이 관찰됨. EC: endothelial cell, L: lumen, EL: elastic lamina(그림 A×12,000, 그림 B×15,000).

현상은 cremophor를 투여한 경우에는 정상 흰쥐에서와 같이 내피세포내의 NO를 형성하는데 필요한 endogenous L-arginine의 양이 충분하다는 것을 암시하며 따라서 외부에서 L-arginine을 투여하더라도 내피 의존성 이완이 더욱 증가하리라고 예상하기는 힘들다.

이와같이 cyclosporine A가 혈관내 내피세포에 영향을 미침으로써 내피세포로부터 혈관 확장제인 EDRF의 생성 혹은 유리에 장애를 초래할 것이라는 주장은 다른 연구자들도 시사한 바 있으나^{51, 52)} cyclosporine A를 투여한 흰쥐의 대동맥환을 이용하여 L-arginine 투여 후에 acetylcholine에 의한 내피 의존성 이완이 회복되는 것을 보고하여 cyclosporine A의 작용 기전으로 NO의 생성 장애 가능성을 직접적으로 제시하는 것은 본 실험이 처음이다. Dinh Xuan⁵¹⁾의 보고에서는 내피세포 내에서 합성되고 유리되는 중요한 혈관 확장제로서 PGI₂와 NO 2가지로 가정한 후 대조군과 cyclosporine A 투여군을 모두 prostaglandin의 합성을 억제시키는 indomethacin으로 전처리한 후 acetylcholine에 의한 내피 의존성 이완을 관찰한 결과 cyclosporine A 투여군에서만 내피 의존성 이완의 장애가 발생했다는 것을 근거로 하여 cyclosporine

A가 내피세포내에서 PGI₂의 생성 혹은 유리를 억제시킨 것이 아니라 NO의 유리를 억제시켰을 것이라고 결론을 내렸지만 cyclosporine A에 의해 PGI₂가 감소된다면 PGI₂의 생성을 억제하는 indomethacin으로 전처리하여도 그 효과를 알 수 없다는 면에서 PGI₂의 생성 저하가 아니라 NO의 생성 저하라는 결과를 유도하기에는 설득력이 부족하다. 또한 Takenaka⁵²⁾도 cyclosporine A가 NO의 생성을 감소시켰을 것이라고 추측하였는데, 흰쥐의 구심성과 원심성 사구체 세동맥에서 L-arginine으로 부터 NO 형성시 필요한 NO synthase를 경쟁적으로 억제하는 nitro-L-arginine 투여 후 acetylcholine에 의한 혈관 이완이 억제되는 것으로부터 acetylcholine에 의한 사구체 세동맥의 이완은 NO에 의한 것으로 설명하였지만, 이것은 acetylcholine에 의한 혈관의 이완 정도가 cyclosporine A 투여군에서 대조군에 비해 억제되는 것을 근거로 한 간접적인 방법이라는 점과 또한 대조군에서도 cyclosporine A 투여군에서와 같이 nitro-L-arginine 투여 후에는 전혀 혈관 이완이 일어나지 않아 nitro-L-arginine의 투여 효과에는 차이를 보이지 않았다는 점등으로 미루어 cyclosporine A에 의한 혈관 이완의

장애가 NO의 감소에 의한다는 것을 확인하기는 힘들다.

본 실험에서는 sodium nitroprusside에 의한 내피 비의존성 이완이 cyclosporine A 투여군에서 cremophor 투여군에 비해 의의있게 억제되었는데 이러한 결과는 토끼의 대동맥환을 이용한 Huang등²²⁾의 보고와 흰쥐의 대동맥환을 이용한 Rego등¹⁹⁾의 보고와 일치하는 것이다. Sodium nitroprusside와 같은 혈관 이완제의 효과는 혈관 평활근의 soluble guanylate cyclase에 의해 나타나므로⁶⁸⁾ cyclosporine A가 앞에서 언급한 바와 같이 혈관 내피세포에 손상을 일으켜 acetylcholine에 의한 내피 의존성 이완에 장애를 유발할 뿐 아니라 혈관 평활근내에서의 cGMP 합성이나 Ca^{++} mobilization과 같은 과정에도 장애를 초래하였을 것으로 추정된다. 그러나 Dinh Xuan등⁵¹⁾은 흰쥐의 대동맥환을 cyclosporine A $3 \times 10^{-7}M$ 농도에서 3시간 동안 전처치한 후 sodium nitroprusside에 의한 내피 비의존성 이완을 대조군과 비교한 결과 의의있는 차이를 발견할 수 없었다고 보고하였으며, 또한 Bossaler등²³⁾도 cyclosporine A(30mg/kg)를 5일간 투여한 흰쥐의 대동맥환에서는 glyceryl trinitrate에 의한 내피 비의존성 이완 장애는 관찰되지 않는다고 하여 본 실험과 상이한 결과를 보고하였다.

