

생약제제인 이공산(異功散)의 Cisplatin 유도 신장독성 보호 효과

이경태*, 노영수, 안규석¹, 장성구², 정지창²
경희대학교 약학대학, ¹한의학대학, ²의과대학

Preventive Effect of Crude Drug Preparation (E-kong-san) on Cisplatin induced Nephrotoxicity

Kyung-Tae Lee*, Young-Soo Rho, Kyoo-Seok Ahn¹,
Sung-Goo Chang² and Jee-Chang Jung²

College of Pharmacy, ¹Oriental Medicine and ²Medicine, Kyung Hee University,
Seoul 130-701, Korea

Abstract – Nephroprotective effects of a crude drug-preparation (Ekongsan) were determined from cisplatin induced renal injury *in vivo* and *in vitro*. Ekongsan decreased cisplatin induced the cytotoxicity on rabbit kidney proximal tubule and human renal cortical cells by MTT assays and sustained glucose consumption on cisplatin-induced human renal cortical tissue. Levels of creatinine and blood urea nitrogen (BUN) in serum after administration of cisplatin (0.75 mg/kg, i.p.) to Ekongsan (0.75 g/kg/d, p.o.)-pretreated rats were markedly lower compared to those of cisplatin-treated rats. Moreover, the administration of Ekongsan significantly inhibited the loss of body weight of cisplatin-injected rats. These findings suggest that Ekongsan is an active prescription in protection against nephrotoxicity of cisplatin.

Key words – Cisplatin: nephrotoxicity; glucose consumption; BUN; creatinine.

Cisplatin은 종양세포를 이용한 항종양 실험에서 항암활성이 강한 물질로 나타났으며^{1,2)} 임상시험에서도 우수한 효과가 인정되어^{3,4)} 고환암, 난소암, 방광암, 자궁암, 전립선암 등의 고형암 치료제로서 지금까지 널리 사용되고 있다. 그러나 cisplatin은 강한 신독성과 오심, 구토 및 내이신경독성등의 부작용을⁵⁻⁸⁾ 나타내기 때문에 그 사용에 상당한 제약을 받아왔다. Cisplatin의 신독성은 주로 용량증가에 따른 세뇨관 괴사인 것으로 알려졌으며⁹⁻¹¹⁾ 신 피질, 원위 세뇨관, 집합관에도 독성을 나타내나 근위

세뇨관에 가장 심한 영향을 준다고 보고되었다.¹²⁾ 따라서 cisplatin의 신 독성을 경감시키기 위하여 투여 전 생리식염수의 과량투여에 의한 수화요법, mannitol과 같은 삼투성 이노제 투여, thiosulfate, mesna, WR-2721과 diethyldithiocarbamate (DDTC) 투여 방법¹³⁾ 등이 사용되고 있다. DDTC를 제외하고는 모두 유향을 가지고 있는 nucleophile들로서 cisplatin 투여전 또는 동시 투여에 의해 신장 독성 감소를 확인하였다. DDTC는 cisplatin 투여후 1~3시간 내에 투여함으로써 가장 우수한 신장 보호 작용을 나타내고 있다.

비위 허약을 치료하는 인삼(人蔘), 백출(白朮),

*교신저자 : Fax 02-966-3885

복령(茯苓), 감초(甘草)로 구성된 사군자탕(四君子湯)을 기본으로 하여 진피(陳皮)를 가한 이공산(異功散)은 민간이나 한방에서 비위허약(脾胃虛弱)에 기체(氣滯)를 겸하여 식욕이 감소되고 복통, 설사 등의 소화기 반응과 피로(疲勞), 무력(無力) 등의 전신적 반응에 사용되어 왔다.¹⁴⁾

본 실험은 한방제인 이공산을 투여하여 cisplatin에 의해 유발된 배양 신장 세포 및 흰쥐에서 신장 독성 감소에 미치는 영향을 검토하였다.

