

Puromycin aminonucleoside 장기 투여에 의한 진행성 신사구체 경화증에 관한 실험적 연구*

서울대학교 의과대학 병리학교실

김 미 경 · 이 현 순

Experimental Study of the Progressive Glomerulosclerosis Induced by Long-term Administration of Puromycin Aminonucleoside in Rats

Mikyung Kim, M.D. and Hyun Soon Lee, M.D.

Department of Pathology, Seoul National University College of Medicine

Pathogenetic mechanisms of progressive glomerulosclerosis are not clear. We studied the long-term(10 weeks) effects of puromycin aminonucleoside(PAN) in Sprague-Dawley rats with or without uninephrectomy(UN). Compared to rats with PAN injections only, rats with uninephrectomy and PAN injections showed significantly higher serum levels of urea nitrogen(153 ± 155 mg/dl vs. 16 ± 4 mg/dl, $p < 0.01$), creatinine(2.96 ± 1.21 mg/dl vs. 0.92 ± 0.36 mg/dl, $p < 0.01$), cholesterol(466 ± 125 mg/dl vs. 94 ± 27 mg/dl, $p < 0.01$), and triglyceride(337 ± 237 mg/dl vs. 111 ± 36 mg/dl, $p < 0.05$) as well as increased amounts of proteinuria(428 ± 90 mg/day vs. 136 ± 130 mg/day, $p < 0.01$). Lesions of focal segmental glomerulosclerosis(FSGS) were more frequently observed in rats with UN and PAN injections than rats with PAN injections only($39.5 \pm 17.2\%$ vs. $4.3 \pm 4.7\%$, $p < 0.01$). Ultrastructural examination of the glomeruli from rats with UN and PAN injections revealed severe epithelial cell changes including foot process effacement, vacuolar change or pseudocyst formation and focal detachment of epithelial cells from the underlying basement membrane. The results suggest that chronic nephrosis induced by PAN showed functional and morphologic features similar to those of human FSGS. Cytotoxic effect of PAN on the glomerular epithelial cells may be an initiating factor for the development of FSGS, which may be aggravated by some hemodynamic changes induced by uninephrectomy. (**Korean J Pathol 1993; 27: 1 ~ 10**)

Key Words: Focal segmental glomerulosclerosis, Puromycin aminonucleoside, Glomerular epithelial cell injury, Uninephrectomy

서 론

초점성 분절성 신사구체 경화증(focal segmental glomerulosclerosis: 이하 FSGS)은 치료에 잘 듣지

않는 단백뇨 및 진행성의 초점성 반흔을 특징으로 하는 비특이성 신사구체 병변으로서, 원발성 및 이차성으로 나타날 수 있다¹⁻⁵. 또한 여러가지 실험모델을 통하여 사람의 FSGS와 유사한 병변을 유발시킬 수 있는 바, aging rat 모델⁶⁻⁸, 신적출술 모델⁹⁻¹², adriamycin^{13,14} 혹은 puromycin 투여에 의한 신증 모델^{15,16} 등이 대표적이다.

특히 쥐에 puromycin aminonucleoside(PAN)를 반복 투여함으로써 생기는 만성 신증모델에서는 지속적인 단백뇨를 수반하는 심한 신증후군과 더불어, 진행성 신사구체 질환을 유발함으로써 사람의 만성 신

접 수: 1992년 4월 16일, 게재승인: 1992년 11월 2일
주 소: 서울특별시 종로구 연건동 28, 우편번호 110-460
서울대학교 의과대학 병리학교실, 이현순

*이 연구는 서울대학교 병원 대단위연구비(1989)의 지원으로 이루어짐.

- 23) Nevins TE, Gaston T, Basgen JM. *Quantitative indexes of aminonucleoside-induced nephrotic syndrome. Am J Pathol* 1984; 117: 30-6.
- 24) Fishman JA, Karnovsky MJ. *Effects of the aminonucleoside of puromycin on glomerular epithelial cells in vitro. Am J Pathol* 1984; 118: 398-407.
- 25) Kerjaschki D, Vernillo AT, Farquhar MG. *Reduced sialylation of podocalyxin - the major sialoprotein of the kidney glomerulus - in aminonucleoside nephrosis. Am J Pathol* 1985; 118: 343-9.
- 26) Mahan JD, Sisson-Ross S, Vernier RL. *Glomerular basement membrane anionic charge site changes early in aminonucleoside nephrosis. Am J Pathol* 1986; 125: 393-401.
- 27) Messina A, Davies DJ, Dillane PC, Ryan GB. *Glomerular epithelial abnormalities associated with the onset of proteinuria in aminonucleoside nephrosis. Am J Pathol* 1986; 126: 220-9.
- 28) Groggel GC, Hovingh P, Border WA, Linker A. *Changes in glomerular heparan sulfate in puromycin aminonucleoside nephrosis. Am J Pathol* 1987; 128: 521-7.
- 29) Kasinath BS, Singh AK, Kanwar YS, Lewis EJ. *Effect of puromycin aminonucleoside on HSPG core protein content of glomerular epithelial cells. Am J Physiol* 1988; 255: F590-6.
- 30) Fries JW, Sandstrom DJ, Meyer TW, Rennke HG. *Glomerular hypertrophy and epithelial cell injury modulate progressive glomerulosclerosis in the rat. Lab Invest* 1989; 60: 206-18.
- 31) Grond J, Elema JD. *Glomerular mesangium: Analysis of the increased activity observed in experimental acute aminonucleoside nephrosis in the rat. Lab Invest* 1981; 45: 400-9.
- 32) Grond J, Muller EW, van Goor H, Weening JJ, Elema JD. *Differences in puromycin aminonucleoside nephrosis in two rat strains. Kidney Int* 1988; 33: 524-9.
- 33) Moorhead JF, Chan MK, El-Nahas M, Varghese Z. *Lipid nephrotoxicity in chronic progressive glomerular and tubulointerstitial disease. Lancet* 1982; II: 1309-11.
- 34) Grond J, van Goor H, Erkelens DW, Elema JD. *Glomerular sclerotic lesions in the rat. Virchows Arch* 1986; 51: 521-34.
- 35) Lowry OH, Rosebraugh NJ, Farr AL, Randall RJ. *Protein measurement with folin phenol reagent. J Biol Chem* 1951; 193: 265-75.
- 36) Textbook of clinical chemistry, edited by Norbert W. Tietz, W.B.Saunders company, Philadelphia, 1986.
- 37) Genes IV, edited by Benjamin Lewin, Oxford Cell Press, Cambridge, 1990.
- 38) Michael AF, Blau E, Vernier RL. *Glomerular polyanion: Alteration in aminonucleoside nephrosis. Lab Invest* 1970; 23: 649-57.
- 39) Andrews PM. *Glomerular epithelial alterations resulting from sialic acid surface coat removal. Kidney Int* 1979; 15: 376-85.
- 40) Kerjaschki D, Sharkey DJ, Farquhar MG. *Identification and characterization of podocalyxin - the major sialoprotein of the renal glomerular epithelial cell. J Cell Biol* 1984; 98: 1591-6.
- 41) Stow JL, Soroka CJ, MacKay K, Striker L, Striker G, Farquhar MG. *Basement membrane heparan sulfate proteoglycan is the main proteoglycan synthesized by glomerular epithelial cells in culture. Am J Pathol* 1989; 135: 637-46.
- 42) Abe H, Shibuya T, Odashima S, Arichi S, Nagase S. *Alterations in the glomerulus in aminonucleoside nephrosis in albuminemic rats. Nephron* 1988; 50: 351-5.
- 43) Grishman E, Churg J. *Focal glomerular sclerosis in nephrotic patients: An electron microscopic study of glomerular podocytes. Kidney Int* 1975; 7: 111-22.
- 44) Cohen AH, Mampaso F, Zamboni L. *Glomerular podocyte degeneration in human renal disease: An ultrastructural study. Lab Invest* 1977; 37: 30-42.
- 45) Brenner BM. *Hemodynamically mediated glomerular injury and the progressive nature of kidney disease. Kidney Int* 1983; 23: 647-55.
- 46) Rennke HG, Anderson S, Brenner BM. *Structural and functional correlations in the progression of kidney disease. In: Tisher CC, Brenner BM, eds. Renal pathology with clinical and functional correlations, Vol 1, Philadelphia: Lippincott, 1989: 43-66.*
- 47) Eddy AA, Michael AF. *Acute tubulointerstitial nephritis associated with aminonucleoside nephrosis. Kidney Int* 1988; 33: 14-23.