Cyclosporine A에 의한 혈관 반응도의 변화로 혈관 이완력의 억제외에도 혈관 수축력이 증가된다는 보고들이 있어¹⁸⁻²¹⁾ 본 실험에서도 혈관 수축을 유도할 수 있는 대표적인 약물인 norepinephrine을 이용하여 cyclosporine A 투여군과 cremophor 투여군에서 혈관 수축력을 관찰한 결과 혈관 수축력에는 양군간에 차이가 없어 cyclosporine A 투여시 norepinephrine에 의한 혈관 수축력에는 차이를 보이지 않았다고 보고한 Diederich등²⁴⁾과의 성적과 유사하였지만 cyclosporine A가 혈관 수축력을 증가시킨다고 한 다른 보고들¹⁸⁻²¹⁾과는 차이를 보였다. 이러한 실험 결과의 차이는 여러 가지 원인이 있을 수 있겠지만 그 중의 하나는 cyclosporine A의 투여 용량, 투여 방법, 투여 기간, 혈관 수축력을 측정하는 방법 즉, 어떤 혈관 수축제를 어떤 용량으로 사용했는지 혹은 생체외에서 혈관 장력을 측정했는지 혹은 생체내에서 혈관의 관류압을 측정했는지등과, 그리고 어떤 부위의 혈관을 실험에 사용했는지등 실험 방법상의 차이가 결과에 영향을 미칠

수 있었을 것으로 추측되지만 정확한 이유는 본 실험으로는 단정하기 힘들다.

Cyclosporine A는 소수성(hydrophobic) 약제이기 때문에 상용화된 정주용 cyclosporine A 제제에는 cremophor라는 부형제를 사용하며 cremophor는 polyoxyethylated castor oil로 주성분은 ricinoleic acid로 명명된 oxyethylated oleic acid이다. Cyclosporine A 투여시 발생하는 신혈류량의 감소가 이러한 cremophor에 의하여 신혈관의 수축력을 증가시킴으로써 발생한다는 보고^{71,72)}도 있으나 본 실험에서는 신혈관을 사용하지 않아 정확히 언급하기는 힘들지만 최소한 흰쥐의 대동맥환에서는 cremophor에 의한 혈관 수축력 혹은 이완력에는 생리 식염수 투여군에 비해 차이가 없어 cremophor 자체가 대동맥환의 혈관 반응도에 영향을 미치지 않는다고 생각된다. 또한 7일간 약물 투여 종료 후 측정된 혈중 요소질소와 혈청 크레아티닌치도 생리 식염수 투여군에 비해 차이가 없고 대동맥이나 신동맥에도 형태학적인 변화가 관찰되지 않아서 cremophor가 신혈관의 수축력을 증가시키지는 않았을 것으로 추측된다. 본 실험에서 사용한 cyclosporine A의 용량은 각각 15, 30, 50mg/kg로 7일간 투여하였는데 이들의 약물 투여 종료 후 혈중 cyclosporine A의 농도는 각각 $5,383 \pm 2,003$, $7,135 \pm 556$, $9,962 \pm 1,999ng/ml$ 로 인체에서 사용하는 cyclosporine A의 혈중 농도보다는 상당히 높은 편이다. 본 실험에서 이러한 고용량을 사용한 이유는 첫째, 인체에 비해 흰쥐에서의 cyclosporine A에 대한 감수성이 떨어진다는 점⁷³⁾과, 둘째는 비록 본 실험이 cyclosporine A에 의한 신기능의 변화에 관한 실험은 아니었지만 250gm의 흰쥐에서 체중당 콩팥의 무게가 1:125인 반면 70kg의 사람에서는 1:240정도로 약 2배의 차이가 있어 흰쥐와 사람에서의 cyclosporine A의 약물역동학적인 면은 비슷하지만 흰쥐에서의 cyclosporine A에 대한 신기능의 효과를 보기 위해서는 이론적으로는 사람에서의 용량과는 다른 용량이 필요하다는 점⁷⁴⁾, 셋째는 본 실험이 단기간 동안 cyclosporine A를 투여한 후 혈관에 미치는 효과를 관찰하려고 했기 때문이다.

