순환기 질환에서 엔도텔린-1의 병태생리학적 의미와 엔도텔린 길항제의 임상적 유용성

경상대학교 의과대학 내과학교실 및 심혈관연구소
서봉관 · 최동주 · 황진용

Pathophysiological Role of Endothelin-1 and Clinical Usefulness of Endothelin Antagonists

Bonggwan Seo, MD, PhD, Dong-Ju Choi, MD and Jin-Yong Hwang, MD

Department of Internal Medicine and Cardiovascular Research Institute, College of Medicine, Gyeongsang National University, Chinju, Korea

엔도텔린(endothelin ; ET)의 구조와 생합성

ET - 1은 주로 혈관내피세포에서 생성되는 21개의 아미노산으로 이루어진 펩티드이다. ET - 1은 강력하고도 지속적인 혈관수축작용을 가지고 있기 때문에 금년 4월 현재 Medline에 8,500편 이상의 논문이 등재되어 있을 정도로 많은 연구자들의 관심을 집중시켰다. ET - 1의 최초 발견은 Yanagisawa 등에 의해 돼지 대동맥 내피세포 배양시의 상층액으로부터 이루어졌다.[1] 이 때 분리된 것이 ET - 1인데 유전자 분석 결과 두 가지 isoform(ET - 2 및 ET - 3)이 더 있음이 알려졌다(Fig. 1).[2] 혈관계에 존재하는 것은 강력한 혈관수축작용이 있는 ET - 1이므로 대부분의 연구는 ET - 1에 대해서 이루어졌으며 ET - 2와 ET - 3의 기능은 아직 불분명하다. 또한 sarafotoxin이라고 하는 사독(蛇毒)이 ET와 유사한 구조를 갖는데 ET 수용체와 동일한 수용체에 결합하므로 같은 계열의 펩티드로 간주된다.[3] Sarafotoxin에는 4가지 isoform(sarafotoxin S6a, b, c, d)이 있으며 그 중 sarafotoxin S6c가 ET - B agonist로서 ET 수용체의 연구에 많이 이용된다.

ET - 1은 혈관평활근 세포에서도 생성되나[4] 주된 생합성은 혈관내피세포 내에서 일어난다.[1] ET - 1의 생성은 thrombin, angiotensin II, vasopressin, transforming growth factor β, tumor necrosis factor α, hypoxia 및 oxidized LDL 등에 의해서 촉진되며 endothelium - derived relaxing factor(EDRF 즉 nitric oxide)에 의해서는 억제된다.[5] 또한 생리적 자극이라고 할 수 있는 shear stress(혈액이 진행하는 방향으로 혈관벽을 밀치는 힘)는 자극의 강도가 약할 때는 ET - 1의 생성을 촉진하나 클 때는 억제한다.[6][7] 유전자 전사 후 처음 생기는 것은 212개의 아미노산으로 구성된 preproET - 1인데 효소의 작용으로 38개의 아미노산으로 이루어진 big ET - 1이 생성된다.[1] Big ET - 1은 ET변환효소(endothelin converting enzyme ; ECE)의 작용으로 C - terminal의 아미노산[22 - 38]이 떨어져 나감으로써 최종산물인 ET - 1이 생성된다(Fig. 2). ECE는 최근에야 cDNA cloning이 이루어진 바 현재까지 ECE - 1[8][9]과 ECE - 2[10]의 두 가지가 발

교신저자 : 서봉관, 660 - 751 경남 진주시 칠암동 92
경상대학교 의과대학 내과학교실
전화 : (0591) 50 - 8065 · 전송 : (0591) 758 - 9122
E - mail: bgseo@nongae.gsnu.ac.kr

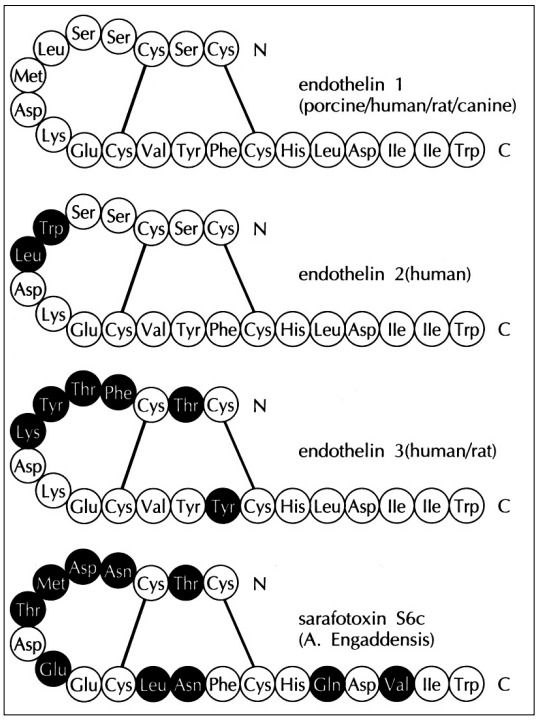

Fig. 1. Structure of endothelin/sarafotoxin peptides.

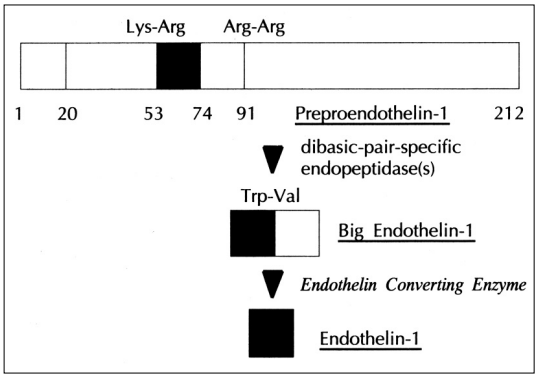

Fig. 2. Biosynthesis of endothelin-1 from its precursor.