질환 및 단백뇨 기전을 이해하기 위한 중요한 실험 모델로서 이용되어 왔다. 이 경우 신사구체 경화증의 병인론으로는 신사구체 상피세포 손상^{15,17~20}, 메산지움의 과부하^{31,32} 및 지방대사 이상^{33,34}이 중요하게 거론되고 있다.

쥐의 PAN신증 모델들을 보면, 다량의 PAN을 정맥내 혹은 복강내 주사하거나 신적출술을 병합하여 비교적 단시일내에 FSGS를 유도한 경우가 대부분이다. 그러나 사람의 FSGS는 만성적 경과를 취하고, 만성 신질환에 수반되는 혈액동학적 변화에 따른 진행성 병변을 특징으로 하는 바, 본 실험에서 저자들은 쥐에 PAN을 반복하여 피하주사하면서 장기적으로 생존시켜 관찰함으로써 사람의 FSGS의 진행과정을 관찰하는 것과 유사한 조건을 조성하였다. 또한 일측신장 적출술을 시행한 후 PAN을 장기 투여한 군과 PAN만을 투여한 군 및 일측신장적출술만을 시행한 군과 비교함으로써 장기적인 PAN신증 모델에서 정도의 혈액동학적인 변화 요소를 추가시 나타나는 변화들 관찰함으로써, 진행성 신사구체 병변을 야기시킬 수 있는 기전들을 재검토하여 FSGS의 발병기전을 이해하는데 도움을 받고자 하였다.

연구 재료 및 방법

1. 실험동물

체중이 210내지 270 g되는 생후 7주짜리 이계 교배한 Sprague-Dawley 수컷 흰쥐를 서울 대학교 동물사육장에서 분양받아 분양후 1주일간의 생리 조절기간 동안에 대사 측정 쥐장에 넣어 순응시킨 후 실험동물로 사용하였다. 실험기간 중 사료로는 페레트형 고형 압축사료(0.3%의 소듐 및 22%의 단백질 함유)를 사용하였고 수도물은 자유롭게 먹도록 하였다.

2. 실험과정

실험동물은 다음과 같이 4개의 군으로 나누어 실험하였다(Fig. 1). 제 1군은 일측신장적출술 후 PAN을

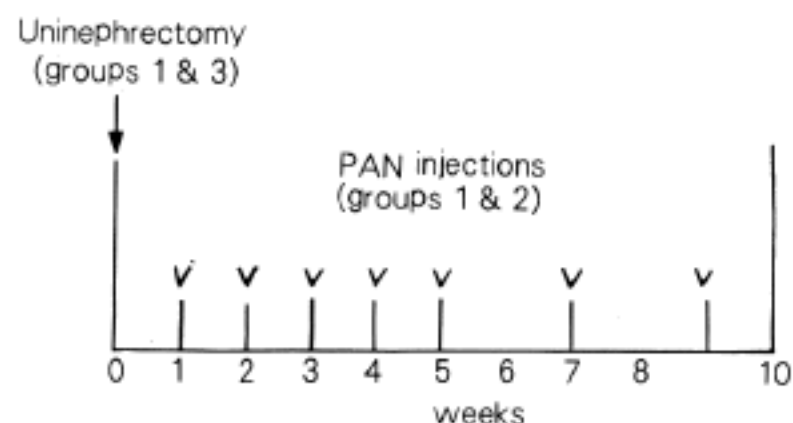


Fig. 1. Experimental procedure.

투여한 군(12마리), 제 2군은 PAN투여만을 한 군(12마리), 제 3군은 일측신장적출술만을 시행한 군(4마리), 그리고 제 4군은 정상대조군(6마리)으로 하였다.

실험과정은 실험 제 1일에 ether마취하에서 제 1군과 제 3군 쥐들의 일측신장적출술을 시행하고, 6일간의 회복기를 거친 후, 실험 1주째부터 1주간격으로 5회, 5주이후에는 2주간격으로 2회 각각 PAN을 체중 100 gm당 2 mg의 용량으로 1 ml의 0.9% sodium chloride에 용해시켜 제 1군과 제 2군의 쥐들에 피하주사하였다. 제 4군의 쥐들에게는 아무런 처치를 하지 않았다.

실험기간 중 각각 2회씩 소변(제 46일, 제 56일)과 혈액 채취(제 48일, 제 70일)를 하였고, 10주만에 실험을 종료하였다.

3. 요 수집 및 단백질 정량

각 실험동물을 개개의 대사쥐장에 넣어 24시간뇨를 채취하였는데 수집 기간 중에는 실험동물에 사료는 주지않고 물만 마음대로 먹게 하였다. 수집된 소변은 양을 측정후 즉시 소혈청 알부민을 표준 단백질로 하여 Lowry등³⁵의 방법에 따라 단백질 정량을 하였다.

4. 혈청검사

소변을 수집한 직후 공복상태에서 내안과 소장맥총(orbital venous plexus)에 EDTA가 처리된 모세관을 꽂아 1 cc가량의 혈액을 heparin처리된 microtube에 채취하여 30분 실온방치후 microcentrifuge에서 원심침전하여 혈청을 분리하였고, 도살직전의 동물에서는 심천자하여 얻은 혈액으로부터 혈청을 분리하였다. 이들에게서 혈중 요소성 질소, 크레아티닌, 콜레스테롤 및 triglyceride를 검색하였다³⁶.

5. 병리조직학적 검색

실험 제 70일째에 34마리 모든 쥐를 phenobarbital마취하에 심천자하여 충분한 양의 혈액을 채취한 후 도살하여 즉시 개복한 후 신장을 적출하였다. 적출된 신장은 반으로 나누어 한쪽 반은 광학현미경 검사를 위한 표본으로 사용하고, 다른쪽 반은 전자현미경 검사, 음이온 부위검사 및 면역형광현미경 검사에 이용하였다.

1) 광학현미경 검색: 5% 중성포르말린에 고정된 다음, 파라핀 포매후 3마이크론 두께로 연속박절하여 hematoxylin & eosin(H&E)염색과 periodic acid-Schiff(PAS)염색을 시행하였다. FSGS는 한개 이상의 신사구체에서 분엽성의 모세혈관 소실 및 경화증이 보일때 양성으로하여 관찰한 총사구체수에 대하여 FSGS양성인 사구체수의 백분율을 구하였다. 또한, FSGS양성인 사구체에서 병변이 차지하는 범위에 따

라, 1/4미만인 경우는 1+, 1/4이상 1/2미만인 경우는 2+, 1/2이상 3/4미만인 경우는 3+, 3/4이상인 경우는 4+로 하여, 분엽성 또는 전구성 경화증을 보이는 사구체수를 센 수 총사구체수에 대한 sclerosis score를 계산하였다.

Sclerosis score

$$= \{(1+ \text{병변을 보이는 사구체수}) \times 1 + (2+ \text{병변을 보이는 사구체수}) \times 2 + (3+ \text{병변을 보이는 사구체수}) \times 3 + (4+ \text{병변을 보이는 사구체수}) \times 4\} / \text{총사구체수}$$

그외 신사구체의 메산지움내 세포 및 기질의 증가, 신사구체 삼출액, 유착, 반월체, 포말세포의 출현여부

에 대하여 조사하였다.