재료 및 방법

실험재료 - 본 연구에 사용된 생약은 서울시 경동시장소재 한약방에서 구입하여 엄선한 것을 사용하였으며 처방내용은 아래와 같다. 人蔘(*Ginseng Radix*) 5 g, 白朮(*Atractylis Rhizoma*) 12 g, 白茯苓(*Hoelen*) 9 g, 炙甘草(*Glycyrrhizae Radix*) 6 g, 陳皮(*Aurantii Nobilis Pericarpium*) 6 g을 한 첩으로 하였다. 異功散 20첩 분량을 세절하여 물로 3회, 3시간씩 증류수를 가하여 100°C에서 추출한 후 흡인 여과한 여액을 rotary evaporator로 감압농축 하여 점액성의 추출물을 얻은 후 동결건조기로 -50°C에서 72시간 완전히 건조시켜 300 g의 건조엑스를 얻어 -70°C에 보관하였다.

시약 - 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide(MTT), dulbecco's modified eagle's medium(DMEM), Ham's F₁₂ medium 및 soybean trypsin inhibitor, RPMI 1640 medium, minimum essential medium(MEM)과 fetal bovine serum(FBS)은 Gibco(Grand island, N.Y.)에서 구입하였다. Glucose [HK] 20, collagenase, penicilline G와 streptomycin은 Sigma(Mo, USA)와 collagen gel은 Health Design Industries (Rochester, N.Y.)에서 구입하였다.

토끼 근위 세뇨관 상피세포의 분리 및 배양 - Jung 등¹⁵⁾의 방법에 따랐으며 체중 2.0 kg 정도의 토끼를 cervical dislocation에 의해 치사시킨 다음, 신장을 적출하고 신동맥을 통하여 인산 완충용액을 주입하여 세척하였다. 다시 DME/F₁₂ 배지로 2회 세척한 후 0.5% 산화철용액을 주입하고, 신피질만을 박리하여 DME/F₁₂ 배지에 넣어 Dounce-

homogenizer로 homogenize시켰다. Homogenator를 253 μm mesh filter를 통과시키고, 83 μm mesh filter에 모아진 세뇨관과 사구체를 DME/F₁₂ 배지에 옮기고, 사구체는 magnetic stirring bar를 이용하여 제거하였다. 그 직후 trypsin inhibitor와 collagenase를 넣어 2분간 실온에서 배양한 후 insulin(5 μm/ml), transferrin(5 μg/ml) 및 hydrocortisone(5×10⁻⁸ M)을 첨가한 DME/F₁₂ 배지에 부유시켜 일정량씩 배양접시에 접종하고, CO₂ incubator에서 37°C로 2주간 배양하였다.

인체 정상 신장세포의 분리 및 배양 - 신장암 절제 수술을 받은 암환자로 부터 신장을 적출하여 정상조직 부위를 취하고 penicilline G 및 streptomycin을 함유한 DME/F₁₂ 배지로 수 회 세척한 다음, renal capsule을 제거하고 mess를 사용하여 신피질만을 얇게 잘라준 후 무균 상태에서 homogenize하여 일정량의 DME/F₁₂ 배지에 부유시켰다. Trypsin inhibitor와 collagenase(10 mg/ml)를 0.2 ml씩 넣고 2분간 실온에서 배양한 후 insulin(5 μg/ml), transferrin(5 μg/ml), hydrocortisone(5×10⁻⁸ M), triiodothyronine(5×10⁻⁷ M), prostaglandin E₁(5×10⁻⁸ M)과 1% FBS를 함유한 DME/F₁₂ 배지에 부유시켜 배양접시에 접종하고 37°C, 5% CO₂ incubator에서 2주간 배양하였다.

세포독성 실험 - 배양한 세포를 1000 rpm에서 5분간 원심분리하여 세포를 모은 다음 배지를 교환한 후 10⁶ cell/ml 농도로 희석하고, cisplatin의 최종 농도 125 M과 250 M 농도로 이공산은 0.5, 2.5 및 5 mg/ml 농도로 조제하였으며 96 well titer plate에 세포희석액 0.1 ml 및 각종 농도의 검체 0.1 ml를 가하고 48시간 동안 배양하였다. 배양액 속에 5 mg/ml 농도의 MTT용액 0.05 ml씩을 가하여 4시간 배양한 후 상등액을 제거하고 DMSO 0.05 ml를 가하여 침전물을 용해시킨 다음 ELISA Reader로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 검체없이 동일한 조건하에서 배양된 세포군을 대조군으로 하였으며, 판정은 다음의 산출식에 따라 %로 나타내었다.¹⁶⁾

$$\text{Cytotoxicity Index (\%)} = \left(1 - \frac{\text{검액의 흡광도}}{\text{대조군의 흡광도}} \right) \times 100$$