견되었다. 두 효소는 주로 big ET - 1을 ET - 1으로 변환시키며 ET - 2와 ET - 3의 생성은 미약하다. 따라서 big ET - 2와 big ET - 3를 ET - 2와 ET - 3로 변환시키는 효소는 따로 있다고 생각되고 있다. ECE - 1과 ECE - 2는 효소 활성을 위한 최적의 pH와 조직분포 등에 차이가 있다. 즉, ECE - 1은 pH가 중성일 때 그리고 ECE - 2는 산성일 때 가장 활성이 강하다.[10] 또한 ECE - 1은 혈관계에 고르게 분포하나 ECE - 2는 neuron이나 glial cell에 주로 분포한다.[10] 따라서 체내 특히 혈관계의 ET - 1 생성은 대부분 ECE - 1의 작용에 의하여 생긴다고 생각된다.

ET 수용체가 ECE보다 먼저 cloning됨으로써 ET 수용체 길항제의 개발은 신속히 이루어진 반면 ECE 억제제는 아직도 개발이 미진한 상태이다. ECE는 phosphoramidon이라고 하는 metalloprotease 억제제로 활성이 억제된다.[5] 그러나 phosphoramidon은 ECE 억제 작용이 약하며 경구 투여도 불가능하므로 실험 동물에게만 사용되었다. 그러나, 최근 새로운 ECE 억제제의 개발도 점차 이루어지고 있으므로[11][12] ET 수용체 길항제와 함께 새로운 순환기 약제로 등장할 것으로 기대된다.

엔도텔린 수용체와 신호전달 과정

ET - 1은 특이 수용체에 결합하여 혈관 반응을 야기한다. ET계 펩티드가 결합하는 수용체는 포유류에서는 두 가지 즉, ET - A와 ET - B가 존재한다[13][14]. ET - A 수용체는 혈관평활근에 분포하며 ET - 1에 의한 혈관수축을 매개한다. 반면 ET - B 수용체는 혈관내피세포에 존재하며 ET - 1이 이와 결합하면 nitric oxide나 prostacyclin이 분비되어 혈관이완을 야기한다.[15] 따라서, 이론적으로 ET - 1은 혈관확장 혹은 혈관수축 모두 일으킬 수 있으며 이는 in vivo 실험으로도 입증되어 있다. 즉, ET - 1을 정맥 주사하면 일시적으로 혈압이 하강했다가 점차 상승, 고혈압 상태로 오래 지속되는 것을 관찰할 수 있는데 전자는 내피세포의 ET - B 수용체 때문에 그리고 후자는 평활근 ET - A 수용체 때문이다.[5] 그러나, 최근 평활근에도 ET - B 수용체가 존재하며 혈관수축을 매개할 수 있음이 밝혀졌다.[16] 이는 사람의 혈관에서도 입증된 바 있다.[17] 따라서, 혈관에 존재하는 ET 수용체는 평활근의 ET - A와 ET - B, 그리고 내피세포의 ET - B 수용체로 구분된다(Fig. 3). 대부분의 혈관에서 수축을 매개하는 주된 수용체는 ET - A이기는 하나 정맥과 소동맥에서는 평활근 ET - B 수용체도 비교적 중요한 역할을 한다고 생각되고 있다.

ET 수용체는 종류에 따라 ET계 펩티드에 대한 친화도(affinity)가 다르다. ET - A 수용체는 ET - 1에 친화도가 강하나 ET - 3와 sarafotoxin S6c에는 약하다.[13] 그러나, ET - B 수용체는 ET - 1, ET - 3, sarafotoxin S6c등에 거의 동등한 친화도를 가진다.[14] ET - A, ET - B 수용체는 모두 7개의 transmembrane do -

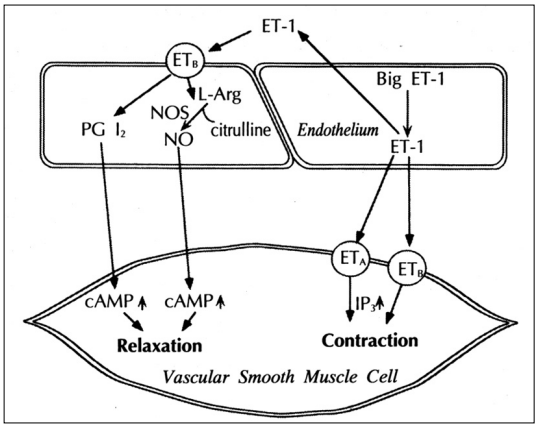

Fig. 3. Endothelin receptor subtypes in vascular endothelium and smooth muscle cell. Abbreviations : NO : nitric oxide ; NOS : nitric oxide synthase ; PG : prostaglandin ; ET : endothelin ; ECE : endothelin converting enzyme

main을 가진 G - protein coupled receptor[18]이다.

ET 수용체의 세포 내 신호전달 과정은 복잡한 편이나 혈관수축은 PLC(phospholipase C)의 활성화로 IP 3와 diacylglycerol(DAG)이 증가되기 때문이라고 생각되고 있다.[19][20] 즉, IP 3의 증가는 평활근 세포 내 근질세망(sarcoplasmic reticulum)으로부터 Ca^{2+}을 유리시키며, DAG의 증가로 인한 PKC(protein kinase C)의 활성화는 세포막 calcium channel의 인산화에 따른 개방으로 세포외 calcium의 유입도 초래함으로써 세포내 calcium ion농도가 증가되기 때문에 혈관수축이 일어나는 것으로 알려져 있다. PKC의 활성화는 ET - 1의 세포분열촉진작용에도 관여한다.

ET-1의 약리학적 작용

ET - 1은 수많은 약리작용을 가지고 있다. 그러나 순환기 부문에 중요한 것은 혈관평활근 수축작용(vasoconstrictor action)과 평활근 세포분열촉진작용(mitogenic action) 등이라고 할 수 있다. ET - 1의 혈관수축작용은 angiotensin II를 위시한 기존의 어떠한 물질보다도 강하다. 또한 ET - 1은 배양 평활근세포분열을 촉진시키며 심근세포에 대한 비후효과(hypertrophic effect)도 있다.[21][22]. 이와 같은 작용들은 ET - 1이 죽상경화 병변의 생성이나 관상동맥 풍선확장술(PTCA) 이후의 재협착 등에도 관여하리라는 이론적 근거를 제공한다.