신간질에 침윤된 염증세포의 양, 섬유화의 정도 및 범위에 따라, 경도, 중등도, 고등도로 나누었다. 또한, 세동맥 및 소동맥에 대해서도 초자양 경화증의 유무 및 침범정도를 관찰하였다.

2) 전자현미경 검색: 2.5% glutaraldehyde용액에서 고정된 후 동상의 방법으로 epon혼합액에 포매하여 1 마이크로미터 두께의 semithin section을 만들어 toluidine blue로 염색하여 관찰부위를 선정한 다음, LKB 마이크로톰으로 50 nm 두께의 초박절편을 만들어 uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색후 Hitachi H-500 두과전자현미경으로 검경하였다. 신사구체내 전자 고밀도 물질 및 지방의 침착유무, 침착

Table 1. Comparison of urinary protein excretion, serum levels of urea nitrogen(BUN), creatinine(Cr), cholesterol (Chole), and triglyceride(TG)

Group No.	Proteinuria(mg/day)	BUN(mg/dl)	Cr(mg/dl)	Chole(mg/dl)	TG(mg/dl)
1 (n=12)	428 ± 90**	153 ± 155**	2.96 ± 1.21**	466 ± 125**	337 ± 237*
2 (n=12)	136 ± 130	16 ± 4	0.92 ± 0.36	94 ± 27	111 ± 36
3 (n=4)	55 ± 19	27 ± 3	0.87 ± 0.16	80 ± 7	155 ± 19
4 (n=6)	28 ± 11	12 ± 2	0.73 ± 0.10	53 ± 40	65 ± 10

Values are means ± SD. *p < 0.05, **p < 0.01

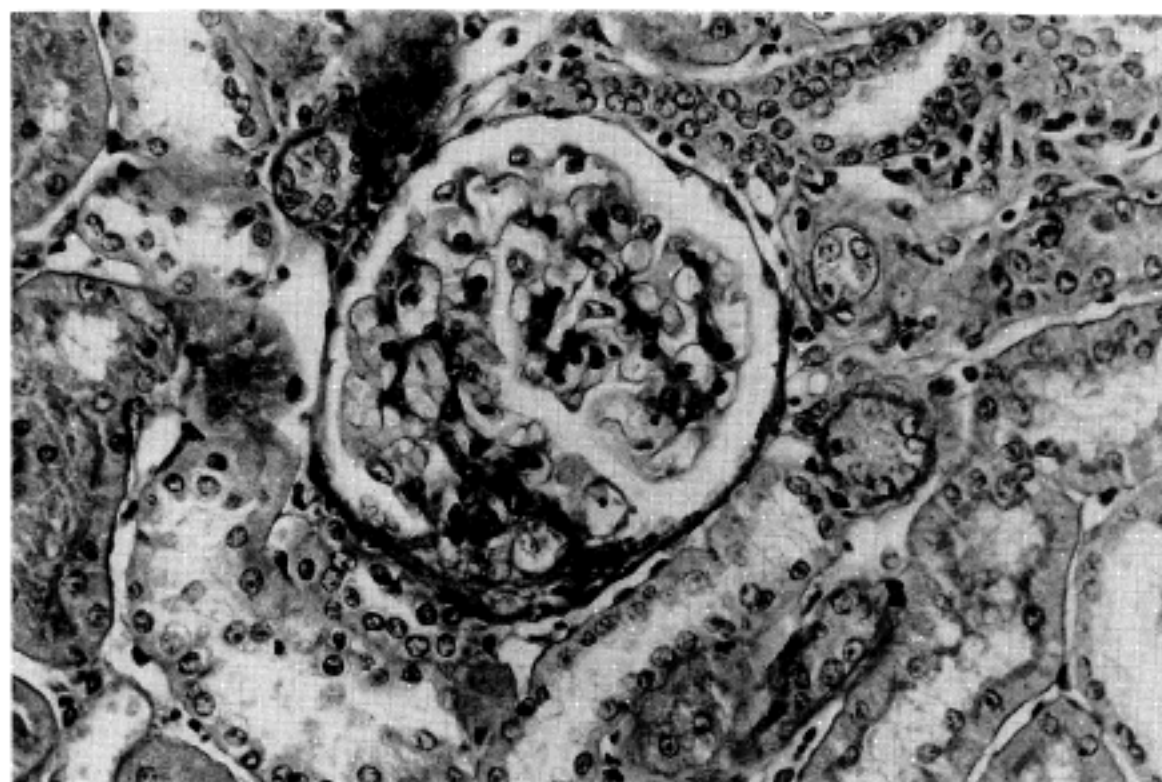


Fig. 2. Early focal segmental glomerulosclerosis(grade 1+) is noted in a rat with PAN injections only.(PAS stain)

된 부위, 메산지움세포 증식유무, 기저막 두께 및 신사구체 상피세포의 변화를 조사하였다.

6. 통계적 방법

이상의 실험 결과는 Wilcoxon-rank sum test를 사용하여 통계적으로 검증하였으며, $p < 0.05$ 인 경우 통계적으로 유의하다고 간주하였다. 또한, Spearman의 상관계수 검증을 이용하여 변수들간의 상관관계를 검증하였다.

결 과

1. 요단백 배설량 및 혈청 검사 결과

일 일 요단백 배설량은 제 1군에서 가장 많았던 바,

2군에 비해서도 그 배설량이 유의하게 높았다(428 ± 90 mg/day vs. 136 ± 130 mg/day, $p < 0.01$). 제 2군은 제 3군에 비해 요단백 배설량이 많았으나 통계적으로 유의한 차이는 없었다(Table 1).

공복시 혈중 요소성 질소 및 크레아티닌 수치들도 제 1군에서 가장 심한 변화를 보였던 바, 2군에 비하여도 유의한 차이를 보였고(153 ± 155 mg/dl vs. 16 ± 4 mg/dl, $p < 0.01$; 2.96 ± 1.21 mg/dl vs. 0.92 ± 0.36 mg/dl, $p < 0.01$), 콜레스테롤 및 triglyceride 수치들도 제 1군에서 가장 높아 제 2군에 비해 유의하게 심한 고지방혈증을 보였다(466 ± 125 mg/dl vs. 94 ± 27 mg/dl, $p < 0.01$; 337 ± 237 mg/dl vs. 111 ± 36 mg/dl, $p < 0.05$). 다른 세군들 사이에서는 통계적으로 유의한 차이가 없었다.

Table 2. Comparison of light microscopic findings in four groups

Group No.	Focal segmental glomerulosclerosis		Tubulointerstitial change		
	%	score	mild	moderate	severe
1 (n=12)	$39.5 \pm 17.2^{**}$	$0.88 \pm 0.50^{**}$	0	0	12
2 (n=12)	4.3 ± 4.7	0.07 ± 0.08	4	0	0
3 (n=4)	1.3 ± 1.0	0.02 ± 0.02	2	0	0
4 (n=6)	0	0	0	0	0

