

Cisplatin에 의한 마우스의 급성 신부전 완화에 대한 Endothelin A 수용체의 차단 효과

김일두, 안도환

고신대학교 의과대학 생리학교실

Effects of endothelin A receptor blockade on the amelioration of cisplatin-induced acute renal failure in mice

Il-Doo kim, Do-Whan Ahn

Department Physiology, Kosin University College of Medicine, Busan, Korea

Abstract

Background : Acute renal failure (ARF) can be pathophysiologically classified to hemodynamically-mediated or nephrotoxic type, and in either case, endothelin (ET)-1 expression is enhanced in renal tissues. Hemodynamically-mediated ARF is known to be mitigated by ETA receptor (ETAR) blocker but not ETB receptor (ETBR) blocker. There is poorly understood on mitigation of renal injuries by ETAR or ETBR blockade in nephrotoxic ARF. Therefore, This study examined whether nephrotoxic ARF induced by cisplatin is functionally and/or histologically ameliorated by ETAR blocker BQ123.

Materials and Methods : Male C57BL/6 mice are intraperitoneally injected with vehicle (saline), cisplatin or cisplatin+BQ123. Cisplatin was single administrated with a dose of 16 mg/kg/day and BQ123 with a dose of 24 mg/kg/day once a day for 4 consecutive days including a baseline day. Urine flow, excretion of electrolytes and protein, and creatinine clearance were measured. Histological changes were observed through periodic acid-Schiff stain. Real time RT-PCR was performed to evaluate expression of ET-1 and ETAR mRNA. Distribution of ET-1 peptide within renal cortex was examined by immunohistochemistry.

Results : Body weight, urine flow, excretion of protein, Na, K, and creatinine clearance tended to decrease by cisplatin administration compared to vehicle treatment, but these parameters did not return to the normal level by combined administration of cisplatin and BQ123. Necroses of several proximal tubules were observed in the cisplatin group, indicating that mild nephrotoxicity occurred. In the cisplatin+BQ123 group, this change seemed to increase, rather than decrease. Expression of ET-1 and ETAR mRNA was 6 and 2-fold higher in the cisplatin group than the saline group, respectively. BQ123 treatment reversed ETAR mRNA expression to the basal level but not ET-1 mRNA. Immunoreactive ET-1 was mainly distributed within proximal tubule cells in all three groups. Immunoreactivity of ET-1 was enhanced in both the cisplatin group and the cisplatin+BQ123 group compared to the saline group, but was similar between the cisplatin group and the cisplatin+BQ123 group.

Conclusion : Administration of a ETAR blocker BQ123 in cisplatin-induced nephrotoxic ARF is not likely to be effective in amelioration of renal injuries.

Key Words : Acute renal failure, Cisplatin, Endothelin A receptor, BQ123

서론

교신저자 : 안도환

주소 : 602-702, 부산광역시 서구 압남동 34번지
고신대학교 의과대학 생리학

전화 : 051-990-6415

FAX : 051-990-3081

E-mail : dwahn@ns.kosinmed.or.kr

Endothelin-1 (ET-1)은 21개의 아미노산으로 구성된 펩티드로서 발견 당시에는 강력한 혈관 수축제로 알려져 있으나 이후의 연구에서 혈관 평활근이나 mesangial

세포, 암세포 등의 증식을 촉진시키며, 심근과 기관지 수축, 신장에서 수분과 염분의 배설 촉진 등 광범위한 작용을 하는 것으로 밝혀졌다.^{1,2)} ET-1은 혈관 내피세포에서 다량 생성되며 심근세포, 신장의 상피세포에서도 많이 생성된다. 생성된 ET-1은 대부분이 기저측면막으로 분비되는데 이렇게 분비된 ET-1은 A형(ETAR) 또는 B형(ETBR)의 수용체에 결합한다. ETAR과 결합할 경우 주로 혈관수축, 세포 증식, 항세포사멸의 기능을 담당하며 ETBR과 결합할 경우 혈관이완, ET-1 자가제거, 염증성 통증유발 등을 수행한다.³⁾ 지금까지의 연구에 의하면 ET-1은 고혈압, 심부전, 난소와 전립선암, 신부전 등의 병태생리에 중요한 역할을 담당한다.⁴⁻⁶⁾ 따라서 이들 질환의 치료를 위해 ETAR 또는 ETBR 길항제가 개발되었으며, 폐고혈압 치료에 있어 ETAR 길항제가 임상에서 사용되고 있다.⁷⁾