최근에 알려진 ET의 또다른 중요한 작용은 발생(embryogenesis)에도 관여한다는 점이다. ET - 1 유전자를 knockout시킨 homozygote생쥐는 심혈관계와 턱과 목, 기도 등의 비정상적인 발달로 인해 생후 즉시 호흡부전으로 사망한다고 알려졌다.[23] 또한 ET - 3와 ET - B 수용체를 knockout시킨 생쥐는 melanocyte와 enteric neuron의 비정상적인 발달로 피부색의 이상과 거대결장을 야기하므로 ET - 3/ET - B수용체 이상이 선천성 거대결장(Hirschsprung씨병)의 발병에 중요한 역할을 한다는 사실도 밝혀졌다.[24] 한 가지 예상하지 못한 흥미로운 발견은 ET - 1 유전자를 knockout 시킨 heterozygote 생쥐의 혈중 ET - 1농도는 정상보다 낮았으나 혈압은 오히려 높았다는 점이다. 이러한 사실은 ET - 1이 고혈압의 발병에 관여할 지도 모른다는 가설을 부정하는 것이라고도 볼 수 있겠으나 knockout 생쥐의 호흡곤란과 그로 인한 저산소증때문에 교감신경 활성도가 증가되어 이차적으로 혈압이 상승하였을 가능성도 있다. 따라서, ET - 1이 고혈압과 무관하다는 결론을 내리기에 충분하지는 않다고 생각되고 있다.

ET-1의 병태생리학적 역할

순환기질환에서 ET - 1이 병태생리학적 역할을 하는지는[1] 혈중 ET - 1치가 정상보다 증가하거나[2] 외부에서 투여한 ET - 1에 대한 혈관수축성이 증가하거나[3] ET - 1의 작용을 억제하는 약제의 효과가 있는지 봄으로써 의심할 수 있다. 그러나, 가장 확실한 근거는 마지막 방법인 ET - 1 억제제의 효과라고 할 수 있다. ET 억제제로는 ET - 1에 대한 단일클론항체, ECE 억제제, ET 수용체 길항제 등을 들 수 있는데 그 중 ET 길항제의 효과를 본 연구가 가장 많다. 지금까지의 연구결과를 토대로 ET - 1이 관여하리라 생각되는 주요 순환기 질환들을 나열해 보면 심부전, 고혈압, 급성심근경색증, 폐동맥 고혈압, 죽상경화와 풍선확장술 후의 혈관 재협착, 지주막하 출혈 후의 뇌동맥 경련 등이 있다.

심부전

심부전의 임상적 양상은 교감신경과 여러 가지 내분비 계통, 특히 renin - angiotensin계의 지나친 활성화로 야기되며 따라서 angiotensin 변환효소억제제가 증상 완화나 장기 생존에 가장 유효한 약제로 인정되고

있다. 그러나, 최근의 연구결과에 따르면 ET-1도 심부전의 병태생리에 관여한다고 생각된다. 즉, 심부전 환자의 혈중 ET-1 농도는 정상보다 상승하며[25-28] 혈중 big ET-1치가 높은 심부전 환자의 예후는 낮은 경우에 비해 좋지 않다.[29] 그러나, 더 확실한 근거로서 ET 길항제의 효과를 들 수가 있다. 예를 들면 ET-A/ET-B 길항제인 bosentan이 심부전 백서에서 동맥계 저항을 감소시키며 이는 ACE 억제제인 cilazapril과 함께 투여할 때 상승효과가 있다고 하는 보고가 있다.[30] 더 흥미로운 것은 심부전 환자에게 bosentan을 정맥 투여할 때 폐혈관-말초혈관저항의 유의한 감소와 심박출계수의 증가 등을 관찰할 수 있다고 한다.[31] 또한 이미 ACE 억제제를 사용 중인 심부전 환자의 상완혈류(forearm blood flow)가 BQ-123(ET-A 길항제)와 phosphoramidon(ECE 억제제)에 의해서 증가한다는 보고도 있는데 이는 ET길항제와 ECE억제제가 ACE 억제제 투여에도 불구하고 증상 조절이 힘든 중증 심부전 환자에게 도움이 될 가능성을 시사한다.[32] 따라서 ET 길항제는 새로운 심부전 치료제로 등장할 가능성이 크리라 기대된다.

고혈압

고혈압에서의 ET-1의 역할에 대하여 그동안 많은 연구에도 불구하고 뚜렷한 결론을 내릴 수가 없었다. 우선 고혈압 환자 혹은 동물에서 혈중 ET-1 농도는 정상이거나 약간 상승할 정도에 불과하였다.[33] 고혈압쥐에서 얻은 혈관의 ET-1에 대한 반응성 역시 정상혈압쥐에 비해서 증가, 감소 혹은 차이가 없다는 보고가 모두 존재한다는 점도 고혈압에서 ET-1의 역할에 회의적인 시각을 갖게 한 요소라고 할 수 있다.[33][34] 또한 본태성 고혈압 동물 모델인 SHR(spontaneously hypertensive rat)에 대한 ET 길항제의 강압 효과도 보고자마다 다르다.[35-39] 특히 ET-1 유전자 knockout 생쥐의 혈중 ET-1치가 정상보다 낮았음에도 불구하고 혈압은 오히려 높았다는 보고[23]도 ET-1이 고혈압의 발병에 관여한다고 주장하기 어렵게 한다. 반면 강력한 ET-A/ET-B 길항제인 SB209670은 신성 고혈압, mouse Ren-2 transgenic rat 뿐만 아니라 SHR에서도 강압효과가 있음이 관찰되었다.[40] 또다른 ET-A/ET-B 길항제인 TAK-044는 정상 성인에게 투여하였을 때 말초혈관저항과 혈압을 하강시켰다고 한다.[41] 그러나 가장 주목할 만한 연구로서 ET-A/ET-B 길항제 bosentan이 본태성 고혈압 환자들에게서 ACE 억제제인 enalapril과 비슷한 정도의 유의한 강압효과를 보였다는 가장 최근의 보고를 들 수 있다.[42] 이러한 결과들로 유추할 때 발병은 몰라도 최소한 고혈압의 유지에 ET-1이 관여함은 거의 확실하다고 생각된다. 현재 경구 투여가 가능한 비(非)펩티드성 ET길항제가 다수 개발되어 있으므로 조만간 더욱 활발한 임상 시도가 이루어질 전망이며 ET 길항제가 새로운 고혈압 약제로서 등장할 가능성도 크다고 할 수 있다.