Values are means \pm SD. $^{**}p < 0.01$

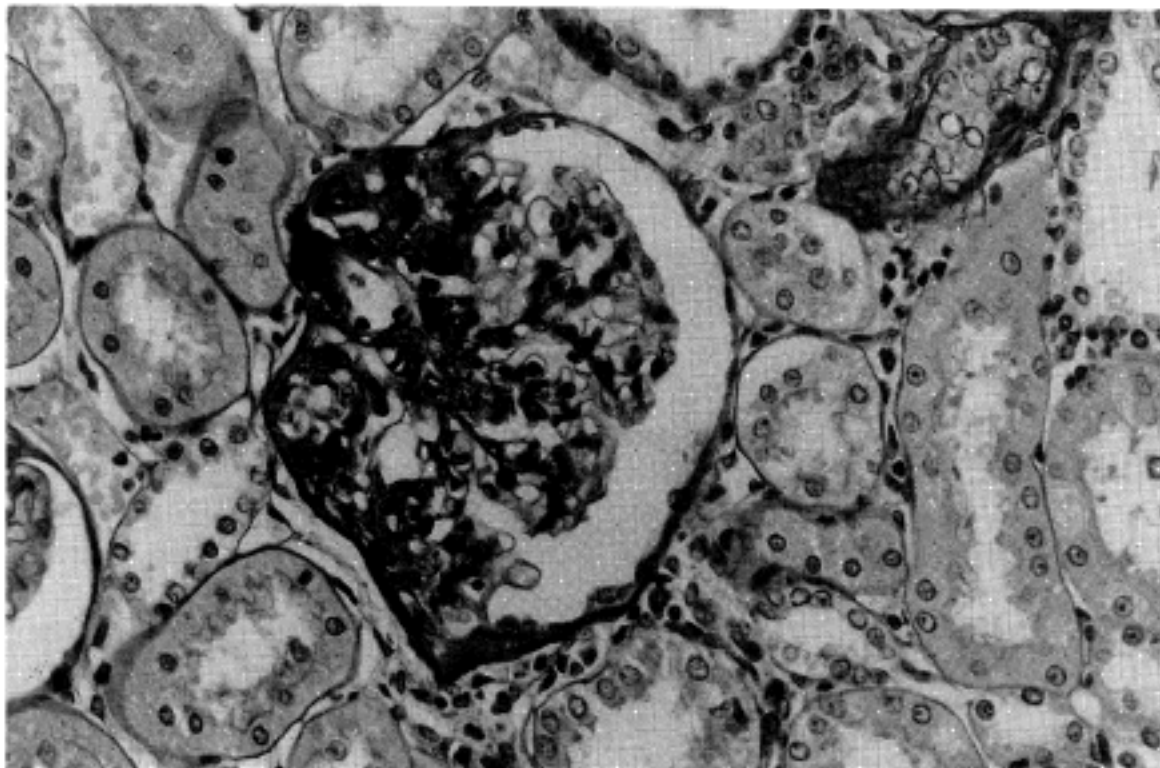


Fig. 3. Focal segmental glomerulosclerosis is observed in rats with UN & PAN injections showing grade 2+ sclerosis with capsular adhesion.(PAS stain)

2. 병리조직학적 변화

1) 광학현미경적 소견: FSGS병변은 모세혈관강의 소실 및 혈관간기질 또는 메산지움의 확대를 특징으로 하는 바, 때로 유착, 상피세포의 공포화, 초자양 침착물 등도 같이 관찰되었다(Fig. 2, 3). FSGS병변은 제 1군에서 가장 자주 관찰되었으나, 2군 및 3군에서는 그 출현빈도가 매우 낮았다(Table 2). 또한 앞서 정의한 바와 같은 sclerosis score를 계산하였을 때, 제 1군은 평균 0.88 ± 0.50 점으로 그 수치가 제 2군 및 3군에 비해 월등하게 높았다. 이상에서 제 1군은

FSGS 병변은 백분율 및 sclerosis score가 모두 높았던 바, 다른 세군들에 비하여 유의하게 심한 FSGS를 보였으나($p < 0.01$), 다른 세군들 사이에서는 유의한 차이가 없었다.

한편, 제 1, 2, 3군에서 신세뇨관-간질성 변화를 동반하는 예들이 관찰된 바, 신세뇨관 위축 혹은 확장, 초점성 괴사 및 주로 대식세포와 임파구로 구성된 단핵구성 염증세포들의 간질내 침윤을 관찰할 수 있었다(Fig. 4). 이러한 신세뇨관-간질성 병변은 제 1군에서는 전 예에서 극심하였고, 2군과 3군에서는 비교적 정도의 병변이 일부 예들에서 관찰되었다. 제 4군에서는

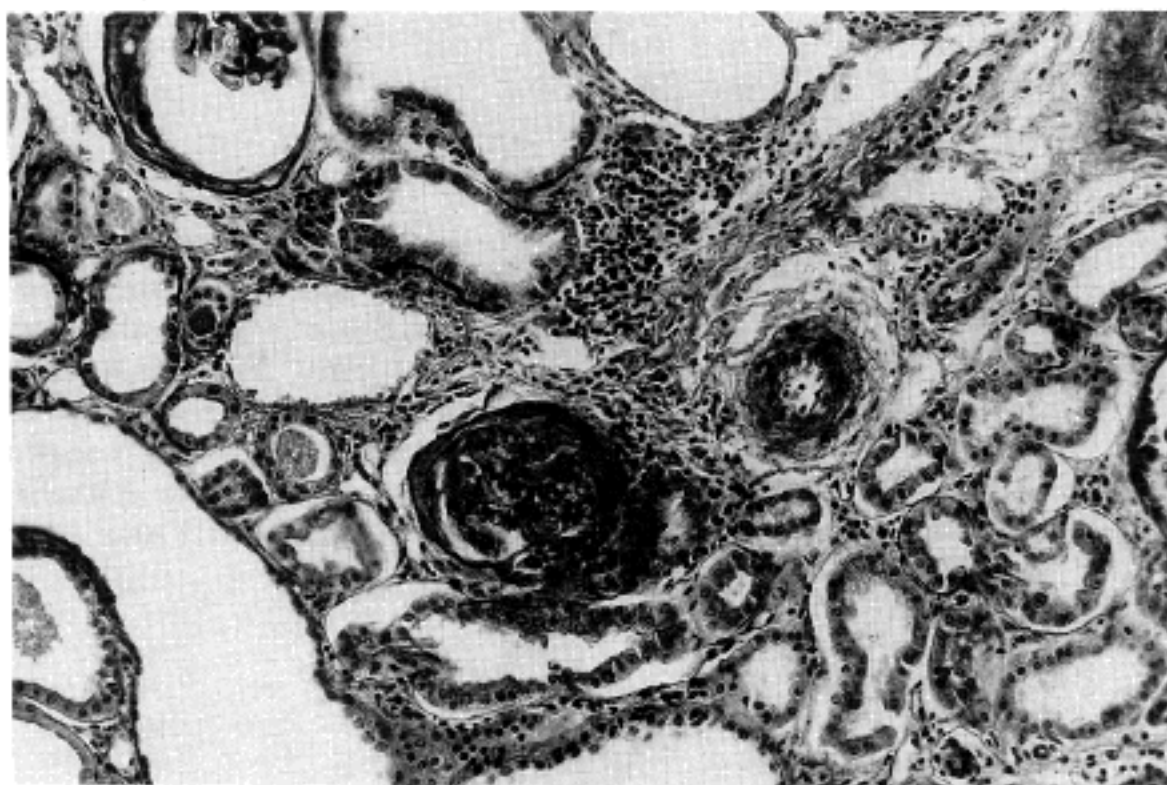


Fig. 4. Moderate to marked tubulointerstitial changes are noted in a rat with UN & PAN injections. Atrophy, dilatation and focal epithelial cell necrosis of tubules with interstitial mononuclear cell infiltrates are shown.(PAS stain)