급성 신부전은 신기능의 급작스러운 감소를 보이거나 정상 신기능을 회복할 수 있는 가역적인 질병으로서 병태생리학으로 혈류역학적 요인과 신독성 물질에 의한 요인으로 구분될 수 있다.^{8,9)} 실험적으로 glycerol 투여나 허혈-재관류에 의한 급성 신부전은 전자의 예이며, metal 또는 aminoglycoside 항생제에 의한 급성 신부전은 후자의 예이다. 이러한 분류를 따른다면 혈류역학적 요인은 신장의 혈관계가 일차적으로 변화를 받는 반면 신독성 요인은 세뇨관이 일차적으로 손상을 입는다. 어느 경우이든 신장 손상은 신세동맥의 수축, 세뇨관의 Na 재흡수의 감소, 사구체 여과계수의 감소, 사구체 여과액의 backleak, 세뇨관 폐쇄 등으로 나타나며 종국적으로 사구체 여과율의 감소로 이어진다.^{10,11)}

Cisplatin은 고혈압 치료제로 널리 사용되고 있으나 신장 기능에 미치는 심각한 부작용 때문에 사용량의 제한을 받는다. 동물실험에서 얻은 결과에 의하면 투여한 cisplatin의 신장내 농도가 다른 장기에 비해 높으며 이러한 신장 내 cisplatin의 대부분은 피질에 존재한다. 그러나 cisplatin에 의한 급성 신부전은 조직학적으로 근위 세뇨관의 괴사가 주로 나타나며 사구체 형태는 비교적 정상적으로 유지되고 있다.¹²⁾ 기능적으로 다뇨, 저마그네슘혈증, 사구체여과

율과 신혈류량의 감소 등의 특징을 보이는데, 실험동물에서 이러한 급성 신부전의 특징은 cisplatin 투여 72 시간 후 가장 뚜렷하게 나타난다.^{13,14)}

Glycerol 투여 또는 허혈-재관류에 의한 급성 신부전의 경우 ETAR과 ETBR 수용체의 발현이 연구자에 따라 그리고 사용된 모델에 따라 감소 또는 증가 또는 변화가 없다.¹⁵⁻¹⁸⁾ 그럼에도 불구하고 ETAR 길항제를 투여하면 신기능이 회복된다.¹⁹⁻²¹⁾ 그러나 신독성 물질에 의한 급성 신부전 시 ETAR 길항제에 의해 신장의 손상이 완화되는지에 대해서는 전혀 연구된 바 없다. 따라서 본 연구에서는 cisplatin에 의한 신독성 급성 신부전 시 ETAR 길항제인 BQ123 투여에 의해 신장의 기능 장애 또는 조직학적 손상이 완화되는지를 조사하였다.

재료와 방법

실험동물과 약물투여

9-10주령의 C57BL/6 수컷 마우스 16마리(효창사이언스, 대구, 한국) 무작위로 생리식염수 투여군, cisplatin 투여군, cisplatin+BQ123 병용투여군으로 나누었다. Cisplatin (Sigma, St. Louis, MO, USA)은 생리식염수에 1 mg/ml의 농도로 녹인 후 16 mg/kg의 용량으로 일회 복강으로 투여했으며, BQ123 (American peptide, Vista, CA, USA)은 생리식염수에 녹여 24 mg/kg/day의 용량으로 cisplatin 투여 전날부터 총 4일간 매일 1회씩 복강으로 투여했다. 세 군에 투여된 생리식염수와 약물의 총부피는 일치하도록 조정했으며, 약물 투여 3일 후 마우스를 희생시켰다.

요분석

마우스를 이노상자(Techniplast®, Buguggiate, Italy)에 넣고 사료와 물을 자유롭게 먹도록 하였으며, 24시간 간격으로 채뇨한 다음 요량을 측정하였다. 요중 단백질은 Bio-Rad 시약(protein assay kit, Hercules, CA, USA)으로, creatinine은 Jaffe 반응시약(아산제약, 서울, 한국)으로, Na과 K 농도는 이온선택성 미세전극(Rapidlab®, 바이렐코리아, 서울, 한국)으로 측정했다.

일반염색과 면역조직화학

마우스를 ketamine (50 mg/kg)과 xylazine (10 mg/kg)이 혼합된 마취제를 복강내 투여하여 마취시킨 후 심장을 통해 생리식염수(pH 7.4)를 관류시켰다. PLP고정액 (2% paraformaldehyde, 75 mM lysine, 10 mM sodium periodate, PBS, pH 7.4) 20 mL을 2~3 분간에 걸쳐 관류시켰다. 신장을 적출한 후 한쪽 신장은 10% buffered formalin용액에 고정한 다음 periodic acid-schiff (PAS)염색을 시행하였고, 다른 한쪽 신장은 PLP고정액에 수시간 방치하여 후고정시키고 다시 20% sucrose 완충용액에 담가 밤새 침윤시킨 다음 세 군의 조직을 하나의 paraffin 포매패에 포함되도록 만들어 이후 과정에서 보일 수 있는 오차를 최소한으로 줄였다. 이 포매패를 5 um 두께로 박절하여 probe-on slide (Fisher Scientific Korea, 서울, 한국)에 부착시키고 56℃에서 6시간 이상 건조한 후 xylene으로 탈파라핀시키고 고농도에서 저농도의 에탄올을 사용하여 탈수시켰다. 조직내 내인성 H₂O₂의 작용을 억제하기 위해 3% H₂O₂를 6분간 처리하고 잔여액을 immunoassay buffer (Biomeda, Foster City, CA, USA)으로 씻어낸 다음 비특이적 결합을 방지하기 위하여 blocking buffer (Zymed, South San Francisco, CA, USA)로 15분간 반응시켰다. ET-1에 대한 1차항체(Sigma)를 1 : 20로 희석하여 실온에서 90분간 반응시켰고, 2차항체는 1 : 100으로 희석하여 25분간 반응시켰다. 발색은 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC)를 사용했으며 대조염색은 Mayer's hematoxylin을 사용했다.