급성심근경색증과 허혈성 심질환

허혈성 심질환은 관상동맥의 협착 혹은 폐쇄로 심근기능의 장애나 괴사가 오는 질환으로서 ET-1이 병태생리에 관여할 가능성을 시사하는 여러 가지 소견이 있다. 우선 심근경색증 환자의 급성기에 혈중 ET-1이 증가한다는 점을 들 수 있다.[43] 또한 허혈-재관류를 거친 심장의 심근세포는 ET 수용체 수가 증가하고,[44] 심근으로부터 ET-1의 생성-분비가 촉진되며[45][46] 관상동맥의 ET-1에 대한 수축 반응성도 증가된다고 알려졌다.[47][48] 이러한 사실들은 ET-1이 심근경색에서 병태생리학적 역할을 할 가능성을 시사한다. ET-1이 심근경색의 크기에 영향을 미치리라는 가정 하에 동물을 대상으로 ET 길항제가 경색의 크기를 감소시킬 수 있는지 관찰한 연구들이 다수 있었다. 그러나 그 결과는 길항제 투여효과가 있다는 보고와 없다는 보고가 공존하여 뚜렷한 결론을 내리기 어렵다(Table 1).[49-57] 이는 동물모델의 차이, 길항제 종류의 차이, 길항제 투여 시기가 허혈 시작 전이냐 혹은 재관류 직전이냐에 따른 차이, 허혈부위의 크기 차이 등 많은 원인을 들 수 있으나 임상적 시도는 아직 불가능하다고 할 수 있다. 그러나, ET 길항제가 심근경색 후의 좌심실 remodeling을 예방하는 효과가 있음을 시사하는 논문들이 최근에 발표됨으로써 ACE 억제제처럼 경색 후 좌심실 기능 악화를 막기 위하여 유용하게 쓰일 가능성은 있다. 예를 들면 Sakai와 Miyauchi 등[58]은 심근경색을 유발시킨 백서에게 ET-A 길항제인 BQ-123를 12주간 투여한 결과 사망률을 유의하게 감소시켰을 뿐만 아니라 좌심실 기능 악화와 심실의 확장을 방지하는 효과가 있다고 하였다. 유사한 다른 보

Table 1. Effect of endothelin inhibitors on myocardial infarct size

Antagonist /Antibody	Timing of administration	Method of administration	Dose	Infarct model		Infarct size	Reference
				Animal	Duration of occ/rep		
BQ - 123`	15 min before-reperfusion	continuo us intracoronary infusion	0.03 or 10 μg/kg/min	dog	90 min/5hr	decrease	49
BQ - 123	10 min before-reperfusion	continuous IV infusion	0.1 mg/kg/min	dog	90 min/4hr	n.c.	50
FR139317	30min before-reperfusion	continous IV infusion	15,35,70 mg/kg total dose	rat	30 min/3hr	decrease	51
FR139317	10min before-reperfusion	loading(bolus) +continuous IV infusion	1 (or 3) mg/kg +0.2 (or 0.6) mg/kg/min	rabbit	45 or 60 min/2hr	n.c.	52
Bosentan	15 min before	bolus IV	3 mg/kg	rat	20 min/2hr	n.c.	53
TAK - 044	10 min before	bolus IV	1 and 3 mg/kg	rat	1 hr/24hr	decrease	54
AwETN40*		bolus IV	10 mg/kg	rabbit	30 min/24hr	decrease	55
ET - 1 †	10 min before	bolus IV	0.03 nmol/kg	rabbit	60 min/2hr	decrease	56

*monoclonal antibody against ET - 1
† No antagonist was used. Instead, ET - 1 was administered, occ ; occlusion, rep ; reperfusion, n.c. ; no change

고[59)60)]와 함께 이러한 연구결과는 ET 길항제가 좌심실 remodeling의 방지에 효과적일 가능성을 시사한다.