삼차원적으로 조직 배양된 인체 신장 피질 조직에 서의 glucose consumption 시험-인체 신장 조직의 획득은 실험 방법중 인체 정상 신장세포의 분리 방법에 따랐으며 조직은 실험용 무균 시험대(clean bench) 내에서 무균 조작하여 수술용 칼로 조직의 크기가 3.0×3.0×3.0 mm 정도가 되도록 세절한 뒤 collagen gel을 이용한 삼차원적 조직 배양법으로 배양에 들어갔다.¹⁷⁾ 최소 48시간 MEM에 침액시킨 collagen gel에 한 개씩 넣고 그 위에 4~5개의 조직편을 이식하였으며 72시간 주기로 MEM 배지(MEM에 10% heat inactivated fetal bovine serum, 0.1 mM nonessential amino acid, 95 µg/ml cefotaxime과 100 µg/ml의 gentamicin을 함유)로 교환하여 37°C, 5% CO₂ 배양기에 지속 배양하였다.

조직 배양된 인체의 정상 신 피질 조직을 최종 농도가 250 µM, 25 µM, 2.5 µM cisplatin군으로 농도가 되게 준비하였고 이공산군은 2.5 mg/ml를 대조 군으로 하였다. Cisplatin과 이공산의 병합 투여군의 농도는 이공산 2.5 mg/ml+cisplatin 250 µM, 이공산 2.5 mg/ml+cisplatin 50 µM, 이공산 2.5 mg/ml+cisplatin 5 µM로 구분하였다. 위 시료를 72시간 동안 노출시키고, 각각의 실험 군을 인산 완충용액으로 3회 세척하고 정상 MEM 배지를 공급하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 24시간 동안 배양시킨 후 다시 MEM 배지를 교환하고 glucose의 소모량을 측정하였다. 조직 배양기간동안 매일 50 µl의 배지를 각 well로 부터 취하여 96 well titer plate에 보관한 상태에서 포도당의 농도

를 측정하였다. 먼저 분말 상태의 glucose (HK) 20을 증류수 20 ml에 가하여 만든 용액 1 ml를 큐벳에 넣어 340 nm에서 1차 흡광도를 측정하였다. 다시 10 µl의 배양액을 첨가한 후 2차 흡광도를 구하여 포도당의 농도를 산출하였으며 각 well의 포도당 농도는 3회씩 반복하여 측정하였다. 72시간의 포도당 농도를 측정하여 변화를 관찰하였는데 이 72시간 동안의 변화를 1주기(period)라 하였으며 반감기의 측정은 $t_{1/2} = 0.693/\text{slope}$ 의 공식을 이용하였다. 실험하고자 하는 각 well을 3주기 동안 반복 측정하여 실험 전 정상 대조군으로 하였으며 검액 투여 후에도 3주기 동안의 포도당 소모량을 측정하여 반감기를 계산한 뒤 약물 처치 후에 발생한 반감기의 연장 정도를 수치로 나타내었다.

군분리 및 투여용량 설정-동물은 Sprague Dawley계 흰쥐의 수컷 130~150 g을 사용하였으며, 사료는 삼양 유지사료의 고품 사료와 물은 충분히 공급하였다. 시험군의 구성은 Table I과 같으며 각 군의 사용동물수는 6마리로 하였다. Cisplatin은 7.5 mg/kg로 조절하여 복강내 투여하였으며 이공산은 랫드용 경구투여침을 사용하여 1일 1회 11일 반복투여 하며 각 개체의 투여량은 매일 측정하는 체중을 근거로 산출하였다.

혈청 분리 및 BUN, Creatinine 측정-혈액은 ether로 마취한 동물의 안와정맥을 통해 채혈한 후, 3000 rpm에서 15분간 원심분리하여 혈청을 분리하여 creatinine 함량은 Jaffe Method¹⁸⁾로 BUN 함량은 urease-glutamate dehydrogenase method¹⁹⁾에 준하여 혈액 자동분석기로 측정하였다.