본 실험에서는 흰쥐의 수축기 혈압이 cyclosporine A 투여 전에 비하여 투여 종료 후 의의있는 변화가 없었으며 다른 보고들에서는 현재 그 결과가 일정하지

않아 증가한다는 보고들^{25, 26, 30)}과 변함이 없다는 보고들⁷⁵⁻⁷⁷⁾, 그리고 일시적으로 떨어진다는 보고⁴⁴⁾ 등이 있다. 혈압에 대한 cyclosporine A의 영향은 위와 같이 결과가 일치되고 있지 않지만 모든 보고들에서 공통적으로 cyclosporine A에 의한 혈관의 반응도에는 변화를 보여 혈관 수축력이 증가하든지 혹은 혈관 이완력이 감소하는 소견을 보이고 있다. 그러나 cyclosporine A에 의한 혈관 반응도의 변화와 고혈압과의 직접적인 관계는 확실하게 규명되어 있지 않으며²⁵⁾, 이 분야에 대한 보다 많은 연구가 필요할 것으로 사료된다.

Cyclosporine A는 혈관의 기능적인 변화외에도 형태학적인 변화도 초래할 수 있다. Rego 등²⁵⁾은 cyclosporine A 20mg/kg를 정주로 3일간 투여한 흰쥐의 작은 장간막 동맥에서 내피세포의 모양이 입방형의 모양으로 변한 것과 내피세포내에 세포질성 공포의 출현, 핵의 피사성 변성, 그리고 기저막으로부터 내피세포가 박리된 것이 관찰되었다고 보고하였고 Mihatsch 등⁷⁸⁾은 사람에서는 cyclosporine A에 의한 내피세포의 초기 변화로 세포질내 공포와 봉입체(inclusion body)의 출현 그리고 내피세포의 피사등이 나타나고 평활근 세포내에도 봉입체가 출현하며 그 이후로 세동맥내에 섬유소와 혈소판등이 축적된다고 하였다. 본 실험에서도 이와 유사한 소견들이 관찰되어 비교적 cyclosporine A 투여 초기에 이미 내피세포에 형태학적인 변화가 초래됨을 알 수 있었으며 이러한 소견은 acetylcholine에 의한 내피 의존성 이완의 장애가 확실히 내피세포의 손상으로부터 유발된 것이라는 것을 뒷받침하는 소견이라고 할 수 있다. 한가지 특기할 점은 Mihatsch 등⁷⁸⁾은 이러한 내피세포의 변화가 주로 작은 말초혈관에 나타난다고 하였는데 비하여 본 실험에서는 비교적 큰 혈관인 신피동맥과 대동맥에서도 유사한 변화가 나타났다는 점이며 또 한가지는 평활근 세포내에서는 특이한 형태학적 변화를 관찰할 수 없었다는 점이다.

결론적으로 cyclosporine A는 혈관의 기능적인 면에서는 내피 의존성 이완을 억제시키는데 이는 prostaglandin H₂, thromboxane A₂ 혹은 과산화물 음이온, endothelin과 같은 EDCF의 증가에 기인한 것이라기보다는 내피세포내에서의 L-arginine으로부터 EDRF인 NO의 생성 과정에 장애를 초래하고 일부는 혈관 평활근에 직접 작용하여 나타났을 것으로 추측되

고 형태학적인 변화로는 내피세포에 손상을 초래하는 것으로 사료된다. 향후 특히 L-arginine으로부터 NO 형성 단계들 즉, 내피세포의 L-arginine의 흡수, NO synthase의 활성화도, NADPH나 Ca⁺⁺-calmodulin complex와 같은 cofactor들의 가용성, NO 신호를 guanylate cyclase로 전달하는 과정, NO의 대사 과정 등 어느 과정에 cyclosporine A가 영향을 미치는지에 대한 보다 상세한 연구가 필요할 것으로 생각되며, 또한 cyclosporine A를 투여받는 사람을 대상으로 하여 L-arginine 투여시 cyclosporine A에 의한 혈관 반응도에 어떠한 변화가 관찰되는지와 함께 신독성이나 고혈압과 같은 부작용의 발생이 감소되는지에 대한 전향적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

결 론

Cyclosporine A가 혈관 반응도에 미치는 영향과 그 기전을 알아보기 위하여 cyclosporine A를 7일간 투여한 흰쥐와 대조군으로서 cyclosporine A의 부형제인 cremophor를 투여한 흰쥐의 대동맥환을 이용하여 acetylcholine과 nitroprusside에 의한 혈관 이완력의 변화와 indomethacin, superoxide dismutase, endothelin receptor A 길항제, L-arginine등으로 대동맥환을 전처리하기 전과 후로 내피 의존성 이완 정도를 비교 관찰하였다. 또한, norepinephrine에 의한 혈관 수축력의 변화를 관찰하고 아울러 혈관 내피세포와 평활근의 형태학적 변화를 조사하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) Cyclosporine A 투여군에서 acetylcholine에 의한 내피 의존성 이완이 cremophor 투여군에 비해 의의있게 감소되었다.