폐동맥 고혈압

폐동맥 고혈압은 폐혈관 저항의 증가로 말미암아 우심실 부전을 일으키는 진행성 질환이다. 폐혈관 저항의 증가는 폐혈관의 긴장도 증가 뿐만 아니라 폐혈관 평활근 세포의 증식으로 인한 해부학적 변화도 원인이 된다. ET - 1이 혈관수축작용 외에 평활근 세포의 증식도 야기하므로 폐동맥 고혈압의 발생과 진전에 관여할 이론적 근거는 충분하며 많은 연구결과가 이를 시사한다. 우선 혈중 ET - 1 농도가 폐동맥 고혈압으로 증가할 뿐만 아니라 그 중증도와도 상관관계가 있다고 알려졌다.[61 - 63)] 또한 판막 질환[64)]이나 선천성 심질환[65)]으로 인한 폐동맥 고혈압 환자에서 심장교정수술 후의 혈중 ET - 1 농도가 수술 전에 비해 의미있게 감소한다고 한다. 그리고 원발성 폐동맥 고혈압 동물 모델[66)]이나 여러 가지 원인으로 인한 폐동맥 고혈압 환자[67)]의 폐혈관 내피세포에서 ET - 1과 ET - 1 mRNA의 증가도 관찰되었다. 폐동맥 고혈압은 monocrotaline을 투여하거나 저산소에 장시간 노출시킴으로써 실험적으로 유발시킬 수 있다. Monocrotaline을 투여하여 폐동맥 고혈압을 일으킨 쥐에서 혈중 ET - 1 농도는 폐동맥 고혈압이 오기 전에 상승하기 시작하며, BQ - 123를 투여함으로써 폐동맥 중막층의 비후와 우심실압의 상승을 둔화시킬 수 있음이 관찰되었다.[68)] 또한 좌심부전으로 인한 폐동맥 고혈압 백서에게 BQ - 123를 2주간 투여한 결과 혈압과 좌심실 기능의 변화없이 폐동맥 고혈압이 완화되었다는 보고도 있다.[69)] 저산소로 야기된 폐동맥고혈압 백서에서도 bosentan이 효과적으로 폐동맥압의 상승을 억제하였다고 보고된 바 있다.[70)] 따라서 폐동맥고혈압, 특히 치료가 어려운 원발성 폐동맥고혈압 치료에도 ET 길항제가 유용할 가능성이 있다.

죽상경화 병변 및 풍선확장 후의 재협착

ET - 1은 죽상경화 병변의 진행과도 관련이 있을 것으로 생각된다. 예를 들면 혈중 ET - 1농도는 죽상경화 환자에게서 상승하며 면역조직화학법으로 대동맥 죽상경화 병변의 내피세포와 평활근세포에서 모두 ET - 1이 관찰된다는 보고가 그 가능성을 시사한다.[71)] 그러나, 혈관벽에서 관찰되는 ET - 1이 죽상경화의 진행을 야기한 원인인지 아니면 죽상경화로 손상받은 내피세포로부터 단순히 방출된 결과인지는 확실하지 않다.

ET - 1은 세포분열촉진작용이 있으므로 내피세포에

서 유리된 ET - 1이 인근 평활근 세포의 분열을 촉진할 수도 있을 것으로 생각된다. 특히 풍선으로 쥐의 경동맥에 손상을 준 후 초래되는 신내막층(neointima)에는 ET - 1, ECE - 1, ET 수용체 등의 mRNA 발현이 증가하며,[72] SB209670(ET - A/ET - B 길항제)가 이를 억제하는 효과가 있다고 한다.[73] 따라서 PTCA 후의 재협착에도 ET - 1이 관여할 가능성은 있지만 임상적으로 ET 길항제가 재협착 방지에 유용한지는 아직 밝혀지지 않았다.

지주막하 출혈후의 뇌동맥 경련

뇌동맥류의 파열 등으로 인한 지주막하 출혈 후 지연성 혈관경련은 심각한 후유증과 사망까지도 초래하나 현재까지 그 정확한 기전이나 확실한 치료약제가 알려져 있지 않은 상황이다. 뇌동맥 경련후의 뇌척수액에서 ET - 1 농도가 증가할 뿐만 아니라[74][75] ET 길항제[76-78] 혹은 ECE 억제제[79]가 경련을 효과적으로 예방할 수 있음이 동물실험에서 입증되어 있는 상태이므로 임상 시도가 필요한 분야로 기대된다.

결 론

현재까지 진행된 연구결과들을 볼 때 여러 순환기 질환에서 ET - 1이 병태생리학적 역할을 하며 ET 길항제가 유용하리라 생각된다. 특히 고혈압과 심부전에서는 환자들을 대상으로 한 임상연구로부터 ET 길항제의 효과가 일부 입증되었다. 그리고 급성 심근경색증 후 좌심실 remodeling, 치료 약제가 드문 원발성 폐동맥 고혈압, 지주막하 출혈 후의 뇌혈관 경련 등 외에 관상동맥 풍선확장술 후의 재협착이나 심근 비후 등에도 ET - 1이 관여할 가능성이 있다. 따라서 ET 길항제 혹은 ECE 억제제가 새로운 순환기 질환 치료제로 등장할 가능성이 크다고 생각된다.