Real time RT-PCR

Trizol 용액 (Invitrogen, Calsbad, CA, USA)을 이용하여 신피질 20-30 mg으로부터 RNA를 분리했으며 DNase (Ambion, Austin, TX, USA)로 오염된 DNA를 제거하여 RNA순도를 높였다. 260/280 nm에서 각각 RNA의 흡광도를 측정하여 순도를 확인하고 RNA 농도를 계산했다. RNA 2 ug을 random hexamer를 사용하여 역전사(reverse transcription)시켜 cDNA을 합성했는데 이를 위해 SuperScript II first-strand synthesis system (Invitrogen)을 사용하여 제조사의 지시대로

시행했다. Real time RT-PCR은 Lightcycler® (Roche, CA, USA)을 이용하여 Taq polymerase와 기타 필요한 시약이 모두 함유된 2x SYBR Green 시약(타카라바이오메디칼코리아, 서울, 한국)을 사용했다. PCR 주기는 denaturation : 95℃에서 5초, annealing : 61℃에서 15초, extension : 72℃에서 10초, fluorescence detection : 78℃에서 1초로 설정했다. primer의 염기서열은 다음과 같다. β -actin : forward 5'-GACGGCCAGGTCATCACTAT-3', reverse 5'-CTTCTGCATCCTGTCAGCAA-3', ET-1 : forward 5'-CTGCTGTTTCGTGACTTTCCA-3', reverse 5'-GGAAGAACCTCCCAGTCCAT-3', ETAR : forward 5'-TCGAGAAGTGGCAAAGACTG-3', reverse 5'-AGAGCTATTGGGTTTATGCAAGA-3'

PCR이 끝난 후 각 유전자의 mRNA의 상대적 발현비(R)는 delta-delta 방법으로 계산했다. 예를 들면 식염수 투여군에 대한 cisplatin 투여군의 ET-1발현비를 계산하기 위해서는 다음과 같은 식을 이용했다. $R = \frac{(cisplatin/saline)_{ET-1}}{(saline-cisplatin)_{ET-1}} = 2^{\Delta CT_{ET-1} - \Delta CT_{\beta-actin}}$. 여기서 ΔCT 는 threshold cycle의 차이를 의미한다.

통계처리

모든 자료는 평균 $\pm$ 표준편차로 표기했다. SPSS (version 12.0)를 이용하여 세 군 이상의 비교에는 one-way ANOVA를 시행했으며 사후검정으로 Dunnett 검정을 실시했다. 두 군간의 비교를 위해 양측검정을 통한 unpaired t-test를 실시했으며, P값이 0.05이하일 때 통계적으로 유의한 차이가 있는 것으로 판정했다.

결 과

BQ123 투여에 의한 신기능의 변화

그림 1은 식염수 투여군, cisplatin 투여군 그리고 cisplatin+BQ123 병용투여군에서 체중변화를 나타낸 것이다. 약물 투여 전에는 세 군간에 체중의 차이를 보이지 않았으나 약물 투여 3일 후 식염수 투여군에 비해 cisplatin 투여군과 cisplatin+BQ123 병용투여군의

Table 1. Changes in renal functional parameters after vehicle (saline), cisplatin or cisplatin+BQ123 treatment

	Saline	Cisplatin	Cisplatin+BQ123
Ccr (ul/min)	29.0±9.0	20.3±7.4	17.8±6.7
Protein excretion (mg/day)	3.76±0.62	2.54±0.56	2.04±0.36
Na excretion (umol/hr)	105±5	95±12	108±9
K excretion (umol/hr)	256±23	223±15	217±21

Saline or cisplatin (16 mg/kg/day) was injected at day 1 and BQ123 (24 mg/kg/day) from day 1 to 3 once a day. Renal function was measured 3 days after treatment in each group. Data are mean $\pm$ SD of four mice in each group. Ccr : creatinine clearance

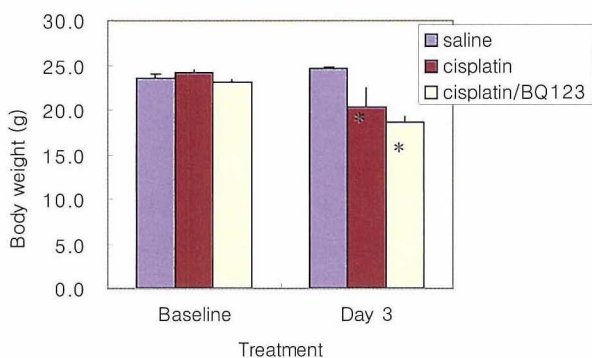


Fig. 1. Changes in body weight after vehicle (saline), cisplatin or cisplatin+BQ123 treatment. Saline or cisplatin (16 mg/kg/day) was injected at day 1 and BQ123 (24 mg/kg/day) from day 1 to 3 once a day. Data are mean $\pm$ SD of four mice in each group. *, significantly different ($p < 0.05$) from the matched saline group.