2) Cyclosporine A에 의한 내피 의존성 이완 억제제는 indomethacin이나 superoxide dismutase, endothelin receptor A 길항제로 전처리 후에도 회복되지 않았다.

3) Cyclosporine A에 의한 내피 의존성 이완 억제는 NO의 기질인 L-arginine 전처리 후 회복되었다.

4) Cyclosporine A 투여군에서는 cremophor 투여군에 비해 nitroprusside에 의한 내피 비의존성 이완이 의의있게 감소되었다.

5) Cyclosporine A 투여군의 norepinephrine에 의

한 혈관 평활근의 수축력은 cremophor 투여군에 비해 차이가 없었다.

6) 형태학적인 변화로는 cyclosporine A를 투여한 실험동물에서는 내피세포들의 모양이 커지면서 입방형 모양으로 변하는 것이 관찰되었고 대동맥에서는 내피 세포내에 세포질성 공포의 출현, 내피세포의 기저막으로부터의 박리, phagolysosome의 출현등이 관찰되었다.

이상의 결과로 cyclosporine A는 내피 의존성 이완을 억제시키는데 이는 prostaglandin H_2 , thromboxane A_2 혹은 과산화물 음이온, endothelin과 같은 EDCF의 증가에 기인한 것이라기보다는 내피세포내에서의 L-arginine으로부터 EDRF인 NO의 생성 과정에 장애를 초래하고 일부는 혈관 평활근에 직접 작용하여 나타났을 것으로 추측된다.

= Abstract =

The Effect of Cyclosporine A on Vascular Reactivity

**Dae Suk Han, M.D., Heung Soo Kim, M.D.*
Shin Wook Kang, M.D., Kyu Hun Choi, M.D.
and Ho Yung Lee, M.D.**

*Department of Internal Medicine, Institute of Kidney Disease, Yonsei University School of Medicine
Seoul, Korea*

*Department of Nephrology, Ajou University School of Medicine, Suwon, Korea**

Young Ho Lee, M.D. and Bok Soon Kang, M.D.
Department of Physiology, Yonsei University School of Medicine, Seoul, Korea

Recently introduced cyclosporine A, a fungal endecapeptide, is frequently used after organ transplantation and in certain autoimmune diseases due to its selective inhibition of T-cell related immune responses. Despite this advantage, serious side effects such as nephrotoxicity and hypertension have limited its use. Nephrotoxicity was reported to occur due to the increased resistance in renal arteries resulting in ischemic damage and hypertension due to the increased vascular contractility or decreased vascular relaxation. However, the exact pathophysiological mechanisms of these

complications remain unclear. This study was planned to ascertain the effect of cyclosporine A on vascular reactivity and also its mechanism of action. By using the thoracic aortic segment of cyclosporine A-treated rat, after contracting the aortic segment with norepinephrine, endothelium dependent relaxation by acetylcholine was compared with the control group which was treated with cremophor, the vehicle of cyclosporine A. The effect of indomethacin, superoxide dismutase, endothelin receptor A antagonist, L-arginine on the altered endothelium dependent relaxation of the cyclosporine A-treated rat was also evaluated by preincubating each drug and observing differences in vascular relaxation by acetylcholine. Endothelium independent relaxation by sodium nitroprusside and the vascular contractility by norepinephrine were compared between cyclosporine A-treated and control group. Morphological changes in the endothelial cells and the smooth muscle were also evaluated by light & electron microscope after the cyclosporine A treatment. The results are as follow:

1) The endothelium dependent relaxation by acetylcholine was decreased significantly in the cyclosporine A-treated group compared with the cremophor-treated group.

2) Suppression of endothelium dependent relaxation in the cyclosporine A-treated group was not reversed after the preincubation with indomethacin, superoxide dismutase, and endothelin receptor A antagonist.

3) Suppressed endothelium dependent relaxation observed in the cyclosporine A-treated group was recovered following preincubation with L-arginine, the substrate of NO.

4) The endothelium independent relaxation by nitroprusside was also decreased in the cyclosporine A-treated group compared with the cremophor-treated group.

5) No significant changes in vascular contractility by norepinephrine were noted in the cyclosporine A-treated group.

6) Morphological changes after the cyclosporine A treatment were mainly observed in the vascular endothelial cells; cuboidal changes of the endothelial cells in the renal artery and appearance of cytoplasmic vacuoles and phagolysosome within the en-

endothelial cells, detachment of the endothelial cells from the basement membrane in the aorta.