REFERENCES

1) Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, *et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. Nature 1988; 332:411-5.*
2) Inoue A, Yanagisawa M, Kimura S, Kasuya Y, Miyauchi T, *et al. The human endothelin family: three structurally and pharmacologically distinct isopeptides predicted by three separate genes. Proc Natl Acad Sci USA 1989; 86:2863-7.*
3) Kloog Y, Sokolovsky M. *Similarities in mode and sites of action of sarafotoxins and endothelins. Trends Pharmacol Sci 1989;10:212-4.*
4) Resink TJ, Hahn AW, Scott-Burden T, Powell J, Weber E, Bhler FR. *Inducible endothelin mRNA expression and peptide secretion in cultured human vascular smooth muscle cells. Biochem Biophys Res Commun 1990;168: 1303-10.*
5) Rubanyi GM, Polokoff MA. *Endothelins: molecular biology, biochemistry, pharmacology, physiology, and pathophysiology. Pharmacol Rev 1994;46:325-415.*
6) Yoshizumi M, Kurihara H, Sugiyama T, Takaku F, Yanagisawa M, Masaki T, *et al. Hemodynamic shear stress stimulates endothelin production by cultured endothelial cells. Biochem Biophys Res Commun 1989;161:859-64.*
7) Sharefkin JB, Diamond SL, Eskin G, McIntire LV, Fenbach CW. *Fluid flow decreases preproendothelin mRNA levels and suppress endothelin-1 peptide release in cultured human endothelial cells. J Vasc Surg 1991;14:1-9.*
8) Shimada K, Takahashi M, Tanzawa K. *Cloning and functional expression of endothelin-converting enzyme from rat endothelial cells. J Biol Chem 1994;269:18275-8.*
9) Xu D, Emoto N, Giaid A, Slaughter C, Kaw S, deWit D, *et al. ECE-1: a membrane-bound metalloprotease that catalyzes the proteolytic activation of big endothelin-1. Cell 1994;78:473-85.*
10) Emoto N, Yanagisawa M. *Endothelin-converting enzyme is a membrane bound, phosphoramidon sensitive metalloprotease with acidic pH optimum. J Biol Chem 1995; 270:15262-8.*
11) Ahn K, Sisneros AM, Herman SB, Pan SM, Hupe D, Lee C, *et al. Novel selective quinazoline inhibitors of endothelin converting enzyme-1. Biochem Biophys Res Commun 1998;243:184-90.*
12) De Lombaert S, Ghai RD, Jeng AY, Trapani AJ, Webb RL. *Pharmacological profile of a non-peptidic dual inhibitor of neutral endopeptidase 24.11 and endothelin-converting enzyme. Biochem Biophys Res Commun 1994; 204:407-12.*
13) Arai H, Hori S, Aramori I, Ohkubo H, Nakanishi S. *Cloning and expression of a cDNA encoding an endothelin receptor. Nature (Lond) 1990;348:730-2.*
14) Sakurai T, Yanagisawa M, Takuwa Y, Miyazaki H, Kimura S, Goto K, *et al. Cloning of a cDNA encoding a non-isopeptide delective subtype of the endothelin receptor. Nature (Lond) 1990;348:732-5.*
15) De Nucci G, Thomas R, D Òrleans JP, Antunes E, Walder C, Warner TD, *et al. Pressor effects of circulating endothelin are limited by its removal in the pulmonary circulation and by the release of prostacyclin and endothelium-derived relaxaing factor. Proc Natl Acad Sci USA 1988;85:9797-800.*
16) Moreland S, McMullen DM, Delaney CL, Lee VG, Hunt JT. *Venous smooth muscle contains vasoconstrictor ET-B-like receptors. Biochem Biophys Res Commun 1992; 184:100-6.*
17) Seo B, Oemar BS, Siebenmann R, von Segesser L, Lscher TF. *Both ET-A and ET-B receptors mediate contraction to endothelin-1 in human blood vessels. Circulation 1994;89:1203-8.*
18) Birnbaumer L, Abramowitz J, Brown AM. *Receptor-eff-*

ector coupling by G-proteins. Biochem Biophys Acta 1990;1031:163-224.

19) Badr KF, Murray JJ, Breyer MD, Takahashi K, Inagami T, Harris RC. *Mesangial cell, glomerular and renal vascular responses to endothelin in the rat kidney. Elucidation of signal transduction pathways. J Clin Invest 1989; 83:336-42.*

20) Takuwa Y, Kasuya Y, Takuwa N, Kudo M, Yanagisawa M, Goto K, *et al. Endothelin receptor is coupled to phospholipase C via a pertussis toxin insensitive guanine nucleotide binding regulatory protein in vascular smooth muscle cells. J Clin Invest 1990;85:653-8.*

21) Chua BH, Krebs CJ, Chua CC, Diglio CA. *Endothelin stimulates protein synthesis in smooth muscle cells. Am J Physiol 1992;262:E412-6.*

22) Bogoyevitch MA, Glennon PE, Sugden PH. *Endothelin-1, phorbol esters and phenylephrine stimulate MAP kinase activities in ventricular myocytes. FEBS Lett 1993;317: 271-5.*

23) Kurihara Y, Kurihara H, Suzuki H, Kodama T, Maemura K, Nagai R, *et al. Elevated blood pressure and craniofacial abnormalities in mice deficient in endothelin-1. Nature 1994;368:703-10.*

24) Baynash AG, Hosoda K, Giaid A, Richardson JA, Emoto N, Hammer RE, *et al. Interaction of endothelin-3 with endothelin-B receptor is essential for development of epidermal melanocytes and enteric neurons. Cell 1994; 79:1277-85.*

25) McMurray JJ, Ray SG, Abdullah I, Dargie HJ, Morton JJ. *Plasma endothelin in chronic heart failure. Circulation 1992;85:1374-9.*

26) Nakamura M, Arakawa N, Yoshida H, Funakoshi T, Chiba M, Abe Y, *et al. Increased plasma endothelin concentrations in patients with acute heart failure after myocardial infarction. Jpn Circ J 1993;57:371-8.*

27) Stewart DJ, Cernacek P, Costello KB, Rouleau JL. *Elevated endothelin-1 in heart failure and loss of normal response to postural change. Circulation 1992;85:510-*7.

28) Cody RJ, Haas GJ, Binkley PF, Capers Q, Kelley R. *Plasma endothelin correlates with the extent of pulmonary hypertension in patients with chronic congestive heart failure. Circulation 1992;85:504-9.*

29) Pacher R, Stanek B, Hulsmann M, Koller-Strametz J, Berger R, Schuller M, *et al. Prognostic impact of big endothelin-1 plasma concentrations compared with invasive hemodynamic evaluation in severe heart failure. J Am Coll Cardiol 1996;27:633-41.*

30) Teerlink JR, Lffler BM, Hess P, Maire JP, Clozel M, Clozel JP. *Role of endothelin in the maintenance of blood pressure in conscious rats with chronic heart failure: acute effects of the endothelin receptor antagonist Ro 47-0203 (bosentan). Circulation 1994;90:2510-8.*

31) Kiowski W, Sutsch G, Hunziker P, Muller P, Kim J, Oechslin E, *et al. Evidence for endothelin-1 mediated vasoconstriction in severe chronic heart failure. Lancet 1995; 346:732-6.*

32) Love MP, Haynes WG, Gray GA, Webb DJ, McMurray JJV. *Vasodilator effects of endothelin-converting enzyme inhibition and endothelin ET-A receptor blockade in chronic heart failure patients treated with ACE inhibitors. Circulation 1996;94:2131-7.*

33) Lscher TF, Seo B, Bhler FR. *Potential role of endothelin in hypertension: controversy on endothelin in hypertension. Hypertension 1993;21[part1]:752-7.*