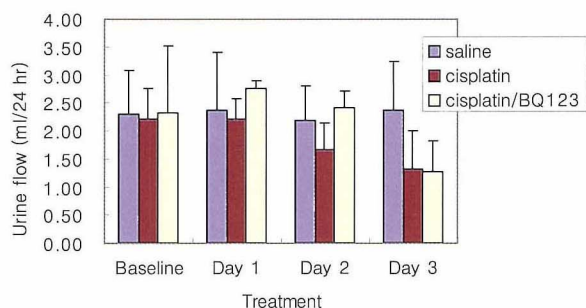


Fig. 2. Effect of vehicle (saline), cisplatin or cisplatin+BQ123 treatment on urine flow. Saline or cisplatin (16 mg/kg/day) was injected at day 1 and BQ123 (24 mg/kg/day) from day 1 to 3 once a day. Data are mean $\pm$ SD of four mice in each group.

체중이 감소했다 ($p < 0.01$). 그러나 cisplatin 투여군과 cisplatin+BQ123 투여군 사이의 체중 차이는 통계적

으로 유의하지 않았다 ($p < 0.18$). 그림 2는 요량의 변화를 약물투여 3일간에 걸쳐 나타낸 것이다. 요량은 세 군 모두 약물투여 2일까지 변화가 없었으며, 3일 후 식염수 투여군에 비해 cisplatin 투여군과 cisplatin+BQ123 병용투여군에서 요량이 감소했지만 통계적 유의성은 발견되지 않았다 ($p < 0.11$). 뿐만 아니라 이러한 요량 감소는 BQ123 투여에 의해서 개선되지 않았다. 표 1은 약물 투여 3일 후 신기능을 분석한 것이다. 식염수 투여군에 비해 cisplatin 투여군의 creatinine 제거율과 요중 단백질, Na, K 등의 배설이 감소하는 경향을 보였으며, BQ123의 투여에 의해서도 이 같은 감소는 변화되지 않았다.

BQ123 투여에 의한 신장의 조직학적 변화

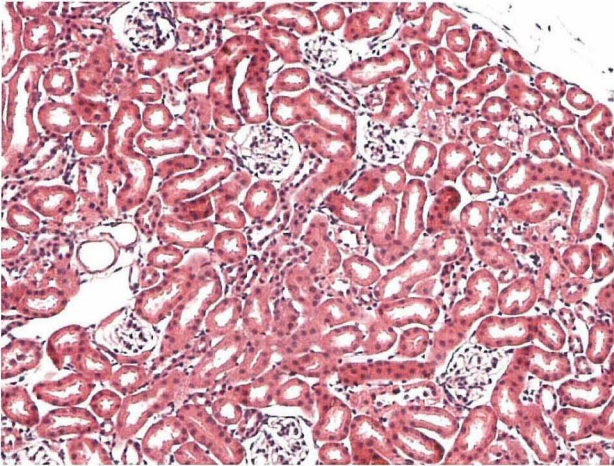
그림 3은 PLP 고정액으로 신장을 관류시킨 다음 PAS 염색을 통해 cisplatin 투여에 의한 조직학적 변화가 BQ123의 투여로 개선되는지를 신피질에서 관찰한 것이다. cisplatin 투여 시 사구체와 소혈관의 조직학적 손상은 관찰되지 않았으며 염증세포의 침윤 또한 뚜렷하게 발견되지 않았다. 그러나 몇 군데의 근위세뇨관의 괴사가 발견되었는데, 이로 미루어 cisplatin 신독성은 경미하게 유도되었을 것으로 추측된다. 기대와 달리 cisplatin과 BQ123을 병용 투여한 경우 괴사된 근위세뇨관의 숫자가 증가되는 경향을 보였다.