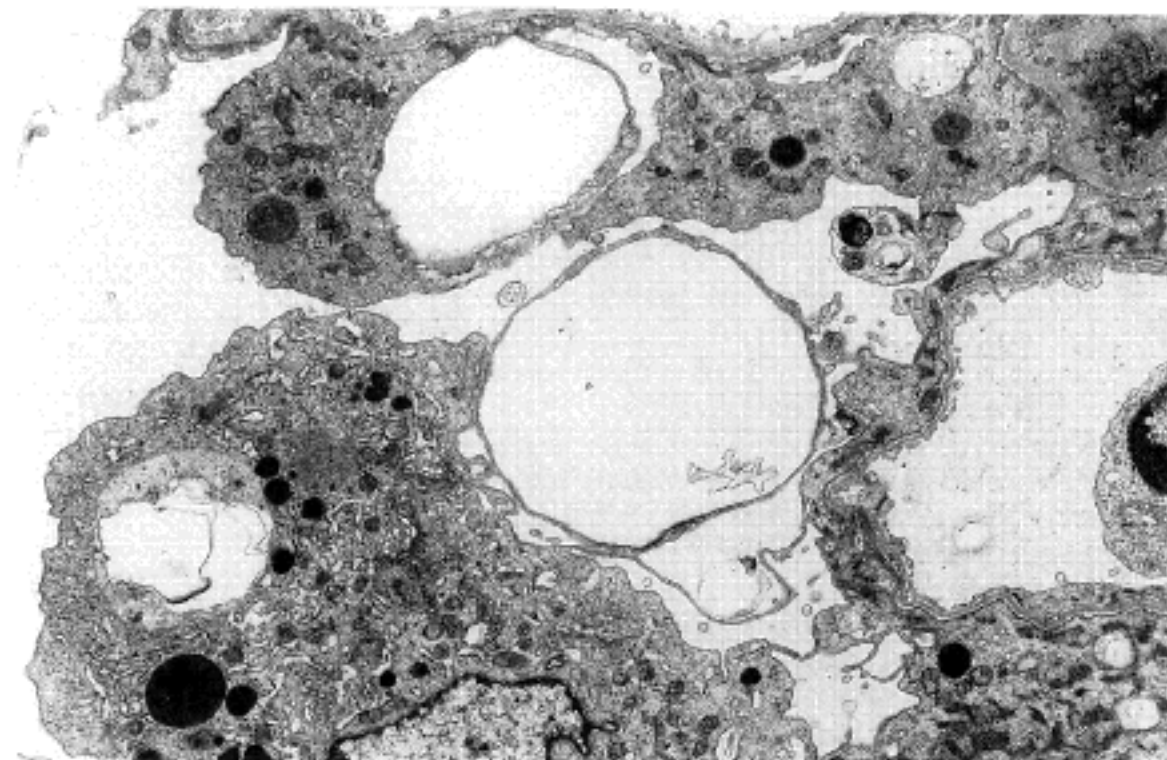


Fig. 5. Electron micrograph of a portion of a glomerulus from a rat with UN & PAN injections. There are hypertrophied visceral epithelial cells with pseudocysts in the cytoplasm. The foot processes of visceral epithelial cells are completely effaced.($\times 8,800$)

초점성 경화성 병변이나 신세뇨관-간질성 병변을 관찰할 수 없었다.

소동맥 및 세동맥의 변화는 미미하였던 바, 제 1군의 2예, 2군의 3예에서 미약한 정도의 초자양 침착만을 관찰할 수 있었다.

2) 전자현미경적 소견: 제 1군중 8예를 관찰하였는데, 다수의 신사구체들이 심한 경화증을 보였고 나머지 신사구체들은 모두 현저한 상피세포성 변화들 보인바, 미만성의 극심한 족돌기 소실을 보이면서, 다양한 정도의 세포질의 공포화 혹은 가성낭포 형성이나 신사구체 기저막으로부터의 국소적 이탈이 동반되었다(8/8)(Fig. 5, 6). 일부 예들에서는 메산지움기질의 증가,

지방담식세포, 다형백혈구 침윤 등을 관찰할 수 있었다.

제 2군과 제 3군은 각각 2예를 관찰하였는데, 간혹 관찰되는 경화증이 심한 신사구체들을 제외하면 상피세포는 국소적인 정도의 족돌기 소실만을 보여 제 1군에 비하여 그 변화가 미미하였다(Fig. 7, 8).

제 4군에서는 모든 신사구체들에서 족돌기가 잘 유지되어 있었고, 이상소견을 관찰할 수 없었다(Fig. 9).

3. FSGS 병변과 요단백 배설량과의 상관관계

제 1, 2, 3군의 평균 1일 요단백 배설량과 FSGS 병변을 보이는 신사구체들의 백분율 및 sclerosis

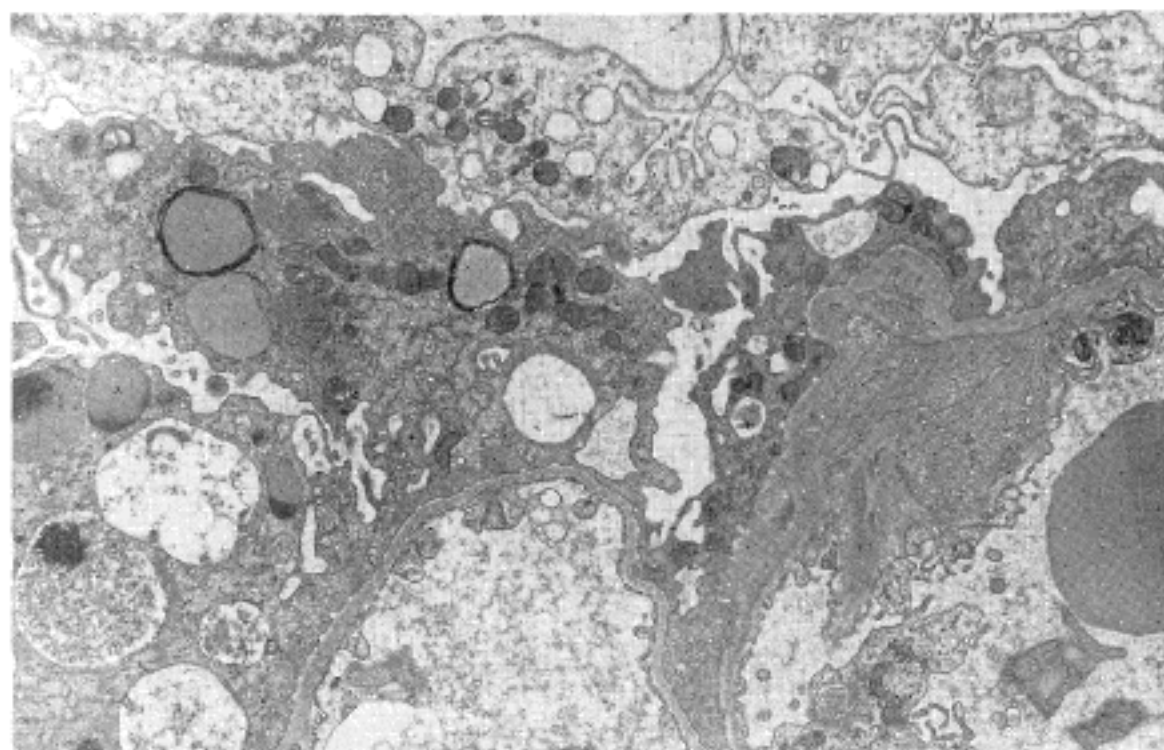


Fig. 6. Electron micrograph of a portion of a glomerulus from a rat with UN & PAN injections. Medium electron-dense materials are frequently shown in the lysosomes of epithelial cell cytoplasm.($\times 11,200$)