From the above results, it can be concluded that the main effect of cyclosporine A on the vascular reactivity is inhibition of endothelium dependent relaxation and its principal mechanism of action seems to be the defect in the NO forming mechanism from the L-arginine caused by cyclosporine A rather than the increased activity of the EDCF such as prostaglandin H₂, thromboxane A₂ or superoxide anion.

Key Words: Cyclosporine A, Endothelial cell, Rat aorta, Nitric oxide

REFERENCES

- 1) Kahan BD: *Cyclosporine nephrotoxicity: Pathogenesis, prophylaxis, therapy, and prognosis*. *Am J Kidney Dis* 5 : 323-331, 1986
- 2) Dreyfuss M, Haerri E, Hofmann H: *Cyclosporin A and C; New metabolites from Trichoderma polysporum*(Link ex Pers.) Rifai. *Europ J Appl Microbiol* 3 : 125, 1976
- 3) Ruegger A, Kuhn M, Lichti H: *Cyclosporin A, ein immunosuppressiv wirksamer peptid-metabolit aus Trichoderma polysporum*(Link ex Pers.) Rifai. *Helv Chim Acta* 59 : 1075-1092, 1976
- 4) Petcher TJ, Weber HP, Ruegger A: *Crystal and molecular structure of an iodo-derivative of the cyclic undecapeptide cyclosporin A*. *Helv Chim Acta* 59 : 1480-1489, 1976
- 5) Borel JF: *Comparative study of in vitro and in vivo drug effects on cell-mediated cytotoxicity*. *Immunology* 31 : 631-641, 1976
- 6) Calne RY, Rolles K, White DJG, Thiru S, Evans DB, McMaster P, Dunn DC, Craddock GN, Henderson RG, Aziz S, Lewis P: *Cyclosporin A initially as the only immunosuppressant in recipients of cadaveric organs: 32 kidneys, 2 pancreas, and 2 livers*. *Lancet* 2 : 1033-1036, 1979
- 7) Cohen DJ, Loertscher R, Rubin M, Tiney NL, Carpenter CB, Strom TB: *Cyclosporine: A new immunosuppressive agent for organ transplantation*. *Ann Int Med* 101 : 667-682, 1984
- 8) Myers BD, Sibley R, Newton L, Tomlanovich SJ, Boshkos C, Stinson E, Leutscher JA, Whitney DJ, Krasny D, Cplon NS, Perlroth MG: *The longterm course of cyclosporine-associated chronic nephropathy*. *Kidney Int* 33 : 590-600, 1988
- 9) Vanrenterghem Y, Roels L, Lerut T, Gruwez J, Michielsen P, Gesele P, Deckmyn H, Colucci M, Arnout J, Vermynen J: *Thromboembolic complications and haemostatic changes in cyclosporine-treated cadaveric kidney allograft recipients*. *Lancet* 2 : 999-1002, 1985
- 10) Canadian Multicentre Transplant Study Group: *A randomized clinical trial of cyclosporine in cadaveric renal transplantation*. *N Engl J Med* 309 : 809-815, 1983
- 11) Chapman JR, Griffiths D, Harding NGL, Morris PJ: *Reversibility of cyclosporin nephrotoxicity after three months treatment*. *Lancet* 1 : 128-130, 1985
- 12) Barros EJG, Boim MA, Ajzen H, Ramos OL, Schor N: *Glomerular hemodynamics and hormonal participation on cyclosporine nephrotoxicity*. *Kidney Int* 32 : 19-25, 1987
- 13) Curtis JJ, Luke RG, Jones P, Diethelm AG: *Cyclosporin induced hypoaldosteronism in man despite normal plasma renin activity(PRA) (Abstract)*. *Kidney Int* 31 : 266, 1987
- 14) English J, Evan A, Houghton DC, Bennett WM: *Cyclosporin-induced acute renal dysfunction in the rat*. *Transplantation* 44 : 135-141, 1987
- 15) Thomson SC, Tuicker BJ, Gabbai F, Blantz RC: *Functional effects on glomerular hemodynamics of short-term chronic cyclosporin in male rats*. *J Clin Invest* 83 : 960-969, 1989
- 16) Klintmalm G, Bohman SO, Sundelin B, Wilczek H: *Interstitial fibrosis in renal allografts after 12 to 46 months of cyclosporin treatment: Beneficial effect of low doses in early posttransplantation period*. *Lancet* 2 : 950-954, 1984
- 17) Myers BD, Ross J, Newton L, Leutscher J, Perlroth M: *Cyclosporin-associated chronic nephropathy*. *N Eng J Med* 311 : 699-705, 1984
- 18) Lamb FS, Webb RC: *Cyclosporine augments reactivity of isolated blood vessels*. *Life Sci* 40 : 2571-2578, 1987
- 19) Rego A, Vargas R, Foegh ML, Ramwell PW: *Effect of cyclosporin A treatment on vascular reactivity of the rat thoracic aorta*. *Transplant Proc* 20 (Suppl 3):572-577, 1988
- 20) Rossi NF, Churchill PC, McDonald FD, Ellis VR: *Mechanism of cyclosporine A-induced renal vasoconstriction in the rat*. *J Pharmacol Exp Ther* 250