BQ123 투여에 의한 ET-1과 ETAR의 변화

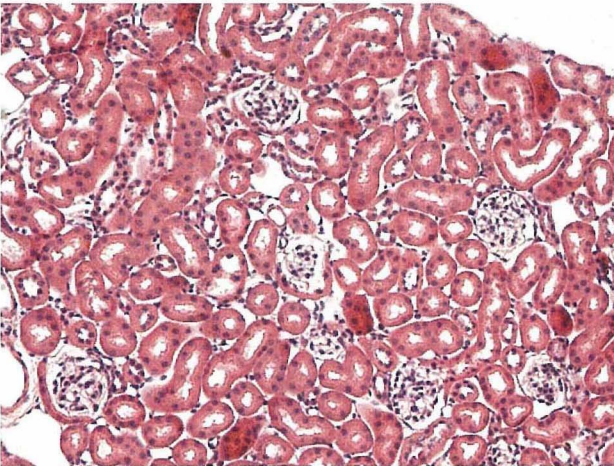
그림 4는 cisplatin 투여군과 cisplatin+BQ123 병용 투여군에서 ET-1 mRNA와 ETAR mRNA의 발현을 real-time RT-PCR로 측정하여 도시한 것이다. cisplatin 투여군의 ET-1 mRNA 발현이 식염수 투여군에 비해

Cisplatin에 의한 마우스의 급성 신부전 완화에 대한 Endothelin A 수용체의 차단 효과

• Saline



• Cisplatin



• Cisplatin+BQ123

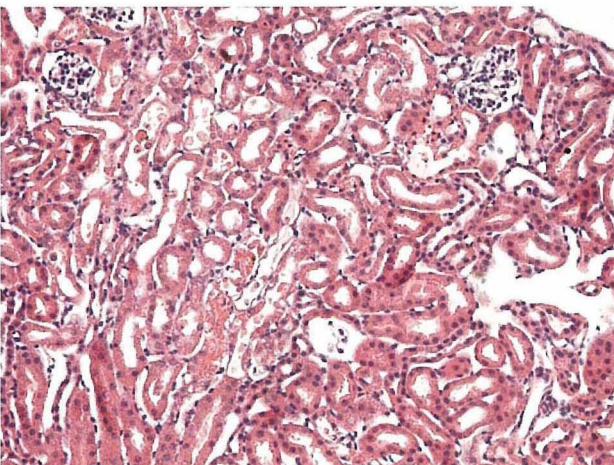


Fig. 3. PAS-stained photomicrographs of the kidney cortex. Renal sections were prepared 3 days after treatment.

Cisplatin group showed necrosis of several proximal tubules, but no prominent tubular dilation and degeneration. The number of necrotic and degenerated tubules increased in cisplatin + BQ123 group. Magnification, x200.

6배 이상 증가되었으며, ETAR mRNA 발현은 2배 이상 증가되었다. cisplatin+BQ123 병용 투여군의 경우 cisplatin 투여군에서 증가되었던 ET-1 mRNA 발현은 변하지 않은 반면 ETAR mRNA 발현은 식염수 투여군의 수준을 보였다. 그림 5는 면역조직화학법으로 ET-1 peptide의 분포와 발현을 조사한 것이다. ET-1은 세 군 모두 세뇨관세포에 집중적으로 발현되는 경향을 보였으며, 식염수 투여군보다 cisplatin 투여군과 cisplatin+BQ123 병용 투여군에서 ET-1 발현이 증가되었지만 후자의 두 군에서 ET-1 발현은 정성적으로 차이가 없었다.

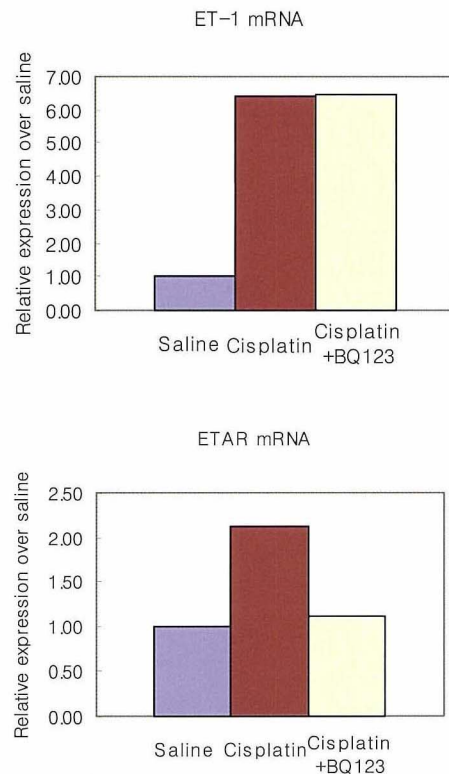
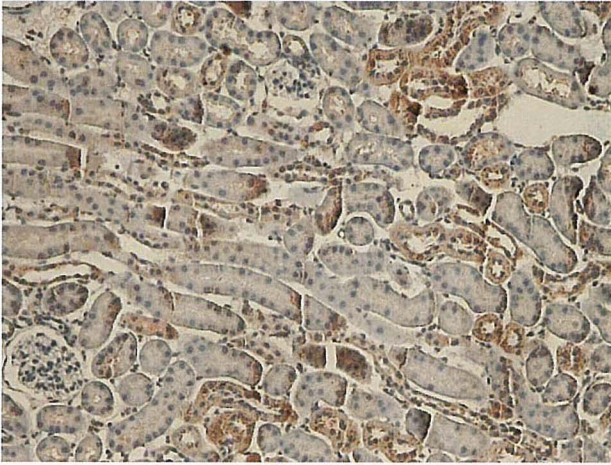
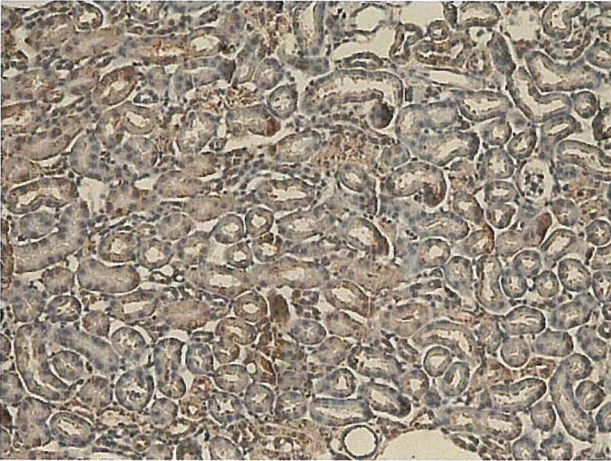