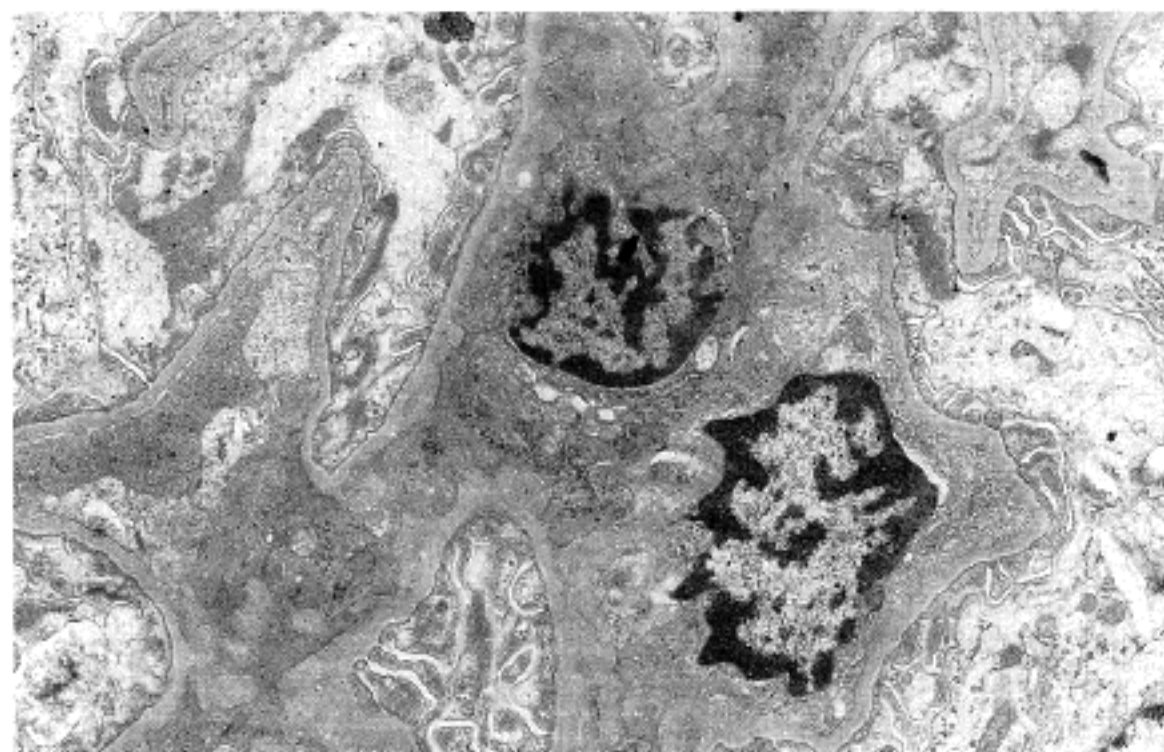


Fig. 7. Electron micrograph of a portion of a glomerulus from a rat with PAN injections. Only focal mild effacement of foot processes is found.($\times 12,500$)

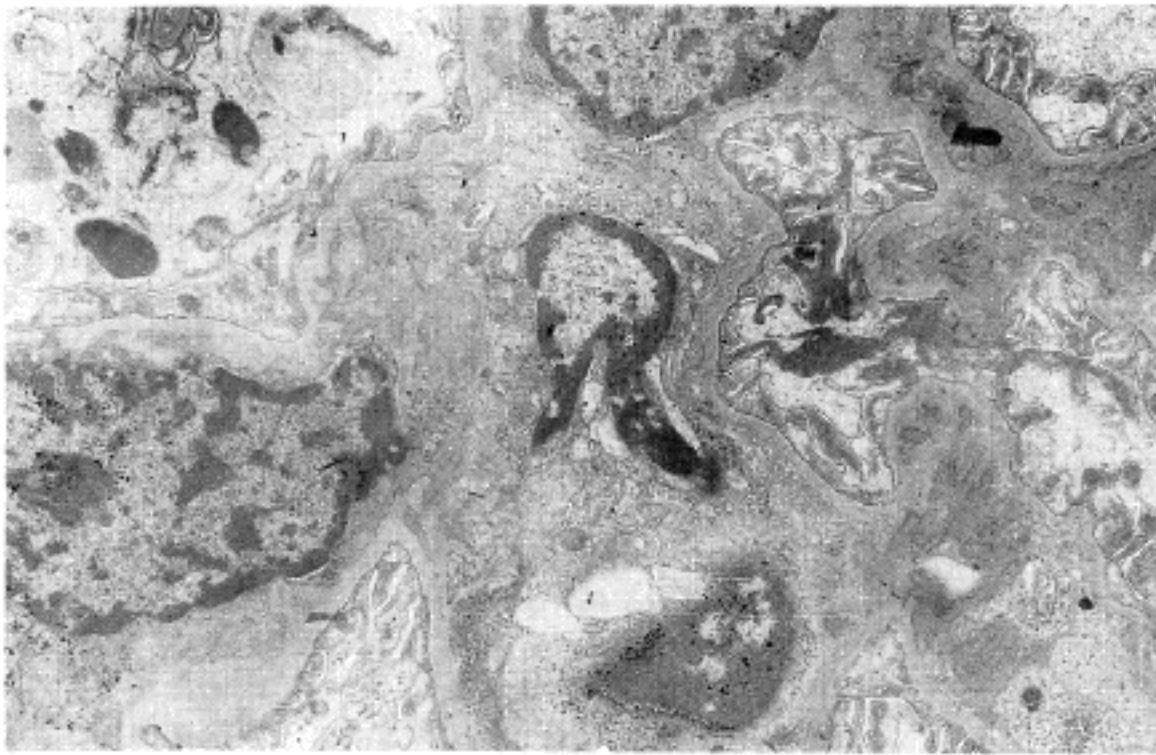


Fig. 8. Electron micrograph of a portion of a glomerulus from a rat with UN. Focal mild effacements of foot processes are occasionally seen. Cytoplasmic rarefaction is noted in the epithelial cells. ($\times 18,750$)

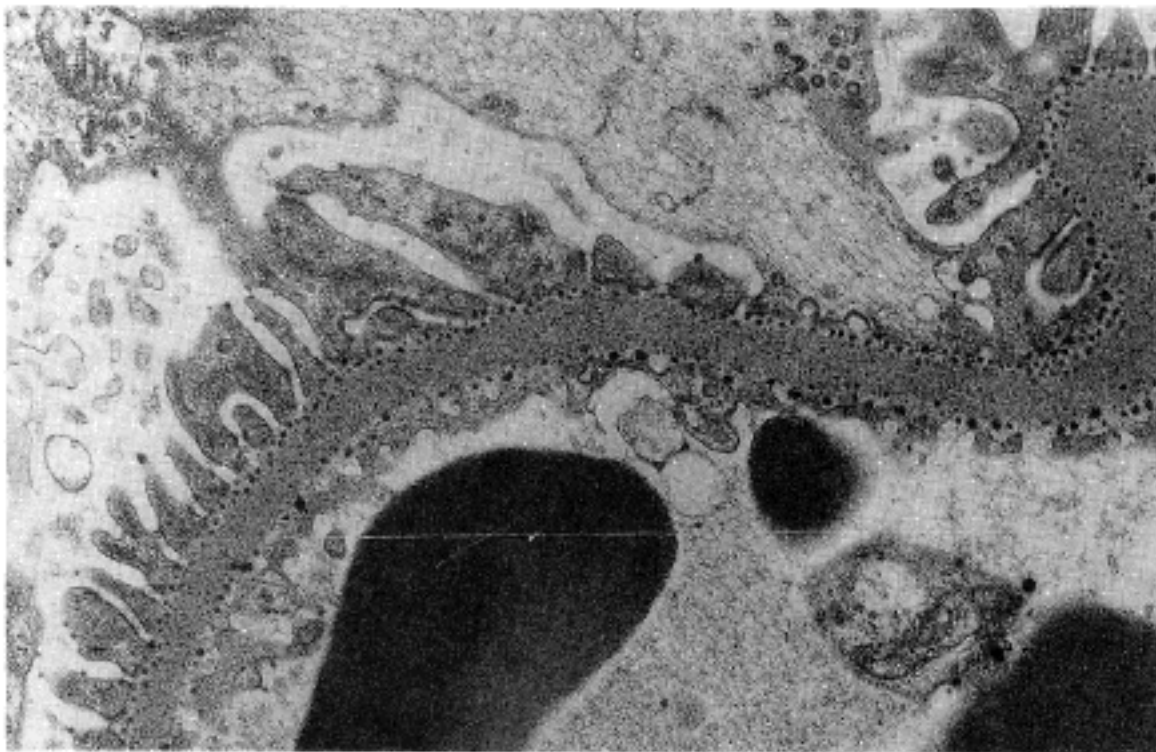


Fig. 9. Electron micrograph of a portion of a glomerulus from a normal control rat. Well-preserved foot processes and regularly spaced anionic deposits along the lamina rarae are noted. (polyethyleneimine stain, $\times 33,600$)

score 사이에는 각각 유의한 상관관계가 관찰되었다 (상관계수: 0.809 및 0.812, 각각 $p < 0.01$)(Fig. 10).