- :896-901, 1989
- 21) Rego A, Vargas R, Suarez KR, Foegh ML, Ramwell PW: Mechanism of cyclosporin potentiation of vasoconstriction of the isolated rat mesenteric arterial bed: Role of extracellular calcium. *J Pharmacol Exp Ther* 254 :799-808, 1990
- 22) Huang HC, Rego A, Vargas R, Forgh ML, Ramwell PW: Nitroprusside-induced vascular relaxation is attenuated in organ transplanted animals treated with cyclosporine. *Transplant Proc* 19 (Suppl 5):126-130, 1987
- 23) Bossaller C, Fostermann U, Hertel R, Olbricht C, Reschke V, Fleck E: Cyclosporin A inhibits endothelium-dependent vasodilatation and vascular prostacyclin production. *Eur J Pharmacol* 165 :165-169, 1989
- 24) Diederich D, Yang Z, Lüscher TF: Chronic cyclosporine therapy impairs endothelium-dependent relaxation in the renal artery of the rat. *J Am Soc Nephrol* 2 :1291-1297, 1992
- 25) Rego A, Vargas R, Cathapermal S, Kuwahara M, Foegh ML, Ramwell PW: Systemic vascular effects of cyclosporin A treatment in normotensive rats. *J Pharmacol Exp Ther* 259 :905-915, 1991
- 26) Moss NG, Powell SL, Falk RJ: Intravenous cyclosporine activate afferent and efferent renal nerves and causes sodium retention in innervated kidneys in rats. *Proc Natl Acad Sci USA* 82 :8222-8226, 1985
- 27) Scherrer U, Vissing SF, Morgan BJ, Rollins JA, Tindall RSA, Ring S, Hanson P, Mohanty PK, Victor RG: Cyclosporine-induced sympathetic activation and hypertension after heart transplantation. *N Engl J Med* 323 (11):693-699, 1990
- 28) Golub MS, Berger ME: Direct augmentation by cyclosporin A of the vascular contractile response to nerve stimulation. *Hypertension* 9 (Suppl III):96-100, 1987
- 29) Golub MS, Lusting S, Berger ME, Lee DBN: Altered vascular responses in cyclosporine-treated rats. *Transplantation* 48 (1):116-118, 1989
- 30) Gerkens JF: Cyclosporine treatment of normal rats produces a rise in blood pressure and decreased renal vascular responses to nerve stimulation, vasoconstrictors, and endothelium-dependent dilators. *J Pharmacol Exp Ther* 250 :1105-1112, 1989
- 31) Thompson ME, Shapiro AP, Johnson AM, Reeves R, Itzicoff S, Ginchezeau E, Hardesly RL, Griffith BL, Bahnson HT, McDonald R: New onset of hypertension following cardiac transplantation: Preliminary report and analysis. *Transplant Proc* 15(Suppl 1):2573-2577, 1983
- 32) Bellet M, Cabrol C, Sassano P, Leger P, Corvol P, Menard J: Systemic hypertension after cardiac transplantation: Effect of cyclosporine on the renin-angiotensin-aldosterone systems. *Am J Cardiol* 56 :927-931, 1985
- 33) Steigerwalt SP, McCurdy R, Smith S, Lockette W: Role of sympathetic nervous system in cyclosporine hypertension following orthotopic cardiac transplantation in man(Abstract). *Kidney Int* 31 :309, 1987
- 34) Siegl H, Ryffel B, Petric R, Shoemaker P, Muller A, Donatsch P, Mihatsch M: Cyclosporine, the renin-angiotensin-aldosterone system, and renal adverse reactions. *Transplant Proc* 15 (Suppl 1):2719-2725, 1983
- 35) Bantle JP, Bourdreau RJ, Ferris TF: Suppression of plasma renin activity by cyclosporin. *Am J Med* 83 :59-64, 1987
- 36) Heering P, Westhoff A, Bach D, Sprenger KBG, Passlick J, Helmchen U, Grabensee B: Renin-aldosterone system and renal function under cyclosporine A. *Transplant Proc* 20 (Suppl 3):556-562, 1988
- 37) Berg KJ, Forre O, Bjerkhoel F, Amundsen E, Djoseand O, Rugstad HE, Westre B: Side effects of cyclosporine A treatment in patients with rheumatoid arthritis. *Kidney Int* 29 :1180-1187, 1986
- 38) Deray G, Le Hoang P, Hornych A, Legrand S, Aupetit B, Cacoub P, Zogbi F, Landault C, Carayon A, Baumelou A, Jacobs C: Effects of cyclosporine on plasma renin activity, catecholamines and prostaglandins in patients with idiopathic uveitis. *Am J Nephrol* 8 :298-304, 1988
- 39) Gerkens JF, Smith AJ: Effect of captopril and theophylline treatment on cyclosporine-induced nephrotoxicity in rats. *Transplantation* 40 :213-214, 1985
- 40) Neild GH, Racchi G, Imberti L, Fumagalli F, Brown Z, Remuzzi Z, Williams DG: Effects of cyclosporine on prostacyclin synthesis by vascular tissue in rabbits. *Transplant Proc* 15 :2398-2400, 1983