Table I. Time schedule of normal saline, Ekongsan, cisplatin and Ekongsan + cisplatin administration

Group	Days										
	-1	-2	-3	-4	-5	-6	0	1	2	3	4
Group I	↑ 異功散 (1 g/kg)										
Group II	↑ 異功散 (0.75 g/kg)					●	↑ cisplatin (7.5 mg/kg) + 異功散 (0.75 g/kg)				
Group III	↑ 異功散 (1 g/kg)					●	↑ cisplatin (7.5 mg/kg) + 異功散 (1 g/kg) ↑				
Group IV						●	↑ cisplatin (7.5 mg/kg)				
Group V						●	↑ normal saline				

●: one time I.P. injection of cisplatin, <->: oral administration of Ekongsan.

통계처리 - 각 실험결과는 평균치와 표준오차로 나타내었고, 각 군과의 비교는 student's t-test를 사용하였으며, 대조군과 비교하여 P값이 0.05 이하 일 때 통계적으로 유의성이 있다고 판정하였다.

결과 및 고찰

Cisplatin의 신장 세포 독성에 대한 검체의 효능

- Cisplatin의 토끼신장 근위 세뇨관 및 인체 정상 신피질에 대한 세포 독성은 농도 비례적으로 증가하였으며 125 µM에서 각각 73.8%, 67.8%, 250 µM에서 81.8%, 77.7%의 세포 독성이 관찰되었고 각각의 CI₅₀(50% of cytotoxicity index) 수치는 38.2 µM과 55.7 µM이었다. 이공산은 cisplatin 유도 토끼 원위세뇨관 및 인체 신장 신피질 세포에 대해 농도 의존적 세포독성 감소를 관찰하였으며 2.5 mg/ml과 5 mg/ml의 이공산의 투여에서 cisplatin 125 µM과 250 µM 투여 모두에서 유의성 있는 세포독성 감소 효과를 관찰하였으며 이공산 단독의 세포독성은 관찰되지 않았다(Table II).

인체 신장 조직 배양에서의 포도당 소모량에 대한 이공산의 영향

- 500 µM cisplatin 처리군에서는 실험 대조군에서 포도당의 반감기는 총 6주기 동안 거의 일정한 소견을 보였으며 평균 20.48±0.3 시간이었다. 이공산의 투약 대조군(2.5 mg/ml)에서의 포도당 반감기도 약물 투여 전에는 평균 28.2시간 이었고 투약후 4주기 동안에는 평균 28.6시간으로 변화가 없었으며 전체 6주기 동안에 걸쳐 일정한 소견을 보였다. 그러나 cisplatin 고농도(500 µM) 투여군 및 cisplatin 500 µM과 이공산 2.5 mg/ml 동시 투여군에서는 72시간 동안 약물에 노출 시킨후 포도당의 반감기가 급격히 연장되어 배양액 내의 포도당 소모가 거의 일어나지 않음을 보였다(Fig. 1).

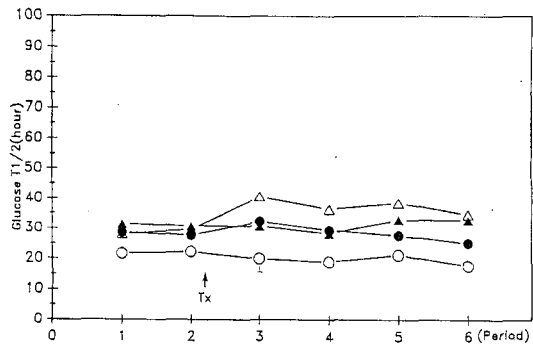


Fig. 1. Changes of glucose half-life on histocultured human renal cortical tissue specimens. The treated specimens were exposed with experimental drugs for 72 hours. There were markedly delayed glucose half-life in cisplatin and/or Ekongsan. Key: ○- control, ●- Ekongsan (2.5 mg/ml), -△- cisplatin (500 µM), -▲- Ekongsan (2.5 mg/ml) and cisplatin (1 mM).