고 안

저자들은 본 실험에서 Sprague-Dawley 쥐에 PAN을 장기 투여하여 사람의 FSGS의 발생기전 및 진행 경로와 유사한 병변을 유발하고자 하였다. 총 70 일간의 관찰기간을 통하여 얻어진 결과들을 종합하여 보면, 일측신장적출술을 병행한 만성 PAN신증군에서는 심한 단백뇨, 고질소혈증 및 고지방혈증을 보이면서 극심한 초점성 경화성 병변을 보여 정상대조군 및

일측신장적출 대조군은 물론, PAN장기투여군과 비교할 때에도 유의한 차이를 보인 바, 성공적으로 FSGS를 유발한 것으로 생각되었다. PAN장기투여만을 한 군에서는 단백뇨량 및 혈청수치들에서는 유의한 차이가 없었고, 경화성 병변은 비교적 드물게 관찰되어 경미한 형태의 FSGS로 생각하였다.

PAN(6-dimethylaminopurine-3-amino-D-ribose)은 transfer RNA와 구조적으로 유사하여 미생물의 단백질 합성과정을 방해함으로써 약리학적 효과를 내는 항생제이다³⁷⁾. 이를 이용한 쥐 실험모델에서의 결과들을 종합하여 보면, 본 실험의 제 1군에서와 같이 지속적인 단백뇨를 동반하는 심한 상피세포성 변화가

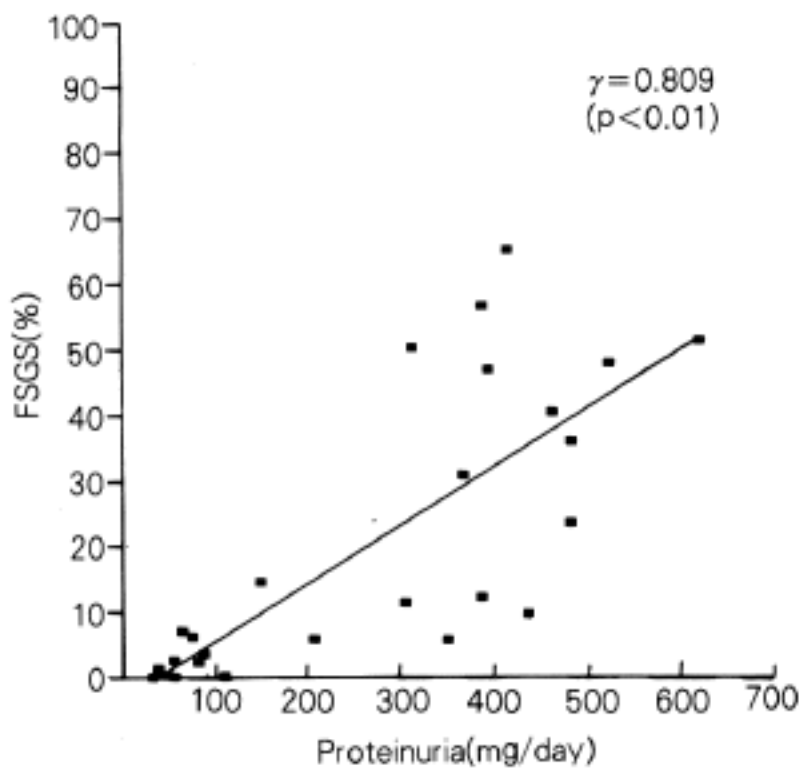


Fig. 10. Relationship of urinary protein excretion and percentage of glomeruli with focal segmental glomerulosclerosis(FSGS).

특징이다. 즉, PAN은 일차적으로 신사구체의 상피세포에 독성으로 인한 손상을 입히며 투과 선택성의 변경으로 인해 지속적으로 단백질이 과부하됨으로써 비가역적, 진행성의 신사구체 경화성 병변을 유발하는 것으로 추측된다^{5, 15, 17-30}. PAN신증에서 나타나는 투과 선택성의 변경에는 음이온 부위 소실로 인한 전하 선택성의 변경과 기저막으로부터의 신사구체 상피세포의 국소적 일탈 등으로 인한 크기 선택성의 소실이 모두 포함된다²⁰. 또한 이로 인한 단백뇨는 기능적 자료로써 유용한 바, 본 실험의 결과와 같이 형태학적 변화인 초점성 경화성 병변의 정도에 비례하여 배설되는 요단백량도 증가함이 알려졌다¹⁵.

PAN에 의한 상피세포의 손상은 초기에는 상피세포에 의해 만들어지는 기저막의 heparan sulfate proteoglycan 및 상피세포의 주된 sialic acid인 podocalyxin 등의 음이온 부위 감소와 함께^{18, 22, 24-26, 28, 29, 38-41}, 상피세포 죽돌기 폭의 증가로 시작한다. 이후 미만성의 현저한 죽돌기 소실을 일으키고, 다수의 세포질내 소체들, 일부 과열을 보이는 팽창된 공포들, 그리고 기저막으로부터의 상피세포 일탈부위들을 보이는데, 어떤 원인에 의해서든지 이상과 같은 손상이 비가역적으로 진행된다면, 상피세포질 파열 및 일탈로 인하여 기저막 외측 공간에 세포 파편과 여러가지 단백질성 물질을 포함하는 신생막들을 형성하고 여기에 손상에 대한 재생성 반응이 합쳐짐으로써 반흔 및 경화성 병변을 만드는 것을 관찰할 수 있다^{17, 27, 43, 44}. 초기의 죽돌기를 포함하는 상피세포성 변화들이 단백뇨

에 선행하여 나타나기 시작하므로 단백뇨의 이차적인 결과로는 생각되지 않으나^{17, 19-21, 23, 27, 30, 42}, 지속적인 단백질 과도여과는 병변의 진행에 기여할 것으로 생각된다. 한편, 최근에는 신사구체 상피세포 죽돌기의 sialylation의 장애가 투과선택성 변경뿐 아니라 PAN신증에서의 일정한 형태학적 변화인 죽돌기 및 여과름 소실을 직접 초래할 수 있다는 보고들이 있다^{21, 39}.

쥐에서 광범위한 신장 적출술을 시행하는 경우, 신조직 소실에 대한 혈액동학적 적응으로서 신사구체 모세혈관의 혈류 및 내압이 증가하여 신사구체는 비대해지고 단일신원여과율이 무려 40내지 50%까지 증가됨이 알려져 있다. 그러나 장기적으로 기계적 손상 및 단백질 과도여과로 인하여 이러한 적응은 부적절하게 되고, 미세혈전 및 미세동맥류 형성, 메산지움의 기질 증가 및 세포 증식, 그리고 내피하 초자양 침착을 일으키면서 결국 신사구체 경화증으로 진행하게 된다^{14, 45, 46}. 본 실험에서 사용된 일측신장적출술도 상기 광범위 적출술과 동일한 기전을 통하여 FSGS병변의 유발을 촉진한다^{11, 12}. 그러나 본 실험 및 몇몇 보고들의 결과를 종합하여 볼 때 실험조건에 따라 차이는 있으나 일측신장적출술 단독으로는 10%미만의 신사구체에서 FSGS병변을 유발할 수 있었던 바^{12, 15, 34}, FSGS병변 유발에 있어서 비교적 미약한 방법이다. 또한 본 실험에서는 PAN을 정맥주사법으로 투여하여 신속한 효과를 내는 대신, 소량(다른 보고들의 일회 사용량의 1/5 내지 1/7.5)을 반복 피하주사함으로써 저농도로 장기적인 상피세포 독성을 내고자 하였다. 즉, 저자들은 제 1군을 통하여 PAN에 의한 비교적 경도의 지속적 상피세포손상과 일측신장적출술에 의한 혈액동학적 변화의 만성적 효과를 관찰함으로써 여러원인에 의한 사람의 FSGS병변에서의 만성적 진행성 신사구체 손상에 보다 근접하는 모델을 만들고자 하였다.