- 41) Brown Z, Neild GH, Lewis G: *Mechanism of cyclosporin inhibition of prostacyclin synthesis by cultured human umbilical vein endothelial cells. Transplant Proc 20 (Suppl 3):654-657, 1988*
- 42) Kawaguchi A, Goldmann MH, Shapiro R, Foeg ML, Ramwell P, Lower R: *Increase in urinary thromboxane B₂ in rats caused by cyclosporine. Transplantation 40 :214-216, 1985*
- 43) Perico N, Benigni A, Zoja C, Delaini F, Remuzzi G: *Functional significance of exaggerated renal thromboxane A₂ synthesis induced by cyclosporin A. Am J Physiol 20 :F581-F587, 1986*
- 44) Murray BM, Paller MS, Ferris TF: *Effect of cyclosporine administration on renal hemodynamics in conscious rats. Kidney Int 28 :767-774, 1985*
- 45) Neumayer HH, Mihatschi MJ, Lopping A, Velten M, Wagner K: *Effect of cyclosporine A on post-ischemic acute renal failure in conscious dogs: Role of vasoactive renal hormones. Transplant Proc 20 (Suppl 3):584-594, 1988*
- 46) Knauss TC: *Cyclosporin nephrotoxicity in the rat associated with increased urinary thromboxane (Abstract). Kidney Int 29 :304, 1986*
- 47) Jorkasky D, Audet P, Williams S, Grossmann R, Conrad M: *Cyclosporine-induced nephrotoxicity: Role of prostaglandins. Transplant Proc 19 :1742-1744, 1987*
- 48) Koivisto VA, Leirisalo-repo M, Pelkonen R, Turunen U, Viinikka L, Rapola J, Ylikorkala O: *Reduced renal prostanoid synthesis may contribute to the nephrotoxicity of cyclosporin(Cy) in type I diabetic patients (Abstract). Diabetes 37(Suppl 1):79A, 1988*
- 49) Tresham JJ, Withworth JA, Scoggings BA, Bennett WM: *Cyclosporine-induced hypertension in sheep: The role of thromboxanes. Transplantation 49 :144-148, 1990*
- 50) Meyer-Lehnert H, Schrier RW: *Potential mechanism of cyclosporine A-induced vascular smooth muscle contraction. Hypertension 13 :352-360, 1988*
- 51) Dinh Xuan AT, Fan TPD, Higenbottam TW, Wallwork J: *Cyclosporine in vitro reduces endothelium-dependent relaxation to acetylcholine but does not affect relaxation to nitrovasodilators. Transplant Proc 22 :1723-1725, 1990*
- 52) Takenaka T, Hashimoto Y, Epstein M: *Diminished acetylcholine-induced vasodilatation in renal microvessels of cyclosporine-treated rats. J Am Soc Nephrol 3 :42-50, 1992*
- 53) Kon V, Sugiura M, Inagami T, Harvie BR, Ichikawa I, Hoover RL: *Role of endothelin in cyclosporine-induced glomerular dysfunction. Kidney Int 37 :1487-1491, 1990*
- 55) Awazu M, Sugiura M, Inagami T, Ichikawa I, Kon V: *Cyclosporine promotes glomerular endothelin binding in vivo. J Am Soc Nephrol 1 :1253-1258, 1991*
- 56) Kahan BD, Pellis NR, Leiniki P, Yoshimura N, Schreiber RD: *Pharmacodynamic assays of the immunosuppressive action of cyclosporine therapy in transplant recipients. Transplant Proc 19 :1695-1698, 1987*
- 57) Talal N: *Cyclosporine as an immunosuppressive agent for autoimmune disease: theoretical concepts and Therapeutic strategies. Transplant Proc 20 (Suppl 4):11-18, 1988*
- 58) Gupta AK, Brown MD, Ellis CN: *Cyclosporine in dermatology. J Am Acad Dermatol 21 :1245-1256, 1989*
- 59) Bennett WM, Porter GA: *Cyclosporine-associated hypertension. Am J Med 85 :131-133, 1988*
- 60) Remuzzi G, Bertani T: *Renal vascular and thrombotic effects of cyclosporine. Am J Kidney Dis 13 :261-272, 1989*
- 61) Monaco DO, Wait RB, Friedman AL, Kahng KU: *Effects of chronic cyclosporine therapy on renal vascular reactivity in the isolated perfused rabbit kidney. Transplant Proc 20 (Suppl 3):578-583, 1988*
- 62) Weir MR, Klassen DK, Burdick JF: *A pilot study to assess the ability of an orally available selective thromboxane synthase inhibitor to improve renal function in cyclosporine-treated renal transplant recipients. J Am Soc Nephrol 2 :1285-1290, 1992*
- 63) Rubanyi GM, Vanhoutte PM: *Oxygen-derived free radicals, endothelium, and responsiveness of vascular smooth muscle. Am J Physiol 250 :H815-H821, 1986*
- 64) Gryglewski RJ, Palmer RM, Moncada S: *Superoxide anion is involved in the breakdown of endothelium-derived vascular relaxing factor. Nature 320 :454-456, 1986*
- 65) Ohara Y, Peterson TE, Harrison DG: *Hypercholesterolemia increases endothelial superoxide an-*