50 µM cisplatin 투여한 군에서는 투약전 2주기 동안 평균 포도당 반감기가 28.9시간이었고 투약 후에는 37.5시간으로 증가되었으며 증가 양상은 투약후 즉시 발현된 이후 실험 6주기까지 지속적으로 증가된 상태가 유지되었다. 이공산 2.5 mg/ml과 cisplatin 50 µM을 동시 투여한 군에서는 포도당 반감기가 투약전 2주기에서는 평균 31.15시간이었고 투약 후에도 31.2시간으로 거의 변화가 나타나지 않아 cisplatin의 포도당 소모량 감소 효과를 이공산이 억제시키는 소견을 보였다(Fig. 2). 5 µM cisplatin 투여군에서도 50 µM cisplatin 투여군과 유사한 결과를 보였으며 이공산 2.5 mg/ml과 cisplatin 10 µM을 투여한 실험 군에서도 투약전 2주기의 평균 포도당 반감기는 23.1시간이며 투약후 4주기 동안의 포도당 반감기는 평균 18.3시간으로 cisplatin 투여에 따른 포도당 소모량의 억제 효과는 관찰되지 않았다. Cisplatin 5 µM과 50 µM 농도에서 이공

Table II. Effect of Ekongsan on the cytotoxicity of cisplatin in normal rabbit kidney proximal tubule cells and human kidney cortical cells

Species	Treatment	Dose (µM)	Ekongsan (mg/ml)			
			0	0.5	2.5	5
Rabbit kidney	cisplatin	125	73.8±1.37 ^a	65.9±3.66	61.8±1.72*	52.1±1.99*
		250	81.8±0.80	76.3±1.65	70.9±1.06*	67.2±2.29*
Human kidney	cisplatin	125	67.8±0.71	57.7±2.65*	52.2±2.50*	40.2±1.17*
		250	77.7±0.42	67.5±0.32*	60.7±3.01*	57.0±0.75*

^aCytotoxicity Index (%). M±S.E. n=3). *Statistically significant compared with cisplatin control (p<0.05)

산에 의한 신독성 억제 효과인 포도당 소모량의 변화 측면에서는 유의성이 있었으며 이공산 자체의 신독성은 나타나지 않았다. 고농도의 cisplatin(500 μM) 투여군에 이공산의 신 독성 억제 효과를 관찰할 수 없었으나 이는 매우 높은 cisplatin의 농도에 의한 짧은 시간에서의 강한 세포독성에 기인하는 것으로 추측된다.

Cisplatin 유도 흰쥐체중 및 혈청생화학적 지표에 미치는 이공산의 영향 - Cisplatin 및 이공산 단독투여군에 대한 이공산과의 전 투여 및 동시 투여가 cisplatin 유도 흰쥐 체중과 혈청 신장 기능의 생화학 지표인 creatinine과 BUN 수치에 대한 영향을 검토한 결과는 다음과 같다. Cisplatin 단독 투여군에서의 흰쥐 체중은 투여 24시간 후부터 계속적으로 감소되었으며 cisplatin과 이공산 저용량(0.75 g/kg)의 혼합 투여군에서도 유사한 체중 감소 효과가 관찰되었다(Fig. 3). Cisplatin과 이공산의 고용량(1 g/kg) 투여군에서는 saline 투여군 및 이공산 단독 투여군(1 mg/kg) 등의 대조군과 유사한 체중 감소효과를 보이지 않았으며 이공산 고용량투여에 의해 cisplatin의 독성에 의한 체중 손실 억제작용을 확인하였다. 신장 기능의 생화학 지표인 혈청 creatinine과 BUN 수치를 대조군과 비교 관찰한 결과는 다음과 같다(Table III). Cisplatin 투여군인 Group II 및 cisplatin과 이

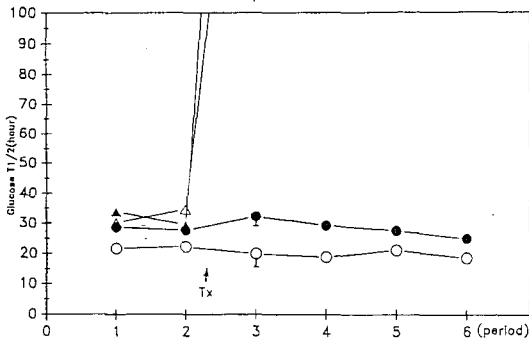


Fig. 2. Changes of glucose half-life on histocultured human renal cortical tissue specimens. The treated specimens were exposed with experimental drugs for 72 hours. There were glucose half-life in cisplatin and/or Ekongsan. Key: -○- control, -●- Ekongsan (2.5 mg/ml), -△- cisplatin (50 μM), -▲- Ekongsan (2.5 mg/ml) and cisplatin (100 μM).