본 실험에서 경화증의 양을 나타내는데 사용한 sclerosis score는 한 사구체 내에서의 침범정도를 반영하는 바, 추후 백분율을 대치할 수 있는 매개 변수로 생각되어 사용하였으나, 본 실험 결과에서는 백분율만으로도 단백뇨량과의 유의한 상관관계를 보일 수 있었던 바, 특별한 효용은 없었던 것으로 생각한다.

본 실험에서 제 1, 2, 3군에서 신세뇨관-간질성 변화가 관찰되고, 그 정도는 신사구체 경화성 병변의 정도와 어느정도 일치하는 소견을 보였는데, 종래에는 PAN신증에서 이런 병변이 동반되는 경우 신사구체 경화성 병변의 이차적 현상으로만 간주하였으나 최근 일련의 동물 실험에서는 FSGS의 전구병변으로서 강조되고 있다⁴⁷.

이상의 결과들과 PAN의 동상의 약리학적 작용기전을 연관지어 생각하여 보면, PAN은 일차적으로 신사구체 상피세포의 단백질 합성 과정을 저해함으로써 독성을 줄 가능성을 추측해 볼 수 있다. 그러나 이러한

특이성을 포함하여 실제 작용 부위, 작용 기전을 이해하기 위하여는 추후 많은 연구가 필요할 것으로 사료된다.

결 론

Sprague-Dawley 쥐에 일측신장적출술을 시행하고 PAN을 장기 투여한 후 발생하는 신사구체 경화증은 심한 단백뇨 및 고지방혈증을 동반하며 만성 신부전증으로 진행되어서, 사람의 FSGS의 만성적인 진행과정을 이해하는데 도움이 되는 모델로 생각한다. 특히, 이 실험 모델은 PAN 단독 투여군에 비하여 기능적 및 형태학적 변화가 유의하게 심하였던 바, 이는 일측신장적출로 인한 혈액동학적 변화, 즉 신사구체 모세혈관 내압이 증가됨으로써 만성 PAN신증의 효과를 증폭시킨 것으로 생각한다.

본 실험에서 신사구체 상피세포의 형태학적 변화는 PAN의 독성 및 후속적인 심한 단백뇨에 의한 이차적 변화로 사료되며, 이러한 상피세포 손상이 진행성 신사구체 경화증의 중요한 원인이 된다고 생각한다.

참 고 문 헌

- 1) Grishman E, Churg J, Porush JG. *Glomerular morphology in nephrotic heroin addicts. Lab Invest* 1976; 35: 415-24.
- 2) Markenson AL, Chandra M, Lewy JE, Miller DR. *Sickle cell anemia, the nephrotic syndrome and hypoplastic crisis in a sibship. Am J Med* 1978; 64: 719-23.
- 3) Bhatena DB, Weiss JH, Holland HN, McMorrow RG, Curtis JJ, Lucas BA, Luke RG. *Focal and segmental glomerular sclerosis in reflux nephropathy. Am J Med* 1980; 68: 886-92.
- 4) Cotran RS. *Glomerulosclerosis in reflux nephropathy. Kidney Int* 1982; 21: 528-34.
- 5) Remuzzi G, Bertani T. *Is glomerulosclerosis a consequence of altered glomerular permeability to macromolecules? Kidney Int* 1990; 38: 384-94.
- 6) Couser WG, Stilmant MM. *Mesangial lesions and focal glomerular sclerosis in the aging rat. Lab Invest* 1975; 33: 491-501.
- 7) Bolton WK, Benton FR, Maclay JG, Sturgill BC. *Spontaneous glomerular sclerosis in aging Sprague-Dawley rats: I. Lesions associated with mesangial IgM depositis. Am J Pathol* 1976; 85: 277-302.
- 8) Bolton WK, Sturgill BC. *Spontaneous glomerular sclerosis in aging Sprague-Dawley rats: II. Ultrastructural studies. Am J Pathol* 1979; 98: 339-56.
- 9) Shimamura T, Morrison AB. *A progressive glomerulosclerosis occurring in partial five-sixths*

- nephrectomized rats. Am J Pathol* 1974; 79: 95-101.
- 10) Shea SM, Raskova J, Morrison AB. *A stereologic study of glomerular hypertrophy in the subtotally nephrectomized rat. Am J Pathol* 1978; 90: 201-10.
- 11) Olson JL, Hostetter TH, Rennke HG, Brenner BM, Venkatachalam MA. *Altered glomerular permselectivity and progressive sclerosis following extreme ablation of renal mass. Kidney Int* 1982; 22: 112-26.
- 12) Grond J, Schilthuis MS, Koudstaal J, Elema JD. *Mesangial function and glomerular sclerosis in rats after unilateral nephrectomy. Kidney Int* 1982; 22: 338-43.
- 13) Grond J, Weening JJ, Elema JD. *Glomerular sclerosis in nephrotic rats. Comparison of the long-term effects of adriamycin and aminonucleoside. Lab Invest* 1984; 51: 277-85.
- 14) Bertani T, Cutillo F, Zoja C, Broggin M, Remuzzi G. *Tubulointerstitial lesions mediate renal damage in adriamycin glomerulopathy. Kidney Int* 1986; 30: 488-96.
- 15) Glasser RJ, Velosa JA, Michael AF. *Experimental model of focal sclerosis: I. Relationship to protein excretion in aminonucleoside nephrosis. Lab Invest* 1977; 36: 519-26.
- 16) Diamond JR, Karnovsky MJ. *Focal and segmental glomerulosclerosis following a single intravenous dose of puromycin aminonucleoside. Am J Pathol* 1985; 122: 481-7.
- 17) Ryan GB, Karnovsky MJ. *An ultrastructural study of the mechanisms of proteinuria in aminonucleoside nephrosis. Kidney Int* 1975; 8: 219-32.
- 18) Velosa JA, Glasser RJ, Nevins TE, Michael AF. *Experimental model of focal sclerosis: II. Correlation with immunopathologic changes, macromolecular kinetics, and polyanion loss. Lab Invest* 1977; 36: 527-34.
- 19) Andrews PM. *A scanning and transmission electron microscopic comparison of puromycin aminonucleoside-induced nephrosis to hyperalbuminemia-induced proteinuria with emphasis on kidney podocyte pedicel loss. Lab Invest* 1977; 36: 183-97.
- 20) Olson JL, Rennke HG, Venkatachalam MA. *Alterations in the charge and size selectivity barrier of the glomerular filter in aminonucleoside nephrosis in rats. Lab Invest* 1981; 44: 271-9.
- 21) Kanwar YS, Rosenzweig LJ. *Altered glomerular permeability as a result of focal detachment of the visceral epithelium. Kidney Int* 1982; 21: 565-74.
- 22) Klein DJ, Dehnel PJ, Oegema TR, Brown DM. *Alterations in proteoglycan metabolism in the nephrotic syndrome induced by the aminonucleoside of puromycin. Lab Invest* 1984; 50: 543-51.