- ion production. *J Clin Invest* **91** :2546-2551, 1993
- 66) Fogo A, Hellings SE, Inagami T, Kon V: *Endothelin receptor antagonism is protective in in vivo acute cyclosporine toxicity. Kidney Int* **42** : 770-774, 1992
- 67) Palmer RMJ, Ashton DS, Moncada S: *Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. Nature* **327** : 524-526, 1987
- 68) Luscher TF, Bock AH, Yang Z, Diederich D: *Endothelium-derived relaxing and contracting factors: Perspectives in nephrology. Kidney Int* **39** : 575-590, 1991
- 69) Bhardwaj R, Moore PK: *The effect of arginine and nitric oxide on resistance blood vessels of the perfused rat kidney. Br J Pharmacol* **97** :739-744, 1989
- 70) Girerd XJ, Hirsch AT, Cooke JP, Dzau VJ, Creager MA: *L-arginine augments endothelium-dependent vasodilatation in cholesterol-fed rabbits. Circ Res* **67** :1301-1308, 1990
- 71) Thiel G, Hermle M, Brunner FP: *Acutely impaired renal function during intravenous administration of cyclosporin A: A cremophor side effect. Clin Nephrol* **25** (Suppl 1):s40-s42, 1986
- 72) Besarab A, Jarrell B, Hirsch S, Carabasi A, Cressman MD, Green P: *Use of the isolated perfused kidney model to assess the acute pharmacologic effects of cyclosporine and its vehicle, cremophor EL. Transplantation* **44** :195-201, 1987
- 73) Whiting PH, Thomson AW, Cameron ID, Simpson JG: *Hepatic and renal function in rats receiving immunotherapeutic doses of cyclosporin A. Br J Exp Pathol* **61** :631-634, 1980
- 74) Sullivan BA, Hak LJ, Finn WF: *Cyclosporine nephrotoxicity: Studies in laboratory animals. Transplant Proc* **18** (Suppl 1):145-154, 1985
- 75) Jackson NM, Chen-Hsing H, Visscher GE, Venkatachalam MA, Hames HD: *Alterations in renal structure and function in a rat model of cyclosporine nephrotoxicity. J Pharmacol Exp Ther* **242** :749-756, 1987
- 76) Kaskel F, Devarajan P, Arbeit LA, Partin JS, Moore LC: *Cyclosporin nephrotoxicity: Sodium excretion, autoregulation and angiotensin II. Am J Physiol* **252** :F733-F742, 1987
- 77) Textor SC, Smith-Powell L, Telles T: *Altered responses to NE and ANG II during cyclosporin A administration to conscious rat. Am J Physiol* **258** : H854-860, 1990
- 78) Mihatsch MJ, Thiel G, Spichtin HP, Oberholzer M, Brunner FP, Harder F, Olivieri V, Ryffel B, Stocklin E, Torhorst J, Gudat F, Zollinger HU, Loertscher R: *Morphological findings in kidney transplants after treatment with cyclosporine. Transplant Proc* **15** :2821-2835, 1983