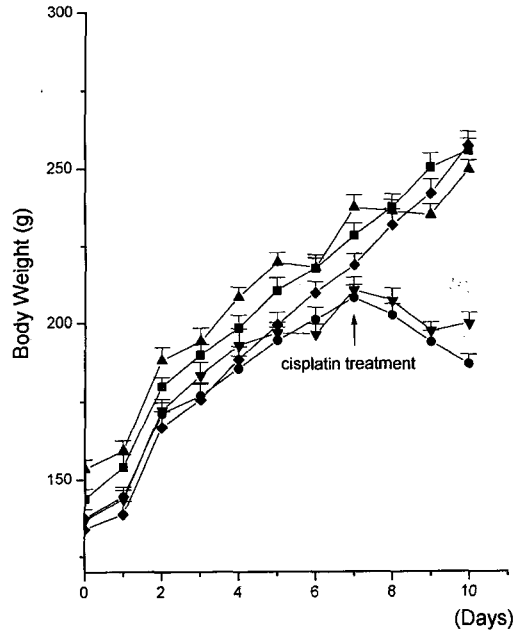


Fig. 3. Effect of Ekongsan on body weight in rats after treatment with cisplatin and/or Ekongsan. Key: -▲- Ekongsan (1 g/kg), -■- saline i.p., -◆- Ekongsan (0.75 g/kg) and cisplatin (7.5 mg/kg), -▼- Ekongsan (1 g/kg) and cisplatin (7.5 mg/kg), -●- cisplatin i.p. (7.5 mg/kg).

공산의 저용량 동시 투여에 의한 Group IV에서 유의성 있는 증가를 보였으나 고농도 이공산과의 동시 투여군에서 정상 수치를 보여줌으로써 cisplatin에 의한 신장 독성을 보호하는 뚜렷한 효과를 확인하였다.

Table III. Effect of Ekongsan on the BUN and creatinine in rats for 4 days oral administration after cisplatin treatment

Group	No. of animals	BUN (mg/dl)	Creatinine (mg/dl)
I	6	19.00±2.83	0.83±0.05
II	6	139.50±19.50***	3.90±0.50***
III	6	18.00±1.58	0.98±0.08
IV	6	129.00±69.00	4.25±0.95**
V	6	20.33±3.68	0.83±0.05

^{a)}: Mean±S.D., Group I: Ekongsan (1 g/kg), Group II: Ekongsan (0.75 g/kg) and cisplatin (7.5 mg/kg), Group III: Ekongsan (1 g/kg) and cisplatin (7.5 mg/kg), Group IV: cisplatin (7.5 mg/kg) Group V: saline. *Statistically significant compared with cisplatin control (*p<0.05, **p<0.01, ***<0.001).

결 론

이공산의 물 추출물을 cisplatin 유도신장독성 감소효과를 관찰한 결과 다음과 같다.

1. *In vitro* 일차 배양 토끼 및 인체 정상 신장세포에서 이공산은 유의성있는 cisplatin 유도 세포독성 감소효과를 보였다.

2. 인체신장조직에서 신장기능을 나타내는 포도당소모량을 측정함으로써 cisplatin 5 μ M과 50 μ M에서 유의성있는 포도당 소모량의 증가를 확인하였다.

3. 흰쥐에서 이공산은 cisplatin의 독성에 의한 체중 감소를 저지하였으며 혈청중 creatinine 및 BUN 증가를 감소시켰다.

이상의 실험결과로 보아 이공산의 cisplatin 유도 신장독성 감소 작용이 인정되었다.

사 사

본 연구는 보건복지부 주관 97' 보건의료기술연구개발사업 연구비의 도움으로 수행되었기에 이에 감사를 드립니다.