Fig. 4. Expression of ET-1 and ETAR mRNA after vehicle (saline), cisplatin or cisplatin+BQ123 treatment. Relative expression of ET-1 and ETAR mRNA was calculated after real time RT-PCR was performed. RNA was pooled from two mice of each group. Bars represent mean of duplicate measurements.

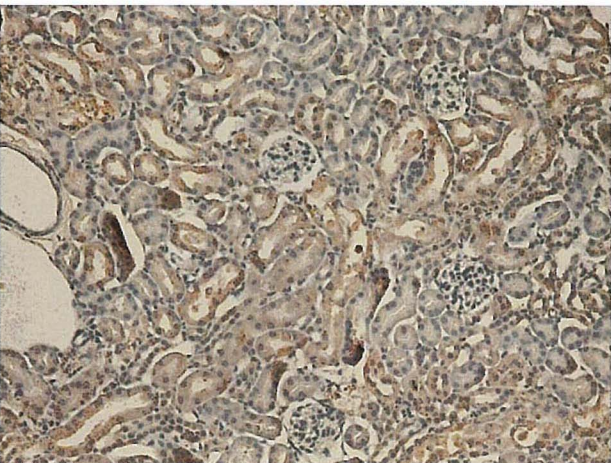
• Saline



• Cisplatin



• Cisplatin+BQ123



treatment. Immunoreactive ET-1 was mainly localized within tubular epithelium in all three groups and its immunoreactivity was moderately enhanced in both the cisplatin group and the cisplatin+BQ123 group. ET-1 immunoreactivity of the cisplatin group seemed little different from that of the cisplatin+BQ123 group but necrotic tubules of the cisplatin+BQ123 group showed stronger background activity than normal tubules. Magnification, x200.

고 찰

Cisplatin에 의한 신독성 급성 신부전의 모델을 이용한 본 연구에서 허혈성 급성 신부전 모델에서 신장에 대한 보호효과가 있는 것으로 밝혀진 ETAR 길항제의 한 종류인 BQ123를 사용하였다. 그러나 기대와 달리 신장의 기능장애 또는 조직학적 손상의 완화가 관찰되지 않았다.

본 연구에서 cisplatin에 의한 급성 신부전을 유도하기 위해 cisplatin의 LD50에 해당하는 16 mg/kg/day의 용량을 투여했는데,²²⁾ 그럼에도 불구하고 cisplatin 투여군의 사구체여과율(creatinine 제거율)이 식염수 투여군(대조군)의 70%이었고, 근위세뇨관의 괴사가 드물게 발생된 점으로 미루어 급성 신부전이 경미하게 일어났을 것으로 추정된다. 일반적으로 쥐나 마우스에 cisplatin을 투여하고 급성 신부전이 최고조에 도달하는 3-4일 후 요량이 증가하나¹⁴⁾ 본 연구에서는 요량이 오히려 감소되는 경향을 보였는데 (그림 2), 이는 신부전은 경미하게 진행된 반면 먹이와 물의 섭취량의 감소로 인한 체중 감소가 현저했기 때문일 것으로 여겨진다 (그림 1). BQ123 처치에 의한 신기능의 변화를 조사한 바, 신기능을 평가하는 제일의 척도로서 creatinine 제거율이 cisplatin 투여군과 cisplatin+BQ123 병용투여군 사이에 차이가 없었을 뿐만 아니라 Na, K, 단백 배설 등도 개선되지 않았다 (표 1). Cisplatin 투여군에서 관찰된 근위세뇨관의 괴사와 같은 조직학적인 손상도 cisplatin+BQ123 병용투여군에서 완화되지 않았으며 오히려 괴사 범위가 증가되는 경향을 보였다. 그러나 본 연구와 달리 허혈성 급성신부전 모델에서 BQ123의 투여에 의해

Fig. 5. Immunohistochemical staining of ET-1 in renal cortical regions. Renal sections were prepared 3 days after