34) Vanhoutte PM. *Is endothelin involved in the pathogenesis of hypertension? Hypertension 1993;21:747-1.*

35) Bazil MK, Lappe RW, Webb RL. *Pharmacologic characterization of an endothelin A (ET-A) receptor antagonist in conscious rats. J Cardiovasc Pharmacol 1992;20: 940-8.*

36) Nishikibe M, Tsuchida S, Okada M, Fukuroda T, Shimamoto K, Yano M. *Antihypertensive effects of a newly synthetized endothelin antagonist, BQ-123, in a genetic hypertensive model. Life Sci 1993;52:717-24.*

37) Sogabe K, Nirei H, Shoubo M, Nomoto A, Ao S, Notsu Y, Ono T. *Pharmacological profile of FR139317, a novel endothelin ET-A receptor antagonist. J Pharmacol Exp Ther 1993;264:1040-6.*

38) Li JS, Schiffrin EL. *Effect of chronic treatment of adult spontaneously hypertensive rats with an endothelin receptor antagonist. Hypertension 1995;25 (4 Pt 1):495-500.*

39) Ohlstein EH, Douglas SA, Ezekiel M, Gellai M. *Antihypertensive effects of the endothelin antagonist BQ-123 in conscious spontaneously hypertensive rats. J Cardiovasc Pharmacol 1993;22 (suppl 8):S321-4.*

40) Ohlstein EH, Nambi P, Douglas SA, Edwards RM, Gellai M, Lago A. *SB209670, a rationally designed potent nonpeptide endothelin receptor antagonist. Proc Natl Acad Sci USA 1994;91:8052-6.*

41) Haynes WG, Ferro CJ, O'Kane KPJ, Somerville D, Lomax CC, Webb DJ. *Systemic endothelin receptor blockade decreases peripheral vascular resistance and blood pressure in humans. Circulation 1996;93:1860-70.*

42) Krum H, Viskoper RJ, Lacourciere Y, Budde M, Charlon V. *The effect of an endothelin-receptor antagonist, bosentan, on blood pressure in patients with essential hypertension. N Engl J Med 1998;338:784-90.*

43) Stewart DJ, Kubac G, Costello KB, Cernacek P. *Increased plasma endothelin-1 in the early hours of acute myocardial infarction. J Am Coll Cardiol 1991;18:38-43.*

44) Liu J, Chen R, Casley DJ, Nayler WG. *Ischemia and reperfusion increase 125 I labelled endothelin-1 binding in rat cardiac membranes. Am J Physiol 1990;258:829-35.*

45) Brunner F, Du Toit EF, Opie LH. *Endothelin release during ischemia and reperfusion of isolated perfused rat hearts. J Mol Cell Cardiol 1992;24:1291-305.*

46) Tsuji S, Sawamura A, Watanabe H, Takihara K, Park SE, Azuma J. *Plasma endothelin levels during myocardial ischemia and reperfusion. Life Sci 1991;48:1745-9.*

47) Saito T, Fushimi E, Abe T, Kimura Y, Takahashi K, Kudo Y, *et al. Augmented contractile response to endothelin and blunted endothelium-dependent relaxation in postischemic reperfused coronary arteries. Jpn Circ J 1992;56:657-70.*

48) Neubauer S, Zimmermann S, Hirsch A, Pulzer F, Tian R, Bauer W, *et al. Effects of endothelin-1 in the isolated heart in ischemia/reperfusion and hypoxia/reoxygenation injury. J Mol Cell Cardiol 1991;23:1397-409.*

49) Grover GJ, Dzwonczyk S, Parham CS. *The endothelin-1 receptor antagonist BQ-123 reduces infarct size in a canine model of coronary occlusion and reperfusion. Cardiovasc Res 1993;27:1613-8.*