인용문헌

- Rosenberg, B., Van Camp, L., Trosko, J. E. and Mansour, V. H. (1969) Platinum compounds: a new class of potent antitumor agents. *Nature* 223: 385-386.
- Rosenberg, B., Van Camp, L. and Krigas, T. L. (1965) Inhibition of cell division in *Escherichia coli* by electrolysis products from a platinum electrode. *Nature* 205: 698-699.
- Rosenberg, B., Van Camp, L., Grimley, E. B. and Thomson, A. J. (1967) The inhibition of growth or cell division in *Escherichia coli* by different ionic species of platinum(IV) complexes. *J. Biol. Chem.* 242: 1347-1352.
- Connors, T. A., Johns, M. and Ross W. C. J. (1972) New platinum complexes with anti-tumor activity. *Chem Biol. Interact.* 5: 415-424.
- Kociba, R. J., Sleight, S. D. and Rosenberg, B. (1970) Inhibition of dunning ascitic leukemia and Walker 256 carcinosarcoma with cis-diaminedichloroplatinum (NSC-119875). *Cancer*

- Chemother. Rep.* 54: 325-328.
- Lippman, A. J., Helson, C., Helson, L. and Kradoff, I. H. (1973) Clinical trials of cis-diaminedichloroplatinum (NSC-119875). *Cancer Chemother. Rep.* 57: 191-200.
- Higby, D. J., Wallace, J. J. and Holland, J. F. (1973) cis-diamine dichloroplatinum (NSC-119875) a phase I study. *Cancer Chemother. Rep.* 57: 459-463.
- Kociba, R. J. and Sleight, S. D. (1971) Acute toxicologic and pathologic effects of cis-diaminedichloroplatinum (NSC-119875) in the male rat. *Cancer Chemother. Rep.* 55: 1-8
- Ward, J. M. and Fauvie, K. A. (1976) The nephrotic effects of cis-diaminedichloroplatinum (II) (NSC-119875) in male F-344 rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 38: 535-541.
- Ward, J. M., Young, D. M., Fauvie, K. A., Wolpert, M. K., Davis, R. and Guarino, A. M. (1976) Comparative nephrotoxicity of platinum cancer chemotherapeutic agent. *Cancer Chemother. Rep.* 60: 1975-1682.
- Leonard, B. J., Eccleston, E. and Jones, D. (1971) Antileukemic and nephrotoxic properties of platinum compounds. *Nature* 234: 43-45.
- Gottlieb, J. A. and Drewinko, B. (1975) Review of the current clinical status of platinum coordination complexes in cancer chemotherapy. *Cancer Chemother. Rep.* 59: 621-628.
- Thomas, J. M. and Richard, F. B. (1988) Quiescent LLC-PK1 cells as a model for cis-diaminodichloroplatinum(II) nephrotoxicity and modulation by thiol rescue agents. *Cancer Research* 63: 6017.
- 최승훈 (1995) 동의종양학, 155-161, 행림출판, 서울.
- Jung, J. C., Lee, S. M., Kadakia, N and Taub, M. (1992) Growth, K. T. and function of primary rabbit kidney proximal tubule cells in glucose and glucose-free medium. *J. Cell Biol.* 150: 243-249.
- Kil, K. S., Yum, Y. N. Seo, S. H. and Lee, K. T (1996) Antitumor activities of hypericin as a protein tyrosine kinase blocker. *Arch. Pharm. Res.* 19: 490-496.
- Chang, S. G., Toth, K., Black, J. D., Slocum, H. K., Perrapato, S. D., Huben, R. P. and Rustom, Y. M. (1992) Growth of human renal cortical tissue on collagen gel. *In Vitro Cell*

- Dev. Biol.* 28: 128-135.
18. Butler, A. R. (1977) Jaffe reaction mechanism debated. *Clin. Chem.* 23: 613-614.
19. Passey, R. B., Gillum, R. L., Fuller, J. B., baron, M. L. (1980) Evaluation of the three methods

for the measurement of urea nitrogen in serum as used on six experiments. *Am. J. Clin. Pathol.* 73: 362-368.

(1998년 7월 4일 접수)