사구체여과율을 비롯한 여러가지 신기능과 조직학적 손상이 부분적으로 개선된다.¹⁸⁻²⁰⁾ 따라서 허혈성 급성 신부전과 cisplatin에 의한 신독성 급성 신부전에서 BQ123의 신장 보호효과의 차이가 발생하는 이유는 현재로서는 분명하지 않다. 먼저 BQ123의 투여 용량의 차이가 이처럼 상이한 결과를 초래할 가능성이 있다. 왜냐하면 본 연구에서 BQ123 투여량은 24 mg/kg/day로서 Kuro 등이¹⁹⁾ 허혈성 모델에서 ETAR 길항제로 사용한 ABT-627 10 mg/kg/day 용량보다 2배 이상 높지만, in vitro에서 ETAR에 대한 BQ123의 IC50 농도가 7.6 nM인데 비해 ABT-627은 0.055 nM로써 100배 이상 높기 때문에²³⁾ BQ123의 유효 혈장 농도는 실제로 낮았는지도 모른다. 또한 BQ123의 반감기가 짧아 4일간 투여에 의해서 ETAR를 충분히 억제할 수 있을 정도로 BQ123의 혈중 농도가 높지 않았을 가능성도 배제할 수 없다.

본 연구에서 cisplatin 투여에 의해 신장 조직의 ET-1 mRNA와 근위세뇨관 세포 내 ET-1 펩타이드의 발현이 식염수 투여군보다 높았는데(그림 4와 5), HgCl₂에 의한 급성 신부전 시에도 신장 내 ET-1 mRNA 발현이 증가되어 있다.²⁴⁾ 따라서 cisplatin에 의한 혈관내피세포나 세뇨관세포의 직접적인 손상으로 ET-1이 증가 되고 이것이 신장의 기능과 조직학적 변화를 경미하게 일으켰는지 아니면 cisplatin 신독성을 완화시키기 위해 재생과정이 활성화되는 수단으로 ET-1이 증가되었는지는 본 연구의 결과만으로 구분하기 어렵다. 왜냐하면 ET-1이 세뇨관 상피세포에 미치는 생리학적 효과가 다방면으로 전개되는 바 즉, ET-1에 의해 활성화된 Ca 이온통로, phospholipase, nitric oxide synthase 등 다양한 신호전달 체계의 상호작용에 의해 비롯되고,²⁵⁾ 이런 요소들의 대부분이 급성 신부전의 병인 뿐만 아니라 재생과정에도 관련되어 있기 때문이다. 실제로 고혈압, cyclosporin 에 의한 만성 신독성, 신이식후 급성 신부전 모델동물 등에서 ETAR 길항제의 효과가 보고되고 있으나²⁶⁻²⁹⁾ 그 효과가 병인경로의 억제 때문인지 아니면 재생기전의 활성화 때문인지는 명확하지 않다. 어느 경우이든 ET-1은 ETAR (또는 ETBR)을 통해 작용할 것이므로 BQ123의 투여에 의해 ETAR 발현이 감소한

것으로 미루어 (그림 4) 신장에 대한 효과가 나타나야 할 것이다. 그러나 본 연구에서 cisplatin 신독성 시 BQ123의 투여는 신장을 보호하는 효과보다 오히려 악화시키는 작용이 나타나는 경향을 보였는데(그림 3) 그 원인에 대해서는 추후 자세한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

결론적으로 cisplatin과 같은 신독성 물질에 의한 급성 신부전의 경우 허혈성 급성 신부전과 달리 ETAR 길항제인 BQ123의 투여에 의해 신장의 기능장애와 조직학적 손상이 완화되지 않을 것으로 사료된다.

참고문헌

1. Simonson MS : Endothelins : multifunctional renal peptides. *Physiol Rev* 73 : 375-411, 1993
2. Kohan DE : Endothelins in the normal and diseased kidney. *Am J Kidney Dis* 29 : 2-26, 1997
3. Nelson J, Bagnato A, Battistini B, Nisen P : The endothelin axis : emerging role in cancer. *Nat Rev Cancer* 3 : 110-116, 2003
4. Herrmann E, Bogemann M, Bierer S, Eltze E, Hertle L, Wulfig C : The endothelin axis in urologic tumors : mechanisms of tumor biology and therapeutic implications. *Expert Rev Anticancer Ther* 6 : 73-81, 2006
5. Miyauchi T, Masaki T : Pathophysiology of endothelin in the cardiovascular system. *Annu Rev Physiol* 61 : 391-415, 1999
6. Yin JJ, Mohammad KS, Kakonen SM, Harris S, Wu-Wong JR, Wessale JL, Padley RJ, Garrett IR, Chirgwin JM, Guise TA : A causal role for endothelin-1 in the pathogenesis of osteoblastic bone metastases. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100 : 10954-10959, 2003
7. Kirchengast M, Luz M : Endothelin receptor antagonists : clinical realities and future directions. *J Cardiovasc Pharmacol* 45 : 182-191, 2005
8. Stein JH : Acute renal failure. Lessons from pathophysiology. *West J Med* 156 : 176-182, 1992
9. Stein JH, Lifschitz MD, Barnes LD : Current concepts on the pathophysiology of acute renal failure. *Am J Physiol* 234 : F171-181, 1978
10. Schellmann RG KK : Pathophysiology of nephrotoxic acute