50) Krause SM, Lynch JJ Jr, Stabilito II, Woltmann RF. *Intravenous administration of the endothelin-1 antagonist BQ-123 does not ameliorate myocardial ischemic injury following acute coronary artery occlusion in the dog. Cardiovasc Res 1994;28:1672-8*.
51) Lee JY, Warner RB, Adler AL, Opgenorth TJ. *Endothelin ET-A receptor antagonist reduces myocardial infarction induced by coronary artery occlusion and reperfusion in the rat. Pharmacology 1994;49:319-24*.
52) McMurdo L, Thiemermann C, Vane JR. *The effects of the endothelin ET-A receptor antagonist, FR139317, on the infarct size in a rabbit model of acute myocardial ischaemia and reperfusion. Br J Pharmacol 1994;112:75-80.*
53) Richard V, Kaeffer N, Hogie M, Tron C, Blanc T, Thuillez C. *Role of endogenous endothelin in myocardial and coronary endothelial injury after ischaemia and reperfusion in rats; studies with bosentan, a mixed ET-A/ET-B antagonist. Br J Pharmacol 1994;113:869-76.*
54) Watanabe T, Awane Y, Ikeda S, Fujiwara S, Kubo K, Kikuchi T, *et al. Pharmacology of a non-selective ET-A and ET-B antagonist, TAK-044 and the inhibition of myocardial infarct size in rats. Br J Pharmacol 1995;114: 949-54*.
55) Kusumoto K, Awane Y, Fujiwara S, Watanabe T. *Role of endogenous endothelin in extension of rabbit myocardial infarction. J Cardiovasc Pharmacol 1993;22 (suppl 8): S339-42*.
56) Hide EJ, Piper J, Thiemermann C. *Endothelin-1-induced reduction of myocardial infarct size by activation of ATP-sensitive potassium channels in a rabbit model of myocardial ischemia and reperfusion. Br J Pharmacol 1995; 116:2597-602*.
57) Seo BG, Hwang JY. *Effect of endothelin antagonists on myocardial infarct size after coronary artery occlusion and reperfusion in rat. Korean Circulation Journal 1997;27: 1190-8*.
58) Sakai S, Miyauchi T, Kobayashi M, Yamaguchi I, Goto K, Sugishita Y. *Inhibition of myocardial endothelin pathway improves long-term survival in heart failure. Nature 1996;384:353-5*.
59) Mulder P, Richard V, Derumeaux G, Hogie M, Henry JP, Lallemand F, *et al. Role of endogenous endothelin in chronic heart failure: effect of long-term treatment with an endothelin antagonist on survival, hemodynamics, and cardiac remodeling. Circulation 1997;96:1976-82*.
60) Fraccarollo D, Galuppo P, Gaudron P, Ertl G. *Chronic endothelin receptor blockade attenuates progressive ventricular dilation and improves cardiac function in rats with myocardial infarction. Circulation 1997;96:3963-73*.
61) Yoshibayashi M, Nishioka K, Nakao K, Saito Y, Matusmura M, Ueda T, *et al. Plasma endothelin concentrations in patients with pulmonary hypertension associated with congenital heart defects-evidence for increased production of endothelin in pulmonary circulation. Circulation 1991;84:2280-5*.
62) Cacoub P, Dorent R, Maistre G, Nataf P, Carayon A, Piette JC, *et al. Endothelin-1 in primary pulmonary hypertension and the Eisenmenger syndrome. Am J Cardiol 1993;71:448-50*.
63) Ishikawa S, Miyauchi T, Ueno H, Ushinohama H, Sagawa K, Fukuzaki N, *et al. Influence of pulmonary blood pressure and flow on endothelin-1 production in humans. J Cardiovasc Pharmacol 1995;26:429-33*.
64) Chang H, Wu GJ, Wang SM, Hung CR. *Plasma endothelin levels and surgically correctable pulmonary hypertension. Ann Thorac Surg 1993;55:450-8*.
65) Ishikawa S, Miyauchi T, Sakai S, Ushinohama H, Sagawa K, Fukazaki N, *et al. Elevated levels of plasma endothelin-1 in young patients with pulmonary hypertension caused by congenital heart disease are decreased after successful surgical repair. J Thorac Cardiovasc Surg 1995; 110v271-3*.
66) Stelzner TJ, O Ḃrien RF, Sato K, Webb S, Zamora MR, Sakurai T, *et al. Increased endothelin-1 expression in rats with pulmonary hypertension. Am J Physiol 1992;262: L614-20*.
67) Giaid A, Yanagisawa M, Langleben D, Michel RP, Levy R, Shennib H, *et al. Expression of endothelin-1 in lungs of patients with pulmonary hypertension. N Engl J Med 1993;328:1732-9*.
68) Miyauchi T, Yorikane R, Sakai S, Sakurai T, Okada M, Nishikibe M, *et al. Contribution of endogenous endothelin-1 to the progression of cardiopulmonary alterations in rats with monocrotaline-induced pulmonary hypertension. Circ Res 1993;73:887-97*.
69) Sakai S, Miyauchi T, Sakurai T, Yamaguchi I, Kobayashi M, Goto K, *et al. Pulmonary hypertension caused by congestive heart failure is ameliorated by long-term application of an endothelin receptor antagonist. J Am Coll Cardiol 1996;28:1580-8*.
70) Eddahibi S, Raffenstin B, Clozel M, Levame M, Adnot S. *Protection from pulmonary hypertension with an orally active endothelin receptor antagonist in hypoxic rats. Am J Physiol 1995;268:H828-35*.
71) Lerman A, Edwards BS, Hallett JW, Heublein DM, Sandberg SM, Burnett JC Jr. *Circulating and tissue endothelin immunoreactivity in advanced atherosclerosis. N Engl J Med 1991;325:997-1001*.
72) Wang X, Douglas SA, Louden C, Vickery-Clark LM, Feuerstein GZ, Ohlstein EH. *Expression of endothelin-1, endothelin-3, endothelin-converting enzyme-1, and endothelin-A and endothelin-B receptor mRNA after angioplasty-induced neointimal formation in the rat. Circ Res 1996;78:322-8*.
73) Douglas SA, Vickery-Clark LM, Storer BL, Hart T, Louden C, Elliott JD, *et al. A role for endogenous endothelin-1 in neointimal formation following rat carotid artery balloon angioplasty: protective effects of the nonpeptide endothelin receptor antagonist SB209670. Circ Res 1994;75:190-5*.
74) Masaoka H, Suzuki R, Hirata Y, Emori T, Marumo F, Hirakawa K. *Raised plasma endothelin levels in aneurysmal subarachnoid hemorrhage. Lancet 1989;ii:1402*.
75) Suzuki H, Sato S, Suzuki Y, Oka M, Tsuchiya T, Mima T, *et al. Endothelin in plasma and cerebrospinal fluid of patients with subarachnoid hemorrhage. Ann Med 1990; 22:233-6*.
76) Nirei H, Hamada K, Shoubo M, Sogabe K, Notsu Y, Ono T. *An endothelin ET-A receptor antagonist, FR139317, ameliorates cerebral vasospasm in dogs. Life Sci 1993;49:1869-74*.
77) Willette RN, Zhang H, Mitchell MP, Sauermelch CF,

Ohlstein EH, Sulpizio AC. *Nonpeptide endothelin antagonist: cerebrovascular characterization and effects on delayed cerebral vasospasm. Stroke 1994;25:2450-6*.

78) Roux S, Breu V, Giller T, Neidhart W, Ramuz H, Coassolo P, *et al. Ro 61-1790, a new hydrosoluble endothelin antagonist: general pharmacology and effects on experimental cerebral vasospasm. J Pharmacol Exp Ther 1997; 283:1110-8*.

79) Kwan A-L, Bavbek M, Jeng AY, Maniara W, Toyoda T, Lappe RW, *et al. Prevention and reversal of cerebral vasospasm by an endothelin-converting enzyme inhibitor, CGS 26303, in an experimental model of subarachnoid hemorrhage. J Neurosurg 1997;87:281-6*.