- renal failure, ed, Philadelphia, Current Medicine, 1999, 15.12-15.14
11. Sheridan AM, Bonventre JV : Pathophysiology of ischemic acute renal failure. *Contrib Nephrol* : 7-21, 2001
12. Fillastre JP, Raguenez-Viotte G : Cisplatin nephrotoxicity. *Toxicol Lett* 46 : 163-175, 1989
13. Ramesh G, Reeves WB : TNF-alpha mediates chemokine and cytokine expression and renal injury in cisplatin nephrotoxicity. *J Clin Invest* 110 : 835-842, 2002
14. Safirstein R, Winston J, Goldstein M, Moel D, Dikman S, Guttenplan J : Cisplatin nephrotoxicity. *Am J Kidney Dis* 8 : 356-367, 1986
15. Forbes JM, Jandeleit-Dahm K, Allen TJ, Hewitson TD, Becker GJ, Jones CL : Endothelin and endothelin A/B receptors are increased after ischaemic acute renal failure. *Exp Nephrol* 9 : 309-316, 2001
16. Nambi P, Pullen M, Jugus M, Gellai M : Rat kidney endothelin receptors in ischemia-induced acute renal failure. *J Pharmacol Exp Ther* 264 : 345-348, 1993
17. Roubert P, Cornet S, Plas P, Guilnard C, Pirotzky E, Chabrier PE, Braquet P : Upregulation of renal endothelin receptors in glycerol-induced acute renal failure in the rat. *J Cardiovasc Pharmacol* 22 Suppl 8 : S303-305, 1993
18. Shimizu T, Kuroda T, Ikeda M, Hata S, Fujimoto M : Potential contribution of endothelin to renal abnormalities in glycerol-induced acute renal failure in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 286 : 977-983, 1998
19. Birck R, Knoll T, Braun C, Kirchengast M, Munter K, van der Woude FJ, Rohmeiss P : Improvement of postischemic acute renal failure with the novel orally active endothelin-A receptor antagonist LU 135252 in the rat. *J Cardiovasc Pharmacol* 32 : 80-86, 1998
20. Kuro T, Kohnou K, Kobayashi Y, Takaoka M, Opgenorth TJ, Wessale JL, Matsumura Y : Selective antagonism of the ETA receptor, but not the ETB receptor, is protective against ischemic acute renal failure in rats. *Jpn J Pharmacol* 82 : 307-316, 2000
21. Mino N, Kobayashi M, Nakajima A, Amano H, Shimamoto K, Ishikawa K, Watanabe K, Nishikibe M, Yano M, Ikemoto F : Protective effect of a selective endothelin receptor antagonist, BQ-123, in ischemic acute renal failure in rats. *Eur J Pharmacol* 221 : 77-83, 1992
22. Townsend DM HM : Inhibition of gamma-glutamyl transpeptidase or cysteine S-conjugate beta-lyase activity blocks the nephrotoxicity of cisplatin in mice. *J Pharmacol Exp Ther* 300 : 142-148, 2002
23. Wu-Wong JR : Using receptor antagonists in binding studies to characterize endothelin receptor, ed, Totawa, Human Press, 2002, 71-91
24. Yanagisawa H, Nodera M, Umemori Y, Shimoguchi Y, Wada O : Role of angiotensin II, endothelin-1, and nitric oxide in HgCl₂-induced acute renal failure. *Toxicol Appl Pharmacol* 152 : 315-326, 1998
25. Gellai M, Jugus M, Fletcher T, DeWolf R, Nambi P : Reversal of postischemic acute renal failure with a selective endothelinA receptor antagonist in the rat. *J Clin Invest* 93 : 900-906, 1994
26. Abassi ZA, Ellahham S, Winaver J, Hoffman A : The intrarenal endothelin system and hypertension. *News Physiol Sci* 16 : 152-156, 2001
27. Gottmann U, van der Woude FJ, Braun C : Endothelin receptor antagonists : a new therapeutic option for improving the outcome after solid organ transplantation? *Curr Vasc Pharmacol* 1 : 281-299, 2003
28. Braun C, Vetter S, Conzelmann T, Schaub M, Kirchengast M, van der Woude FJ, Rohmeiss P : Improved recovery following posttransplant acute renal failure in rat renal isografts with an oral endothelin-A receptor antagonist. *Exp Nephrol* 8 : 283-290, 2000
29. Bartholomeusz B, Hardy KJ, Nelson AS, Phillips PA : Bosentan ameliorates cyclosporin A-induced hypertension in rats and primates. *Hypertension* 27 : 1341-1345, 1996.